

TRABAJO FIN DE GRADO

Determinación cuantitativa de plastificantes en film de PVC mediante ATR-FTIR



Autora:

Mónica Reigada Feijóo

Tutoras:

Ana Herrero Gutiérrez

Silvia Sanllorente Méndez

GRADO EN QUÍMICA

Universidad de Burgos
Facultad de Ciencias

14 de Junio de 2018

ÍNDICE

1. ABSTRACT Y RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. OBJETIVES.....	4
4. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
4.1. ATR-FTIR	4
4.1.1. Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier	4
4.1.2. Reflexión total atenuada (ATR).....	5
4.2. REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (PLS).....	6
5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	8
5.1. REACTIVOS, INSTRUMENTACIÓN Y SOFTWARE	8
5.2. DISOLUCIONES	8
5.3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	9
5.3.1. Calibración individual de DiNP, DiBP y DEHA.....	9
5.3.2. Calibración de mezclas de DiNP, DiBP y DEHA.....	9
5.3.3. Muestras de film de PVC	10
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
6.1. ESTUDIOS PREVIOS.....	11
6.2. CALIBRADOS INDIVIDUALES	12
6.2.1. Medidas directas en disolución	12
6.2.2. Medidas con preconcentración	17
6.3. RESOLUCIÓN DE MEZCLAS DE LOS PLASTIFICANTES	19
6.3.1. Medidas directas en disolución	20
6.3.2. Medidas con preconcentración	21
6.4. MUESTRAS DE FILM DE PVC.....	23
7. CONCLUSIONS	23
8. BIBLIOGRAFÍA.....	24



1. ABSTRACT Y RESUMEN

Plasticizers are additives that are added to a plastic material to give it flexibility, resilience and durability properties. They are used extensively in PVC plastics and to a lesser extent in certain other materials. These compounds are small molecules that, when are used in food contact materials, may extract or leach out of the plastic into the food. The determination of some plasticizers by attenuated total reflectance - Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy is approached in this work.

An analytical method is developed to determine diisononyl phthalate (DiNP), diisobutyl phthalate (DiBP) and bis(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) both in solvent and in solid samples. Two procedures are carried out to analyse the three plasticizers; one of them is performed by direct measurement of solutions, for higher concentrations, and the other one by preconcentrating the sample on the ATR crystal, for the lowest concentrations. Partial least squares (PLS) regression is used to relate spectral signals and concentration. The method is validated, being accuracy (trueness and precision) and limits of decision and capabilities of detections, estimated. The simultaneous analysis of the three plasticizers in commercial PVC films is carried out.

Los plastificantes son aditivos que se agregan a los materiales plásticos para dotarlos propiedades de flexibilidad, resistencia y durabilidad. Se utilizan mucho en plásticos de PVC y en menor medida en otros materiales. Estos compuestos son moléculas pequeñas que, cuando se utilizan en materiales que están en contacto con alimentos, pueden extraerse o lixiviar desde el plástico al alimento. En este trabajo, se aborda la determinación de algunos plastificantes mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier en el modo reflexión total atenuada (ATR-FTIR).

Se desarrolla un método analítico para determinar ftalato de diisononilo (DiNP), ftalato de diisobutilo (DiBP) y adipato de bis(2-etilhexilo) (DEHA) tanto en disolvente como en muestras sólidas. Se llevan a cabo dos procedimientos para analizar los tres plastificantes; uno de ellos se realiza mediante la medida directa de las disoluciones, para concentraciones más altas, y el otro, preconcentrando la muestras sobre el cristal del ATR, para las concentraciones más bajas. La regresión en mínimos cuadrados parciales (PLS) se usa para relacionar las señales espectrales con la concentración. El método se valida, estimando la exactitud (veracidad y precisión), el límite de decisión y la capacidad de detección. Se ha llevado a cabo el análisis simultáneo de los tres plastificantes en films de PVC comerciales.



2. INTRODUCCIÓN

Los plásticos son materiales basados en las modificaciones de polímeros sintéticos o naturales, que se pueden moldear empleando calor y/o presión [1].

La producción de plásticos comenzó en el sector de la industria entre las décadas de 1940 y 1950, desde ese momento hasta la actualidad la producción anual de plásticos se ha multiplicado, alcanzando cifras históricas de millones de toneladas por año. Algunos ejemplos de plásticos moldeados por el aumento de temperaturas, denominados termoplásticos, más demandados a nivel mundial son: polipropileno (PP) (21%), polietileno de baja densidad y polietileno de baja densidad lineal (LDPE y LLDPE) (18%), cloruro de polivinilo (PVC) (17%) y polietileno de alta densidad (HDPE) (15%). La finalidad de estos plásticos suele ser principalmente el envasado de alimentos y productos de consumo diario, construcción, sector automotriz, eléctrico y electrónica y otros sectores como el médico.

A la mayoría de estos materiales plásticos se les incorporan diferentes aditivos, que son compuestos químicos añadidos para mejorar el rendimiento, la funcionalidad y las propiedades de envejecimiento, es decir, alargar la vida de los plásticos.

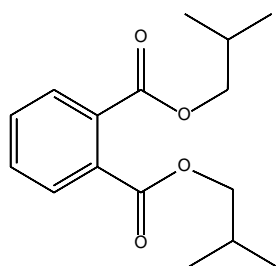
Los aditivos más comunes que se utilizan en los diferentes tipos de materiales poliméricos son: plastificantes, retardadores de llama, antioxidantes, captadores de ácidos, estabilizadores de luz y calor, lubricantes, pigmentos, agentes antiestáticos, estabilizadores térmicos, etc. Cada uno de estos aditivos desempeña un papel específico para mejorar las propiedades funcionales y finales de los plásticos.

Por ejemplo, los plastificantes se utilizan frecuentemente para mejorar la flexibilidad y durabilidad de las películas poliméricas y mejorar la resistencia al impacto en la película del plástico final. También proporcionan al material plástico propiedades de laxitud y pegajosidad [2].

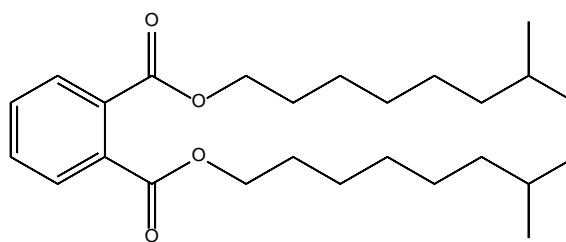
Además, los plastificantes por lo general tienen una gran movilidad en su matriz polimérica debido al bajo peso molecular de estos aditivos, por ello, se puede producir la difusión y migración de los plastificantes a productos como los alimentos, juguetes y otros objetos en contacto con los plásticos, y pueden llegar a ser muy tóxicos para la salud humana. Entre los plastificantes más utilizados se encuentran los ftalatos y los adipatos [3].

Los ftalatos son ésteres del ácido orto-ftálico, que se utilizan como plastificantes para mejorar la flexibilidad de plásticos como el PVC, en los que puede llegar a representar hasta el 40% de la masa total del plástico. Los ftalatos no se encuentran unidos químicamente a los plásticos, ya que no existe enlace químico entre el plastificante y el polímero, por lo que pueden ser liberados de los plásticos y migrar causando efectos nocivos [4].

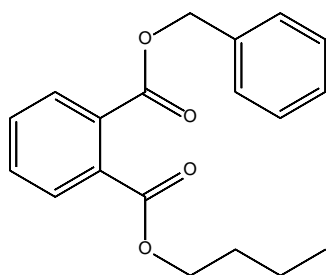
El adipato de bis (2-etilhexilo) (Figura 1) es uno de los plastificantes más importantes en el grupo de los adipatos y resulta de la esterificación del 2-etilhexanol con ácido adípico. Este aditivo plastificante, tiene una alta eficacia y mejores propiedades de flexibilidad a bajas temperaturas en comparación con muchos ftalatos. Además, posee una gran resistencia a la pérdida de color por exposición al calor o a la luz ultravioleta [5].



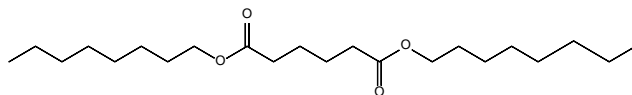
DiBP (ftalato de diisobutilo)



DiNP (ftalato de diisononilo)



BBP (ftalato de bencilbutilo)



DEHA (adipato de bis (2-etilhexilo))

Figura 1. Estructuras químicas de algunos ftalatos y adipatos

El Reglamento (CE) nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo (denominado REACH, Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de sustancias y mezclas químicas) tiene como objetivo principal garantizar la protección de la salud humana y el medio ambiente y la libre circulación de sustancias con el fin de alcanzar un desarrollo sostenible. Otro objetivo es garantizar que las sustancias consideradas como altamente preocupantes, se puedan sustituir por otras de menor peligrosidad si son económica y técnicamente viables. El REACH ha evaluado e incluido como sustancias altamente peligrosas (sujetas a autorización) la mayoría de los ftalatos, entre ellos el DEHP (ftalato de bis(2-etilhexilo)), DBP (ftalato de dibutilo), DiBP (ftalato de diisobutilo), y BBP (ftalato de bencilbutilo). Para otros, como es el caso del DiNP (ftalato de diisononilo), se han establecido restricciones en cuanto a su uso y fabricación; no pudiéndose comercializar juguetes ni artículos de puericultura que contengan dichos ftalatos en una concentración superior al 0,1% en masa del material plástico [6].

Por otra parte, el Reglamento (UE) Nº 10/2011 de la Comisión Europea que tiene como objetivo delimitar los materiales y plásticos que se encuentren en contacto con los alimentos, limita el uso de ciertos ftalatos basándose en la evaluación de los riesgos realizada por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, teniendo en cuenta la toxicidad de los posibles migrantes en las peores condiciones [7].

Debido al interés generado por estos plastificantes y teniendo en cuenta las pautas y prohibiciones que se han implementado en su utilización para la fabricación de plásticos, surge la necesidad de definir cuáles son las metodologías para la



determinación y cuantificación de plastificantes que proporcionen resultados rápidos y fiables.

Tatiane y col. [1] llevaron a cabo la identificación de varios plastificantes que migran de envases al vacío a muestras de carne, utilizando como técnica principal de detección la espectrometría de masas de alta resolución (*High-Resolution Mass Spectrometry*, HRMS). Se identificaron 5 contaminantes de los cuáles dos eran ftalatos desarrollando así una nueva metodología de análisis efectiva en muestras reales.

Las técnicas utilizadas para la determinación de plastificantes son numerosas [8] y entre ellas destaca la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, FTIR) que se puede emplear para la cuantificación de ftalatos y adipatos con límites de hasta el 0,1%. Si se emplea un sensor de reflexión total atenuada (*Attenuated Total Reflectance*, ATR) se simplifica en gran medida la obtención de los espectros. En este trabajo, se va a utilizar esta técnica analítica ya que los beneficios que ofrece son múltiples: análisis rápidos, fiables, fáciles de usar y no destructivos de la muestra. Además, cabe destacar como una ventaja importante que apenas se requiere preparación de la muestra.

3. OBJETIVES

The present work aims to:

- Develop an analytical method to determine DiBP, DiNP and DEHA by attenuated total reflectance-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy.
- Study the inclusion of a preconcentration stage to improve the sensitivity of the method in order to measure lower concentrations of the plasticizers.
- Apply multivariate regression techniques to model the relationship between ATR spectra and concentrations of the plasticizers.
- Estimate some figures of merit in the validation of the analytical method.
- Determine the percentage of DiBP, DiNP and DEHA in commercial PVC films.

4. FUNDAMENTO TEÓRICO

4.1. ATR-FTIR

4.1.1. Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier

La espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) se conoce desde hace más de un siglo. Su desarrollo empezó en la década de 1880 con el



interferómetro de Michelson. Más tarde, Rayleigh planteó que el patrón de interferencia se podría transformar en un espectro utilizando la transformación de Fourier, lo que supuso una mejora del rendimiento de los espectrofotómetros. A partir de este momento, se tardó más de 60 años hasta que se le dio el reconocimiento como una herramienta útil y muy importante en el ámbito del análisis químico. Por ello, hoy en día es una de las técnicas más empleadas debido a su simplicidad, sensibilidad, versatilidad y velocidad de análisis, siendo múltiples sus aplicaciones en análisis biológicos (incluidos los alimentos), análisis forenses, farmacéuticos, plásticos, polímeros, etc. Cualquier instrumento con transformada de Fourier (Figura 2), consta de: un interferómetro cuyo espejo móvil es esencial para controlar su posición con precisión para obtener una medición precisa de los espectros, una fuente cuya función es emitir radiación IR, unos divisores de haz que sirven para dividir y recombinar las ondas de luz IR en el interferómetro y un detector que transforma la intensidad de la radiación recibida en una señal eléctrica [9].

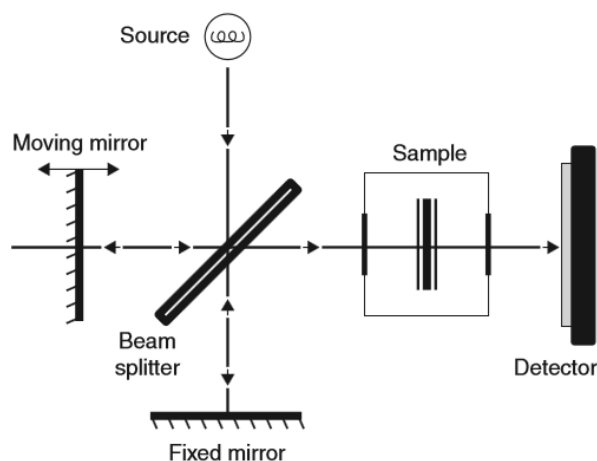


Figura 2. Instrumentación de las partes ópticas de un espectrómetro FTIR.

Existen dos tipos de espectroscopía IR con transformada de Fourier: FT-NIR en el infrarrojo cercano, que implica el estudio de absorción de compuestos en el rango de $4000-10000\text{ cm}^{-1}$ del espectro electromagnético y el FT-MIR que implica el estudio de absorción de compuestos en el rango de $400-4000\text{ cm}^{-1}$, que es la región del espectro más utilizada para análisis cualitativos y cuantitativos.

La espectroscopía FT-MIR se basa en la absorción de radiación que origina rotaciones y vibraciones moleculares características de los grupos funcionales en un determinado entorno, creando así un perfil químico de cada muestra. El infrarrojo medio es una región del espectro electromagnético muy robusta y reproducible, siendo muy importante la información que proporciona para analizar la composición de un material y elucidar la estructura química de las moléculas [9].

4.1.2. Reflexión total atenuada (ATR)

La reflexión total atenuada (ATR) es una de las técnicas de muestreo más utilizadas en la actualidad en espectroscopía MIR. Un haz infrarrojo se desplaza desde un medio de alto índice de refracción, (por ejemplo, un cristal de seleniuro de zinc) a un medio

de menor índice de refracción (muestra), reflejándose en la interfase. Sin embargo, el haz reflejado penetra antes en la muestra, entre 0.1-5 μm , de modo que la potencia del haz en ciertos número de onda son atenuados por absorción de la radiación, dando lugar a un espectro ATR. Como se muestra en la Figura 3, hay dispositivos en los que se produce una única reflexión o impacto interno, mientras que en otros tienen lugar varias reflexiones, siendo éstos los que proporcionan mayor sensibilidad.

Para obtener el espectro del fondo (background) normalmente se registra un espectro al aire, con el cristal limpio y vacío, aunque también se puede registrar con el disolvente utilizado en el experimento. Los cristales más utilizados son de seleniuro de zinc, germanio o silicio, diamante y KRS-5 (yoduro de talio o bromuro de talio). Una de las ventajas de ATR es que permite el análisis de muestras sólidas y líquidas sin apenas tener que realizar un tratamiento previo de las mismas. Además, como los espectros de ATR provienen de la superficie de la muestra, se trata de una técnica que proporciona espectros con bandas características bien definidas. También se realizan ensayos no destructivos de los que se puede obtener información cualitativa y cuantitativa de varios analitos simultáneamente y, sobre todo, es una técnica económica y muy rápida frente a otras [9].

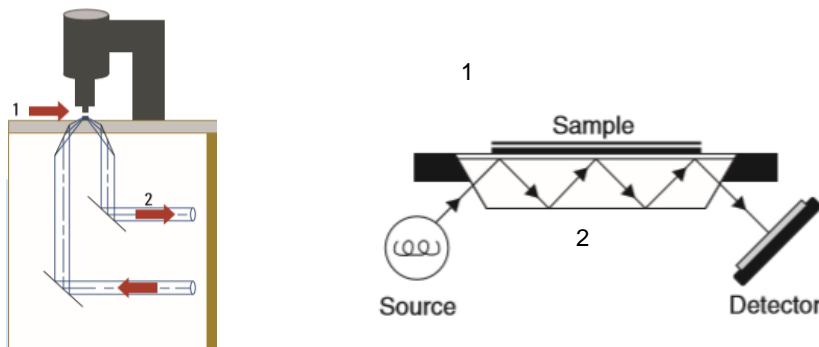


Figura 3. Funcionamiento del módulo ATR para un impacto y varios impactos, siendo 1: la posición de la muestra y 2: el haz de radiación.

ATR es una técnica muy utilizada en diversos sectores, desde el análisis de alimentos o materiales biológicos hasta pinturas, plásticos, revestimientos, polvos naturales, sólidos que se pueden triturar para obtener polvo, cauchos, laminados, etc. En el sector de los plásticos, la información que aporta permite la identificación los grupos funcionales, cuantificación de aditivos y copolímeros, control de procedimientos cinéticos y análisis de impurezas [10].

4.2. REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (PLS)

El algoritmo de regresión PLS (*Partial Least Squares Regression*) fue en un primer momento propuesto por Herman Wold [11], que lo nombró mínimos cuadrados parciales iterativos no lineales (NIPALS), años más tarde junto a su hijo Svante y Harol Martens [12] fue cuando se le denominó como PLS. Posteriormente fue mejorado por



Geladi y Kowalski [13], y se buscaron otras formas de calcularlo mediante el algoritmo de Kernel [14] y el algoritmo SIMPLS [15], que es actualmente uno de los más utilizados.

La regresión de mínimos cuadrados parciales tiene como objetivo encontrar un número reducido de combinaciones lineales de las variables predictoras, denominadas variables latentes. La información que no sea considerada como estable o relevante se descarta, utilizando en la regresión la parte más importante de la información o de más interés, resolviendo así el problema de colinealidad y obteniendo ecuaciones de regresión y predicción más estables. Además, como las variables son proyectadas en pocas combinaciones lineales, se pueden emplear representaciones más asequibles, facilitando la interpretación del modelo. Por otra parte, si se tuvieran más variables predictoras que muestras, la regresión múltiple no se podría realizar.

La regresión PLS tiene muy diversas aplicaciones, entre las principales se encuentran el análisis de datos en las industrias químicas, alimentarias, farmacéuticas y de plásticos. En todos estos casos, normalmente se utiliza PLS para relacionar las señales espectrales de NIR, MIR o UV-Vis, que por lo general tienen muchas variables y están correlacionadas entre sí [16].

Para la construcción de las variables latentes se debe realizar la búsqueda de las direcciones de la varianza máxima en las variables predictoras, pero evitando aquellas que no están correlacionadas con la respuesta. Los coeficientes de las variables latentes se denominan pesos, e indican la influencia de cada variable predictora, mientras que las coordenadas de cada muestra en el nuevo espacio vectorial se conocen como puntuaciones.

Al aumentar el número de variables latentes que forman parte del modelo PLS, el error cuadrático medio en calibración (*Root Mean Square Error of Calibration*, RMSEC) disminuye. Sin embargo, el error medio en predicción (*Root Mean Square Error of Cross-Validation*, RMSECV), tiende a aumentar cuando se incorporan al modelo variables latentes que no contribuyen a explicar la respuesta, ya que el modelo se aproxima a la solución de mínimos cuadrados y se vuelve inestable. Este efecto se conoce como sobreajuste (*overfitting*), mientras que, cuando el número de variables latentes es menor del óptimo se produce el efecto contrario que es el denominado subajuste (*underfitting*). Estos errores se calculan de acuerdo con las ecuaciones (1) y (2), donde y_i es la concentración real, \hat{y}_i es la concentración predicha, k el número de variables latentes del modelo, n el número de patrones del conjunto de calibrado y, j el número de patrones del conjunto de *cross-validation*.

$$\text{RMSEC}_k = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i(k))^2}{n}} \quad (1)$$

$$\text{RMSECV}_k = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i(k))^2}{j}} \quad (2)$$

Para determinar el número de variables latentes que se van a incluir en el modelo, normalmente se utiliza la validación cruzada (*cross-validation*), donde se predice la respuesta de parte de las muestras con un modelo de regresión PLS construido con las muestras restantes; este procedimiento se repite de modo que se calcula la concentración de todas las muestras. Cuando se dispone de un número reducido de



muestras (10 o menos) y solamente se deja fuera únicamente una muestra, el método empleado se conoce como *leave-one-out*. Sin embargo, si el número de muestras es mayor de 10, se puede utilizar el método de persianas venecianas, donde las muestras se seleccionan en bloques para predecir, con una alternancia seleccionada. Para escoger el mejor modelo PLS, se debe tener en cuenta el que tenga menor número de variables latentes y proporcione la mayor capacidad predictiva y, además, que presente menores diferencias entre los errores cuadráticos de calibración y de predicción.

Las herramientas más habituales para la detección de datos anómalos en las variables predictoras de las muestras de calibración y/o predicción, son los estadísticos Q y T^2 de Hotelling. El primer estadístico, Q , es el índice del fallo de ajuste y representa el residuo ortogonal de cada muestra en el espacio de las variables latentes del modelo, mientras que el estadístico T^2 de Hotelling indica la distancia existente entre el límite del elipsoide al centroide. Por lo tanto, se va a considerar que una muestra es anómala cuando se supere el valor crítico establecido para ambos índices a un nivel de significación del 99%. Además, se consideran también los residuos estudentizados, que proporcionan una idea de la diferencia entre la respuesta real y la calculada y que, por provenir de una distribución normal con varianza uno, deben variar entre -2.5 y 2.5.

5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.1. REACTIVOS, INSTRUMENTACIÓN Y SOFTWARE

Los plastificantes utilizados en este trabajo han sido: ftalato de diisobutilo (CAS no 84-69-5), ftalato de diisononilo (CAS no 28553-12-0) y adipato de bis(2-etilhexilo) (CAS no 103-23-1) de Sigma Aldrich al 99%. También se han empleado ciclohexano (CAS no 110-82-7) Analar Normapur del 100%, acetona (CAS no 67-64-1) grado HPLC y hexano (CAS no 110-54-3) Merk, Chrosolv® del 98% para cromatografía de líquidos.

Se han adquirido films transparentes de PVC de las marcas Carrefour, Albal y Aliada.

Las medidas espectrofotométricas se han realizado en un espectrofotómetro Cary 630 FTIR de Agilent (Technologies, Santa Clara, CA, USA) con el módulo de cristal de seleniuro de cinc, de cinco impactos, que trabaja con el programa MicroLab. El rotavapor Ilmavac (Ilmenau, Alemania) se utilizó para la preconcentración de extractos.

Los datos se han analizado con el programa MATLAB (versión 7.10, The MathWorks) y PLS Toolbox [17]. Los modelos de calibración se han validado utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVII [18]. Finalmente, el límite de decisión ($CC\alpha$) y la capacidad de detección ($CC\beta$) se han calculado con el software Detarchi [19].

5.2. DISOLUCIONES

Todas las disoluciones se han preparado a partir de los plastificantes (DiBP, DiNP o DEHA), pipeteando el volumen necesario de cada reactivo y completando el volumen con ciclohexano. Todas las disoluciones madre y patrón se han depositado en viales



cerrados y se han analizado rápidamente para evitar la evaporación del disolvente orgánico.

5.3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de este trabajo se han seleccionado las condiciones experimentales puestas a punto en trabajos previos [20]. Todos los espectros se han obtenido utilizando el módulo de cinco impactos con cristal de seleniuro de cinc (ZnSe), registrando el fondo (*background*) al aire, promediando 32 barridos y con una ganancia de 255. En todos los calibrados realizados se han registrado, tanto las señales de los patrones como las del blanco (ciclohexano), en el rango de números de onda correspondiente al infrarrojo medio (4000-650 cm^{-1}).

5.3.1. Calibración individual de DiNP, DiBP y DEHA

Análisis directos en disolución. Las concentraciones de las disoluciones patrón de cada uno de los plastificantes han sido las que se indican a continuación. Para el caso del DiNP, se prepararon 11 muestras patrón de las siguientes concentraciones 0, 3888, 7760, 11664, 15552, 19440, 23328, 27216, 31104, 34992 y 38880 ppm. Para el DiBP, 11 patrones de calibrado de concentraciones 0, 4156, 8312, 12468, 16624, 20780, 24936, 29092, 33248, 37404 y 41560 ppm. Y para el DEHA, también 11 patrones de calibrado cuyas concentraciones fueron de 0, 3700, 7400, 11100, 14800, 18500, 22200, 25900, 29600, 33300 y 37000 ppm. Para llevar a cabo los análisis, primero se ha registrado el espectro del fondo al aire antes de cada medida, y posteriormente se han depositado sobre el cristal de ZnSe, con una micropipeta, 100 μL de la disolución patrón y se ha registrado el espectro.

Medidas con preconcentración. En este caso, no se ha registrado el espectro del fondo antes de cada medida, sino que se ha obtenido, una única vez, al comienzo de la sesión experimental, y se mantiene a lo largo de ésta. Para llevar a cabo cada análisis, se ha vertido un volumen de 50 μL de muestra sobre el cristal y se ha esperado 2'30" a que se evaporara completamente el disolvente antes de registrar el espectro. Los patrones utilizados en este ensayo fueron los siguientes. Para el DiNP, se prepararon 11 patrones de calibrado de concentraciones: 0, 97,2, 194,4, 291,6, 388,8, 486,0, 583,2, 680,4, 777,6, 874,8 y 972,0 ppm. Para el caso del DiBP se ha dispuesto de 11 patrones de calibrado de concentraciones: 0, 103,9, 207,8, 311,7, 415,6, 519,5, 623,4, 727,3, 831,2, 935,1, 1039,0 ppm. Y para el DEHA se han preparado 11 patrones de calibrado de concentraciones: 0, 92,5, 185,0, 277,5, 370,0, 462,5, 555,0, 647,5, 740,0, 832,5 y 925,0 ppm.

5.3.2. Calibración de mezclas de DiNP, DiBP y DEHA

En este caso se prepararon mezclas de los tres plastificantes distribuidas según un diseño de experimentos central compuesto para tres factores, que consta de los 17 experimentos que se muestran en la Tabla 1. En dicha tabla aparecen las concentraciones de los patrones de calibrado utilizados tanto para el análisis de las mezclas directamente en disolución, como para su análisis con preconcentración.



Tabla 1. Concentraciones de los patrones de calibrado utilizados con las medidas directas y con preconcentración.

Nº experimentos	MEDIDA DIRECTA (ppm)			PRECONCENTRACIÓN (ppm)		
	DiNP	DEHA	DiBP	DiNP	DEHA	DiBP
1	10692	10175	11429	292	277	312
2	28188	10175	11429	778	277	312
3	10692	26825	11429	292	740	312
4	28188	26825	11429	778	740	312
5	10692	10175	30131	292	277	831
6	28188	10175	30131	778	277	831
7	10692	26825	30131	292	740	831
8	28188	26825	30131	778	740	831
9	4728	18500	20780	127	509	571
10	34152	18500	20780	943	509	571
11	19440	4499	20780	535	120	571
12	19440	32500	20780	535	897	571
13	19440	18500	5054	535	509	135
14	19440	18500	36506	535	509	1008
15	19440	18500	20780	535	509	571
16	19440	18500	20780	535	509	571
17	19440	18500	20780	535	509	571

5.3.3. Muestras de film de PVC

La extracción de los plastificantes del film de PVC se ha llevado a cabo en un vaso de precipitados de 50 mL a temperatura ambiente, en el que se añadía 1 g de film transparente de PVC, cortado en trozos pequeños y se adicionaban 40 mL de hexano. El vaso se mantenía cerrado y en reposo durante 2 horas en campana extractora. Una vez pasado este tiempo, se transfería la disolución a otro vaso de precipitados y se adicionaba una nueva alícuota de 25 mL de hexano; se volvía a dejar en reposo y cerrado en la campana durante 3 horas más. Este último proceso se repitió una vez más. Se unificaron los tres extractos resultantes y se llevaron a un rotavapor para evaporar el hexano (temperatura del baño de 40°C y 335 mmHg). Finalmente, el residuo se reconstituyó en 10 mL de ciclohexano [21].



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. ESTUDIOS PREVIOS

En un trabajo previo [20], se llevó a cabo un estudio de los disolventes más utilizados habitualmente en esta técnica (acetona, hexano, tetrahidrofurano y ciclohexano), con el fin de seleccionar aquel que presentara un espectro con menos bandas en las zonas de interés para el análisis de los ftalatos. Por este motivo, se eligió como disolvente el ciclohexano. En la Figura 4, se muestran los espectros tanto del disolvente (ciclohexano), como de los plastificantes analizados en este trabajo (DiBP, DiNP y DEHA).

Las bandas características de los aditivos se encuentran la zona correspondiente entre 600 cm^{-1} a 2000 cm^{-1} , mientras que en la zona de 3000 cm^{-1} también se observan bandas, pero estas corresponden a los ciclos y no son muy importantes. El ciclohexano posee una banda de tensión $\text{C}(\text{sp}^3)\text{-H}$ alrededor de 3000 cm^{-1} y una banda de flexión CH_2 a 1400 cm^{-1} , es decir, apenas tiene bandas que interfieran con los plastificantes, por ello en el estudio previo se eligió el ciclohexano.

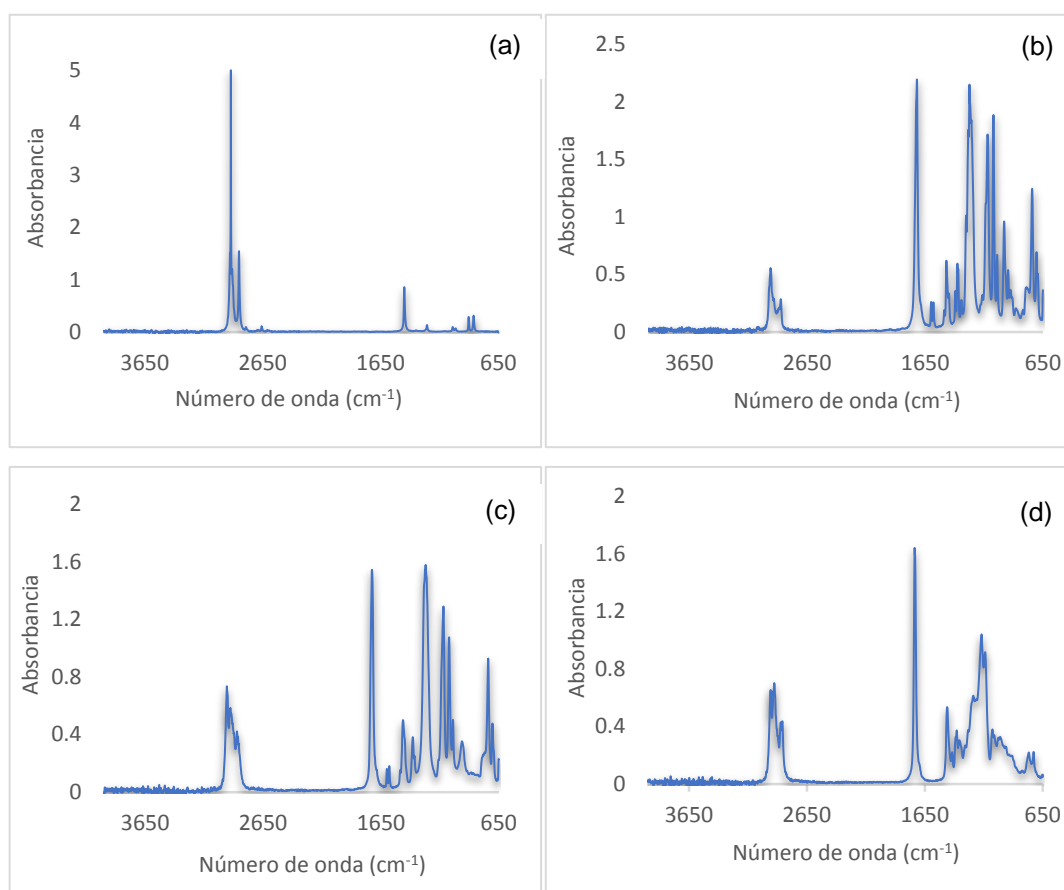


Figura 4. Espectros FTIR-ATR registrados para (a) Ciclohexano, (b) DiBP, (c) DiNP y (d) DEHA.

6.2. CALIBRADOS INDIVIDUALES

Los espectros de infrarrojo poseen un número importante de bandas, por ello se suelen utilizar métodos multivariantes que facilitan el estudio, ya que no solamente tienen en cuenta un número de onda, sino que consideran todo el espectro. En este trabajo se ha considerado el rango espectral entre 650 cm^{-1} a 1951 cm^{-1} , ya que las bandas del resto del espectro se deben principalmente al ciclohexano. Se tienen un total de 699 variables predictoras para llevar a cabo los análisis.

Con este tipo de datos es habitual realizar algún tipo de pretratamiento de las señales, tales como autoescalado, derivada 1ª o 2ª, centrado, etc. Sin embargo, en este trabajo se han obtenido los modelos con mayor capacidad predictiva cuando se han utilizado los datos originales, sin ningún tipo de transformación. Al tratarse de pocas muestras, se tienen únicamente 11 patrones de calibrado, se utiliza como técnica de validación cruzada *leave-one-out*.

6.2.1. Medidas directas en disolución

Una vez preparados los patrones de calibrado del DiNP, se han registrado los espectros correspondientes, que se pueden ver en la Figura 5a. Queda en evidencia, que la contribución mayoritaria a los espectros se debe al disolvente, y que las bandas de absorción del DiNP apenas se aprecian, de ahí la necesidad de recurrir a un método multivariante de análisis. Asimismo, el ruido que presentan las señales espectrales es muy significativo a estos niveles de concentración.

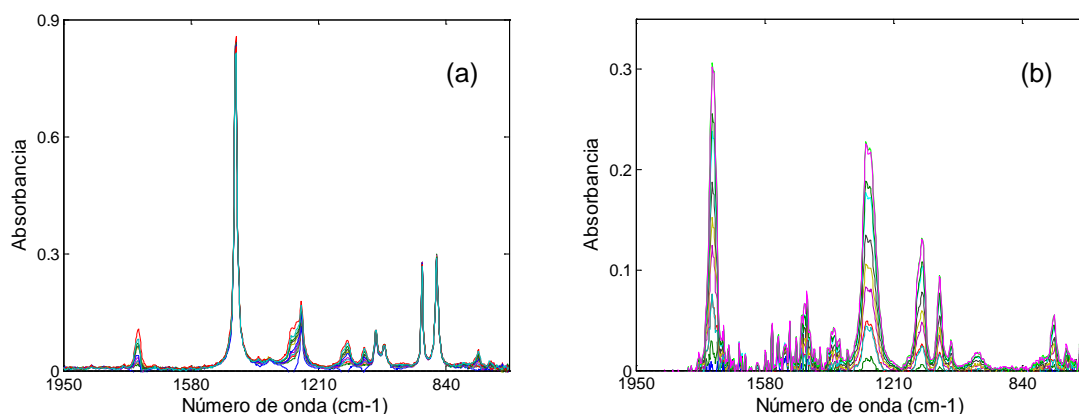


Figura 5. Espectros correspondientes a los 11 patrones de calibrado registrados para el DiNP. (a) Medidas directas en disolución y (b) medidas con preconcentración.

Se construyó un modelo de regresión PLS para cada analito. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para los tres plastificantes. En el caso del DiNP, se selecciona el modelo PLS con 3 variables latentes, que explica el 99,82% de la varianza de la respuesta, muy cercana al 100%. Además, como se puede observar también en la Figura 6a, la diferencia entre los valores del error cuadrático medio en calibración (RMSEC) y el error cuadrático medio en predicción (RMSECV) se incrementan a partir del modelo con 4 variables latentes, por tanto, el modelo con mayor capacidad predictiva y estabilidad es el de 3 variables latentes. En la Figura 6b



se puede ver cómo, el modelo construido con los datos autoescalados, que consta de 2 variables latentes y explica un 98,6% de la varianza de la respuesta, apenas tiene capacidad predictiva ya que el RMSECV es enorme (azul) respecto al RMSEC (verde).

Tabla 2. Número de variables latentes, varianza explicada, y valores de RMSEC y RMSECV obtenidos con los modelos PLS ajustados para DiNP, DiBP y DEHA. En azul se indican los modelos seleccionados.

	V.L.	Varianza X (%)	Varianza Y (%)	RMSECV	RMSEC
DiNP	1	99,05	73,07	13130	11936
	2	99,94	95,82	5896	4702
	3	99,97	99,82	1784	964
	4	99,97	99,98	1857	309
	5	99,98	100	1893	64,0
	6	99,98	100	1896	13,6
DiBP	1	98,33	75,05	13546	12282
	2	99,93	96,98	4970	4270
	3	99,97	99,82	1580	1051
	4	99,97	99,98	1617	350
	5	99,98	99,99	1629	53,3
	6	99,98	99,99	1620	12,6
DEHA	1	99,26	72,75	12576	11427
	2	99,94	96,44	4893	4127
	3	99,96	99,93	1550	573
	4	99,97	99,99	1501	176
	5	99,97	99,99	1525	39,7
	6	99,98	99,99	1524	8,6

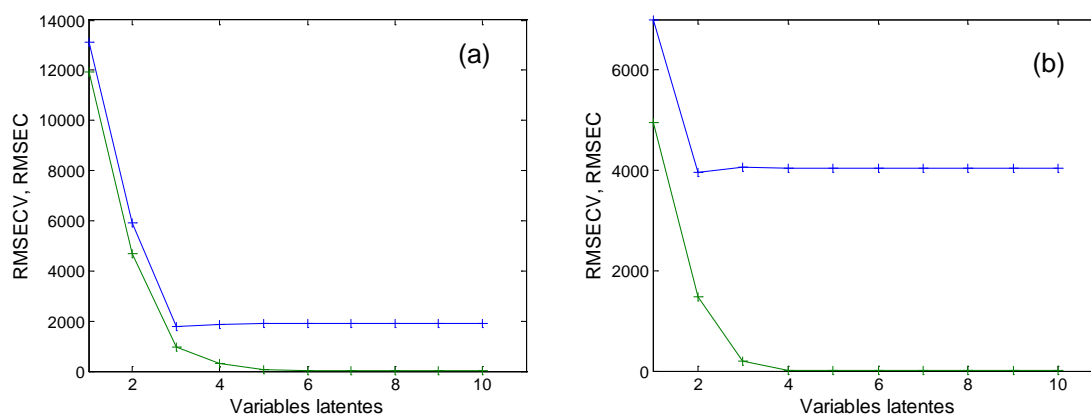


Figura 6. RMSEC (verde) y RMSECV (azul) obtenidos para el DiNP con los modelos PLS construidos con (a) los datos originales y (b) autoescalados.



Una vez elegido el modelo PLS, se estudia la presencia de datos anómalos a través de los índices Q y T^2 de Hotelling, que se encuentran representados conjuntamente en la Figura 7a. Tal y como se puede ver, no se observa ningún dato anómalo ya que ninguno supera los valores umbral para ambos índices con una confianza del 99%. Asimismo, en la Figura 7b, ningún dato aparece con un residuo anormalmente grande, en valor absoluto, mayor de 2,5. Por tanto, se concluye que no hay datos anómalos.

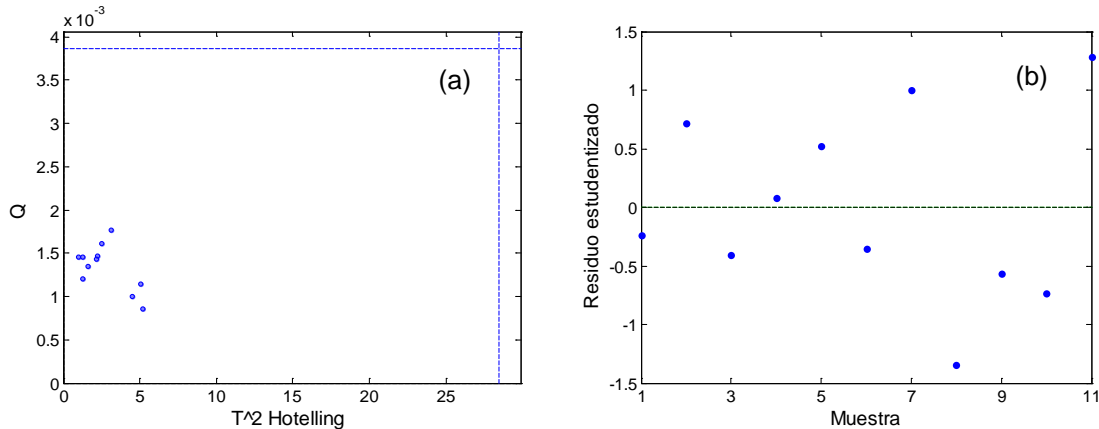


Figura 7. (a) Representación conjunta de los estadísticos Q y T^2 Hotelling y (b) representación de los residuos estudentizados del modelo PLS ajustado para el DiNP. Las líneas azules indican los valores umbral.

En el caso del DiBP, el modelo de regresión PLS también tiene que constar de 3 variables latentes, que explican el 99,82% de la varianza (Tabla 2). Asimismo, como se puede observar también en dicha tabla, la diferencia entre los valores RMSEC RMSECV es baja hasta la tercera variable latente, a partir de la cual se aprecia un incremento en la misma debido a que se produce un sobreajuste.

En cuanto a la presencia de datos anómalos, Figura 8, ningún dato supera los valores umbral de Q y T^2 de Hotelling ni presenta residuos estudentizados mayores, en valor absoluto, de 2.5. Por tanto, se considera que tampoco hay datos anómalos.

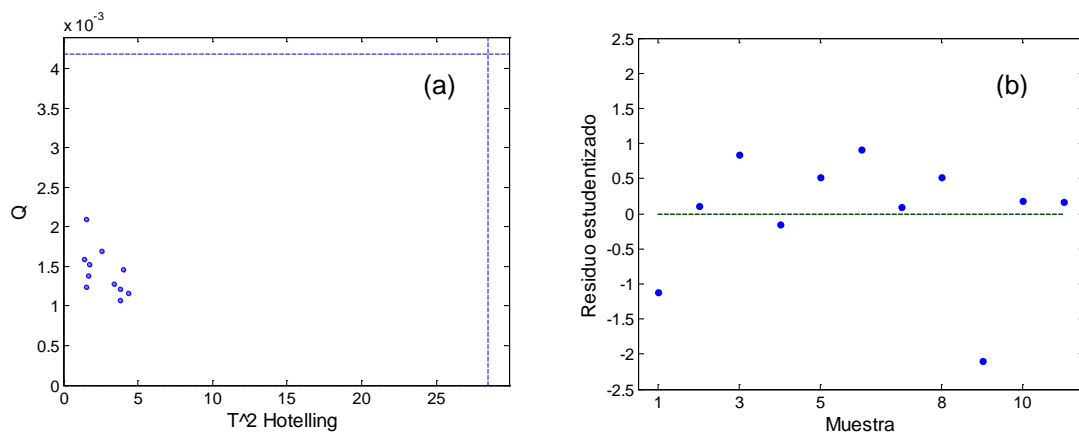


Figura 8. (a) Representación conjunta de los estadísticos Q y T^2 Hotelling y (b) representación de los residuos estudentizados del modelo PLS ajustado para el DiBP. Las líneas azules indican los valores umbral.

Para el DEHA, el modelo PLS también consta de 3 variables latentes y explica el 99,93% la varianza de la respuesta (Tabla 2). Al igual que en los dos casos anteriores, tampoco se observa la presencia de ningún dato anómalo, como se puede ver en la Figura 9.

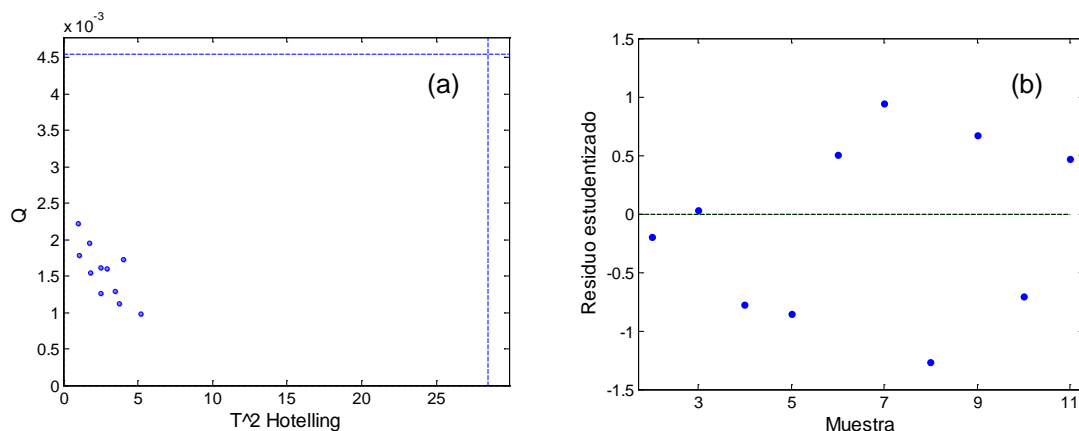


Figura 9. (a) Representación conjunta de los estadísticos Q y T^2 Hotelling y (b) representación de los residuos estudentizados del modelo PLS ajustado para el DEHA. Las líneas azules indican los valores umbral.

Validación

Una vez verificada la alta capacidad predictiva de los modelos multivariantes construidos para la determinación de los tres plastificantes, se han calculado algunas figuras de mérito del método de análisis. De este modo se ha estudiado la exactitud, en sus dos vertientes, la veracidad y la precisión, así como el límite de decisión y la capacidad de detección.

Para el estudio de la exactitud se construyen las rectas de validación, en las que se ajusta el modelo de regresión lineal por mínimos cuadrados de la concentración



calculada con el modelo PLS frente a la concentración real. La Tabla 3 muestra los parámetros obtenidos para estas regresiones.

Tabla 3. Parámetros de las rectas de validación (ordenada en el origen, b_0 ; pendiente, b_1 ; coeficiente de correlación, ρ ; y desviación típica residual de la regresión, s_{yx}) y p-valores de los test de hipótesis para la pendiente y el término independiente. Límite de decisión ($CC\alpha$) y capacidad de detección ($CC\beta$) para $\alpha = \beta = 0,05$.

	b_0	b_1	ρ	s_{yx}	P-valor (b_0)	P-valor (b_1)	$CC\alpha$ (ppm)	$CC\beta$ (ppm)
DiNP	120,75	0,995	0,997	1075	0,846	0,841	1860	3549
DiBP	149,55	0,993	0,997	1148	0,823	0,797	1647	3142
DEHA	39,55	0,997	0,998	630	0,914	0,870	1555	2962

La precisión se define como “el grado de coincidencia entre resultados de ensayos independientes obtenidos en condiciones prefijadas” [22]. La desviación típica residual, s_{yx} , se puede asimilar a una estimación de la precisión del método de análisis, como precisión intermedia, en el rango de calibrado considerado.

La veracidad, que se define como “el grado de coincidencia entre el valor medio obtenido de una gran serie de resultados del análisis y el valor de referencia aceptado” [22], puede estimarse a partir de los parámetros de la recta de validación correspondiente. Así, un método se considera veraz cuando la pendiente de dicha recta es igual a 1, mientras que el término independiente ha de ser igual a 0. Para verificar si ambas condiciones se cumplen, se realizan los test de hipótesis correspondientes. Para el caso de la pendiente, la hipótesis nula (H_0) es que la pendiente es igual a 1, y la hipótesis alternativa (H_a) es que la pendiente es distinta de 1; mientras que, para la ordenada en el origen, la hipótesis nula (H_0) es que ésta es igual a 0, y la hipótesis alternativa (H_a) es que es distinta de 0. Si el P-valor del test es menor de 0,05, se rechaza la hipótesis nula a un nivel de significación del 5%.

Los P-valores de los test de hipótesis realizados para contrastar las hipótesis sobre las pendientes y los términos independientes de las rectas de validación son mayores de 0,05, por lo que, a un nivel de significación del 5%, no se tienen evidencias suficientes para rechazar las hipótesis nulas. De ello se concluye que el procedimiento de análisis es veraz en la determinación de todos los analitos.

En cuanto a la precisión intermedia, tomando la desviación típica residual de la recta de validación como una estimación de la misma, el procedimiento de análisis es bastante más preciso en la determinación de la concentración de DEHA, presentando mayor incertidumbre, casi el doble, en el análisis de los dos ftalatos en estudio.

Por otro lado, el límite de decisión ($CC\alpha$) se define como “el valor de la concentración neta que conduce, para una probabilidad de error dado, α , a la decisión de que la concentración del analito en el material analizado es mayor que la del blanco” [23]. Mientras que la capacidad de detección ($CC\beta$) es “la verdadera concentración del analito en el material analizado que conduce, con probabilidad $1-\beta$, a la conclusión



correcta de que la concentración en el material analizado es diferente de la del blanco analítico, para una probabilidad de falso positivo dada" [23].

Los valores del límite de decisión y de la capacidad de detección estimados para el método de análisis, considerando los 6 patrones de calibrado de menor concentración, se muestran en la Tabla 3. El análisis directo de los plastificantes es más sensible para determinar el DEHA, permitiendo detectar hasta 2960 ppm del adipato, con una probabilidad de falso positivo y falso negativo del 5%. A estos mismos valores de probabilidad, concentraciones un poco mayores se pueden determinar para DiNP y DiBP, 3550 y 3140 ppm, respectivamente.

Se planteó la posibilidad de medir concentraciones más bajas, y para ello se prepararon disoluciones de los tres analitos en un rango de concentraciones entre 0 y 4000 ppm y se construyeron los modelos PLS correspondientes. A pesar de que dichos modelos alcanzaban valores muy altos de varianza explicada en calibración, por encima del 99,5 % en todos los casos, éstos carecían de capacidad predictiva, como puede apreciarse en la Figura 10, a modo de ejemplo, para el caso del DiBP. En la Figura 10a puede verse cómo la diferencia entre RMSEC y RMSECV es muy grande para el modelo con 3 variables latentes, lo que se refleja claramente en la Figura 10b, donde aparecen las concentraciones calculadas en predicción con dicho modelo frente a los valores reales. Esta misma pauta se observó en los modelos ajustados para los otros dos plastificantes. Por tanto, no es posible medir concentraciones por debajo de las indicadas en la Tabla 3, con esas probabilidades de falso positivo y falso negativo.

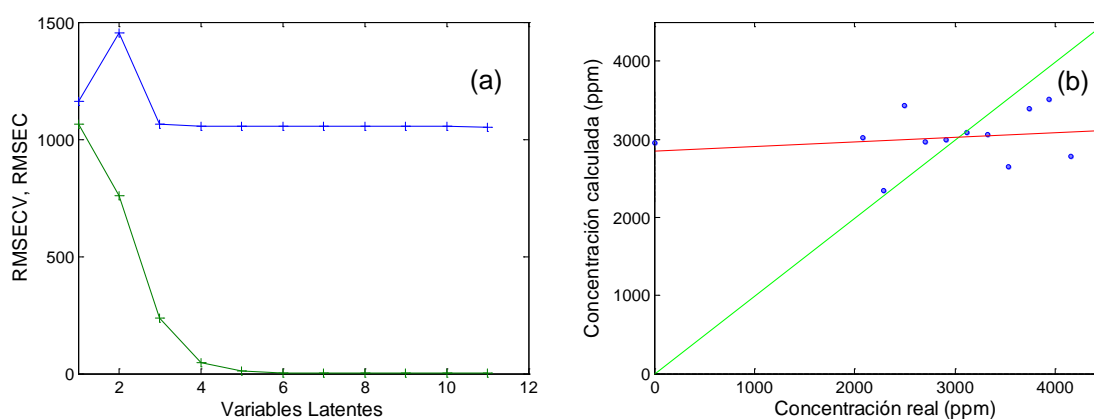


Figura 10. (a) RMSEC (verde) y RMSECV (azul) y (b) concentración estimada en predicción (CV) con el modelo PLS construido con 3 variables latentes para el DiBP frente a la concentración real.

6.2.2. Medidas con preconcentración

Una alternativa para intentar mejorar la sensibilidad del método consiste en introducir, en el procedimiento analítico, una etapa de preconcentración de la muestra sobre el cristal de seleniuro de cinc. La etapa de preconcentración se encuentra descrita en la Sección 5.3.1, así como los rangos de concentraciones de los patrones de calibrado



considerados en esta parte del estudio. Los parámetros de la preconcentración (volumen, tiempo de evaporación, etc.) fueron optimizados en un trabajo previo [20].

Se han preparado los 11 patrones de calibrado y se han registrado los espectros correspondientes; en la Figura 5b se muestran, a modo de ejemplo, los espectros obtenidos en el calibrado del DiNP. En esta figura se observa claramente cómo se incrementan las bandas de absorción del DiNP al aumentar la concentración de éste, a diferencia de los espectros de la Figura 5a, donde la contribución mayoritaria se debe al ciclohexano.

Con los espectros registrados (las matrices de datos tienen dimensión 11×699) se ha construido un modelo de regresión PLS para cada plastificante. Se ha utilizado, de nuevo, la técnica de *leave-one-out* como método de *cross-validation*, con los datos originales. Los errores y varianzas explicadas los modelos ajustados para los tres plastificantes se muestran en la Tabla 4. Como se puede ver, todos ellos, con dos variables latentes, explican porcentajes de varianza en calibración por encima del 99,5%, y además la diferencia entre los valores de RMSEC y RMSECV es muy pequeña. Se trata, por tanto, de modelos muy estables y con alta capacidad predictiva.

Tabla 4. Número de variables latentes, varianza explicada, y valores de RMSEC y RMSECV obtenidos con los modelos PLS ajustados con los datos de preconcentración para DiNP, DiBP y DEHA. En azul se indican los modelos seleccionados.

	V.L.	Varianza X (%)	Varianza Y (%)	RMSECV	RMSEC
DiNP	1	98,56	99,39	50,91	44,88
	2	99,91	99,56	48,88	38,12
	3	99,93	99,85	46,25	22,05
	4	99,95	99,99	47,31	5,66
	5	99,96	100,00	46,76	1,78
	6	99,96	100,00	46,66	0,47
DiBP	1	99,55	99,42	56,30	46,92
	2	99,64	99,87	49,90	22,55
	3	99,92	99,89	38,55	20,14
	4	99,94	99,98	37,36	9,44
	5	99,96	100,00	36,09	2,52
	6	99,97	100,00	35,91	0,29
DEHA	1	99,29	99,45	47,49	40,59
	2	99,56	99,69	41,27	30,60
	3	99,91	99,76	54,95	26,58
	4	99,93	99,98	43,56	6,75
	5	99,94	100,00	46,00	2,99
	6	99,96	100,00	46,92	0,47



Además, en ninguno de los tres modelos se han encontrado datos anómalos al tener en cuenta tanto los estadísticos Q y T^2 Hotelling como los residuos estudentizados.

Validación

En la Tabla 5 se recogen los parámetros de las rectas de validación correspondientes al método de análisis que incluye la etapa de preconcentración. Como en el caso anterior, el método de análisis es veraz en la determinación de los tres plastificantes ya que, en todos los casos, los p-valores se encuentran muy por encima de 0,05. Las precisiones intermedias, para cada caso, son las que se reflejan en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros de las rectas de validación (ordenada en el origen, b_0 ; pendiente, b_1 ; coeficiente de correlación, ρ ; y desviación típica residual de la regresión, s_{yx}) y p-valores de los test de hipótesis para la pendiente y el término independiente. Límite de decisión ($CC\alpha$) y capacidad de detección ($CC\beta$) para $\alpha = \beta = 0,05$.

	b_0	b_1	ρ	s_{yx}	P-valor (b_0)	P-valor (b_1)	$CC\alpha$ (ppm)	$CC\beta$ (ppm)
DiNP	10,15	0,981	0,992	41,62	0,676	0,647	107,5	205,3
DiBP	8,50	0,987	0,998	21,68	0,504	0,537	30,46	58,1
DEHA	-12,13	1,02	0,995	33,01	0,532	0,657	85,84	163,8

En cuanto a los límites de detección, preconcentrar la muestra sobre el cristal del dispositivo ATR disminuye muy significativamente los valores de concentración que se pueden llegar a medir. La capacidad de detección se reduce hasta en 50 veces para el DiBP, y alrededor de 20 para DiNP y DEHA, llegándose a detectar 58 ppm de DiBP y 164 y 205 ppm de DiNP y DEHA, respectivamente, con una probabilidad de falso positivo y falso negativo de un 5%.

6.3. RESOLUCIÓN DE MEZCLAS DE LOS PLASTIFICANTES

En la fabricación de materiales plásticos es habitual utilizar mezclas de plastificantes que puedan conferir distintas propiedades al producto final. Por este motivo, en este trabajo se ha abordado el estudio de mezclas de dichos compuestos. Para ello, se han preparado las 17 muestras cuyas concentraciones se encuentran en la Tabla 1. Las muestras están distribuidas según un diseño de experimentos central compuesto para tres factores y de este modo se evita que existan correlaciones entre las concentraciones de los distintos analitos en la matriz experimental.

El análisis de las muestras se ha realizado obteniendo los espectros tanto con la medida directa en disolución, como registrándolos tras la etapa de preconcentración. De los espectros registrados en cada caso para las 17 muestras, los 14 primeros constituyeron el conjunto de calibrado y, por tanto, se utilizaron para construir los modelos de regresión multivariante. Por otro lado, los espectros de las 3 réplicas de las disoluciones del punto central del diseño se emplearon para evaluar la capacidad de predicción de los modelos PLS construidos, conformando el conjunto de evaluación. En ambos casos, con los conjuntos de calibrado, de dimensión 14×699 ,



se construye un modelo de regresión PLS para cada uno de los plastificantes. De nuevo, los mejores resultados se obtienen con los modelos ajustados con los datos originales, utilizando como método de validación cruzada persianas venecianas.

6.3.1. Medidas directas en disolución

La Tabla 6 muestra los porcentajes de varianza explicada alcanzados por los modelos construidos cuando las medidas se realizan de forma directa. En este caso, aunque los modelos de regresión presentan valores de varianza explicada de la respuesta muy altos, por encima de 99,5%, para DiNP y DiBP requieren un mayor número de variables latentes y las diferencias entre los valores de RMSEC y RMSECV son algo más elevadas que cuando se han preparado los patrones de calibrado independientemente para cada analito. Esto puede deberse a que los espectros de estos dos plastificantes son bastante parecidos e interfieren el uno en el modelado del otro. Es posible que disponer de mayor número de muestras de calibrado, llevara a modelos más estables para la resolución de mezclas de estos plastificantes.

Tabla 6. Número de variables latentes, varianza explicada, error cuadrático medio en calibración (RMSEC) y el error cuadrático medio en predicción (RMSECV) obtenidos en PLS con los datos originales para la mezcla de DiNP, DiBP y DEHA.

	V.L.	Varianza X (%)	Varianza Y (%)	RMSECV	RMSEC
DiNP	1	98,25	81,20	9523	8906
	2	99,81	86,90	8304	7435
	3	99,92	90,65	8133	6282
	4	99,96	99,69	4141	1144
	5	99,97	99,88	3139	725
	6	99,98	99,99	2904	196
DiBP	1	98,25	82,58	9810	9163
	2	99,81	93,79	6286	5469
	3	99,94	95,58	5529	4615
	4	99,96	99,43	3312	1661
	5	99,97	99,94	2378	534
	6	99,98	99,99	2236	261
DEHA	1	98,25	80,49	9221	8634
	2	99,76	86,79	8380	7103
	3	99,95	99,56	1960	1301
	4	99,96	99,85	1702	753
	5	99,97	99,97	1632	317
	6	99,98	99,99	1582	182



Tampoco en ninguno de estos modelos de regresión PLS, al analizar los índices Q y T² de Hotelling y los residuos estudentizados, se han detectado datos anómalos.

Finalmente se ha predicho la concentración de los tres plastificantes en de las muestras del conjunto test. En la Tabla 7 se pueden ver los valores de concentración estimados a partir de los modelos de regresión PLS ajustados. Los errores relativos son, en general, pequeños, salvo en el caso de la muestra 16, en el que la concentración de DEHA está muy por debajo del valor esperado, podría tratarse de un error en la preparación de la muestra.

Tabla 7. Concentraciones predichas y errores relativos correspondientes a las muestras del conjunto test en el análisis directo.

Exp.	DiNP			DiBP			DEHA		
	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)
15	19440	20046	3,12	20780	20986	0,99	18500	18182	-1,72
16	19440	19629	0,97	20780	20678	-0,49	18500	14675	-20,67
17	19440	18454	-5,07	20780	21594	3,92	18500	18686	1,00

6.3.2. Medidas con preconcentración

Cuando las medidas se han realizado preconcentrando las muestras sobre el cristal de módulo de ATR, los modelos de regresión ajustados para los tres plastificante presentan los porcentajes de varianza y los errores que aparecen en la Tabla 8. La varianza explicada de la respuesta es muy elevada en todos los casos, al igual que en el caso anterior, mientras que la razón entre RMSEC y RMSECV es más pequeña, lo que indica una mayor estabilidad de estos últimos modelos. Como en los ajustes realizados anteriormente, tampoco se han detectado datos anómalos.



Tabla 8. Número de variables latentes, varianza explicada, error cuadrático medio en calibración (RMSEC) y el error cuadrático medio en predicción (RMSECV) obtenidos en PLS con los datos originales para la mezcla de DiNP, DiBP y DEHA.

	V.L.	Varianza X (%)	Varianza Y (%)	RMSECV	RMSEC
DiNP	1	99,22	85,12	243,07	226,05
	2	99,91	87,15	234,75	210,03
	3	99,96	99,15	91,31	54,04
	4	99,97	99,49	75,96	41,66
	5	99,99	99,70	78,11	32,18
	6	99,99	99,95	78,21	13,44
DiBP	1	99,22	93,26	175,12	162,61
	2	99,93	96,07	143,51	124,19
	3	99,96	99,70	53,83	34,07
	4	99,98	99,81	49,91	27,17
	5	99,98	99,97	52,72	10,38
	6	99,99	99,99	47,33	5,81
DEHA	1	99,21	85,32	230,08	213,64
	2	99,93	99,23	56,30	48,86
	3	99,95	99,64	66,51	33,30
	4	99,97	99,80	55,00	25,25
	5	99,98	99,86	51,74	20,65
	6	99,99	99,99	50,75	5,82

Cuando se han utilizado estos modelos para predecir la concentración de las muestras del conjunto test, se han obtenido los valores de la Tabla 9. En este caso, los errores son algo más elevados que en el caso anterior, y también se observa una muestra con un error relativo por encima del 25%.

Tabla 9. Concentraciones predichas y errores relativos correspondientes a las muestras del conjunto test en el análisis con preconcentración.

Exp.	DiNP			DiBP			DEHA		
	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)	C _{real} (ppm)	C _{calculada} (ppm)	Error relativo (%)
15	534,6	538,4	0,71	571,5	546,5	-4,36	508,8	566,7	11,38
16	534,6	567,1	6,07	571,5	484,4	-15,23	508,8	484,0	-4,86
17	534,6	397,9	-25,26	571,5	580,1	1,51	508,8	583,2	14,64



6.4. MUESTRAS DE FILM DE PVC

La última parte del trabajo ha consistido en determinar estos tres plastificantes en films de PVC comerciales. Como los films son sólidos y el método de análisis puesto a punto requería que la muestra se encontrara en estado líquido, los aditivos se extrajeron del film de PVC mediante el procedimiento descrito en la Sección 5.3.3 [21]. Este procedimiento se ha realizado por triplicado.

Una vez redisueltos los extractos en ciclohexano, se registraron los espectros ATR, tanto directamente como preconcentrando las muestras sobre el cristal. La concentración de DiNP y DEHA era muy elevada, por lo que se estos compuesto se pudieron medir de forma directa (las muestras se encontraban fuera del rango de calibrado con preconcentración). Ninguna de las muestras del conjunto test fue considera como anómala en de los modelos de regresión multivariante ajustados.

Utilizando los modelos PLS correspondientes, se han calculado las concentraciones de los tres plastificantes en las muestras problema; dichas concentraciones se muestran en la Tabla 10. Todos los films de PVC analizados contienen DiNP y DEHA, en distintos porcentajes y cuya suma en ningún caso supera el 50% de su composición. Sin embargo, no se encontró que ninguna de las tres marcas analizadas contuviera DiBP, como era de esperar, ya que este ftalato se encuentra en la lista de sustancias sujetas a autorización en el REACH [6].

Tabla 10. Porcentajes de los tres plastificante encontradas en las muestras comerciales de film de PVC.

	DiNP	DEHA	DiBP
Albal	13,44%	21,16%	0%
Carrefour	8,45%	26,55%	0%
Aliada	8,37%	23,57%	0%

7. CONCLUSIONS

The analytical method developed has been successfully used to determine the three plasticizers at different ranges of concentration.

Original data have led to the best results in the PLS calibration. All the models had high predictive capability, with explained variances near to 100%. No outliers were found in any case.

Trueness of the analytical method is guaranteed for the determination of DiBP, DiNP and DEHA both in the direct analysis and with preconcentration.

The validated procedure has allowed to reach detection capabilities down to 3000 ppm when the direct analysis is performed, and to 60 ppm with preconcentration, with false positive and negative probabilities of 5%. The inclusion of a preconcentration stage in



the analytical procedure decreased the capability of detection by a factor of 50 for DiBP, and about 20 for DiNP and DEHA.

The percentages of DiNP and DEHA found in the commercial PVC films were around 23 and 10% respectively. As expected, no presence of DiBP was detected in the analysed test samples.

ATR-FIR combined with PLS regression is an easy, quick, cheap and effective analytical method that may be used as screening method in the determination of this plasticizers in PVC plastics.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] T. Melina Guerreiro, D. Noin de Oliveira, C. Fernando Odir Rodrigues Melo, E. de Oliveira Lima, R. Ramos Catharino, "Migration from plastic packaging into meat", *Food Research International*, 109 (2018) 320–324.
- [2] J. N. Hahladakis, C. A. Velis, R. Weber, E. Iacovidou, P. Purnell, "An overview of chemical additives present in plastics: Migration release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling", *Journal of Hazardous Materials*, 344 (2018) 179–199.
- [3] L. Coltro, J. B. Pitta, P. A. da Costa, M. Â. Fávaro Perez, V. A. de Araújo, R. Rodrigues, "Migration of conventional and new plasticizers from PVC films into food simulants: A comparative study", *Food Control*, 44 (2014) 118–129.
- [4] P. Gimeno, S. Thomas, C. Bousquet, A.F. Maggio, C. Civade, C. Brenier, P.A. Bonnet, "Identification and quantification of 14 phthalates and 5 non-phthalate plasticizers in PVC medical devices by GC-MS", *Journal of Chromatography B*, 949-950 (2013) 99–108.
- [5] <http://www.mexichemcompuestos.com/productos/plasticantes/pla744/>. Último acceso: 6 de junio de 2018.
- [6] Reglamento (CE) nº 1907/2006 del parlamento europeo y del consejo de 18 de diciembre de 2006. *Official Journal of the European Union*, L 396, 1–852.
- [7] Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food, *Official Journal of the European Union*, L 12, 1– 89.
- [8] J. González-Sálamo, B. Socas-Rodríguez, J. Hernández-Borges, "Analytical methods for the determination of phthalates in food", *Food Science*, 22 (2018) 122–136.
- [9] A. Subramanian, L. Rodriguez-Saona, "Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy", en: D.W. Sun (Ed.), *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, Academic Press, Oxford (2009), pp. 146–173.
- [10] G. Tranter, J. Holmes, J. Lindon (Eds.), "Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry", 3^{er} Vol., Academic Press, Oxford (2000), pp.58–75.



- [11] H. Wold, "Estimation of principal components and related models by iterative least squares", en: P.R. Krishnaiah (Ed.) *Multivariate Analysis*, Academic Press, Oxford (1966), pp. 391–420.
- [12] S. Wold, H. Martens, H. Wold, "The multivariate calibration problem in chemistry solved by the PLS method". *Proceedings from the Conference on Matrix Pencils*. March, 1982. A. Ruhe, B. Kagstrom (Eds.), Springer-Verlag, Heidelberg (1983).
- [13] P. Geladi, B.R. Kowalski, "Partial Least Squares Regression: A Tutorial", *Anal. Chim Acta*, 185 (1986) 1–17.
- [14] F. Lindgren, P. Geladi, S. Wold, "The kernel algorithm for PLS", *Journal of Chemometrics*, 7 (1993) 45–49.
- [15] S. de Jong, "SIMPLS: an alternative approach to partial least squares regression". *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 18 (1993) 251–263.
- [16] H. Martens, T. Naes, "Multivariate calibration", John Wiley & Sons, Nueva York, (1989).
- [17] B.M. Wise, N.B. Gallagher, R. Bro, J.M. Shaver, W. Windig, R.S. Koch, *PLS Toolbox 5.8.2*, Eigenvector Research Inc., Manson, WA, (2010).
- [18] *Statgraphics Centurion XVII*. StatPoint Technologies, Inc., Herndon, VA, (2014).
- [19] L. Sarabia, M.C. Ortiz, "DETARCHI: A program for detection limits with specified assurance probabilities and characteristic curves of detection", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 13 (1994) 1–6.
- [20] E. Martín Tapia, "Determinación cuantitativa de diisobutil ftalato en líquidos mediante ATR-FTIR: Estudio inicial". Trabajo de Fin de Grado, Universidad de Burgos. Marzo, 2018.
- [21] M. Lemos de Souza, P. Corio, M.L.A. Temperini, "Aplicação de espectroscopias Raman e infravermelho na identificação e quantificação de plastificantes em filmes comerciais de PVC esticável", *Quimica Nova*, 32 (2009) 1452-1456.
- [22] International Standard Organization, *ISO 5725, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results*, Ginebra (1994).
- [23] International Organization for Standardization, *ISO 11843, Capability of Detection. Part 1: Terms and Definitions, 1997; and Part 2: Methodology in the Linear Calibration Case*, Ginebra (2000).