

---

*Trabajo Fin de Grado*

---



# Determinación cuantitativa de diisobutil ftalato en líquidos mediante ATR-FTIR: Estudio inicial



**UNIVERSIDAD  
DE BURGOS**

Eva Martín Tapia

TUTORAS:

Ana Herrero Gutiérrez  
Silvia Sanllorente Méndez





**VISTO BUENO PARA PRESENTACIÓN DE LA MEMORIA DEL  
TRABAJO FIN DE GRADO**

**GRADO EN: QUÍMICA  
CURSO: 2017/18**

Dña. Ana Herrero Gutiérrez y Dña. Silvia Sanllorente Méndez informan de que el alumno Dña. Eva Martín Tapia, ha realizado el trabajo "Determinación cuantitativa de diisobutil ftalato en líquidos mediante ATR-FTIR: un estudio inicial" bajo su tutela, y consideran que la Memoria es adecuada para su presentación pública:

SI

NO \*

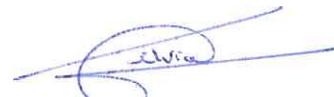
(\*) En caso negativo, indíquense los motivos:

OBSERVACIONES:

Burgos, a 1 de marzo de 2018



Fdo.: Ana Herrero



Fdo.: Silvia Sanllorente

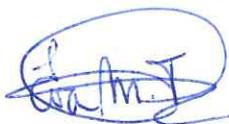
**ARCHIVO DE LAS MEMORIA DEL TRABAJO FIN DE GRADO EN RIUBU**

Dña. Eva Martín Tapia y Dña. Silvia Sanllorente Méndez y Dña. Ana Herrero Gutiérrez, autora y tutoras del Trabajo Fin de Grado autorizan que esta memoria sea transferida al Repositorio Institucional de la Universidad de Burgos (RIUBU) en la siguiente modalidad:

Acceso restringido

Acceso abierto  Acceso abierto con periodo de embargo

Burgos, a 1 de marzo de 2018



Fdo.: Eva Martín



Fdo.: Ana Herrero



Fdo.: Silvia Sanllorente



---

## Índice

---

1. ABSTRACT-RESUMEN .....	1
2. OBJETIVOS.....	2
3. INTRODUCCIÓN .....	2
4. TEORÍA .....	4
4.1. ATR-FTIR.....	4
4.1.1. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) .....	4
4.1.2. Reflexión total atenuada (ATR) .....	5
4.2- Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) .....	6
5. EXPERIMENTAL .....	8
5.1- Reactivos, instrumentación y software .....	8
5.2- Preparación de disoluciones .....	8
5.3- Procedimiento experimental.....	8
5.3.1- Calibración directa en disolución.....	8
5.3.2- Estudio del tiempo de evaporación.....	9
5.3.3- Calibración con preconcentración .....	9
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
6.1- Estudios previos.....	9
6.2- Medidas directas en disolución .....	10
6.2.1. Calibrado 1 .....	10
6.2.2- Calibrado 2.....	13
6.2.3- Calibrado 3.....	17
6.3- Medidas con preconcentración .....	19
7. CONCLUSIONES .....	23
8. BIBLIOGRAFÍA .....	24



---

## 1. ABSTRACT-RESUMEN

---

Phthalates are a group of synthetic compounds widely used as plasticizers, mainly used to increase plastic flexibility, resistance and durability. These substances may be found in toys, cosmetics, plastic bottles, etc. Their presence in some fields is regulated to avoid risks to the health. Diisobutyl phthalate (DiBP) is among these phthalates, many of which are banned in toys, childcare articles or cosmetics; however, DiBP has so far not been subjected to EU ban.

The determination of DiBP in liquid samples by means of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy is approached in this work. Soft multivariate regression models, principal component regression (PCR) and partial least squares regression (PLS), are used for the quantitative analysis.

The level of concentration for the direct analysis of DiBP in cyclohexane is studied. It is assessed what effect the use of cyclohexane or air to collect the background spectrum, the number of scans to be collected in the sample measurement, and the pretreatment of spectral data have on the analytical determination. Some figures of merit are calculated to establish the performance of the analytical method. Values of the capability of detection around 2.000-3.000 ppm are achieved ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

A preconcentration step is included in the method in order to increase its sensitivity. The influence of the number of depositions on the performance of the analytical method is studied. Capabilities of detection down to 52 ppb are reached ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

Los ftalatos son un grupo de compuestos sintéticos muy utilizados como plastificantes, principalmente para incrementar la flexibilidad, la resistencia y la durabilidad de los plásticos. Su presencia en ciertos ámbitos está regulada para evitar riesgos para la salud. El diisobutil ftalato (DiBP) se encuentra entre estos ftalatos, muchos de los cuales están prohibidos en juguetes, artículos de puericultura o cosméticos; sin embargo, el DiBP aún no está sujeto a ninguna prohibición de la UE.

En este trabajo se aborda la determinación de DiBP en muestras líquidas mediante espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier en el modo reflexión total atenuada (ATR-FTIR). Se utilizan métodos de calibrado blandos, regresión de componentes principales (PCR) y regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS), para el análisis cuantitativo.

Se estudia el nivel de concentración para el análisis directo de DiBP en ciclohexano. Se evalúa qué efecto tienen, sobre la determinación analítica, el uso de ciclohexano o aire para registrar el espectro del fondo, el número de barridos que se registran de la muestra, y el pretratamiento de los datos espectrales. Se calculan algunas figuras de mérito para establecer el funcionamiento del método de análisis. Se alcanzan valores para la capacidad de detección del orden de 2.000-3.000 ppm ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

Se incluye una etapa de preconcentración en el método con el objetivo de incrementar su sensibilidad. Se estudia la influencia del número de depósitos en el funcionamiento del método analítico. Se alcanzan capacidades de detección de hasta 52 ppm ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).



---

## 2. OBJETIVOS

---

The present work aims to:

- Determine the most suitable solvent to perform the analysis.
- Study the concentration range useful for the direct determination of DiBP.
- Assess what effect the use of cyclohexane or air to collect the background spectrum, the number of scans to be collected in the sample measurement, and the pretreatment of spectral data have on the analytical determination.
- Improve the sensitivity of the method by preconcentration of samples.

---

## 3. INTRODUCCIÓN

---

Los plásticos son sustancias químicas sintéticas de estructura macromolecular, denominadas polímeros, que pueden ser modeladas mediante el empleo de calor o presión. Estos polímeros se obtienen a través de un proceso químico llamado polimerización. Una de las grandes ventajas que presentan los plásticos es que reúnen una serie de propiedades difíciles de lograr con otros materiales.

Estas propiedades se consiguen mediante la adición de una serie de aditivos, como son los antioxidantes, los espumantes, los estabilizadores de la luz ultravioleta, los antiestáticos y los plastificantes, entre otros [1]. Dentro de los plastificantes más utilizados se encuentran los ftalatos.

Los ftalatos son ésteres de alquilo y arilo del ácido 1,2-bencenodicarboxílico que principalmente se agregan al cloruro de polivinilo (PVC), para aumentar la flexibilidad, resistencia y durabilidad del plástico. Muchos de los artículos utilizados cotidianamente como juguetes, tuberías de agua, cuero artificial, aislamiento de cables eléctricos, pegamento, cosméticos, botellas de agua de plástico, pinturas y tintas de impresión, incluyen ftalatos en su formulación, y como resultado, se ha creado un enorme mercado mundial alrededor de estos compuestos.

Mención especial es el caso de los juguetes infantiles que algunos casos contenían cantidades de ftalatos entre 20% a 50% del peso total del producto, esas proporciones hicieron que muchos países prohibieran la fabricación y comercialización de esos juguetes por considerárselos un riesgo para la salud. Por lo que todos los juguetes fabricados o importados en la Unión Europea (UE) están sujetos a unos estrictos requisitos de seguridad antes de poder comercializarse. Estos requisitos se actualizan



periódicamente para tomar en consideración los avances técnicos y los conocimientos científicos [2].

Diversos estudios han clasificado los ftalatos como sustancias químicas disruptoras endocrinas y potenciales agentes cancerígenos humanos [3-7]. Los efectos en la salud de la exposición a cualquier sustancia peligrosa van a depender de la dosis, la duración, la manera de exposición, las características y hábitos personales, y si están presentes otras sustancias químicas.

Uno de los problemas que muestran los ftalatos es la facilidad que presentan para migrar de los materiales plásticos que los contienen con el paso del tiempo, ya que no están químicamente unidos a la matriz polimérica. Debido a un proceso de migración directa desde los envases de plástico, los ftalatos se pueden encontrar en una alta concentración en alimentos y bebidas, especialmente en productos grasos debido a la hidrofobia de estos productos químicos [8-11].

El Reglamento (CE) nº 1907/2006 [12] (denominado REACH, acrónimo de Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de sustancias y mezclas químicas) entró en vigor el 1 de junio de 2007 y tiene como objetivo principal mejorar la protección para la salud humana y el medio ambiente frente al riesgo que puede conllevar la fabricación, comercialización y uso de las sustancias y mezclas químicas. El REACH ha incluido como sustancias potencialmente preocupantes para la salud (SVCH, por sus siglas en inglés) cuatro ftalatos (Figura 1), DEHP (dietilhexilftalato), DiBP (diisobutilftalato), DBP (dibutilftalato) y BBP (bencilbutilftalato).

En este contexto, el Reglamento Nº 10/2011 de la UE [12] sólo permite un uso limitado de ciertos ftalatos en materiales en contacto con alimentos estableciendo límites de migración específicos (SML) basándose en las evaluaciones toxicológicas realizadas por parte de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

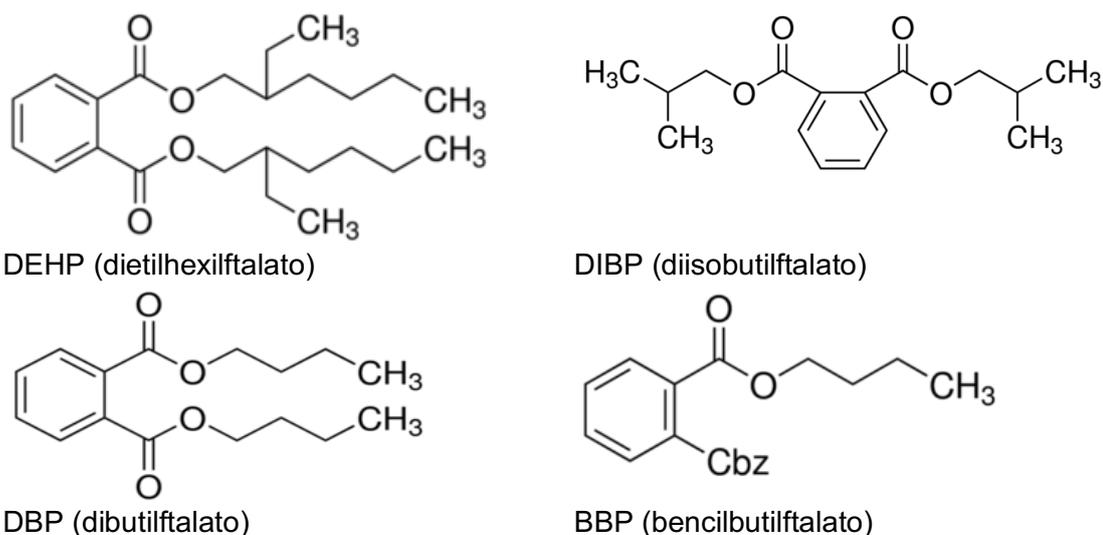


Figura 1. Estructuras químicas de algunos ftalatos.



Dado el interés creciente por estas sustancias y teniendo en cuenta las prohibiciones que se han impuesto de algunos de ellos en cuanto a su utilización en la fabricación de determinados plásticos, es importante disponer de métodos de análisis que nos permitan analizarlos de forma sencilla. Se pueden utilizar distintos métodos de análisis para la determinación de ftalatos dependiendo de la concentración de éstos en las muestras y de la complejidad de las mismas.

Salazar y col. [13] realizan una revisión de los procedimientos de preparación de las muestras, así como los métodos de análisis de ftalatos en bebidas y botellas de plástico. Entre éstos destaca el empleo de técnicas cromatográficas, tanto de gases como de líquidos, acopladas fundamentalmente con espectrometría de masas. La

determinación a nivel de trazas de DiBP y diisonil ftalato (DiNP) se ha llevado a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) [14].

Entre las técnicas espectroscópicas que se utilizan cuando la sensibilidad requerida en la determinación de ftalatos no es tan alta, es la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). La FTIR se puede utilizar para cuantificar ftalatos en plásticos a niveles del orden del 0.1%. Además, el modo de reflexión total atenuada (ATR) facilita mucho la obtención de espectros. Esta combinación de tecnología y metodología consiguen que se puedan analizar el contenido de ftalatos con rapidez en un gran número de piezas u objetos sin necesidad apenas de preparación de la muestra [15].

---

## 4. TEORÍA

---

### 4.1. ATR-FTIR

#### 4.1.1. Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia de infrarrojo medio (MIR) es una técnica de espectroscopia vibracional cuyo fundamento se encuentra en la interacción de las moléculas con la radiación electromagnética en la región entre  $400-4000\text{ cm}^{-1}$ , que es la región más utilizada para análisis cualitativos y cuantitativos [16]. Dicha espectroscopia permite identificar y cuantificar compuestos químicos en base a la absorción de longitudes de onda específicas por parte de las moléculas. Esta absorción de radiación electromagnética está originada por rotaciones y vibraciones moleculares características de los distintos grupos funcionales y por su entorno, de modo que el espectro que se registra es específico para una molécula dada.

Es habitual trabajar con equipos FTIR (infrarrojo con transformada de Fourier) que permiten con varias longitudes de onda simultáneamente, a diferencia de los equipos dispersivos, más clásicos. En un instrumento con transformada de Fourier hay un



único detector al que llegan varias frecuencias simultáneamente, de modo que las señales se registran en función del tiempo. Además, dispone de un interferómetro, que es un sistema para modular la transformación de esas frecuencias en otras proporcionalmente menores y realizar un barrido espectral. Luego, para decodificar los datos del dominio de tiempos (interferograma) al dominio de frecuencias (espectro) se utiliza la transformada de Fourier. En la figura 2 se puede ver una imagen de los componentes básicos de un instrumento para espectroscopia FT-IR.

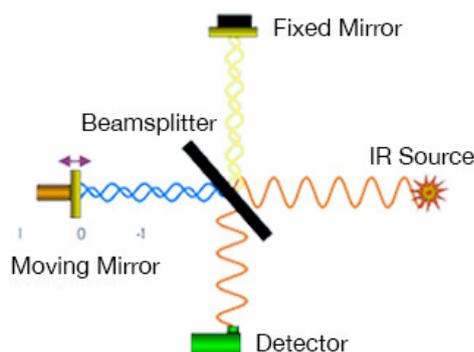


Figura 2. Componentes básicos de un instrumento FT-IR.

Entre otras ventajas, los instrumentos con transformada de Fourier mejoran significativamente la relación señal/ruido ya que permiten obtener el espectro como promedio de varios barridos, además proporcionan mayor rapidez y una alta resolución espectral.

La espectroscopia molecular en el infrarrojo medio (MIR), en el campo de los materiales plásticos, proporciona información vibracional a través de los espectros que permite identificar grupos funcionales, identificar materiales a partir de la huella dactilar, controlar procesos cinéticos, cuantificar copolímeros y mezclas, control y cuantificación de aditivos, estudio de procesos de degradación, análisis de impurezas,...

#### 4.1.2. Reflexión total atenuada (ATR)

Dependiendo de cómo se establezca la interacción radiación electromagnética-materia, existen distintos modos de análisis. La reflexión total atenuada (attenuated total reflectance, ATR) es una modalidad basada en la reflexión interna total que se produce cuando la radiación entra en un cristal de un material de alto índice de refracción (diamante, seleniuro de cinc, etc.) sobre el que se coloca la muestra. El haz reflejado penetra unos  $\mu\text{m}$  en la superficie en la que se refleja, atenuándose ciertas frecuencias debido a la absorción de radiación, lo que permite obtener el espectro de absorción. Existen dispositivos en los que se produce una única reflexión interna, o impacto, y otros en los que tienen lugar varias. Éstos últimos proporcionan una mayor sensibilidad.

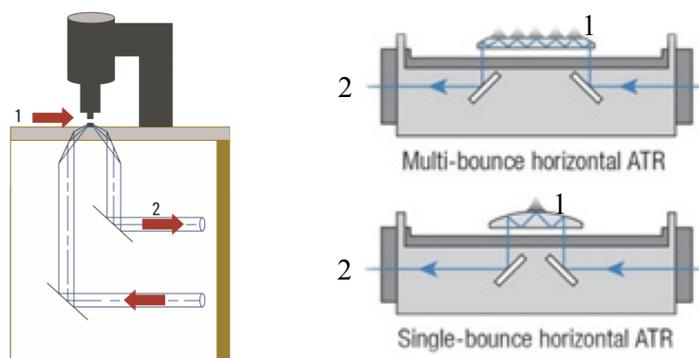


Figura 3. Esquema de funcionamiento del módulo ATR para un impacto (single bounce) y cinco impactos (multi-bounce). 1: posición de la muestra. 2: haz de radiación. (www.thermofisher.com)

ATR presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas de análisis más convencionales. Requiere poco o ningún tratamiento de la muestra, es fácilmente adaptable al estudio de líquidos y superficies, se realizan ensayos no destructivos, proporciona información cualitativa y cuantitativa simultánea de varios compuestos, es una técnica rápida y económica, etc.

Los materiales que son susceptibles de ser analizados con esta técnica son muy variados, desde laminados, pinturas, plásticos, cauchos, revestimientos, polvos o sólidos que se pueden molturar, hasta soluciones fluyen fácilmente, líquidos viscosos, revestimientos o materiales biológicos. En el campo de los materiales plásticos, proporciona información que permite identificar grupos funcionales, identificar materiales a partir de la huella dactilar, controlar procesos cinéticos, cuantificar copolímeros y mezclas, controlar y cuantificar aditivos, estudiar procesos de degradación, analizar impurezas, etc.

#### 4.2- Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS)

La regresión de mínimos cuadrados parciales (Partial Least Squares regression, PLS) es una técnica que reduce la dimensión de las variables experimentales, llamadas variables predictoras, a un conjunto más pequeño de variables, denominadas variables latentes, y realiza una regresión de mínimos cuadrados con éstas últimas para estimar una o varias respuestas. Resulta especialmente útil cuando las variables predictoras presentan altas colinealidades o están muy correlacionadas, como ocurre en las señales espectrales, ya que una regresión lineal múltiple llevaría a modelos muy inestables con coeficientes con gran incertidumbre. Asimismo, si se tienen más variables predictoras que muestras, puesto que, en este caso, la regresión lineal múltiple no se puede aplicar.

La regresión PLS se utiliza principalmente en las industrias químicas, farmacéuticas, alimentarias y de plásticos. Se usa de forma habitual para modelar la



relación entre señales espectrales de NIR, IR o UV, que incluyen muchas variables, que además suelen estar correlacionadas entre sí, y la composición química u otras propiedades físico-químicas.

Estos modelos de regresión construyen las variables latentes buscando direcciones de máxima varianza en las variables predictoras, pero evitando las no correlacionadas con la respuesta [17]. Las variables latentes son combinaciones lineales de las variables predictoras; los coeficientes de dichas combinaciones se denominan pesos y revelan la influencia de cada variable predictora en ellas, y las coordenadas de cada muestra en el espacio de las variables latentes se conocen como puntuaciones.

En general, a medida que se incrementan las variables latentes que constituyen el modelo PLS, mayor varianza de la respuesta explica éste o, de forma análoga, menor será el error cuadrático medio en calibración (root mean squares error of calibration, RMSEC). Pero, en igual medida, aumenta el riesgo de sobreajuste. La determinación del número de variables latentes que deben incluirse en el modelo se suele realizar mediante validación cruzada (cross-validation).

La validación cruzada consiste en predecir la respuesta en alguna/s muestra/s con un modelo de regresión PLS ajustado con las muestras restantes; el procedimiento se repite con todas las muestras. Cuando se tiene un número reducido de muestras, únicamente se deja fuera una muestra y la respuesta se predice con la demás; el método se denomina leave-one-out. Si el número de muestras es más elevado, se puede utilizar el método de persianas venecianas, en el que las muestras a predecir se seleccionan en bloques, con una alternancia determinada (cada muestra test se determina seleccionando cada objeto k-ésimo del conjunto de datos, comenzando por las muestras entre 1 y k). El modelo PLS seleccionado es aquel que, con el menor número de variables latentes, proporciona la mayor capacidad predictiva, es decir, el de menor error de predicción estimado a través del error cuadrático medio en predicción (root mean squares error of cross-validation, RMSECV).

El diagnóstico de datos anómalos se lleva a cabo mediante dos índices, los estadísticos Q y  $T^2$  de Hotelling. La suma de cuadrados residual (índice Q) es el residuo ortogonal de cada muestra al espacio de las variables latentes del modelo, mientras que el estadístico  $T^2$  de Hotelling indica la distancia al centroide. Un objeto se considera anómalo si supera el valor crítico establecido a para un nivel de significación dado.



---

## 5. EXPERIMENTAL

---

### 5.1- Reactivos, instrumentación y software

Los reactivos químicos empleados en este estudio fueron Diisobutil ftalato (CAS no 103-23-1) Sigma Aldrich al 99%, ciclohexano (CAS no 110-82-7) Analar Normapur del 100%, acetona (CAS no 67-64-1) grado HPLC, tetrahidrofurano (THF) (CAS no 109-99-9) PANREAC DEL 99,8%, hexano (CAS no 110-54-3) Merk, Chrosolv® del 98% para cromatografía de líquidos y 1,4-dioxano (CAS no 123-91-1) Panreac del 99,5% como disolventes.

Las medidas espectrofotométricas se han obtenido con un espectrofotómetro Cary 630 FTIR de Agilent, utilizando el programa MicroLab. Se utilizaron dos módulos con distintos tipos de cristales; uno de ellos con un cristal de diamante (de un impacto) y el otro con un cristal de seleniuro de cinc (de cinco impactos).

El análisis de datos se ha realizado con MATLAB (versión 7.10, The MathWorks) y PLS Toolbox [18]. Los modelos de calibración se validan utilizando STATGRAPHICS Centurion XVII [19]. El límite de decisión ( $CC\alpha$ ) y la capacidad de detección ( $CC\beta$ ) se calculan mediante el programa Detarchi [20].

### 5.2- Preparación de disoluciones

La disolución madre se prepara en ciclohexano a partir de DiBP puro, medido por pesada. Las disoluciones intermedias o patrones se preparan por dilución de la anterior, con el mismo disolvente. Todas las disoluciones se llevan a viales cerrados y se analizan en el momento.

### 5.3- Procedimiento experimental

En todos los casos, se registran los espectros de absorción molecular en la región espectral comprendida entre 650 y 4000 nm, en intervalos de 1.86 nm. Con una ganancia de 225 para el cristal de diamante, y de 255 para el de seleniuro de cinc.

#### 5.3.1- Calibración directa en disolución

*Calibrado 1:* Se preparan 11 patrones de calibrado de DiBP con concentraciones: 104, 209, 419, 629, 839, 1049, 1258, 1468, 1678, 1888, 2098 ppm. Con una micropipeta se depositan sobre el cristal un volumen de disolución y se registra el espectro, como promedio de 8 barridos. Antes de cada medida, se registra el fondo (background) al aire.



*Calibrado 2:* Se preparan 10 patrones con concentraciones de DiBP 0, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000, 20.000, 24.000, 28.000, 32.000, 36.000 ppm. Se procede como para el calibrado 1, pero en este caso se obtienen los espectros promediando 8 y 16 barridos. Así mismo, el fondo se resta tanto depositando ciclohexano sobre el cristal como al aire antes de cada medida.

*Calibrado 3:* las concentraciones de los 11 patrones son 0, 4.000, 8.000, 12.000, 16.000, 20.000, 24.000, 28.000, 32.000, 36.000 y 40.000 ppm. En este caso, se varía el número de barridos para restar el fondo y para registrar los espectros, promediándose 8, 16, 32 y 64 barridos.

### 5.3.2- Estudio del tiempo de evaporación

Se añaden 50  $\mu\text{L}$  de muestra y se registra el espectro cada 20 segundos. Cuando desaparecen las bandas características del disolvente, se deduce que éste se ha evaporado por completo, siendo ese el tiempo de evaporación del mismo.

### 5.3.3- Calibración con preconcentración

Se preparan 13 disoluciones con concentración de DiBP: 0, 1,135, 3,945, 6,575, 12,624, 39,45, 52,6, 65,75, 92,05, 118,35, 131,5, 144,65 y 170,42 ppm. En el caso de un único depósito, se disponen 50  $\mu\text{L}$  de disolución sobre el cristal y, transcurridos 2 minutos y 30 segundos, se registra el espectro correspondiente.

Para un número de depósitos superior, se parte del mismo volumen de muestra y, transcurrido el tiempo indicado, se realiza un nuevo depósito, repitiéndose el procedimiento hasta completar 3 ó 5 depósitos. Tras completar los depósitos que corresponda, se registra el espectro.

---

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 6.1- Estudios previos

Se ha obtenido el espectro del DiBP depositando un volumen del ftalato puro sobre el cristal de diamante. El espectro se muestra en la figura 4a. Así mismo, se han obtenido espectros de algunos disolventes que son habituales en esta técnica para este tipo de analitos, para estudiar cuál es el que interfiere menos en las bandas del DiBP. Se han considerado tetrahidrofurano (THF), ciclohexano, hexano, acetona y dioxano.

En la figura 4 se observa que las bandas características del DiBP se encuentran en la zona de  $600\text{ cm}^{-1}$  a  $2000\text{ cm}^{-1}$ , siendo la zona de  $3000\text{ cm}^{-1}$  la correspondiente con las bandas características de los ciclos y por tanto la menos relevante ya que prácticamente todos los disolventes seleccionados son ciclos. Como se ve en dicha figura, todos los disolventes presentan bandas en la zona de interés, pero es el ciclohexano (figura 4c) el que parece que presenta menos bandas características que



interfieran, éstas son las correspondientes a una banda de tensión C(sp<sup>3</sup>)-H en la zona de 3000 cm<sup>-1</sup> y otra banda de flexión CH<sub>2</sub> a 1400 cm<sup>-1</sup>.

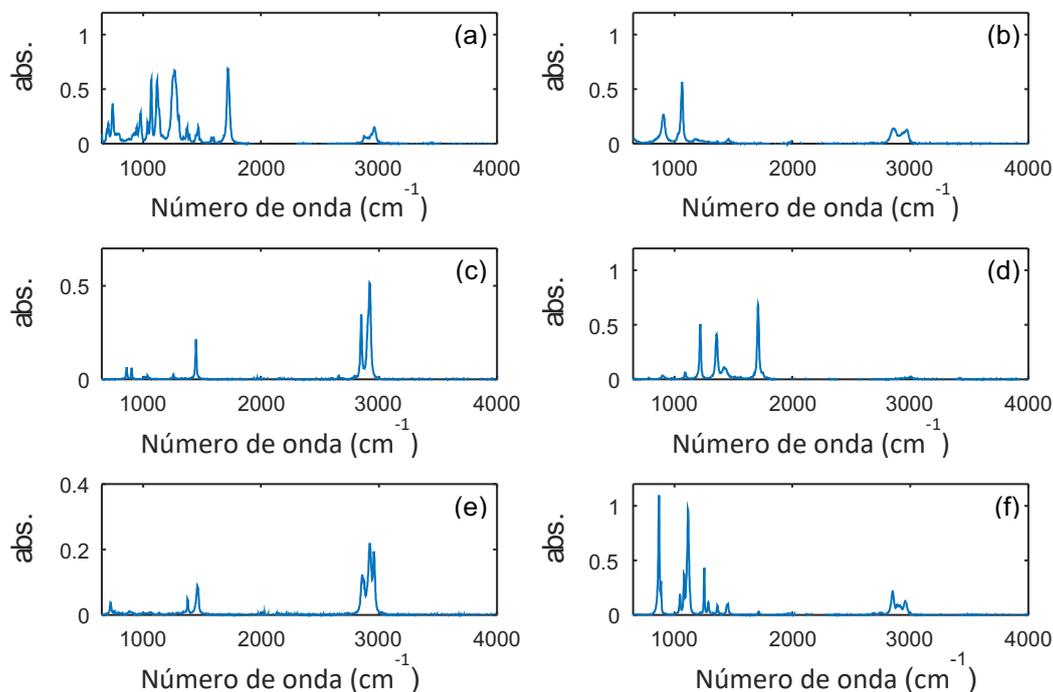


Figura 4. Espectros MIR registrados para (a) DiBP, (b) THF, (c) ciclohexano, (d) acetona, (e) hexano, y (f) dioxano

## 6.2- Medidas directas en disolución

### 6.2.1. Calibrado 1

En una primera aproximación, para evaluar la viabilidad de esta técnica de análisis en la determinación de DiBP, se ha realizado un calibrado en el rango de concentración de 100 a 2000 ppm de DiBP. Para cada uno de los 11 patrones de calibrado se registra el espectro como se ha indicado en la sección 5.3.1. Debido al elevado número de bandas que presentan los espectros en el infrarrojo medio, es habitual recurrir a métodos multivariantes de calibrado, que tienen en cuenta la información contenida en el espectro completo y no sólo a una longitud de onda. Se consideran los valores de absorción desde 650 cm<sup>-1</sup> a 1951 cm<sup>-1</sup>, de modo que los datos espectrales se disponen en una matriz de dimensión 11 × 699.

En la figura 5, se muestran los espectros correspondientes a dos patrones de calibrado, así como las señales resultantes tras realizar el autoescalado y la derivada primera de los mismos. Se observa cómo la señal cambia completamente de un pretratamiento a otro, siendo el correspondiente a los datos autoescalados el que presenta mayor confusión ya que, al autoescalar, se potencia el ruido de la señal.

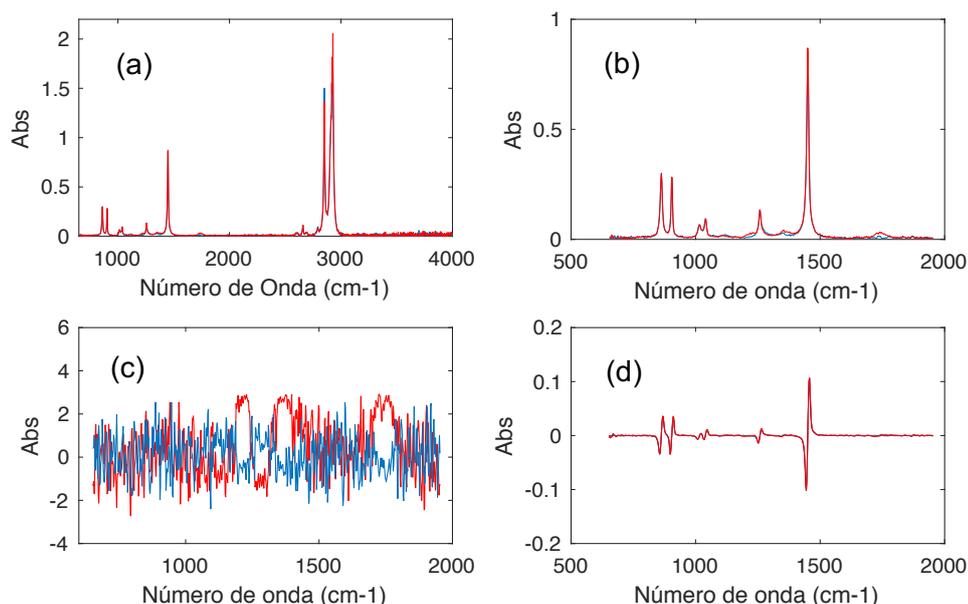


Figura 5. Espectros correspondientes a las muestras de 104 (azul) y 2098 ppm (rojo) de DiBP en ciclohexano. Espectros originales en el rango espectral completo (a) y en el rango seleccionado (b). Espectros autoescalados (c) y con la primera derivada (d).

### Regresión de componentes principales

Se ajusta un modelo de regresión de componentes principales para determinar la concentración de DiBP. Este estudio se lleva a cabo con los datos originales, con los datos autoescalados y con la derivada primera (aplicando el filtro de Savitzky-Golay, ventana 9, polinomio de orden 2). En la tabla 1, aparecen los porcentajes de varianza explicada tanto en el bloque X de las variables predictoras, como en el bloque Y de la respuesta, la concentración de DiBP. Así mismo, se pueden ver también los valores del error cuadrático medio en calibración (RMSEC) y en predicción (RMSECV).

En la tabla 1 se observa que la varianza de la respuesta explicada por los modelos de regresión seleccionados, marcados en negrita, en ningún caso alcanza valores cercanos al 100%. El valor más alto es del 97,2% con los datos originales, pero tan solo se llega a un 72,5% cuando se utilizan los datos con la primera derivada. Además, se observan grandes diferencias entre los valores de RMSEC y RMSECV, lo que indica que los modelos tienen una baja capacidad predictiva. Esto supone que la regresión sobre componentes principales no es capaz de modelar la relación existente entre la concentración del DiBP y los espectros registrados. Hay que tener en cuenta que, cuando se construyen las componentes principales, se tiene únicamente en cuenta la variabilidad de las variables predictoras y no la respuesta, por lo que es posible que la información contenida en las primeras componentes principales no aporte información suficiente para establecer el modelo de regresión. Ello podría deberse a que las señales espectrales tienen mucho ruido; de hecho, en el análisis con los datos autoescalados, donde el ruido se ve potenciado, es donde se obtienen



los peores resultados. Para intentar resolver esta cuestión, se recurre a modelos PLS que, para obtener las variables latentes, sí que tienen en cuenta la respuesta.

Tabla 1 Número de componentes principales, variables latentes, varianza explicada y error cuadrático medio en calibración y cross-validation de los modelos de regresión multivariantes construidos con los datos del calibrado 1. En negrita se indican los modelos seleccionados.

Datos	PCR					PLS				
	PC	Var. X (%)	Var Y (%)	RMSEC	RMSECV	VL	Var. X (%)	Var Y (%)	RMSEC	RMSECV
Originales	1	99.89	72.49	651.17	716.41	1	99.89	72.51	651.02	716.33
	2	99.93	82.91	513.29	610.21	2	99.93	90.17	389.30	545.37
	3	99.94	85.09	479.47	584.72	<b>3</b>	<b>99.94</b>	<b>99.36</b>	<b>99.48</b>	<b>494.22</b>
	4	99.95	95.27	270.08	544.42	4	99.95	99.91	36.38	489.97
	5	99.96	95.50	263.38	539.61	5	99.96	100.00	5.86	490.21
	<b>6</b>	<b>99.97</b>	<b>97.19</b>	<b>208.25</b>	<b>488.45</b>	6	99.97	100.00	0.98	490.79
Autoesc.	1	24.29	51.69	451.03	537.53	1	22.07	89.07	214.49	442.84
	2	36.56	94.88	146.79	446.30	<b>2</b>	<b>36.15</b>	<b>99.56</b>	<b>43.19</b>	<b>402.92</b>
	3	46.72	94.90	146.60	419.70	3	43.51	100.00	3.36	403.17
	4	55.61	95.03	144.72	418.43	4	51.43	100.00	0.24	403.42
	<b>5</b>	<b>64.13</b>	<b>95.30</b>	<b>140.73</b>	<b>411.82</b>	5	59.95	100.00	0.03	403.38
	6	71.97	96.23	125.92	412.74	6	68.75	100.00	0.00	403.38
1ª Derivada	<b>1</b>	<b>99.79</b>	<b>72.52</b>	<b>650.82</b>	<b>715.86</b>	1	99.79	72.53	650.73	715.88
	2	99.89	72.66	649.25	750.25	2	99.82	94.09	301.92	871.30
	3	99.92	72.67	649.12	815.85	3	99.90	98.03	174.21	722.49
	4	99.94	83.61	502.63	778.66	<b>4</b>	<b>99.92</b>	<b>99.84</b>	<b>49.21</b>	<b>653.41</b>
	5	99.95	89.77	397.02	762.72	5	99.94	99.94	29.34	681.83
	6	99.96	92.95	329.67	748.05	6	99.96	100.00	7.85	680.38

### Regresión por mínimos cuadrados parciales

Se ajusta un modelo de regresión PLS para determinar la concentración de DiBP. De igual manera que en el caso anterior, se utilizan los datos originales, los datos autoescalados y la primera derivada. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en este caso. Los modelos PLS finales son los que se marcan en negrita.

En todos los casos, se alcanzan varianzas explicadas de la respuesta muy próximas al 100%, a diferencia del caso anterior, lo que señala la buena capacidad predictiva de los modelos en calibración. Sin embargo, al observar los valores RMSECV correspondientes, se puede ver que en todos los casos son extremadamente elevados si se comparan con los valores de RMSEC. Esto se puede ver gráficamente, a modo de ejemplo, en la figura 6a, donde se muestra el error cuadrático medio en calibración y en cross-validation; la diferencia entre ambos errores es muy significativa. El error mínimo en predicción se alcanza con 4 variables



latentes, pero a partir de la tercera ya se observa un sobreajuste del modelo; con dos variables latentes únicamente se explica el 90% de la varianza.

Todo esto implica que los modelos construidos son capaces de modelar las señales frente a la concentración de DiBP en calibrado, pero no en predicción, cuando se utiliza la validación cruzada. Por tanto, estos modelos tampoco son válidos ya que no se pueden utilizar para predecir, posiblemente porque PLS no es capaz de eliminar la contribución del ruido que presentan los espectros. Esto podría deberse a que la concentración del analito es excesivamente baja, a que los espectros se han registrado con mucho ruido,...

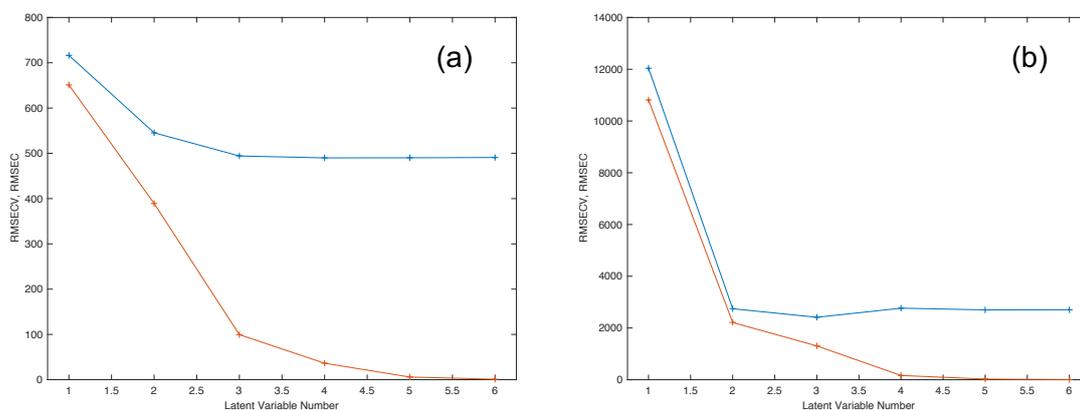


Figura 6. Errores cuadráticos medios en calibración y en cross-validation obtenidos a partir de los datos originales (en las mismas condiciones instrumentales) para el calibrado 1 (a) y calibrado 2 (b).

### 6.2.2- Calibrado 2

Para estudiar cuál puede ser el factor limitante, se realiza un nuevo análisis en un rango de concentraciones más altas. Asimismo, se realiza la estimación del fondo tanto al aire como con el disolvente, ciclohexano, y se consideran las señales obtenidas como promedio de 8 y 16 espectros. Se preparan 10 patrones de calibrado con concentraciones entre 0 y 36.000 ppm, se depositan 100 $\mu$ L de cada disolución y se registra los espectros.

Registrando el fondo al aire antes de cada muestra, se obtienen dos conjuntos de espectros, uno de ellos promediando 8 espectros y el otro promediando 16. De igual manera, se obtienen otros dos conjuntos adicionales, pero registrando el fondo con ciclohexano. Los espectros correspondientes a la segunda y décima muestras de calibrado aparecen en la figura 7, donde se puede ver cómo varían las señales cuando se utiliza ciclohexano para registrar el fondo, frente a registrarlo al aire, en cambio no se aprecia variación al incrementar el número de barridos promediados.

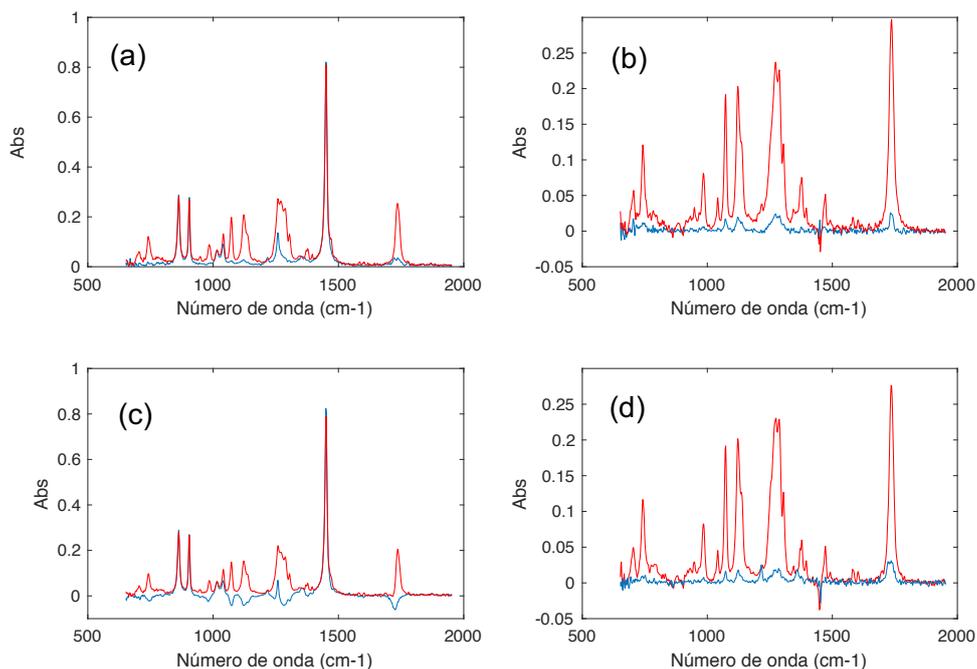


Figura 7. Espectros de DiBP de las muestras de 4000 ppm (azul) y 36000 ppm (rojo). Promedio de 8 barridos cuando se registra el fondo al aire (a) y con ciclohexano (b). Promedio de 16 barridos registrando el fondo al aire (c) y con ciclohexano (d).

Se construyen los modelos de regresión PLS, como en el caso anterior, con los datos originales, autoescalados y con la primera derivada. En cada caso, se tiene una matriz de datos de dimensión  $11 \times 699$ . Los resultados obtenidos con estos modelos se muestran en las tablas 2 y 3.

Los modelos obtenidos con los datos autoescalados tienen valores por encima del 99,5% de varianza explicada de la respuesta en calibración, es decir, RMSEC bajos, pero sin embargo siguen sin tener capacidad predictiva ya que los valores de RMSECV son muy elevados en todos los casos. Queda claro, por tanto, que este pretratamiento no es adecuado para este tipo de datos.

En cuanto a considerar los datos originales o la derivada primera, se alcanzan valores elevados de varianza explicada de la respuesta en calibración, pero en este caso los modelos sí que tienen valores de RMSECV aceptables. La figura 7b se pueden ver los RMSEC y RMSCV de dos modelos PLS construidos para los diferentes rangos de concentraciones; la desproporción entre ambos errores de la figura 7a, queda minimizada en la figura 7b. Todo esto evidencia la buena calidad de estos modelos de regresión, a diferencia de los obtenidos en el apartado 6.1.1.



Tabla 2. Variables latentes, varianza explicada y error cuadrático medio en calibración y cross-validación de los modelos de regresión multivariantes construidos con los datos del calibrado 2 para 8 espectros promediados. En negrita se indican los modelos seleccionados.

Fondo	Pretrat.	VL	X Cum Variance (%)	Y Cum Variance (%)	RMSECV	RMSEC
Aire	Originales	1	98.67	74.36	12038	<b>10812</b>
		<b>2</b>	<b>99.88</b>	<b>98.93</b>	<b>2745</b>	<b>2212</b>
		3	99.92	99.63	2414	<b>1307</b>
		4	99.94	99.99	2766	<b>164</b>
	Autoesc.	1	46.66	95.25	3873	<b>2503</b>
		<b>2</b>	<b>58.04</b>	<b>99.49</b>	<b>3534</b>	<b>819</b>
		3	64.04	100.0	3656	<b>43</b>
		4	70.51	100.0	3647	<b>4</b>
	1ªDerivada	1	99.10	71.76	12621	<b>11348</b>
		<b>2</b>	<b>99.82</b>	<b>99.41</b>	<b>2105</b>	<b>1644</b>
		3	99.84	99.95	2718	<b>461</b>
		4	99.87	100.0	2513	<b>137</b>
Cicloh.	Originales	1	97.90	99.13	2317	<b>1990</b>
		<b>2</b>	<b>98.86</b>	<b>99.76</b>	<b>1484</b>	<b>1044</b>
		3	99.06	99.95	1626	<b>468</b>
		4	99.29	99.99	1577	<b>213</b>
	Autoesc.	1	60.97	96.14	3110	<b>2257</b>
		<b>2</b>	<b>67.75</b>	<b>99.81</b>	<b>2548</b>	<b>507</b>
		3	72.80	99.98	2493	<b>141</b>
		4	77.62	100.0	2505	<b>22</b>
	1ªDerivada	<b>1</b>	<b>90.85</b>	<b>99.43</b>	<b>1784</b>	<b>1613</b>
		2	94.77	99.63	2343	<b>1307</b>
		3	96.08	99.94	2245	<b>534</b>
		4	96.49	100.0	1979	<b>142</b>

En general, cuando el fondo se registra con ciclohexano, los modelos tienen varianzas explicadas del bloque Y mayores y RMSECV más bajos que cuando se registra al aire. La sustracción de la señal del disolvente antes de cada medida mejora ligeramente la calidad de los modelos.

Respecto al número de barridos promediados para obtener cada espectro, los modelos PLS ajustados con el fondo registrado al aire tienen mayor capacidad predictiva cuando se promedian 8 espectros. En cambio, cuando el fondo se ajusta con ciclohexano, los mejores modelos se obtienen cuando se promedian 16 espectros.



Tabla 3. Variables latentes, varianza explicada y error cuadrático medio en calibración y cross-validation de los modelos de regresión multivariantes construidos con los datos del calibrado 2 para 16 espectros promediados. En negrita se indican los modelos seleccionados

Fondo	Pretrat.	VL	X Cum Variance (%)	Y Cum Variance (%)	RMSECV	RMSEC
Aire	Originales	1	89.20	67.11	12900	11400
		2	99.55	71.80	12800	10500
		<b>3</b>	<b>99.89</b>	<b>97.40</b>	<b>5140</b>	<b>319</b>
		4	99.92	99.77	4650	958
	Autoesc.	1	57.38	36.13	12410	8844
		2	70.51	94.18	11432	2670
		<b>3</b>	<b>76.56</b>	<b>99.81</b>	<b>11535</b>	<b>489</b>
		4	81.77	100	11529	53
	1ªDerivada	1	94.92	68.05	12600	11200
		2	98.87	77.99	11800	9300
		<b>3</b>	<b>99.84</b>	<b>98.85</b>	<b>3270</b>	<b>2130</b>
		4	99.88	99.81	3550	866
Cicloh.	Originales	<b>1</b>	<b>98.89</b>	<b>99.90</b>	<b>839</b>	<b>713</b>
		2	99.24	99.95	887	510
		3	99.46	99.99	951	228
		4	99.60	100	900	72
	Autoesc.	1	58.89	99.21	1651	984
		<b>2</b>	<b>69.86</b>	<b>99.92</b>	<b>1382</b>	<b>303</b>
		3	77.05	99.99	1323	123
		4	85.08	100	1327	34
	1ªDerivada	1	93.70	99.47	1837	1553
		<b>2</b>	<b>96.83</b>	<b>99.83</b>	<b>1288</b>	<b>893</b>
		3	97.49	99.95	1272	485
		4	98.51	99.98	1197	319

Se han calculado los valores de límite de decisión ( $CC\alpha$ ) y capacidad de detección ( $CC\beta$ ) en todos los casos; éstos se muestran en la tabla 4. Se alcanzan concentraciones más bajas cuando se han registrado los espectros del fondo utilizando ciclohexano, llegando a un valor en torno a 1850 ppm para  $CC\alpha$ , y de 3600 ppm para  $CC\beta$ . También se observa que el llevar a cabo el promediado de los espectros con 16 barridos en lugar de con 8 supone una mejora de ambos parámetros. En este caso, los valores más bajos de estas figuras de mérito se obtienen con los datos originales.



Tabla 4. Límites de detección para los datos originales y su primera derivada, del procedimiento calibrado 2, con el fondo registrado con ciclohexano como al aire para 8 y 16 barridos promediados ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

Barridos	Pretratamiento	Fondo	CC $\alpha$ (ppm)	CC $\beta$ (ppm)	Coef. Var. (%)
8	Originales	Aire	5530	10580	13.50
		Ciclohexano	2460	4792	6.14
	1ªDerivada	Aire	4004	7791	10.10
		Ciclohexano	3749	7293	9.02
16	Originales	Aire	8344	16180	21.20
		Ciclohexano	1853	3592	4.11
	1ªDerivada	Aire	5427	10510	14.42
		Ciclohexano	2351	4558	6.55

### 6.2.3- Calibrado 3

Por último, se ha estudio con mayor detalle el efecto de incrementar el número de barridos que se promedian para obtener la señal; se han considerado 8, 16, 32 y 64 barridos para registrar tanto el fondo como la muestra. Se preparan 10 patrones de calibrado, en el rango entre 0 y 40.000ppm, que se miden por triplicado, registrando el fondo al aire en todos los casos.

En la figura 8 se muestran los espectros obtenidos, para una misma muestra, promediando las señales con los distintos números de barridos. Como se observa en la figura, se produce un incremento de las señales más débiles cuando se aumenta considerablemente el número de barridos, como ocurre en el caso de 32 barridos (figura 8c) y en el de 64 (figura 8d).

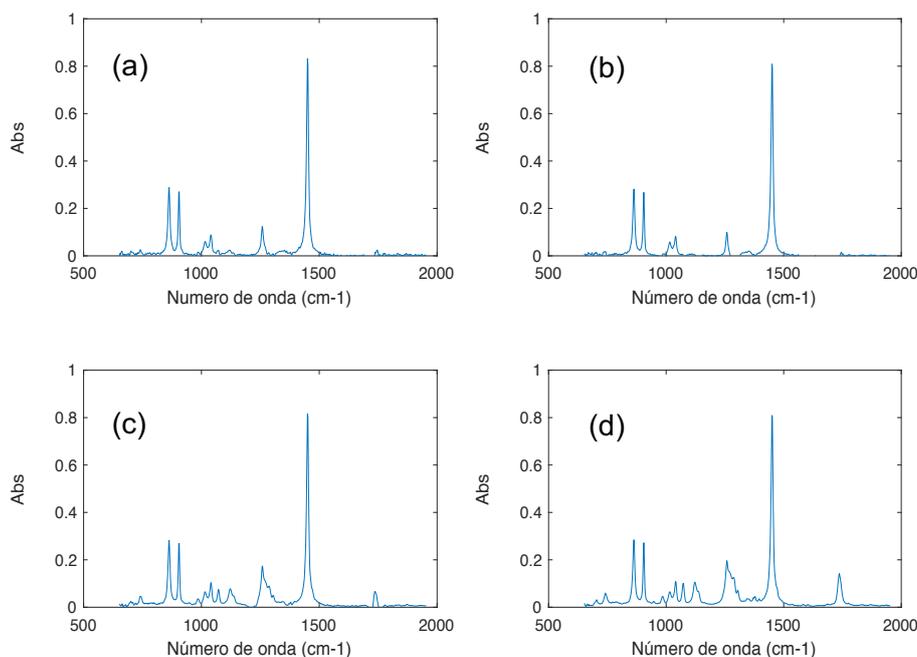


Figura 8. Espectros del patrón de 24.000 ppm de DiBP obtenidos promediando 8 (a), 16 (b), 32 (c), y 64 (d) barridos.



Con las señales obtenidas a partir de los patrones de calibrados, se construyen modelos de regresión PLS utilizando los datos originales, autoescalados y con la primera derivada. Las matrices de datos tienen de dimensión  $30 \times 699$ . En este caso, como se dispone de más muestras, la validación cruzada se ha llevado a cabo con el método de ventanas venecianas para evitar un posible sobreajuste en los modelos de regresión. En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de estos modelos.

Tabla 5. Pretratamiento, variables latentes, número de datos, varianzas explicadas y error cuadrático medio en calibración y cross-validation de los modelos de regresión multivariantes construidos con los datos del calibrado 3 para 8, 16, 32 y 64 espectros promediados. En negrita se indican los modelos seleccionados

Barridos	Pretrat.	nº de datos	V.L.	Var. Expl. (X)	Var. Expl. (Y)	RMSEC	RMSECV
8	Originales	30	5	99.90	99.96	450	3404
	Autoesc.	30	2	91.40	76.01	6498	18736
	<b>Derivada</b>	<b>30</b>	<b>3</b>	<b>99.76</b>	<b>99.85</b>	<b>943</b>	<b>1092</b>
16	Originales	30	3	99.92	99.71	1287	1565
	Autoesc.	29	3	77.59	99.55	882	2818
	<b>Derivada</b>	<b>30</b>	<b>3</b>	<b>99.86</b>	<b>99.78</b>	<b>1136</b>	<b>1378</b>
32	Originales	29	3	99.91	99.57	1598	1685
	Autoesc.	30	3	97.57	97.02	2289	9335
	<b>Derivada</b>	<b>28</b>	<b>3</b>	<b>99.91</b>	<b>99.81</b>	<b>1065</b>	<b>1532</b>
64	Originales	29	4	99.96	99.81	1061	1528
	Autoesc.	28	2	88.9	96.58	2363	3160
	Derivada	30	3	99.95	99.54	1620	2310

La tabla 5 recoge los porcentajes de varianza explicada y los errores cuadráticos medios en calibración y en cross-validation de los modelos PLS con el número de variables latentes seleccionadas en cada caso. Se han eliminado aquellos datos que se han considerado anómalos debido a que tenían valores de los índices Q y/o  $T^2$  de Hotelling por encima del umbral al 95%.

Como en los casos anteriores, los modelos obtenidos a partir de los datos autoescalados proporcionan los peores resultados, con valores de RMSEC y RMSECV elevados, lo cual lleva a considerar estos modelos como no válidos.

En cuanto a los otros pretratamientos, originales y primera derivada, se alcanzan en ambos casos valores elevados de varianza explicada de la respuesta en calibración. Respecto a los valores de RMSEC y RMSECV, son considerablemente menores, por lo que puede decirse que estos modelos tienen una capacidad predictora notablemente mejor. En el caso de utilizar los datos con la primera derivada, en general, se obtienen valores de RMSEC y RMSECV menores que en el caso de los datos originales, utilizando menor número de variables latentes. Cabe destacar que, en el caso del estudio con 64 barridos promediados tanto para el fondo como para la muestra, el tiempo de adquisición se incrementa notablemente y se aprecia durante el ensayo como el disolvente comienza a evaporarse durante el registro del espectro. Es por ello por lo que las medidas con este promedio de barridos presentan discrepancias con los otros casos.



En la tabla 6 se muestran los valores de la capacidad de detección y límite de decisión calculados a partir de primera derivada de las señales. Se observa como aumentan ambos parámetros con el número de barridos promediados, así como el coeficiente de variación. Esto puede deberse, como ya se ha comentado anteriormente, al efecto de evaporación del disolvente.

Tabla 6. Capacidad de detección y límite de decisión calculados con la primera derivada de los espectros ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

Barridos	Cc $\alpha$ (ppm)	Cc $\beta$ (ppm)	Coef. Var. (%)
8	1102	2184	4.89
16	1335	2647	5.86
32	1375	2725	5.73
64	1911	3788	8.37

### 6.3- Medidas con preconcentración

La última parte del trabajo consiste en realizar los análisis incluyendo una etapa previa de preconcentración, con el objetivo de incrementar la sensibilidad del procedimiento. En primer lugar, se estudia el tiempo que tarda el ciclohexano en evaporarse para realizar la preconcentración de forma sistemática. Para ello, se registra el espectro de 50  $\mu$ L de ciclohexano cada 20 segundos hasta 3 minutos. Se anota el tiempo al cual desaparecen las señales de las bandas características de éste. A continuación, se repite el proceso con una disolución de 4000 ppm de DiBP en ciclohexano, para estudiar el proceso de evaporación en presencia del ftalato. Los valores obtenidos se muestran en la tabla 7. En ambos casos, el procedimiento se realiza por triplicado.

Tabla 7. Tiempo de evaporación del ciclohexano puro y en disolución de 40.000 ppm

Réplicas	Ciclohexano	Ciclohexano + DiBP
t1	2'27"	1'45"
t2	2'25"	1'43"
t3	2'23"	1'45"

Como se observa en la tabla, el tiempo de evaporación del ciclohexano disminuye en presencia del ftalato. Se toman 2' 30" como tiempo para el proceso de preconcentración, para asegurar la total evaporación del disolvente.

A continuación, se realiza un calibrado multivariante. Para ello, se preparan disoluciones de concentraciones entre 0 y 170,42 ppm, se preconcentran y se registran sus espectros como se ha explicado en el punto 5.3.3. En la figura 9 Se muestran los espectros obtenidos para una misma muestra con 1, 3 y 5 depósitos. Se puede observar cómo las bandas características del DiBP incrementan su intensidad a medida que crece el número de depósitos.

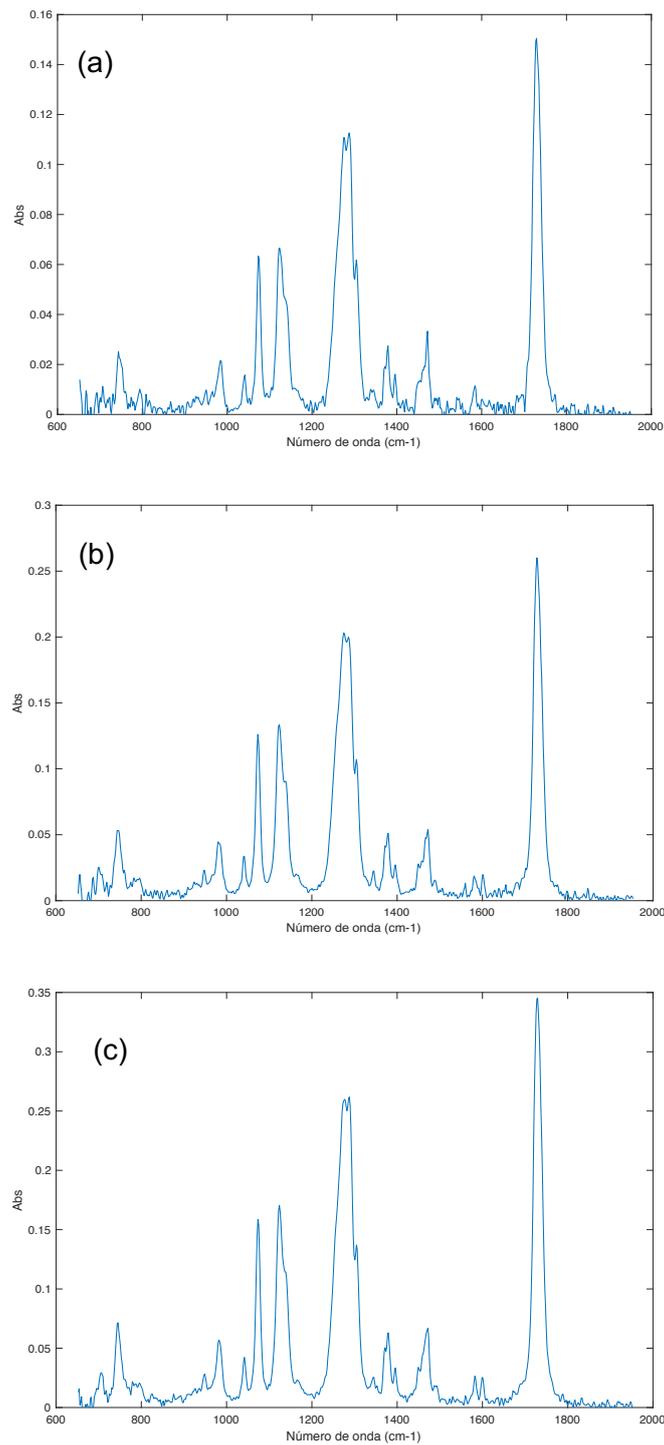


Figura 9. Espectro correspondiente a una muestra para los datos obtenidos en el procedimiento de preconcentración para 1 depósito (a), 3 depósitos (b) y 5 depósitos (c).

Con los datos obtenidos, se construyen 3 modelos de regresión PLS para cada número de depósitos establecido. Estos modelos se ajustan a partir de los datos originales, de los datos autoescalados y con la primera derivada. En este caso, se utiliza como método de validación cruzada, el método “leave one out”, ya que se



dispone de menor número de muestras. Las matrices de datos tienen dimensión  $12 \times 699$ . En la tabla 8 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con cada tratamiento de datos.

Tabla 8. Número de depósitos, pretratamiento, variables latentes, varianzas explicadas y error cuadrático medio en calibración y predicción de los modelos de regresión multivariante construidos con los datos de Preconcentración. En negrita se marcan los modelos seleccionados

Depósitos	Pretrat.	V.L	X Cum Variance (%)	Y Cum Variance(%)	RMSECV	RMSEC
1	Originales	1	<b>98.20</b>	<b>56.96</b>	<b>61.03</b>	<b>59.47</b>
		2	98.43	95.79	56.98	18.59
		3	98.64	99.73	58.18	4.72
		4	98.87	99.98	57.54	1.28
		5	99.01	100.0	57.51	0.25
	Autoesc.	1	47.12	36.11	60.59	46.73
		2	54.53	93.61	61.84	14.78
		<b>3</b>	<b>62.54</b>	<b>99.54</b>	<b>61.69</b>	<b>3.98</b>
		4	67.05	99.99	61.53	0.53
		5	71.32	100.0	61.46	0.05
	1ªDerivad.	1	89.41	59.10	59.86	57.97
		<b>2</b>	<b>94.40</b>	<b>75.66</b>	<b>55.72</b>	<b>44.72</b>
		3	95.10	95.61	69.77	19.00
		4	96.11	99.09	68.04	8.67
		5	96.90	99.84	67.20	3.64
3	Originales	1	98.80	71.02	52.28	48.11
		<b>2</b>	<b>99.21</b>	<b>98.16</b>	<b>22.95</b>	<b>12.11</b>
		3	99.30	99.81	23.20	3.92
		4	99.40	99.99	23.21	1.06
		5	99.50	100.0	23.09	0.30
	Autoesc.	1	66.25	34.93	60.78	47.16
		<b>2</b>	<b>70.49</b>	<b>95.42</b>	<b>61.68</b>	<b>12.51</b>
		3	74.36	99.82	61.50	2.48
		4	77.21	99.99	61.12	0.59
		5	80.69	100.0	61.11	0.15
	1ªDerivad.	1	93.36	71.35	52.08	47.83
		<b>2</b>	<b>95.53</b>	<b>96.48</b>	<b>29.14</b>	<b>16.77</b>
		3	97.35	98.76	26.65	9.94
		4	97.67	99.87	29.10	3.17
		5	98.16	99.97	29.07	1.42
5	Originales	<b>1</b>	<b>99.34</b>	<b>60.18</b>	<b>55.12</b>	<b>50.18</b>
		2	99.64	80.16	63.11	35.42
		3	99.70	98.67	60.73	9.18
		4	99.74	99.96	57.65	1.67
		5	99.83	99.99	57.89	0.77
	Autoesc.	1	68.18	41.20	58.13	44.83
		2	80.04	78.13	48.92	27.34
		3	82.21	98.49	53.37	7.19
		<b>4</b>	<b>87.42</b>	<b>99.44</b>	<b>49.48</b>	<b>4.36</b>
		5	90.65	99.92	49.58	1.63
	1ªDerivada	1	94.46	62.51	69.50	57.15
		<b>2</b>	<b>97.45</b>	<b>94.16</b>	<b>28.36</b>	<b>22.55</b>
		3	98.15	98.03	23.32	13.11
		4	98.81	99.01	22.78	9.26
		5	99.10	99.85	21.81	3.61



En esta tabla se muestran tanto los valores de varianza explicada para el bloque de las variables predictoras (X) como para el bloque de la respuesta (Y), así como los valores del error cuadrático medio en calibración y en predicción, RMSEC y RMSECV respectivamente. Se observa que, cuando se realiza un único depósito, con los datos originales y con la primera derivada, se alcanzan valores de varianza explicada de la respuesta muy bajos. El mayor porcentaje de varianza explicada de la respuesta se obtiene con los datos autoescalados, siendo necesarias 3 variables latentes, pero lleva consigo valores RMSEC y RMSECV elevados y diferentes entre sí, lo que indica que el modelo no es muy estable, por lo que se han desestimado.

Cuando la preconcentración se lleva a cabo con 3 depósitos, la varianza explicada más alta se obtiene con los datos originales, llegando a un 98,16% con el modelo con 2 variables latentes, que presenta valores de RMSEC y RMSECV bajos. Mientras que con los otros pretratamientos se obtienen menores varianzas explicadas para la respuesta y valores más altos tanto de RMSEC y RMSECV.

En el caso de la preconcentración con 5 depósitos, la mayor varianza explicada para la respuesta se alcanza con el modelo PLS construido con los datos autoescalados, con 4 variables latentes, pero presenta valores de RMSEC y RMSECV muy grandes. Los valores más bajos de ambos errores se obtienen con el modelo ajustado con la primera derivada, aunque explica solamente un 94,16% de la varianza de la respuesta, con 2 variables latentes. Se podría llegar a explicar el 99,85 % de la varianza si se considerasen 5 variables latentes, pero esto implicaría que el modelo está sobreajustado, es decir, que únicamente es capaz de predecir la concentración del conjunto de calibrado, pero no predice correctamente las muestras que no han participado en la construcción del modelo (RMSECV).

Por último, se calculan los valores de  $CC\alpha$  y  $CC\beta$  alcanzados con este procedimiento de análisis, que se muestran en la tabla 9. Como puede observarse, en todos los casos los valores obtenidos se encuentran muy por debajo de los calculados en el apartado 6.2, donde se realiza la determinación directa del DiBP en disolución, sin preconcentración. No se han encontrado diferencias significativas entre los valores alcanzados para estas dos figuras de mérito al incrementar el número de depósitos.

Tabla 9. Límites de detección para la primera derivada de los datos obtenidos en el proceso de calibrado 3, para 1, 3 y 5 depósitos ( $\alpha = \beta = 0.05$ ).

Depósitos	Pretratamiento	$CC\alpha$ (ppm)	$CC\beta$ (ppm)	Coef. Var. (%)
1	1ªDerivada	129.36	252.9	70.91
3	Originales	26.59	51.96	19.42
	1ªDerivada	37.32	72.96	25.47
5	1ªDerivada	50.92	99.31	36.34



---

## 7. CONCLUSIONES

---

El ciclohexano resulta ser el disolvente más idóneo para llevar a cabo el análisis de DiBP en disolución mediante ATR-FTIR ya que es el que menos interferencias presenta en las bandas características de ese ftalato.

El cristal de seleniuro de cinc, con cinco rebotes, como interfase en las medidas espectrales, proporciona señales de mayor intensidad que el cristal de diamante de un rebote.

La medida directa de disoluciones de DiBP en ciclohexano permite llegar a determinar concentraciones de hasta 2.000 ppm del ftalato con probabilidad de falso positivo y falso negativo del 5%.

La regresión de componentes principales (PCR) no es capaz de modelar las señales obtenidas a concentraciones bajas de DiBP, con una contribución muy significativa de ruido, al contrario que la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS). Sin embargo, los modelos PLS obtenidos tienen capacidad predictiva muy baja.

El uso de ciclohexano para registrar el espectro del fondo, frente a obtenerlo al aire, conduce a modelos de calibrado con mayor capacidad predictiva.

Incrementar el número de barridos que se registran de la muestra, en general, empeora la calidad de los resultados obtenidos.

La preconcentración de la muestra permite mejorar la sensibilidad del procedimiento, llegándose a determinar concentraciones de hasta 50 ppm, con probabilidad de falso positivo y falso negativo del 5%. Incrementar el número de depósitos en la preconcentración no mejora significativamente la sensibilidad.

En todos los casos considerados, los modelos de regresión PLS construidos con los datos autoescalados presentan, en general, porcentajes de varianza explicada de la respuesta muy bajos y baja capacidad predictiva.

En cuanto a los modelos PLS construidos con los datos originales o con la derivada primera, en general, no se encuentran claras diferencias en los resultados obtenidos en cada caso.



---

## 8. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] J. Leadbitter. Packaging materials. 5. Polyvinyl chloride (PVC) for food packaging applications. ILSI Europe Report series. June 2003.
- [2] Directiva 2009/48/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de junio de 2009, sobre la seguridad de los juguetes. Off. J. Eur. Union, L 170, 1–37.
- [3] Office of Environmental Health Hazard Assessment's (OEHHA) – Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch, Evidence on the Carcinogenicity of Diisononyl Phthalate (DINP), California Environmental Protection Agency, October 2013.
- [4] P. Ventrice, D. Ventrice, E. Russo, G. De Sarro, Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 36 (2013), pp. 88-96.
- [5] J. Annamalai, V. Namasivayam, Endocrine disrupting chemicals in the atmosphere: their effects on humans and wildlife, *Environ. Int.*, 76 (2015), pp. 78-97.
- [6] M. Wagner, J. Oehlmann Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 16 (2009), pp. 278-286.
- [7] E. Fasano, F. Bono-Blay, T. Cirillo, P. Montuori, S. Lacorte Migration of phthalates alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl) adipate from food packaging, *Food Control*, 27 (2012), pp. 132-138.
- [8] M.D. Spillmann, M. Siegrist, C. Keller, M. Wormuth Phthalate exposure through food and consumers' risk perception of chemicals in food, *Risk Anal.*, 29 (2009), pp. 1170-1180.
- [9] B. Cavaliere, B. Macchione, G. Sindona, A. Tagarelli Tandem mass spectrometry in food safety assessment: the determination of phthalates in olive oil, *J. Chromatogr. A*, 1205 (2008), pp. 137-143.
- [10] M.R. Lee, F.Y. Lai, J. Dou, K.L. Lin, L.W. Chung Determination of trace leaching phthalate esters in water and urine from plastic containers by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry, *Anal. Lett.*, 44 (2011), pp. 676-686.
- [11] Reglamento (CE) nº 1907/2006 del parlamento europeo y del consejo de 18 de diciembre de 2006. Off. J. Eur. Union, L 396, 1–852.
- [12] Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food, Off. J. Eur. Union, L 12, 1–89.
- [13] D. Salazar-Beltrán, L. Hinojosa-Reyes, E. Ruiz-Ruiz, A. Hernández-Ramírez, J.L. Guzmán-Mar, Phthalates in Beverages and Plastic Bottles: Sample Preparation and Determination, *Food Anal. Methods*, 11(2018), 48-61.



- [14] M.L. Oca, L. Rubio, L.A. Sarabia, M.C. Ortiz, Dealing with the ubiquity of phthalates in the laboratory when determining plasticizers by gas chromatography/mass spectrometry and PARAFAC, *J. of Chromatog. A*, 1464 (2016), 124–140.
- [15] F. Higgins. Rapid and reliable phthalate screening in plastics by portable FTIR spectroscopy. Agilent Technologies. Application Note, publication number 5991-3649, 2013.
- [16] D.W. Sun, *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, Academic Press, Nueva York, 2009.
- [17] H. Martens, T. Naes, *Multivariate calibration*, John Wiley & Sons, Nueva York, 1989.
- [18] B.M. Wise, N.B. Gallagher, R. Bro, J.M. Shaver, W. Windig, R.S. Koch, *PLS Toolbox5.8.2*, Eigenvector Research Inc., Manson, WA, 2010.
- [19] *Statgraphics Centurion XVII*. StatPoint Technologies, Inc., Herndon, VA, 2014.
- [20] L. Sarabia, M.C. Ortiz, DETARCHI: A program for detection limits with specified assurance probabilities and characteristic curves of detection, *TrAC Trends Anal. Chem.*, 13 (1994), 1–6.