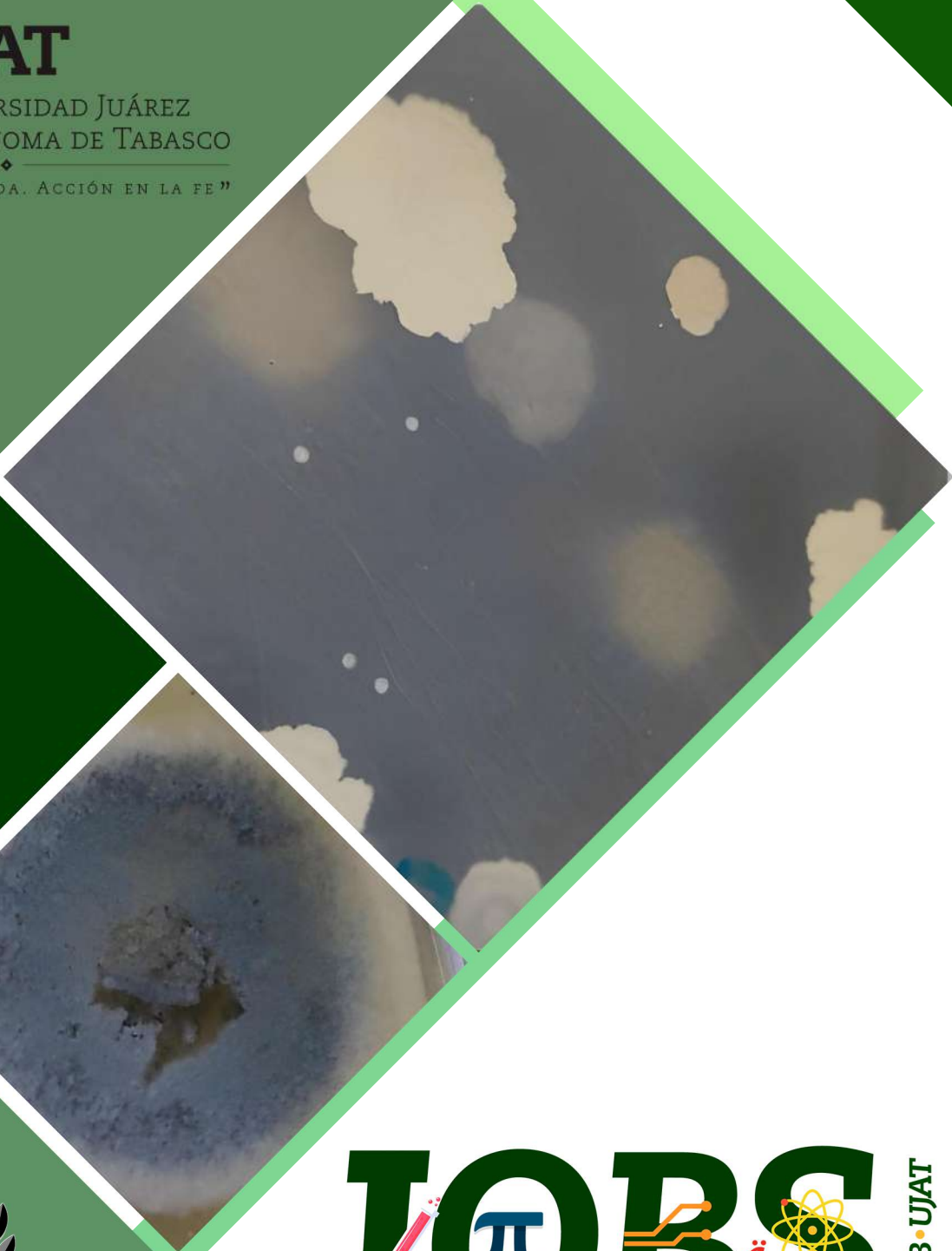




UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



JOB π BS DACB • UJAT

Journal of Basic Sciences

Volumen 10 • número 29 • septiembre-diciembre 2024

ISSN:2448-4997

<https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>





En el número 29 del Journal of Basic Sciences, los lectores podrán encontrar reportes de investigaciones en diversos ámbitos del quehacer de las ciencias básicas, que al generar y aplicar el conocimiento científico, se encaminan hacia la atención de problemáticas específicas y también a una mejor comprensión del universo.

Por ejemplo, el desarrollo de procedimientos analíticos para el control de calidad de productos para el consumo humano, es indispensable para asegurar los beneficios, así como disminuir los riesgos potenciales que puedan estar asociados. Es así que se presenta un estudio dirigido a la optimización de un método de preconcentración dirigido a la determinación de contaminantes derivados del ácido ftálico, que pueden estar presentes en bebidas embotelladas. El método reportado presenta una buena precisión y buenos límites de detección, por lo que se considera una buena opción en el pretratamiento de muestras. Por otro lado, se incluye una aportación dirigida a evaluar la calidad microbiológica de dos bebidas ancestrales: el aguamiel y el pulque, cuyo consumo puede representar un beneficio por el aporte de probióticos y prebióticos, aunque es necesario el establecimiento de parámetros normados de calidad e inocuidad, que puedan dar certeza a los procesos de fabricación de las mismas.

Una problemática actual en la química ambiental, son los denominados contaminantes emergentes, los cuales no están regulados en su disposición final por encontrarse en bajas concentraciones, pero que tienen la propiedad de ser bioacumulables, representando un riesgo potencial para la salud. Este es el caso de colorantes industriales como el naranja ácido 52, para el cual se presenta un estudio de su procesos de degradación mediante diversas tecnologías avanzadas de oxidación, con resultados efectivos para su remoción. En otro orden de ideas, el diseño de materiales con propiedades específicas es también un área de gran interés, como lo muestra el artículo relacionado con la evaluación de hidrogeles de carboximetilcelulosa como agentes para la liberación controlada de fármacos.

Además, en este número se presenta un estudio relacionado con la estimación de parámetros para la interacción de tres especies en un nicho ecológico: planta, plaga y agente de biocontrol, empleando la modelación matemática por un método multipasos. No menos importante, es la contribución presentada para la determinación numérica de los estados ligados de un sistema cuántico, con un pozo de potencial triangular, lo que permitió profundizar en la comprensión de este tipo de sistemas.

Así, con este número del Journal of Basic Sciences, se difunde el quehacer científico en diferentes vertientes, esperando sea de utilidad para nuestros lectores.

DIRECTORIO INSTITUCIONAL

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

- Lic. Guillermo Narváz Osorio. Rector
- Dr. Luis Manuel Hernández Govea. Secretario de Servicios Académicos
- Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez. Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación
- Dr. Pablo Marín Olán. Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica

Directorio Divisional

División Académica de Ciencias Básicas

- Dra. Hermicenda Pérez Vidal. Directora
- Dr. Luis Manuel Martínez González. Coordinador de Investigación
- M.C. Abel Cortazar May. Coordinador de Docencia
- L.Q. Esmeralda León Ramos. Coordinador de Difusión Cultural y Extensión

Comité Editorial

- Dr. Carlos Ernesto Lobato García. Editor en Jefe
- Dr. Adib Abiu Silahua Pavón. Gestor Editorial
- Mtra. Claudia Gisela Vázquez Cruz. Editora Asociada. Actuaría
- Mtra. María Hortensia Almaguer Cantú. Editora Asociada. Ciencias de la Computación
- Dr. José Arnold González Garrido. Editor Asociado. Ciencias Farmacéuticas
- Dr. José Luis Benítez Benítez. Editor Asociado. Física
- Mtro. Guillermo Chávez Hernández. Editor Asociado. Geofísica
- Dra. Addy Margarita Bolívar Cimé. Editora Asociada. Matemáticas
- Dra. Nancy Romero Ceronio. Editoria Asociada. Química

CONTENIDO

	Pag.
Determinación de ftalatos en bebidas envasadas con PET, empleando un método MSFIA acoplado a HPLC-DAD	1-16
Evaluación de la calidad microbiológica del aguamiel y pulque de San Agustín Tlaxiaca, Hgo., México	17-26
Análisis químico de la degradación del naranja ácido 52 aplicando Tecnologías Avanzadas de Oxidación	27-36
Cinética de liberación controlada del acetaminofén a partir del gel de carboximetilcelulosa	37-49
Numerical estimation of parameters in mathematical models for pest control	50-63
Método multi-escalón para determinar el espectro de energía de diferentes pozos de potencial cuánticos	64-72

Determinación de ftalatos en bebidas envasadas con PET, empleando un método MSFIA acoplado a HPLC-DAD

Jiménez-Morales Willmann Antonio¹, Hinojosa-Reyes Laura², Guzmán-Mar Jorge Luis^{2,*}, Cañizares-Macías María del Pilar³, Aristeo Segura Salvador¹.

¹Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca (UABJO), Facultad de Ciencias Química, Av. Universidad S/N, Cinco Señores, C.P. 68120, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

²Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Facultad de Ciencias Químicas, Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria, 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

³Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Departamento de Química Analítica, Facultad De Química, Av. Universidad 3000, Ciudad de México C.P. 04510, México.

*jorge.guzmanmr@uanl.edu.mx

Resumen

En este trabajo se diseñó, optimizó y validó un método de preconcentración en línea utilizando una membrana de tipo C18 con un sistema de Análisis por Inyección en Flujo Multijerinda (MSFIA) acoplado a un equipo de HPLC-DAD para la determinación de contaminantes derivados de ésteres de ácido ftálico (DMP, DEP y DBP) en jugos almacenados en botellas de PET. Los parámetros fisicoquímicos e hidrodinámicos del método se optimizaron mediante un diseño de experimento compuesto central. El método mostró una buena precisión (< 3%), un LD menor a 0.5 µg kg⁻¹, y un factor de preconcentrado de 33 veces. Tras aplicar el método a 6 muestras de jugos, se identificaron y se cuantificaron concentraciones de 172.89 y 100.43 µg kg⁻¹ de DMP y DBP, respectivamente. Finalmente, se obtuvieron valores de recuperación que oscilaron entre el 44.12% y el 141.07 % para los tres ftalatos.

Palabras claves: Ftalatos , preconcentrado, MSFIA, HPLC-DAD, jugos.

Abstract

In this work, an online preconcentration method was designed, optimized, and validated using a C18-type membrane with a Multisyrup Flow Injection Analysis (MSFIA) system coupled to HPLC-DAD equipment for the determination of contaminants derived from phthalic acid esters (DMP, DEP, and DBP) in juices stored in PET bottles. The physicochemical and hydrodynamic parameters of the method were optimized using a central composite experiment design. The method showed good precision (<3%), a LOD of less than 0.5 µg kg⁻¹, and a preconcentration factor of 33 times. After applying the method to 4 samples of juices, concentrations of 172.89 and 100.43 µg kg⁻¹ of DMP and DBP were identified and quantified, respectively. Finally, recovery values that ranged between 44.12% and 141.07% were obtained for the three phthalates.

Keywords: Phthalates, preconcentrate, MSFIA, HPLC-DAD, juices.

Recibido: 31 de mayo de 2024, Aceptado: 13 de noviembre de 2024, Publicado: 16 de diciembre de 2024

1. Introducción

El envasado de alimentos es una importante manera para almacenarlos a diferentes temperaturas, prolongar la vida útil de los productos, y salvaguardarlos de agentes naturales, tales como el aire, que pueden reducir o cambiar su calidad. Entre otros materiales, los plásticos han emergido como una práctica segura y confortable para el envasado primario de alimentos. Existen diferentes tipos de plásticos, cada uno con propiedades únicas y aplicaciones en el sector alimentario, como el policarbonato, el polietileno de alta y baja densidad, el estireno, el polipropileno y el tereftalato de polietileno [1].

El tereftalato de polietileno (comúnmente abreviado como PET o por el código de identificación de resina (reciclaje) #1) es un polímero semicristalino, considerado de los polímeros termoplásticos más difundidos disponibles en el mercado y utilizado en el envasado de agua embotellada y bebidas. El PET se basa en la familia de los poliésteres, que es una amplia categoría de polímeros que se caracterizan por tener funcionalidades de ésteres dentro de las principales cadenas macromoleculares[2].

Los plastificantes, también conocidos como ftalatos, aumentan la flexibilidad y durabilidad de los plásticos. Los ftalatos también se utilizan en una amplia gama de productos de consumo, como materiales de construcción, muebles para el hogar, ropa, cosméticos, productos farmacéuticos, dispositivos médicos, juguetes para niños, cosméticos, perfumes, automóviles, lubricantes, ceras, materiales de limpieza e insecticidas. Los ftalatos no están unidos covalentemente a la matriz plástica y, por lo tanto, pueden filtrarse en los alimentos durante su producción, envasado o preparación [3].

La exposición humana a los PAEs puede ocurrir por su uso directo, así como por contacto indirecto debido a su filtración en otros productos o por la contaminación ambiental. En la actualidad, se reconoce que la dieta representa la principal fuente de exposición a estos compuestos[4], [5], los cuales son considerados posibles disruptores endocrinos, capaces de bioacumularse en tejidos y con una baja tasa de biodegradabilidad[6]. Debido a su falta de unión química a las cadenas de polímeros[7], los PAEs tienen la capacidad de migrar fácilmente desde envases plásticos hacia alimentos, bebidas y agua[8], [9], [10].

Los PAEs han sido mayormente evaluados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) o cromatografía de gases (CG) junto a un espectrómetro de masas y detección UV [8], [9], [11], [12], [13], [14]. En el análisis mediante CG, se suele emplear un proceso de derivatización para mejorar la volatilización de los analitos y aumentar sensibilidad del espectrómetro de masas, lo cual extiende el tiempo de análisis. Considerando esto, la cromatografía de líquidos se presenta como una alternativa viable para el análisis de PAEs, siendo además una técnica más económica.

Para el análisis de estos PAEs, se requiere un paso de preconcentración de la muestra antes del análisis cromatográfico para obtener LD bajos y una buena selectividad del analito cuando sus niveles de concentración son bajos, como en el caso de contaminantes ambientales. La técnica de HPLC se ha combinado ampliamente con la extracción en fase sólida (SPE) para el enriquecimiento de analitos y la limpieza de muestras. Sin embargo, la mayoría de los métodos SPE informados se usan fuera de línea [11], [12], [15], [16], [17]. Los principales problemas de SPE fuera de línea son los riesgos de pérdida de muestras y contaminación. Por lo tanto, la implementación de un paso SPE en línea seguido la separación y cuantificación por HPLC-DAD brinda ventajas para el análisis de PAEs. La SPE-HPLC en línea se basa en la extracción selectiva del analito en una columna de extracción y su transferencia a una columna analítica con una válvula de conmutación de columna de dos posiciones en un sistema cerrado y automatizado.

Así, técnicas de análisis de flujo como el análisis de inyección de flujo multijeringa (MSFIA, por sus siglas en inglés) para automatizar, brindan ventajas como un alto rendimiento de la muestra y reproducibilidad, reduce los costos analíticos y la producción de desechos, y minimiza la intervención humana [18]. Olivera y colaboradores en 2009 describieron la técnica SPE/HPLC en línea a través de MSFIA para la detección de contaminantes fenólicos en agua y muestras ambientales, proporcionando una herramienta automática, rápida y confiable para la calidad del agua y el monitoreo ambiental.

En este trabajo se diseñó, optimizó y validó un método de preconcentración en línea acoplando un sistema MSFIA a un equipo de HPLC-DAD para la determinación de 3 contaminantes PAEs (DMP, DEP y DBP) en jugos almacenados en botellas de plástico PET, utilizando una membrana de tipo C18. Los parámetros fisicoquímicos e hidrodinámicos del método se optimizaron mediante un diseño de experimento compuesto central. El método mostró buena precisión y sensibilidad. Tras aplicar el método a 6 muestras de jugos, se identificaron y se cuantificaron dos contaminantes.

2. Metodología Experimental

2.1 Reactivos, muestras y disoluciones

Los estándares de ftalato de dimetilo (DMP), ftalato de dietilo (DEP) y ftalato de dibutilo (DBP) se adquirieron de Sigma -Aldrich (San Luis, Misuri, Estados Unidos) y fueron de grado analítico.

La disolución stock del DMP fue preparada a $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ disuelto en agua, para el caso del DEP fue preparado a $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, pero disuelto en acetonitrilo al 6% (con agua). Finalmente, la disolución stock del DBP fue preparado a $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ disuelto en acetonitrilo 100%. Todas las disoluciones de trabajo fueron preparadas diariamente a partir de las disoluciones stock en medio acuoso.

Las muestras empleadas fueron jugos clarificados de uva y manzana (2 marcas distintas por cada jugo). Con la finalidad de observar la robustez del método, también se evaluaron jugos de durazno y naranja no clarificados con pulpa (una marca por jugo).

2.2 Configuración MSFIA

La **figura 1** muestra la configuración del sistema MSFIA-SPE acoplado a HPLC-DAD, empleado para cuantificar PAEs en jugos envasados con plástico PET. El sistema MSFIA consistió en dos módulos Multi-Burette 4S de la empresa Crison Instruments (Alella - Barcelona, España) en donde el módulo 1 integró una bomba de pistón multijeringa con velocidad programable para impulsar las disoluciones y muestras empleadas. Por otro lado, el módulo 2 contuvo una válvula de selección de multiposición, la cual se encargó de cambiar de posición para aspirar o dispensar ya sea la muestra o las disoluciones utilizadas durante el paso de preconcentración.

El módulo 1 se equipó con 2 jeringas bidireccionales de alta precisión de 5 mL (Hamilton, Bonaduz, Suiza). La jeringa 1 se conectó al puerto central de la válvula de selección multiposición (VSM), para cambiar de posición el aspirado/dispensado de la muestra o disolución portadora durante el paso de preconcentración; y la jeringa 2 se conectó directamente a la unidad de preconcentración (cavidad cilíndrica de metacrilato) para el proceso de acondicionamiento y elución. El puerto 7 de la VSM se conectó a la unidad de preconcentración que contuvo una membrana de extracción EmporeTM octadecil C18 (Supelco, Lote:

151129, No. Catalogo 66883-U, Estados Unidos) donde tuvo lugar el paso de la muestra y las disoluciones utilizadas. Los puertos 1, 2 y 3 de la VSM se emplearon para el aspirado de portador (agua), aspirado de muestra y dispensado de desechos respectivamente. El sistema MSFIA incluyó un reactor de espera de teflón de 1.00 mm de D.I. con volumen de 2.5 mL, en adición todas las tuberías empleadas para las conexiones fueron de teflón y con un D.I. de 0.75 mm.

El sistema cromatográfico constó de una bomba SY-8100 de la marca XI 'an Yima opto-electrical Technology, China; una columna C18 fase reversa de la marca phenomenex® (5 μ m, 250x4.60 mm, No. 00G-4435-E0), Estados Unidos; un detector UV-vis USB 2000 acoplado a una celda de flujo (10 mm de paso óptico), ambos de la marca Ocean Optics, Estados Unidos.

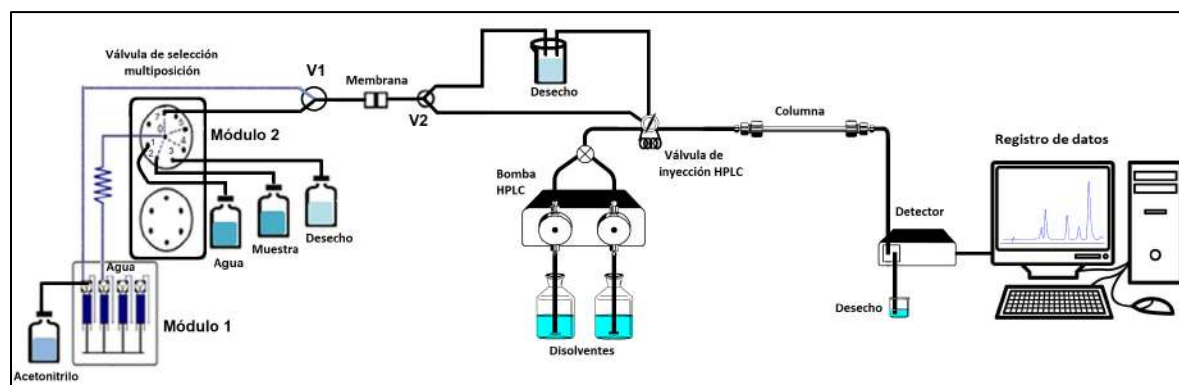


Figura 1. Configuración MSFIA acoplado a HPLC-DAD, para cuantificar PAEs en jugos. (Figura de autoría propia)

2.3 Procedimiento del método MSFIA acoplado a HPLC-DAD.

La **tabla 1** describe los pasos de la programación del sistema MSFIA para la preconcentración de PAEs. La secuencia del proceso de preconcentrado de PAEs por MSFIA se describe a continuación: 1) se carga la jeringa 1 con acetonitrilo y jeringa 2 con agua; 2) se dispensa 5 mL de acetonitrilo de la jeringa 1 hacia el preconcentrador para acondicionar la membrana de C18; 3) se aspiran volúmenes de 2 mL de muestra en el bucle de retención; y luego se dispensa a la membrana donde se llevará a cabo la retención de los PAEs repitiendo este paso hasta alcanzar un volumen de muestra de 20 mL; 4) se dispensa a la membrana 0.7 mL de acetonitrilo para eluir los analitos retenidos en la membrana, llenando de esta manera el bucle de la válvula de inyección del cromatógrafo de líquidos. Finalmente, se inyectan 100 μ L de lo contenido en la válvula de inyección en el sistema cromatográfico comenzando la corrida cromatográfica.

Tabla 1. Programación del método MSFIA para preconcentrar PAEs

Paso	Operación del VS	Descripción	Caudal ^a	Dirección de flujo	Posición del VS
1	Llenado de jeringa.	Las jeringas 1 y 2 son llenadas con ACN y agua, respectivamente.	10.0	Inverso	1
2	Acondicionamiento con ACN (Jeringa 1).	Se dispensan 5 mL de ACN hacia el preconcentrador.	0.75	Hacia delante	1
^b 3	Aspiración de muestra (Jeringa 2).	Volúmenes de 2 y 1 mL son aspirados hasta alcanzar 25 mL de muestra.	10.0	Inverso	2

^b 4	Preconcentrado de muestra (Jeringa 2).	Volúmenes de 2 y 1 mL son dispensados hasta completar 25 mL de muestra.	0.50	Hacia delante	7
5	Llenado de jeringa.	Las jeringas 1 y 2 son llenadas con ACN y agua, respectivamente.	10.0	Inverso	1
6	Elución con ACN (Jeringa 1).	0.7 mL de ACN es dispensado hacia el preconcentrador.	0.35	Hacia delante	1

^a Caudal en mL/min; ^b la muestra es aspirada y dispensada repetidamente hasta alcanzar un volumen total de 25 mL; (ACN) Acetonitrilo; (VS) Válvula de selección.

La separación cromatográfica de los PAEs después de la elución en línea de la SPE por membrana se implementó con una columna C18 phenomenex® con su respectiva guarda columna en fase inversa operando a 230 nm. La fase móvil elegida fue acetonitrilo: ácido acético (CH₃CN:CH₃COOH 0.1%) y el programa de gradiente de elución fue el siguiente: 0.0-4.8 min (70:30, v/v); 4.9-10.6 min (90:10, v/v); y finalmente 10.7-12.5 min (70:30).

2.4 Estudios Preliminares

Empleando la configuración de la **figura 1**, se realizaron estudios para establecer parámetros hidrodinámicos y químicos, para poder llevar a cabo la retención y elución de una mezcla de los 3 PAEs de estudio y después poder optimizar dichas condiciones mediante el uso de un diseño de experimento de superficie de respuesta.

2.4.1 Prueba de retención y elución de PAEs

Para observar la retención de los compuestos DMP, DEP y DBP en el sistema MSFIA, fueron preparadas disoluciones acuosas de cada estándar a 2 µg mL⁻¹, y una mezcla de los mismos estándares a 2 µg mL⁻¹. Primero se midieron las longitudes de onda máxima a la cual absorbía cada estándar a través de un espectrofotómetro, posteriormente se midió la absorbancia de la mezcla de estándares a 230 nm. De esta manera, 5 mL de la mezcla de PAEs a 2 µg mL⁻¹ fue aspirada al sistema MSFIA para su retención a través de una membrana de extracción Empore™ octadecil (C18) y su posterior elución con acetonitrilo. Finalmente, fue colectado por elución de 3 mL del preconcentrado y llevado a medición espectrofotométrica a 230 nm.

Las condiciones hidrodinámicas para este experimento fueron un caudal de 0.5 mL min⁻¹ para el acondicionamiento de membrana con ACN, preconcentrado de la mezcla y elución del preconcentrado; y un caudal de 10 mL min⁻¹ para el aspirado de muestra y portador.

2.5 Separación por HPLC

Para poder realizar la optimización del preconcentrado por MSFIA, primero se fijaron las condiciones cromatográficas, debido a que la variable de respuesta para optimizar el sistema MSFIA fueron las áreas de los picos cromatográficos de cada uno de los PAEs. En primera instancia, se evaluaron 3 tipos de columnas cromatográficas apolares (C18, C8 y monolítica C18) para separar una mezcla de DMP, DEP y DBP a una concentración de 10 ppm. También, se evaluaron las fases móviles a distintas proporciones, en modo isocrático y programación de gradiente. Las fases móviles propuestas fueron: acetonitrilo/agua;

metanol/agua; metanol/acetato de amonio (0.01 mol L^{-1}); acetonitrilo/ácido fórmico (0.1%); metanol/ ácido fórmico (0.1%), acetonitrilo/THF (1%) y acetonitrilo/ácido acético (0.1%).

Las inyecciones cromatográficas fueron de $100 \mu\text{L}$ de la mezcla de PAEs a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ en medio acuoso configurando el equipo a 230 nm.

2.6 Optimización del sistema MSFIA acoplado a HPLC-DAD.

2.6.1 Diseño compuesto central

Se realizó un diseño compuesto central en 3 bloques con 3 puntos centrales con un total de 23 experimentos, para evaluar los factores volumen de eluyente, caudal de elución y pH de la mezcla de estándares, tomando como variable de respuesta la suma del área total de los 3 estándares después de su separación por HPLC. Los valores altos y bajos para el volumen de eluyente fueron 1 y 2 mL; para el caudal de elución de 0.5 y 1 mL min^{-1} ; y para el pH de 5 y 9, respectivamente.

La experimentación se realizó para una mezcla de DMP, DEP y DBP a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ en disolución acuosa, con un volumen de mezcla de 5 mL. Para las condiciones cromatográficas se usó una columna C18 phenomenex ($5 \mu\text{m}$, $250 \times 4.60 \text{ mm}$) con su respectiva guarda columna en fase inversa operando a 230 nm. La fase móvil fue acetonitrilo: ácido acético ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_3\text{COOH}$ 0.1%) en modo programación de gradiente: 0.0-4.8 min (70:30, v/v); 4.9-10.6 min (90:10, v/v); y finalmente 10.7-12.5 min (70:30).

2.6.2 Evaluación de caudales y volumen de muestra

Partiendo de los valores óptimos obtenidos del DOE, se evaluaron los caudales de acondicionamiento de la membrana C18 y preconcentrado de muestra en un intervalo de 0.35 a 1 mL min^{-1} para ambos casos. También se determinó el volumen máximo de muestra para preconcentrar en un intervalo de 5 a 30 mL. Todos los experimentos fueron realizados siguiendo la configuración de la figura 4.1 y los pasos de la programación de la **tabla 1**, empleando una mezcla de los estándares DMP, DEP y DBP a una concentración de 1 mg Kg^{-1} y tomando como variable a maximizar las áreas de los picos cromatográficos de cada estándar presente en la mezcla.

2.7 Características del método

Después de establecer las condiciones óptimas de los parámetros hidrodinámicos y químicos del sistema MSFIA para determinar PAEs, se calcularon características como el intervalo lineal de la curva de calibración, el límite de detección y cuantificación. Para todos los experimentos se utilizaron los estándares de DMP, DEP, y DBP como contaminantes, reportando de esta manera resultados de la concentración en mg L^{-1} (ppm).

2.7.1 Curva de calibración

Empleando cromatografía de líquidos, se realizaron mediciones del área de cada uno de los contaminantes después de pasar por el sistema de preconcentrado MSFIA a 230 nm. Se propuso la construcción de curvas de calibración con un intervalo de trabajo de 10 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ para los estándares de DMP, DEP y DBP.

Para construir las curvas se graficaron las áreas de pico (eje y) correspondientes a cada estándar contra las concentraciones (eje x) usadas. Tras fijar el intervalo lineal, se construyeron 3 curvas de calibración para obtener una curva promedio. Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) se estimaron considerando el error de la regresión lineal ($S y/x$), y ordenada al origen (a) de la curva de calibración. Para el caso del LD se multiplicó 3 veces $S y/x$ y se sumó el valor de la ordenada al origen, mientras que para el LC se multiplicó 10 veces $S y/x$ y se sumó la ordenada al origen[19].

2.7.2 Precisión

Para conocer el grado de concordancia entre resultados analíticos, fue requerido evaluar la precisión intradía del método a través de 4 inyecciones repetidas de 100 μL de una mezcla de los estándares DMP, DEP y DBP en un cromatógrafo de líquidos configurado a 230 nm. Cada estándar fue evaluado a dos niveles de concentración, para el caso de DMP y DEP fueron evaluados a 25 y 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ y para DBP se duplicaron las concentraciones a 50 y 300 $\mu\text{g L}^{-1}$. La mezcla de estándares fue preconcentrado a través del sistema MSFIA antes de ser inyectado al equipo de HPLC. La precisión fue calculada a partir del coeficiente de variación (CV) de cada concentración de los estándares y finalmente expresada en términos de %CV.

2.7.3 Determinación de contaminantes en muestras.

Para demostrar la aplicación del método MSFIA-HPLC en matrices complejas, se analizaron 6 muestras de jugos comerciales para identificar y cuantificar contaminantes PAEs. Primero se utilizó el sistema MSFIA para preconcentrar los analitos de interés, y más tarde fueron separados y cuantificados por HPLC a 230 nm. El análisis de datos se hizo mediante la curva promedio descrita y tomando como variable de respuesta el área de cada pico cromatográfico.

2.7.4 Recuperaciones

Con el fin de evaluar el efecto de matriz de las muestras y estimar la exactitud del método MSFIA-HPLC, se determinaron las recuperaciones de 6 muestras fortificadas. Para determinar los porcentajes de recuperación, se preconcentraron por triplicado las siguientes muestras sin dilución: jugo de uva (2 marcas distintas), jugo de manzana (2 marcas distintas), jugo de durazno, y jugo de naranja. Después de obtener los preconcentrados de cada muestra se analizaron por HPLC para identificar y cuantificar los contaminantes PAEs. Finalmente, las muestras fueron fortificadas con una mezcla 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DMP y DEP, y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DBP, para nuevamente ser preconcentrados y analizados por el sistema MSFIA-HPLC. Los porcentajes de recuperación fueron calculados a partir del cociente de la concentración recuperada de cada contaminante entre la concentración añadida, y finalmente multiplicado por 100.

3. Resultados

3.1 Estudios Preliminares

3.1.1 Evaluación de la preconcentración de PAEs

Después de realizar un espectro de barrido para cada uno de los PAEs, se observó que cada contaminante alcanzaba el valor máximo de absorbancia a una longitud de onda cercana a 230 nm, por tanto, se fijó ese valor de longitud de onda para el análisis y detección de los 3 PAEs. Por otro lado, después de aspirar la mezcla de los PAEs y eluirlos con acetonitrilo a través del sistema MSFIA, se observó que los PAEs fueron retenidos y eluidos por completo de la membrana. Lo anterior se pudo confirmar gracias a que fue monitoreado por espectrofotometría el residuo del preconcentrado de la mezcla y también el acondicionamiento antes y después de comenzar el preconcentrado (**figura 2**).

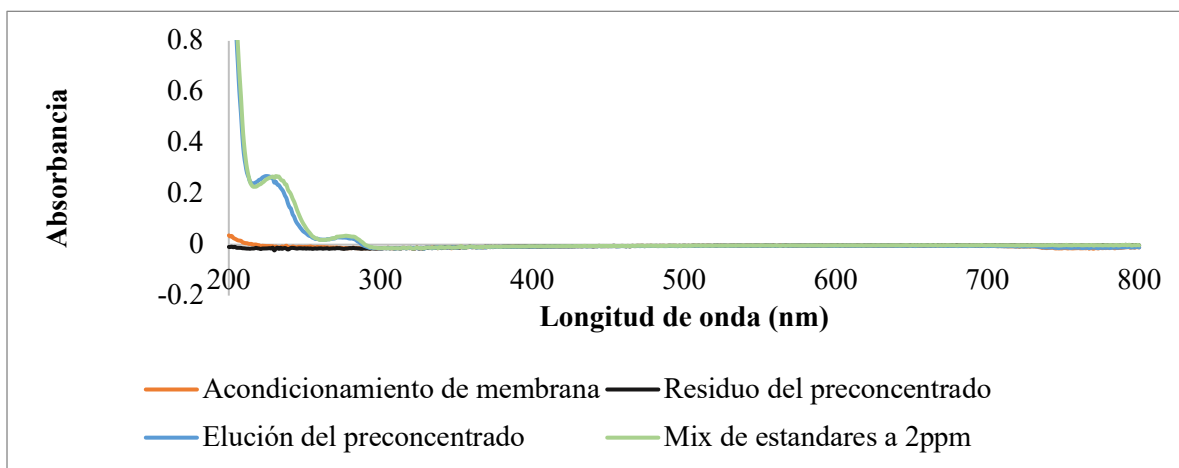


Figura 2. Espectro de absorción máxima para una mezcla de PAEs $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ después de ser preconcentrado por el sistema MSFIA con una membrana C18.

3.2 Análisis cromatográfico de los PAEs

La evaluación de las tres columnas cromatográficas con la mezcla de PAEs 10 ppm, mostró que la columna C18 presentaba una mejor afinidad hacia los analitos de interés con la fase estacionaria, permitiendo observar picos definidos con buena transferencia de masa (no picos amorfos), y de esta manera poder obtener una buena resolución (>1.5) entre los picos pertenecientes a DMP y DEP, pero con un tiempo prolongado de elución para el DBP en modo isocrático empleando la fase móvil acetonitrilo/ácido acético 0.1% (70:30). Sin embargo, fue complejo poder obtener una separación sin un tiempo de análisis prolongado en modo isocrático, por lo tanto, se optó por emplear una programación de gradiente para así eluir al compuesto DBP en un menor tiempo, sin afectar la resolución del cromatograma. La programación de gradiente para la fase móvil acetonitrilo/ácido acético 0.1% fue: 0.0-4.8 min (70:30, v/v); 4.9-10.6 min (90:10, v/v); y finalmente 10.7-12.5 min (70:30), empleando una columna C18 ($5 \mu\text{m}$, $250 \times 4.60 \text{ mm}$). El cromatograma de la mezcla de los 3 PAEs $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ a las condiciones adecuadas de análisis, es mostrado en la **figura 3**.

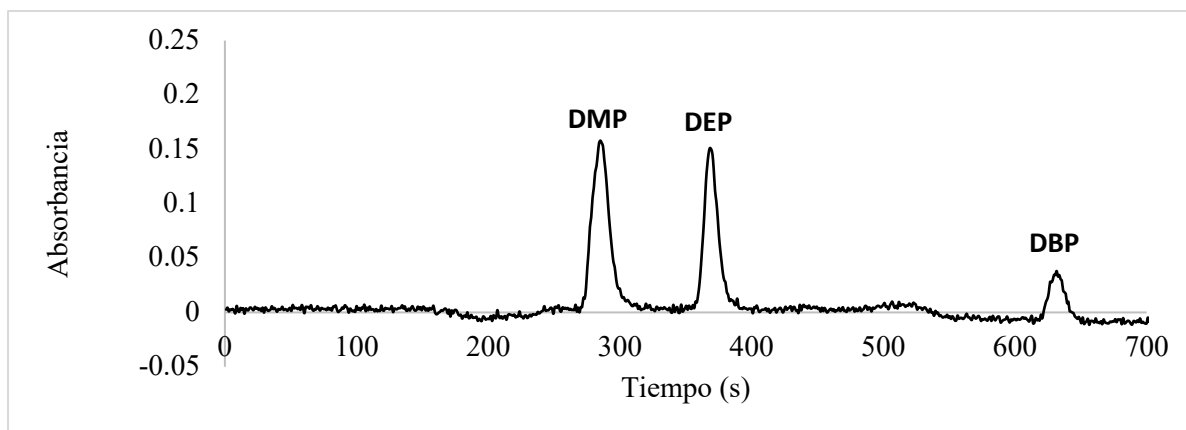


Figura 3. Cromatograma de separación de una mezcla de DMP, DEP y DBP a concentraciones de 10 ppm con una inyección de 100 μL .

3.3 Optimización del sistema MSFIA acoplado a HPLC-DAD.

3.3.1 Diseño compuesto central

Para optimizar el sistema de preconcentración MSFIA se evaluaron los factores volumen de eluyente, caudal (acondicionamiento, preconcentrado de muestra y elución como un único factor) y pH de la mezcla de estándares, tomando como variable de respuesta la suma del área total de los 3 estándares después de su separación por HPLC. La **tabla 2** muestra los resultados obtenidos después de realizar los 23 experimentos propuestos por el diseño compuesto central.

El diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño mostró con un nivel de significancia del 95% la influencia positiva o negativa de cada factor en la variable respuesta, siendo estadísticamente significativos aquellos factores localizados por encima de la línea perpendicular a las barras. Al utilizar una mezcla de PAEs a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, y considerar las interacciones binarias de cada factor, fue posible observar que el volumen de eluyente y la interacción caudal-pH tuvieron influencia significativa sobre el diseño, estableciendo que, a valores bajos de volumen de eluyente e incrementar al mismo tiempo el caudal y pH, las áreas de los picos aumentarán, mejorando la sensibilidad del método. La **figura 4** muestra el diagrama de Pareto para los efectos principales.

Finalmente, a partir de análisis del diseño con interacciones binarias, se obtuvieron valores óptimos de 0.35 mL min^{-1} para el caudal, un volumen de eluyente de 0.7 mL y un pH de 3.8 para la preconcentración del método MSFIA.

Tabla 2. DCC en 3 bloques con 3 puntos centrales, para evaluar los factores volumen de eluyente, caudal y pH usando como variable de respuesta las sumatorias de las áreas de DMP, DEP y DBP después de la separación por HPLC de una mezcla a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Bloque	Volumen eluyente ^a	Caudal ^b	pH	Área
1.00	1.00	1.00	9.00	2.48
1.00	2.00	0.50	9.00	1.27
1.00	1.00	0.50	5.00	2.79

1.00	1.50	0.75	7.00	1.77
1.00	2.00	1.00	5.00	1.72
1.00	1.50	0.75	7.00	2.25
1.00	1.50	0.75	7.00	1.71
2.00	2.00	0.50	5.00	1.87
2.00	1.50	0.75	7.00	2.13
2.00	1.00	0.50	9.00	2.18
2.00	1.50	0.75	7.00	1.97
2.00	1.00	1.00	5.00	2.13
2.00	2.00	1.00	9.00	1.74
2.00	1.50	0.75	7.00	1.96
3.00	1.50	0.75	7.00	1.82
3.00	1.50	0.35	7.00	1.86
3.00	2.30	0.75	7.00	1.25
3.00	1.50	1.15	7.00	1.46
3.00	1.50	0.75	10.21	1.55
3.00	1.50	0.75	7.00	1.73
3.00	1.50	0.75	7.00	1.63
3.00	0.70	0.75	7.00	2.95
3.00	1.50	0.75	3.79	1.75

^a volumen expresado en mL; ^b caudal expresado en mL min⁻¹.

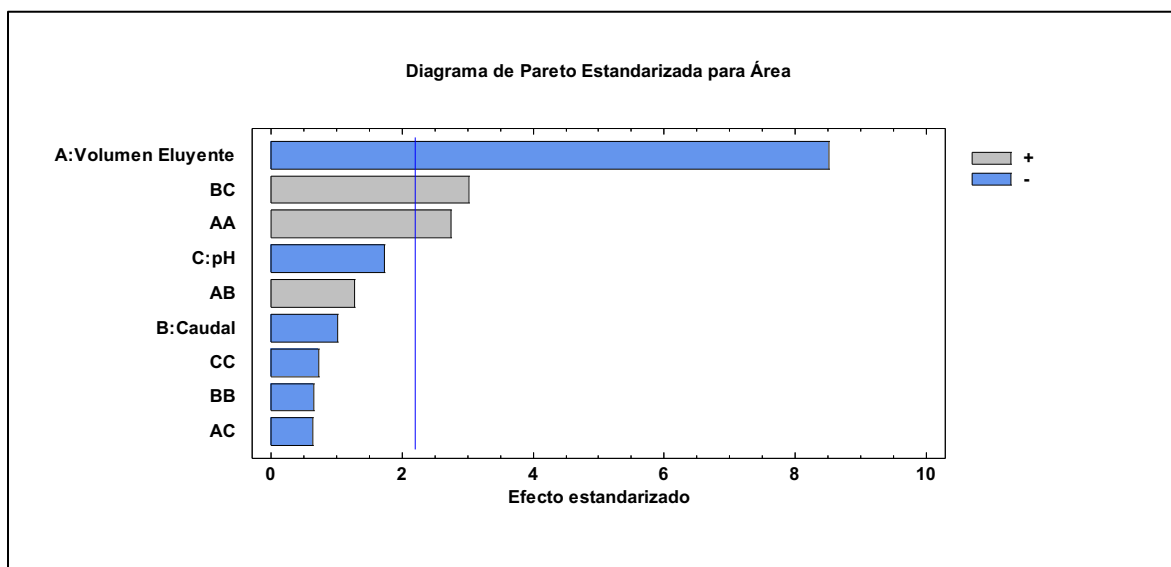


Figura 4. Diagrama de Pareto estandarizado con interacciones binarias de los factores, para maximizar la respuesta del sistema de preconcentrado MSFIA.

3.3.2 Evaluación de caudales y volumen de muestra

Los resultados de la evaluación de los caudales mostraron que al emplear un caudal de 0.75 mL min⁻¹ para el acondicionamiento de la membrana C18, se obtuvieron los valores más altos de áreas de cada estándar presente en la mezcla de PAEs a 1 mg Kg⁻¹. Por otro lado, al utilizar un caudal de preconcentrado de

muestra de 0.5 mL min^{-1} , se mostraron los valores más altos de área de la mezcla de PAEs. Finalmente, el volumen máximo que soportó la membrana C18 para preconcentrar la mezcla de PAEs (1 mg Kg^{-1}) fue de 25 mL debido a que, al sobrepasar este volumen, las áreas de la mezcla disminuyeron por el desgaste físico de la membrana y la saturación de la concentración retenida en su superficie.

3.4 Características analíticas del método propuesto

3.4.1 Curva de calibración, LD y LC

Después de graficar la concentración vs área relativa de cada contaminante con intervalo de 10 a $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, se observó una tendencia lineal de 25 a $250 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para los estándares DMP y DEP, mientras que para el estándar DBP su tendencia lineal fue de 50 a $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. La **tabla 3** muestra los parámetros de regresión lineal de las curvas de calibración de cada estándar promedio de (3 repeticiones).

Tabla 3. Parámetros estadísticos de las curvas de calibración para cada contaminante.

Estándar	Intervalo de concentración ^a .	R	Pendiente	Intercepto	LD ^a	LC ^a
DMP	25 - 250	0.995427	$6.51\text{E-}03 \pm 1.98\text{E-}04$	$2.53\text{E-}02 \pm 3.00\text{E-}02$	0.1948	0.5901
DEP	25 - 250	0.993051	$4.54\text{E-}03 \pm 1.70\text{E-}04$	$8.08\text{E-}02 \pm 2.58\text{E-}02$	0.2310	0.5815
DBP	50 - 500	0.997731	$9.05\text{E-}04 \pm 1.93\text{E-}05$	$1.71\text{E-}01 \pm 5.86\text{E-}03$	0.2051	0.2850

^a concentración expresada en $\mu\text{g L}^{-1}$

3.4.2 Precisión

Los valores de %CV fueron de 1.29, 4.47, y 8.69 al utilizar los estándares de DMP (25 ppb), DEP (25 ppb) y DBP (50 ppb) respectivamente, los cuales demostraron ser valores aceptables a pesar de que se están trabajando con concentraciones muy pequeñas, sin embargo, al utilizar los estándares DMP (150 ppb), DEP (150 ppb) y DBP (300 ppb), los %CV mejoraron notoriamente a 2.06, 2.44, y 2.36 respectivamente. Lo anterior se debe a que, al manejar concentraciones de los estándares cercanos a las del límite inferior de la curva de calibración, la precisión disminuye, por otro lado, al manejar concentraciones que se encuentren aproximadamente a la mitad de la curva de calibración asegura una mejor dispersión de los datos porque hay menos error en esa zona de la curva de calibración.

3.4.3 Aplicación del método

Para este estudio muestras de jugos (uva, manzana, durazno, y naranja) de distintas marcas contenidos por envases de tipo PET fueron analizadas empleando el sistema MSFIA-HPLC para determinar y cuantificar los contaminantes DMP, DEP y DBP. Para identificar los contaminantes se compararon el cromatograma de cada muestra analizada con el cromatograma de la mezcla de los estándares, de tal forma que hubiera concordancia entre los tiempos de retención como se muestra en la **figura 5**. La **tabla 4** muestra los resultados de concentración expresados en $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada estándar, detectados y cuantificados por el sistema MSFIA-HPLC. Es importante destacar que las muestras no fueron pretratadas previo al análisis, por lo que esto influyó de manera que no fue posible eliminar por completo señales interferentes en las muestras, así

como preconcentrar únicamente los analitos de interés, dando como resultado señales indeseadas en algunas muestras.

Tabla 4. Resultados de detección, identificación y cuantificación de los contaminantes DMP, DEP y DBP en bebidas embotelladas con plástico PET.

Muestra	DMP ^a	DEP ^a	DBP ^a
Jugo de uva (marca A)	N.D.	N.D.	N.D.
Jugo de uva (marca B)	N.D.	N.D.	N.D.
Jugo de manzana (marca A)	172.89	N.D.	N.D.
Jugo de manzana (marca B)	N.D.	N.D.	100.43
Jugo de durazno	N.D.	N.D.	N.D.
Jugo de naranja	N.D.	N.D.	816.75

^a concentración expresada en $\mu\text{g L}^{-1}$; (N.D.) muestra no detectable.

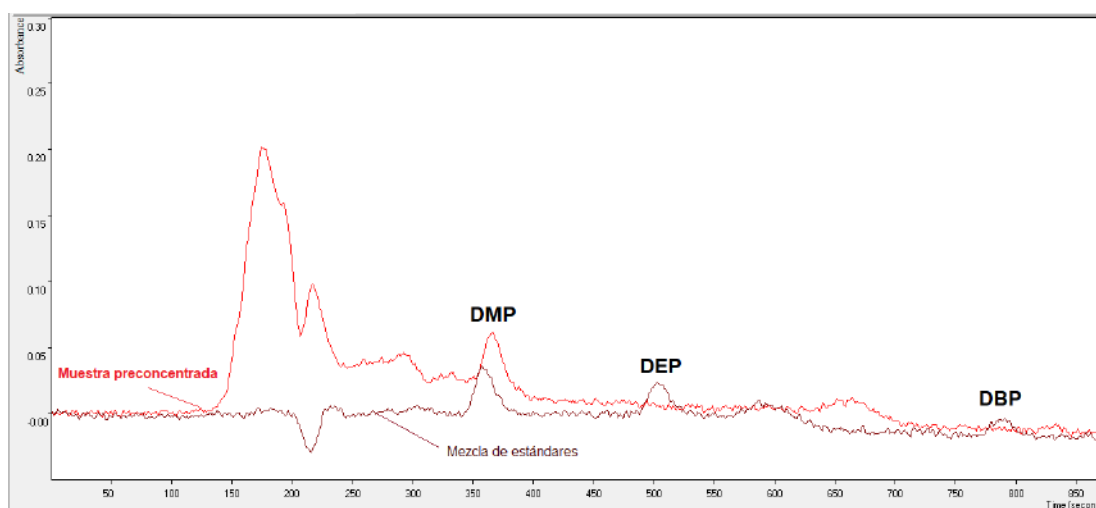


Figura 5. Cromatograma del de una muestra de jugo de manzana analizada por el método MSFIA-HPLC comparado con un cromatograma de una mezcla de los contaminantes PAEs.

Al realizar un análisis comparativo del método de preconcentrado propuesto MSFIA, frente a los reportados por la bibliografía (Tabla 5), es posible destacar que se lograron cuantificar concentraciones de los contaminantes sin realizar interpolación en límites inferiores de sus curvas de calibración como en el caso de los otros métodos como la extracción líquido-líquido o la extracción en fase sólida (SPE). En adición el método propuesto logró obtener límites de cuantificación comparables a los métodos ya reportados, demostrando que el método es robusto para concentraciones pequeñas de los analitos de interés.

Tabla 5.- Cuadro comparativo de métodos de preconcentrado de PAEs, para su posterior cuantificación.

Método de Preconcentrado	Instrumento de cuantificación	Tipo de muestra	Analito	Concentración presente $\mu\text{g L}^{-1}$	Intervalo lineal	LC	Referencia
Extracción líquido-líquido	HPLC	Jugo de Manzana	DBP	31.08 - 94.78	1-20mg mL^{-1}	N.R.	[20]
SPME	CG	Jugo de Manzana	DMP	N.D.	0.75-24 $\mu\text{g L}^{-1}$	1.43	[3]
SPME	CG	Jugo de Manzana	DEP	8.91	0.75-24 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.814	[3]
SPME	CG	Jugo de Manzana	DBP	0.754	0.75-24 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.539	[3]

SPE-MSFIA	HPLC	Jugo de Manzana	DMP	172.89	25-250 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.5901	Método propuesto
SPE-MSFIA	HPLC	Jugo de Manzana	DEP	N.D.	25-250 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.5815	Método propuesto
SPE-MSFIA	HPLC	Jugo de Manzana	DBP	100.43	50-500 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.285	Método propuesto

Micro extracción en fase sólida (SPME); Extracción en fase sólida (SPE); Extracción en fase sólida acoplado a Análisis por Inyección en Flujo Multijeringa (SPE-MSFIA); Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC); Cromatografía de Gases (CG); No detectable (N.D.); No reportado (N.R.); Limite de Cuantificación (LC).

3.4.4 Recuperaciones

Los porcentajes de recobro obtenidos para el método MSFIA-HPLC son presentados en la **tabla 6**, y es posible observar que se encuentran en un intervalo de 25.8% a 141.07% para el ensayo, lo cual nos indica que el sistema para determinar capacidad antioxidante presenta poca exactitud principalmente, debido a la presencia de interferencias por efecto de la matriz analizada. Para el contaminante de DMP algunas muestras presentaron interferencia por picos con áreas muy grandes (fuera del intervalo de cuantificación) que se traslapaban con el pico de retención del estándar y por tanto no fue posible identificar y cuantificar dicho contaminante. Para el caso de los contaminantes DEP y DBP, la preconcentración e identificación específicamente en muestras de jugos de durazno y naranja fue poco enriquecida debido a que dichas muestras presentaron partículas sólidas por su presentación comercial y aun que fueron centrifugadas para eliminar dichas partículas, la remoción no fue del todo satisfactoria y esto condujo al impedimento del preconcentrado de los analitos por efectos físicos de la muestra. Finalmente se logró apreciar que el contaminante DBP fue el que presentó menos interferencia, debido a que es el compuesto que tarda más en eluir de la columna y, por tanto, evita la interferencia de picos no deseados en los primeros tiempos de retención de la corrida cromatográfica. De esta manera, se sugiere que el método puede ser utilizado para identificar dichos contaminantes y preconcentrarlos, pero es necesario un pretratamiento para cada muestra y así evitar interferencias en las señales cromatográficas.

Tabla 6. Resultados de recuperaciones, de los contaminantes DMP, DEP y DBP en bebidas embotelladas con plástico PET.

Muestras	%Recuperación		
	DMP ^a	DEP ^a	DBP ^a
Jugo de uva (marca A)	INT	27.14	141.07
Jugo de uva (marca B)	INT	130.65	101.48
Jugo de manzana (marca A)	44.12	115.75	86.40
Jugo de manzana (marca B)	INT	119.39	N.C.
Jugo de durazno del valle	25.80	26.35	26.16
Jugo de Naranja del valle	N.C.	N.C.	N.C.

^a concentración expresada en $\mu\text{g L}^{-1}$; (INT) muestra con interferencia; (N.C.) muestra no cuantificable.

4. Conclusiones

El método propuesto demostró poder identificar y cuantificar a los contaminantes DMP, DEP y DBP a concentraciones del orden de partes por billón, lo cual lo convierte en un método altamente sensible y preciso.

La principal ventaja del método propuesto radica en la posibilidad de realizar el preconcentrado de nuestros analitos de interés mediante el sistema MSFIA y conectar en línea el producto del preconcentrado al bucle de inyección del HPLC, para así realizar el análisis de la identificación y cuantificación de dichos contaminantes. Aunado a lo anterior, dicho sistema presentó una mejora sustancial a los errores por manipulación del analista, dado que se caracterizó por presentar un coeficiente de variación con un porcentaje menor al 3%, barrera que aún no se ha podido superar en los métodos convencionales para preconcentrado de muestra como el SPE. Finalmente, como valor agregado al sistema propuesto, se identificaron concentraciones de los DMP y DBP, un foco de alerta para los consumidores, ya que estas bebidas las consumen diariamente las personas y aún no se encuentra regulado la concentración mínima de esos contaminantes por el efecto del envasado con plástico PET y su exposición a agentes físicos.

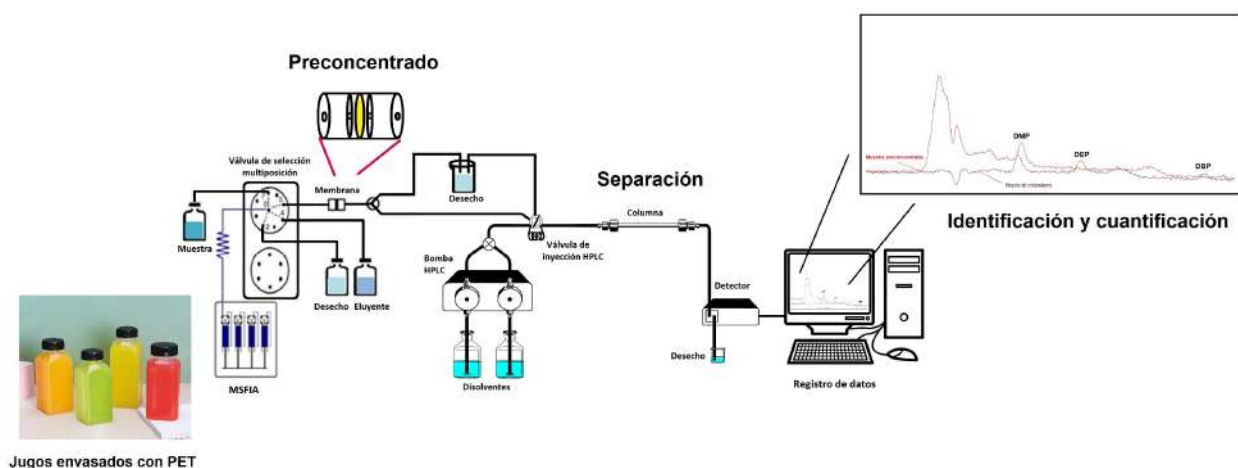
5. Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo económico otorgado a través de la Beca para Estudios de Doctorado (No. de becario 620290, CVU 817915).

A la Subdirección de Programas Institucionales de la Coordinación General de Estudios de Posgrado (CGEP), quien, a través del programa de Apoyo a Actividades de Larga Duración, brindó el apoyo financiero para realizar la estancia de investigación en el laboratorio de “Fotocatálisis y Electroquímica Ambiental” de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Nuevo León, México, en donde se llevó a cabo esta investigación.

Asimismo, agradezco al Dr. Jorge Luis Guzmán Mar y la Dra. Laura Hinojosa Reyes, por dirigir y asesorar en cada rubro el desarrollo de este trabajo.

6. Resumen Gráfico



7. Referencias

- [1] R. Rodríguez-Ramos, A. Santana-Mayor, A. V. Herrera-Herrera, B. Socas-Rodríguez, y M. A. Rodríguez-Delgado, “Recent advances in the analysis of plastic migrants in food”, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 178, sep. 2024, doi: 10.1016/j.trac.2024.117847.

- [2] R. Nisticò, “Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry”, *Polym Test*, vol. 90, oct. 2020, doi: 10.1016/j.polymertesting.2020.106707.
- [3] I. Al-Saleh y R. Elkhatib, “Analysis of phthalates residues in apple juices produced in Saudi Arabia”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 8, núm. 4, pp. 373–380, dic. 2014, doi: 10.1007/s11694-014-9202-7.
- [4] Y. Guo, Q. Wu, y K. Kannan, “Phthalate metabolites in urine from China, and implications for human exposures”, *Environ Int*, vol. 37, núm. 5, pp. 893–898, 2011, doi: 10.1016/j.envint.2011.03.005.
- [5] H. Fromme et al., “Intake of phthalates and di(2-ethylhexyl)adipate: Results of the Integrated Exposure Assessment Survey based on duplicate diet samples and biomonitoring data”, *Environ Int*, vol. 33, núm. 8, pp. 1012–1020, 2007, doi: 10.1016/j.envint.2007.05.006.
- [6] Y. Gao, T. An, Y. Ji, G. Li, y C. Zhao, “Eco-toxicity and human estrogenic exposure risks from .OH-initiated photochemical transformation of four phthalates in water: A computational study”, *Environmental Pollution*, vol. 206, pp. 510–517, nov. 2015, doi: 10.1016/j.envpol.2015.08.006.
- [7] M. Rahman y C. S. Brazel, “The plasticizer market: An assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges”, diciembre de 2004. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2004.10.001.
- [8] P. Otero, S. K. Saha, S. Moane, J. Barron, G. Clancy, y P. Murray, “Improved method for rapid detection of phthalates in bottled water by gas chromatography-mass spectrometry”, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, vol. 997, pp. 229–235, ago. 2015, doi: 10.1016/j.jchromb.2015.05.036.
- [9] D. Salazar-Beltrán, L. Hinojosa-Reyes, E. Ruiz-Ruiz, A. Hernández-Ramírez, y J. Luis Guzmán-Mar, “Determination of phthalates in bottled water by automated on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography with uv detection”, *Talanta*, vol. 168, pp. 291–297, jun. 2017, doi: 10.1016/j.talanta.2017.03.060.
- [10] E. Fasano, F. Bono-Blay, T. Cirillo, P. Montuori, y S. Lacorte, “Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging”, *Food Control*, vol. 27, núm. 1, pp. 132–138, sep. 2012, doi: 10.1016/j.foodcont.2012.03.005.
- [11] Y. T. Wu et al., “Selective and simultaneous determination of trace bisphenol A and tebuconazole in vegetable and juice samples by membrane-based molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC”, *Food Chem*, vol. 164, pp. 527–535, dic. 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.071.
- [12] A. S. Alnaimat, M. C. Barciela-Alonso, y P. Bermejo-Barrera, “Determination of bisphenol A in tea samples by solid phase extraction and liquid chromatography coupled to mass spectrometry”, *Microchemical Journal*, vol. 147, pp. 598–604, jun. 2019, doi: 10.1016/j.microc.2019.03.026.
- [13] J. Li, Y. Cai, Y. Shi, S. Mou, y G. Jiang, “Analysis of phthalates via HPLC-UV in environmental water samples after concentration by solid-phase extraction using ionic liquid mixed hemimicelles”, *Talanta*, vol. 74, núm. 4, pp. 498–504, ene. 2008, doi: 10.1016/j.talanta.2007.06.008.
- [14] L. Chang, P. Bi, X. Li, y Y. Wei, “Study of solvent sublation for concentration of trace phthalate esters in plastic beverage packaging and analysis by gas chromatography-mass spectrometry”, *Food Chem*, vol. 177, pp. 127–133, jun. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.013.
- [15] Z. Guo, D. Wei, M. Wang, y S. Wang, “Determination of Six Phthalic Acid Esters in Orange Juice Packaged by PVC Bottle Using SPE and HPLC-UV: Application to the Migration Study”, *J Chromatogr Sci*, vol. 48, núm. 9, pp. 760–765, oct. 2010, doi: 10.1093/chromsci/48.9.760.
- [16] J. Li, Y. Cai, Y. Shi, S. Mou, y G. Jiang, “Analysis of phthalates via HPLC-UV in environmental water samples after concentration by solid-phase extraction using ionic liquid mixed hemimicelles”, *Talanta*, vol. 74, núm. 4, pp. 498–504, ene. 2008, doi: 10.1016/j.talanta.2007.06.008.

- [17] X. Gao et al., “Determination of phthalates released from paper packaging materials by solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography”, *J Chromatogr Sci*, vol. 52, núm. 5, pp. 383–389, may 2014, doi: 10.1093/chromsci/bmt046.
- [18] S. Clavijo, J. Avivar, R. Suárez, y V. Cerdà, “Analytical strategies for coupling separation and flow-injection techniques”, el 1 de abril de 2015, Elsevier B.V. doi: 10.1016/j.trac.2014.11.019.
- [19] J. N Miller y J. C Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Sixth edit. England: Pearson Education Limited, 2010. [En línea]. Disponible en: www.pearsoned.co.uk
- [20] N. Nikolić, S. Cakić, O. Šimurina, M. Pešić, y J. Stanojević, “Determination of the content of phthalates and phenolic acids in mushy peach and apple juice during storage time: equations and correlations”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 18, núm. 3, pp. 2004–2013, mar. 2024, doi: 10.1007/s11694-023-02289-6.