



Gradu Amaierako Lana

Kimikako Gradua

Hidrokarbuero polizikliko aromatikoaren analisiaren itsas-portuetako uretan determinatzeko errutinazko metodo analitikoaren garapena

Egilea:

CABEZAS CABEZAS, ASIER

Zuzendaria:

OLIVARES ZABALANDICOECHEA, MAITANE

Zuzendarikidea:

USOBIAGA EPELDE, ARESATZ



GRADU AMAIERAKO LANA

KIMIKAKO GRADUA

Hidrokarbuero polizikliko aromatikoen analisia itsas-portuetako uretan determinatzeko errutinazko metodo analitikoaren garapena

ASIER CABEZAS CABEZAS-EK AURKEZTUTAKO MEMORIA

MATRIKULAZIO ETA DEFENTSA DATA: 2015eko Ekainaren 22a

ZUZENDARIA: Maitane Olivares Zabalandicoechea

ZUZENDARIKIDEA: Aresatz Usobiaga Epelde

SAILA: Kimika Analitikoa

AURKIBIDEA

1. SARRERA.....	1
1.1 KUTSATZAILE ORGANIKOAK URETAN.....	1
1.1.1 Hidrokarburo polizikliko aromatikoak.....	2
1.2 UREN ANALISIA.....	7
1.2.1 SBSE.....	9
1.2.2 TDU-GC-MS.....	12
2. HELBURUAK.....	15
3. ATAL ESPERIMENTALA.....	17
3.1 MATERIALAREN GARBIKETA.....	17
3.2 ERREAKTIBOAK ETA MATERIALAK.....	17
3.3 ERAUZKETA.....	18
3.4 ANALISIA.....	19
3.5 LAGINKETA.....	21
4. EMAITZAK ETA EZTABAIDA.....	23
4.1 SBSE ERAUZKETAREN OPTIMIZAZIOA.....	23
4.1.1 NaCl eta MeOH-ren gehiketaren optimizazioa.....	23
4.1.2 SBSE vs HSSE eta tenperaturaren optimizazioa.....	26
4.1.3 Erauzketaren abiaduraren optimizazioa.....	28
4.1.4 Erauzketaren denboraren optimizazioa.....	29
4.1.5 Matrize efektuaren ebaluaketa.....	30
4.2 METODOAREN BERRESPENA.....	32
4.2.1 Kalibratu prozedurala (Milli-Q).....	32
4.2.2 Kalibratu prozedurala (Ur-sintetikoa).....	36
4.3 APLIKAZIOA LAGIN ERREALETAN.....	40
5. ONDORIOAK.....	43
6. BIBLIOGRAFIA.....	45
ERANSKINA.....	II

1. SARRERA

1.1 KUTSATZAILE ORGANIKOAK URETAN

Azken hamarkadetan, kutsatzaile organikoak ingurumenean eta izaki bizidunengan sortzen dituzten efektu negatiboak direla eta, hauen determinazioa egiteko interesa piztu da. Batez ere, hazkunde industrialak eta gizakiak eragiten dituzten aktibitate antropogenikoak sortutako hondakinak uraren egoera kaltetuta izateak eragiten dute. Izaki bizidunen ongizatea bermatzen duen eta uraren kalitate egokia kontrolatzeko Europar mailan ezarri den lege garrantzitsuenetakoa Europako Ur Esparru Zuzentarauari (*Water Framework Directive*, WFD 2000/60/CE) dagokio. Bertan, gaur egun kezka gehien sortzen duten konposatu organiko emergenteek uretan izan behar dituzten parametro kimikoak, biologikoak eta ekologikoak zerrendatuta agertzen dira eta konposatuek uretan izan behar dituzten kontzentrazio maximoak agertzen dira, ingurumenaren babesa eta izaki bizidunen osasuna bermatzeko¹.

WFD-an sailkatutako konposatu organiko kutsatzaile gehienak ekosistema urtarrean eragin handia izaten dute eta hori dela eta zerrendan sailkatuta agertzen diren konposatuen etengabeko ikerketa egiteko programa bereziak antolatzen dira, ezarritako kontzentrazio maximoak behera dauden ziurtatzeko. Zerrenda honetan agertzen diren lehentasunezko kutsatzaile organiko (POPs, *Priority Organic Pollutants*) garrantzitsuenak hidrokarbuo polizikliko aromatikoak (PAH, *Polycyclic Aromatic Compounds*), konposatu organokloratuak, disolbatzaile organikoak, pestizidak eta bifenilo polikloratuak izan daitezke ^[1]. WFD kutsatzaile organikoek buruz antolatutako zerrendan urteetan zehar aurkitzen diren agente kutsatzaile berriekin berrituz doa. Gaur egungo kutsatzaile organiko emergente nagusiak, substantzia farmazeutikoak, hormonak eta disruptore endokrinoak dira eta hauen

¹ *Water Framework Directive* 2000. urteko Urriaren 23 an uren politikaren inguruan ezarritako legedia. Web orrialde honetan: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:02000L0060-20140101&from=EN> (2015/06/20an azkenengoz ikusita).

analisia sistema biologikoetan gero eta gehiago zabaltzen ari da espezie urtarretan sortzen dituzten arazoak kontuan hartuta ^[2]. Adibide moduan, uretan, disruptore endokrinoen kontzentrazio altuak arrainek sexua aldatzea eragiten du (*imposex*) ^[3].

WFD proposatutako zerrendan agertzen diren intereseko analito oso garrantzitsuak hidrokarbuero polizikliko aromatikoak (PAH, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) dira. PAH-ak kopuru desberdineko eraztun aromatiko osatutako hidrokarbueroak dira eta batez ere, hauen sorrera erregai fosilen ustiaketaren ondorio zuzena izan daiteke ^[4]. PAH-ak duten egitura berezia dela eta, propietate teratogeniko eta mutageniko bereziak dituzte eta horren ondorioz, izaki bizidunen organismoan minbizia sortzea ahalbidetzen dute, besteak beste ^[5]. Konposatu hauek matrize ezberdinetan duten ugaritasuna dela eta, izaki bizidunen osasunerako sortzen dituzten kalteak hainbat legegintzen bitartez bilduta daude. Hondakinen errausketa (2000/76/CE), edateko uretan (1130/1990 eta 140/2003 dekretuak) eta lurzoruetan (9/2005 dekretua), matrize ezberdinetarako konposatu hauek izan behar dituzten balio maximoak ezarrita daude OMS (Osasunaren Erakunde Mundiala) eta AIRC (Minbiziaren Ikerketarako Instituto Amerikarra) erakundeen irizpideen arabera ^[6]. Azken urteetan, itsasoan gertatu diren hondamendi ekologikoen (*Prestige*^[7]) ondorioz, PAH-en analisia itsasoko uretan egiteko kezka sortu da, inguruko espezie urtarretan sortzen dituzten arazoak ebaluatzeko ^[1].

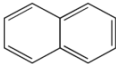


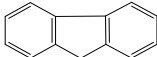
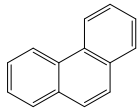
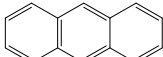
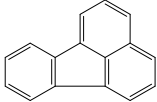
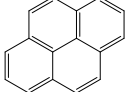
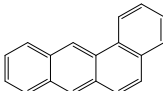
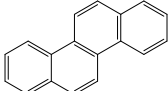
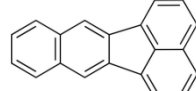
1.1.1 Hidrokarbuero polizikliko aromatikoak

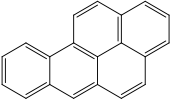
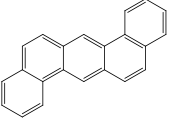
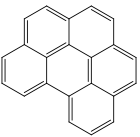
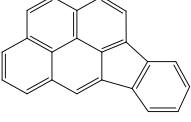
Hidrokarbuero polizikliko aromatikoak betidanik ingurugiroan egon diren konposatu organiko naturalak dira. Halabaina, hazkunde industrialaren ondorioz kutsatzaile hauen kontzentrazioa gero eta handiagoa izan da azken hamarkadetan. Kutsatzaile organiko hauen ikerketa 1775. urtean hasi zen tximinietako garbitzaileak zuten minbizia agente kutsatzaile hauekin erlazionatu zenean ^[5].

PAH-ak bi eraztun aromatiko edo gehiagoz osatutako hidrokarbueroak dira. Hidrokarbuero polizikliko aromatiko garrantzitsuenak 16 analito desberdinetan sailkatuta daude (ikusi 1.taula). PAH-ak bi taldetan banatu daitezke bere egoera

fisikoaren arabera: gas egoerakoak edo egoera solidokoak. PAH baten egoera, bapore-presioaren eta inguruko tenperaturaren arabera determina daiteke.

1. taula.- PAH-en egitura kimikoa eta propietate fisiko-kimikoak (disolbagarritasuna uretan, oktanol/uraren partizio koefizientea ($\log K_{ow}$), bapore-presioa eta irakite-puntua) ^[5].

PAH(Hidrokarburo polizikliko aromatikoak)	Egitura kimikoa	Disolbagarritasuna uretan ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Log K_{ow}	Bapore-presioa (KPa)	Irakite-puntua($^{\circ}\text{C}$)
Naph Naftalenoa		30	3,37	$4,92\cdot 10^{-2}$	218
Acy Acenaftilenoa		3,93	4,07	$2,9\cdot 10^{-2}$	265
Ace Acenaftenoa		3,47	4,33	$2,0\cdot 10^{-2}$	279
Flu Fluorenoa		1,98	4,18	$1,3\cdot 10^{-2}$	293
Phe Fenantrenoa		1,29	4,46	$6,8\cdot 10^{-4}$	340
Ant Antrazenoa		0,07	4,45	$1,96\cdot 10^{-4}$	340
Flr Fluorantenoa		0,26	5,33	$6,0\cdot 10^{-6}$	-
Pyr Pirenoa		0,014	5,61	$5,0\cdot 10^{-9}$	400
B[a]A Benzo [a] antrazenoa		0,002	5,61	$6,3\cdot 10^{-7}$	448
Chr Crisenoa		0,14	5,32	$6,85\cdot 10^{-7}$	360
B[k]F Benzo [k] fluorantenoa		0,0012	6,57	$5,0\cdot 10^{-7}$	-

PAH(Hidrokarburu polizikliko aromatikoak)	Egitura kimikoa	Disolbagarritasuna uretan (mg·L ⁻¹)	Log K _{ow}	Bapore-presioa (KPa)	Irakite-puntua(°C)
B[a]P Benzo [a] pirenoa		0,00055	6,84	5,0·10 ⁻⁷	480
D[ah]A Dibenzo [a,h] antrazenoa		0,0005	5,97	1,0·10 ⁻¹⁰	-
B[ghi]P Benzo [g,h,i] perilenoa		0,00026	7,23	1,0·10 ⁻¹⁰	-
Ind Indeno[1,2,3-cd]pirenoa		0,062	7,66	1,0·10 ⁻¹⁰	-

PAH-en artean, $1 \cdot 10^{-5}$ KPa baino bapore-presio altuagoa duten analitoak gas egoeran egongo dira eta $1 \cdot 10^{-9}$ KPa baino bapore-presio txikiagoak dituzten analitoak egoera solidoan. Esperimentalki frogatuta dago 25 °C-tan hiru eraztun dituzten PAH-ak (antrazenoa, fenantrenoa) gas egoeran daudela, lau eta bost eraztun dituzten PAH-ak egoera solidoan edo gas egoeran egon ahal direla eta sei eraztun edo gehiago dituzten PAH-ak normalean egoera solidoan egongo direla [5]. Analito bakoitzari dagokion bapore-presioa 1.taulan agertzen da eta PAH-en egitura kimikoak 1.taula horretan ere ikusi daitezke.

PAH-ak duten beste ezaugarri garrantzitsua uretan duten disolbagarritasuna da. PAH-ak nahiko disolbagarritasun txikiak izaten dituzte batez ere, konposatu ez-polarak eta hidrofoboak direlako. PAH-en disolbagarritasuna txikiagotu egiten da zenbat eta konposatuak eraztun aromatiko gehiago izan (ikusi 1.taula) eta orokorrean, disolbagarritasun txikiagoa erakusten dute ur-gazian ur-gezan baino [1]. PAH-ak uretan duten disolbagarritasuna deskribatzeko oktanol eta uraren arteko banaketa koefizientea erabili daiteke (ikusi 1. taula). Oktanol eta uraren arteko banaketa koefizientea (K_{ow}) bi fase desberdineko nahaste batean substantzia batek dituen kontzentrazioak neurtzen ditu, 1. ekuazioan adierazten den arabera [8]:

$$K_{ow} = K_{oktanol/ura} = \frac{[soluto]_{oktanol}}{[soluto]_{ura}} \quad (1)$$

PAH-ek ezaugarri lipofilikoak dituztenez materia organikoarekin erraztasun handiarekin interakzionatu dezakete, hori dela eta edozein matrizean akumulatzeko joera erakusten dute. Pisu molekular txikia duten PAH-ak (lau eraztun baino gutxiagokoak) uretan nahiko disolbagarriak dira eta beraz, partikuletan adsorbatzeko gaitasun txikia erakusten dute ($\log K_{ow} < 5$). Aldiz, pisu molekular altuagoak dituzten PAH-ak normalean uretan disolbagaitzagoak dira eta afinitate handia dute airean dauden partikuletan adsorbatzeko ($\log K_{ow} > 5$)^[5].

Ingurugiroan, PAH-en agerpena eragiten duen prozesuaren arabera, sorrera naturala edo antropogenikoa izaten da^[5]. Orokorrean, PAH-en sorrera eragiten duen arrazoi nagusietako bat erregai fosilen ustiaketa izan daiteke. Hidrokarburoek petroleoaren % 75 baino gehiago osatzen dute eta ikatzen agertzen den karbonoaren % 75 gutxi gorabehera modu aromatikoan agertzen da^[6].

PAH-en iturri antropogeniko nagusiak prozesu industrialak, etxeko berogailuak, garraioak, errausketa-instalazioak eta elektrizitatea sortzen dituzten zentral elektrikoak dira. Beste iturri garrantzitsua tabakoaren kontsumoa izan daiteke^[5].

PAH-en sorrera naturalari dagokionez, mikrobio eta landareetatik zuzenean sortzen direla aipa daiteke. Zenbait organismok eraztun aromatiko ugari dituzten konposatu organikoak sintetizatu ditzakete, eta konposatu hauen ondorengo erreakzioen (erredukzioa esaterako) ondorioz PAH-ak eratu daitezke. Bestalde, naturan, tenperatura altuetan gertatzen diren materia organikoaren bukatu gabeko errekontzaren ondorioz PAH-ak sortu daitezke; horren bi adibide, baso batean gertatutako sutean edo sumendi batean askatutako PAH-ak dira^[5].

PAH-ak espezie urtarretan dituzten efektu toxikoak LC₅₀ (toxikoaren eraginpean dagoen populazioaren % 50-rako heriotza suposatzen duen balioari dagokio) kontzeptuaren funtzioan adieraz daitezke^[5]. 2. taulan PAH desberdinen LC₅₀ balioak

itsasoan bizi diren hainbat espeziarentzako ikusi daitezke. Hainbat ikerketa PAH-ak espezie urtarretan duten eragina handiagoa dela frogatu dute. Eguzki-erradiazioa espezie urtarren toxikotasuna handitu egiten du. Eguzki-erradiazioak PAH molekulen fotoaktibazioa eragiten duela eta honen kontrako metabolismorik edo degradaziorik existitzen ez dela pentsa daiteke ^[5].

2. taula.- Itsasoan bizi diren hainbat espezie urtarrek izan behar dituzten LC₅₀ balio maximoak ^[5].

PAH	Organismoa	LC ₅₀ (96 ordu) (mg·L ⁻¹)
Naftalenoa	Krustazeoa	1,0-2,4
Naftalenoa	Arraina	0,1-0,8
Acenaftenoa	Arraina	0,6-3,0
Fenantrenoa	Arraina	0,04-0,6
Benzo[a]pirenoa	Arraina	< 0,024

PAH-ak itsasoetan (ur-gazia) edo ibaietan (ur-geza) dituzten sarrera bide nagusiak biosintesi, isurketa eta erregai fosilen infiltrazioarekin zerikusi handia dauka. Uretan dauden PAH-en jatorri nagusia petrolioaren isurketaren ondorioa da. Etxeko hondakinak eta hondakin industrialak uretan disolbagarriak eta partikulatuak diren PAH-en kontzentrazio altuak izaten dituzte. Ur-matrizean dauden PAH-ak normalean bere jatorritik hurbil egoten dira eta hauen kontzentrazioa logaritmikoki txikiagotzen da jatorritik urruntzean. Urarekin kontaktuan dauden PAH-ak nahiko azkar adsorbatzen dira materia partikulatuan eta kontzentrazio nahiko altuetan metatzen dira itsas-ondoko sedimentuetan. Orokorrean, itsasoko uretan PAH-en kontzentrazio erlatiboa sedimentuetan oso altua izaten da, balio ertainekoa biotan eta txikiagoa ur-zutabeetan. Ur-matrizean dauden PAH-ak suspentsioan dauden partikuletan adsorbatzen dira itsas-ondoko sedimentuetan metatuz. PAH-ak itsas-ondoko sedimentuetan daudenean degradatzeko joera txikiagoa erakusten dute ur-zutabeetan daudenean baino. Horren ondorioz, PAH-ak sedimentuetan dituzten kontzentrazioen balioak determinatzea interesgarria izan daiteke zonaldeko kutsadura maila zehazteko ^[5].

Organismo urtarrek, PAH-ak janari eta sedimentuen bitartez bioakumulatzeko joera dute. Adibidez, moluskuak itsasoan bizi diren beste espezieak baino hobeto PAH-ak metatzen dituzte, PAH-ak metabolizatzeko gaitasun oso txikia dutelako. Itsasoan bizi diren arrainen gehiengoa PAH-ak metabolizatzeko gaitasuna erakusten dute, baina moluskuak ez ^[5].

1.2 UREN ANALISIA

Uretan dauden konposatu organiko lurrunkorren erauzketa egiteko likido-likido erauzketa (LLE, *Liquid-Liquid Extraction*) ^[9-12], fase solidoko erauzketa (SPE, *Solid Phase Extraction*) ^[13-15], fase solidoko mikroerauzketa (SPME, *Solid Phase Microextraction*) ^[4,16,17] edo hagatxo birakariaren bidezko erauzketa (SBSE, *Stir Bar Sorptive Extraction*) ^[18-20] erabiltzen dira gehien bat.

Teknika hauen artean ohikoenak LLE eta SPE izan ohi dira. Gaur egun, kimika berdea bultzatu nahian LLE gero eta gutxiago erabiltzen da ^[9-12]. Izatez, LLE-ak disolbatzaile kantitate handia behar izateaz gain, analitoen aurrekontzentrazio txikiak ahalbidetzen ditu ^[21].

Konposatu organikoen erauzketa/aurrekontzentrazioa egiteko erabiltzen den beste ohiko teknika SPE-a da ^[13-15]. SPE lagin likidoetako analitoen aurrekontzentrazioa eta garbiketa egiteko teknirik erabiliena da. Funtsean adsorbatzaile (edo adsorbatzaile – erabilitako fase solidoaren naturaren arabera) solido batetik intereseko analitoak dituen lagin likidoa pasaratzen da eta ondoren, intereseko analitoekin afinitate handia eta indar eluotropiko egokiko disolbatzailea pasaratzen da ab/adsorbatzailetik analitoak narrasteko. Erabilitako fasearen naturaren arabera, fase normalean, alderantzizko fasean eta modu mistoan lan egitea ahalbidetzen du eta horrek analito familia gehiago aurrekontzentratzeko aukera ematen du ^[21].

3. taula.- Uretan dauden kutsatzaile organiko nagusien erauzketa egiteko erabiltzen diren erauzketa teknika garrantzitsuenen abantailak eta desabantailak ^[22].

Erauzketa teknikak	Abantailak	Desabantailak
Fase solidoko erauzketa (SPE)	<ul style="list-style-type: none"> - Erauzketa azkarra - Analito lurrunkorren eta ez-lurrunkorren erauzketa - Adsorbatzaile mota ugari - Automatizagarria - Emultsioen eraketaren eliminazioa 	<ul style="list-style-type: none"> - Bolumen kantitate oso handiak tratatzea batzuetan ezinezkoa - Kartutxoaren materiala interferentziak eragin dezake eta analitoa adsorbatu dezake - Adsorbatzailearen paketatzea uniformeaz izatea beharrezkoa da etekin baxuak ekiditeko
Fase solidoko mikroerauzketa (SPME)	<ul style="list-style-type: none"> - Erauzketa azkarra - Disolbatzaileen kontsumo minimoa - Automatizagarria - Kostu baxua (zuntza 100 aldiz erabili daiteke (gutxi gorabehera)) 	<ul style="list-style-type: none"> - Errepikakortasunak arazoak ematen ditu.
Hagatxo birakariaren bidezko erauzketa (SBSE)	<ul style="list-style-type: none"> - Erauzketa azkarra - Automatizagarria - SPME erauzketa baino detekzio-muga baxuagoak 	<ul style="list-style-type: none"> - Desortzioa egiteko desortzio-termiko unitate bat beharrezkoa da, nahiko garestia dena

Disolbatzaileen erabilera murriztu edo ekiditeko asmoarekin, teknika berriagoak garatu dira. Baldintza hauek betetzen dituen lehenetarikoa, SPME da; SPME bolumen oso txikiko fase adsorbatzaile (normalean SPME-en erabiltzen den fase solidoen bolumena 0,5 µL-koa da) batekin aurrera eramaten den mikroerauzketa da ^[4,16,17]. SPME-an fasearen bolumena oso txikia denez eta laginetik kopuru

esanguratsua (<% 1) erauzten ez denez, aurrekontzentrazio handiagoak ahalbidetzen duen hagatxo birakariaren bidezko erauzketa (SBSE) da gaur egun erauzketa teknikarik erabilienetarikoa. 3. taulan, konposatu organikoak ur-matrizeetatik erauzteko erabil daitezkeen erauzketa teknika ezberdinen abantaila eta desabantailak laburbiltzen dira ^[22].

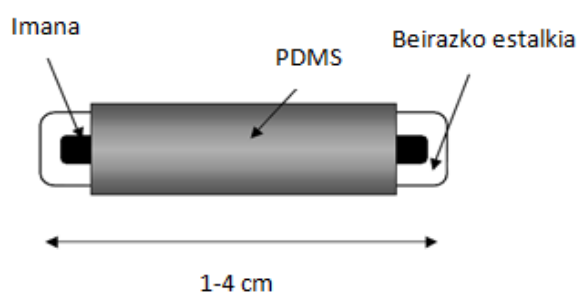
1.2.1 SBSE

SBSE azken urteetan agertu den aurrekontzentrazio teknika berrienetarikoa da eta SPME-ek izan ditzakeen desabantailak hobetzeko asmoarekin sortu da. Teknika hau erabilia argitaratutako lehenengo artikulua 1999. urtekoa da ^[23]. Teknika honen aplikazio nagusiak batez ere, ur-matrizean, matrize solidoan eta airean egindako ingurumen analisietan ^[20,28], elikagaien analisisian ^[24-26], biomedikuntzan ^[27] eta analisi farmakologietan ^[28,29] oinarrituta daude.

SBSE eta SPME erauzketa tekniken konparaketa egiten bada, bi tekniken arteko ezberdintasun nagusia erauzketa bakoitzak erabiltzen duen fase absorbatzailearen kantitatea izan daiteke. SBSE-ren kasuan material absorbatzailearen kantitate handiagoa erabiltzen da (20 eta 300 µL tartekoa) SPME-rekin konparatuz (orokorrean 0,5 µL). Hau dela eta, SBSE-rekin lortuko den analitoen aurrekontzentrazioa askoz handiagoa izango da ^[30].

SBSE-en analitoen erauzketa gauzatzeko analitoen eta absorbatzaile polimeriko baten arteko orekako partizio koefizienteak kontuan hartzen dira. Erauzketa prozesua sinplea da, hagatxoa laginean murgiltzen da eta biraka mantentzen da erauzketa amaitu arte. Behin bukatuta, hagatxoa disoluziotik atera eta zuzenean teknika kromatografikoen bitartez azter daiteke ^[21]. Hagatxo magnetiko birakariak komertzialki *Twister*[®] moduan ezagutzen dira², polidimetilsiloxanozko (PDMS) fase absorbatzailea dute eta bi tamaina desberdinetakoak izan daitezke (10 mm x 3,2 mm eta 40 mm x 3,2 mm) (Ikus 1.irudia).

² SBSE erauzketan erabiltzen den *twister*-aren inguruko informazioa. Web orrialde honetan: <http://www.gerstel.es/es/GERSTEL-Twister-es.htm>. (2015/06/20an azkenengoz ikusita).

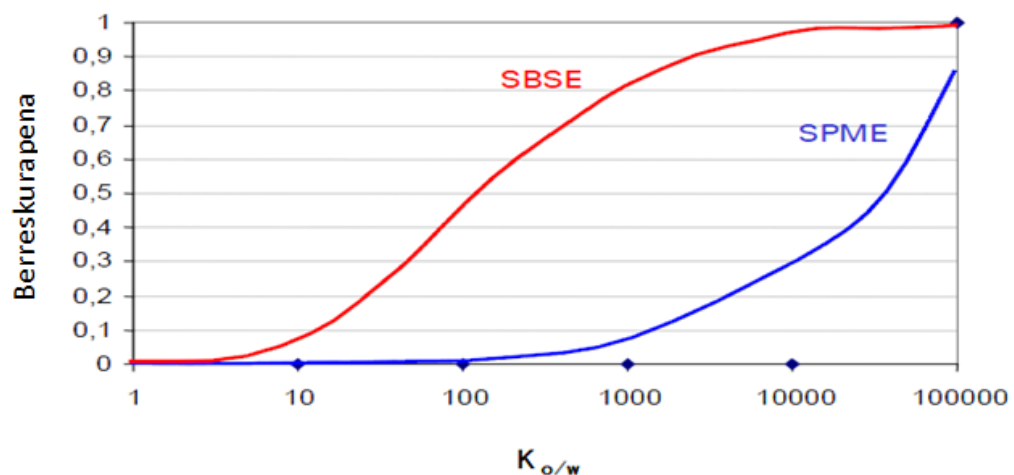


1. irudia.- SBSE gauatzeko erabiltzen den hagatxo magnetikoaren eskema ^[5].

Orokorrean, erauzketa bi modu ezberdinetan egin daiteke, hagatxoa laginaren zein zonaldean kokatzen den arabera: (i) hagatxo birakaria disoluzioan murgildu daiteke (SBSE) edo (ii) laginaren burugunean (HSSE, *Headspace Sorptive Extraction*) kokatu daiteke. Analito ez-lurrunkorrenzat SBSE moldaketa egokia izan daitekeen bitartean, analito oso lurrunkorrenzat HSSE moldaketa egokiagoa izango da, matrizean egon daitezkeen interferentzia ez-polarren erauzketa minimizatu baitaiteke ^[31].

Fase absorbatzailea eta erauzketaren moldaketaz gain, erauzketa burutzeko hainbat aldagaiek eragina izan dezakete, hala nola, erauzketa-denbora, pH-a, erabiltzen den PDMS-zko geruzaren lodiera, gatzaren gehikuntza *salting out* efektua faboratzeko, biraketa-abiadura, erauzketa-tenperatura eta laginaren bolumena dira esaterako ^[1]. Prozesuaren etekina maximoa izateko, parametro guztien eragina aztertu behar izaten da erauzketa baldintza optimoetan gauatzeko ^[1].

Erauzketa egiteko erabilitako baldintzetaz gain, erauzketan lortutako etekina konposatuaren natura eta erabilitako fase absorbatzailearen naturaren arabera izango da. SBSE teknika oktanol/ur partizio koefiziente handia ($\log K_{ow} > 3$) duten konposatuentzat, erauzketa teknika kuantitatiboa eta eraginkorra dela onartuta dago ^[5,21] (ikusi 2. Irudia).



2. irudia.- SPME eta SBSE erazketetan lortutako berreskurapenak analitoen oktanol/ura partizio koefizienteen arabera erlazionatzen da (PDMS zuntza kasu bietan) ^[5].

SBSE eta SPME erazketa tekniketari eskuratuak diren etekina (R) analitoaren fase-urtsuaren eta PDMS fasearen arteko banaketa koefizientearen arabera da ^[32,33] (ikusi 2. ekuazioa):

$$R = \frac{m_p}{m_0} = \frac{\frac{K_{PDMS}}{\beta}}{1 + \frac{K_{PDMS}}{\beta}} = \frac{1}{1 + \beta/K_{PDMS}} \cdot 100 \quad (2)$$

non, m_p analitoak absorbatzaile polimerikoan duen masa, m_0 analitoak ur-laginean duen hasierako masa totala, $K_{PDMS/w}$ PDMS fasearen eta ur-laginearen arteko banaketa koefizientea eta β faseen arteko proportzioa ($\beta = \frac{V_w}{V_{PDMS}}$, non V_w ur-fasearen bolumena eta V_{PDMS} absorbatzaile polimerikoaren bolumena diren) da ^[32,33].

Teorikoki, erazketaren etekina gero eta txikiagoa izango da analitoen polaritatea gero eta handiagoa den heinean. Faseen arteko erlazioari dagokionez, zenbat eta

twister-ak dituzten PDMS kantitatea handiagoa izan erauzketaren etekina handiagoa izatea espero da ^[5,32].

SBSE teknika SPME-rekin konparatuz erakusten duen beste abantaila bat detekzio-muga baxuagoetara analisiak egitea da ^[30]. SBSE izan dezakeen desabantaila nabariena bere selektibitatea izan daiteke. Esan bezala, komertzialki PDMS-zko faseko hagatxoak eskuratu daitezke eta honek analisiak analito ez-polarrentzat mugatzen ditu. Hala ere, etorkizunean gai honetan ikerketa sakona egitea eta aukera desberdinak ematen dituzten material adsorbatzaileak komertzialki eskuragai izatea konposatuen familia gehiagoren erauzketa egin ahal izateko espero da ^[5].

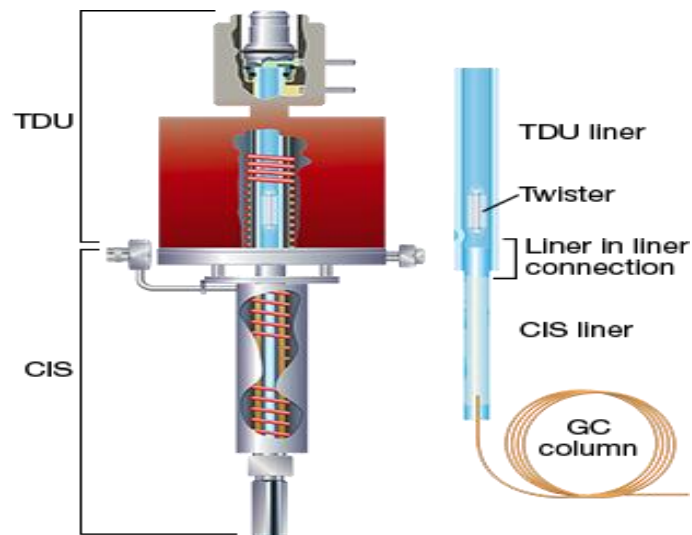
1.2.2 TDU-GC-MS

Hagatxo birakarian absorbatuta dauden konposatuen analisia egiteko teknika kromatografikoak erabiltzen dira gehien bat. Horretarako, hagatxoaren material polimerikoan absorbatuta geratu diren analitoen desortzioa egiteko GC (*Gas Chromatography*) sistemara akoplatuta dagoen TDU-ren (*Thermal Desorption Unit*) bitartez desortzio-termikoa egiten da. Desortzioa, disolbatzaile bat erabiliz (oso kantitate txikiak behar dira) kimikoki ere egin daiteke, ondoren, HPLC-ren (*High Performance Liquid Chromatography*) bidez determinatuz ^[31].

Desortzio-termikoa gauzatzen duen unitatearen eskema 3. irudian agertzen da. TDU sistemak seriean konektatuta dauden PTV-rako (*Programmable Temperature Vaporizer*) erabiltzen diren bi injektoreetan oinarritzen da³. Lehenengo posizioan kokatuta dagoen PTV injektorea beirazkoa da; hagatxo magnetiko birakaria lehenengo injektorean kokatzen da eta bertan desortzio-termikoa gertatzen da. Lehenengo injektorean desorbatutako analitoak bigarren injektorera narrastu egiten dira eta bertan dagoen tenperatura baxua dela eta (-150 °C) bigarren injektorean erretentuta geratzen dira. Bigarren injektorearen tenperatura igotzen

³ Desortzio termikoa egiteko erabiltzen den TDU sistemari buruzko informazioa. Web orrialde honetan: <http://www.gerstel.com/en/thermal-desorption-unit.htm>. (2015/06/20an azkenengoz ikusita).

hasten da eta poliki-poliki analitoak gas kromatografoan erabiliko den gas garraiatzailearen bidez zutabe kromatografikora abiatzen dira ^[5].



3. irudia.- Hagatxo magnetikoan absorbatutako analitoen desortzio-termikoa egiteko erabiltzen den TDU sistema.

Uretan dauden kutsatzaile organiko lurrunkorren analisisa egiteko, batez ere, teknika kromatografikoak erabiltzen dira. Gas kromatografia uretan dauden konposatu organiko lurrunkor gehienen determinazioa egiteko erabiltzen da. Analisisa gas kromatografiaren bitartez egiten bada, normalean, konposatu kutsatzaile gehienen determinazioa egiteko gas kromatografoa masa-espektrometro batekin aklopatuta egongo da ^[34-35]. Uretan dauden konposatu kutsatzaileen analisisa egiteko erabiltzen den beste teknika kromatografiko garrantzitsua bereizmen handiko likido kromatografia (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) da ^[36-37]. Hala ere, HPLC konposatu organiko lurrunkorrek determinatzeko gutxiago erabiltzen da.

2. HELBURUAK

Gaur egun ingurumenaren kalitatea eta izaki bizidunen osasuna babesteaz arduratzen diren erakundeak gero eta kezkatuago daude izaki bizidunen aktibitate antropogeniko ezberdinetan sortzen diren POPs-en kantitate altuak direla eta. Arazo hauen aurrean, lan honen helburu nagusia itsasoko uretan traza-mailan egon daitezkeen PAH-en determinazioa egiteko baliogarria izango den metodo analitiko baten garapena da.

Kutsatzaile organikoen determinazioan sortzen den arazorik kezkagarriena konposatu hauek ingurumenean oso kontzentrazio baxuetan agertzea izan daiteke. Beraz, kutsatzaile organikoen analisia traza-mailan egitea ahalbidetzen dituzten metodo analitikoak garatu behar dira ahalik eta sentikortasun altuenarekin. Nahiz eta PAH-en erauzketa egiteko hainbat teknika erabiltzea posiblea izan (SPE, SPME, LLE), lan honetan, SBSE erauzketa teknika erabili da. Erauzketa burutu ostean, desortzio-termikoa dela medio, GC-MS bidezko kuantifikazioa burutuko da.

Era honetan, lan honen helburua itsasoko uretan PAH-en kuantifikazioa egitea ahalbidetzen duen SBSE-TD-GC-MS metodoaren garapenean oinarritzen da. Helburu hau lortzeko, erauzketaren urrats guztiak optimizatu eta berrestu dira prozesuaren eraginkortasun handia lortzeko asmotan. Optimizatutako metodoa kalitate ezberdinetako itsasoko uren analisisira aplikatu da.

3. ATAL ESPERIMENTALA

3.1 MATERIALAREN GARBIKETA

Prozesu osoan zehar erabilitako laborategiko material guztia egokitzeko garbiketa prozesu zorrotza proposatu da. Interferentziak ekiditeko garbiketa prozesu osoan zehar ez dira erabili inolako garbikaririk. Laborategiko material guztia *Ellix* kalitateko urarekin ($< 0,2 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, *Millipore*, Bedford, MA, USA) garbitu da eta azetonarekin (Q.P., Panreac Quimica, Bartzelona, *Spain*) bete da ultrasoinuan sonikatzeko 30 minutuz eta bainuan gau osoan zehar utziz. Materiala ultrasoinutik jaso denean Milli-Q urarekin ($< 0,057 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, *Milli-Q Model 185*, *Millipore*, Bedford, MA, USA) eragin eta berogailuan sartu da $150\text{ }^\circ\text{C}$ -tan.

3.2 ERREAKTIBOAK ETA MATERIALAK

Prozedura esperimentalean zehar garrantzi toxikologiko gehien duten 16 PAH-en *stock* disoluzioen prestaketa egiteko erabili den PAH-en nahastea Supelco (*Walton-on-Thames*) konpainiatik lortu da.

Prozesu osoaren optimizazioa egiteko eta laginen prestaketa egiteko MeOH (*Anhydrous, HPLC-grade, 99,9 %*, *LabScan*, Dublin, Irlanda) eta NaCl (Panreac Quimica, Barcelona) erreaktiboak erabili dira. *Stock* disoluzioen prestaketa egiteko erabilitako disolbatzaileak hexanoa eta isopropanola (*HPLC-grade, LabScan*, Dublin, Irlanda) izan dira.

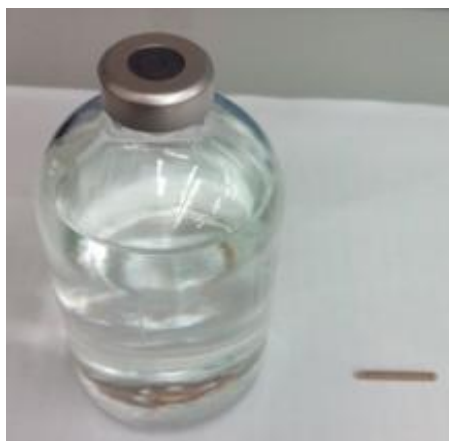
Analisi bakoitzaren ostean *twister*-ak egonkortzeko TC2 sistema (Gerstel, *Tube Conditioner, Aux-controller 163*) erabili da. Horretarako, TC2-an *twister*-rak N_2 korrante baten bitartez $200\text{ }^\circ\text{C}$ -tan desorbatu dira 2 orduan zehar. Atal honetan *twister*-en garbiketa egiteko eta analitoen desorbaketa gauzatzeko N_2 (99,9995 %, Carbuos Metàlicos, Barcelona, *Spain*) korrantea erabili da.

Itsasoko ur-sintetikoaren 2 L prestatzeko hurrengo osagaiak erabili dira: 48,97 g NaCl (Panreac Quimica, Barcelona), 8,21 g Na_2SO_4 (Probus, kimikoki purua), 1,38 g KCl (Panreac Quimica, Bartzelona), 0,40 g NaHCO_3 (Panreac Quimica, Bartzelona),

0,20 g KBr (Merck, Darmstadt, Alemania), 0,053 g H_3BO_3 (Panreac Quimica, Bartzelona), 0,006 g NaF (Probus, kimikoki purua), 22,17 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Panreac Quimica, Bartzelona), 2,34 g CaCl_2 (Panreac Quimica, Bartzelona).

3.3 ERAUZKETA

Intereseko analitoen erauzketa aurrera eramateko SBSE teknika erabili da. Horretarako, 150 ml-ko bolumen maximoa onartzen duten ontzietan erauzketaren etekina maximoa izateko, erauzketan eragina izan dezaketen parametroen (NaCl eta MeOH-ren gehiketa, erauzketaren temperatura eta moduaren azterketa (HSSE vs SBSE), plaka irabiagailuaren abiadura eta erauzketa-denbora) optimizazioa egin da. Plaka irabiagailuan erauzketa eman dadin, ontziak plastikozko tapoiekin estaltzen dira eta aluminiozko beste tapoien bitartez isolatzen dira. Baldintza optimoetan erauzketa honela egin da: aztertu beharreko ur-laginari (150 ml) % 10 MeOH gehitu zaio (15 ml) eta *twister*-a laginean murgildu ostean, erauzketa 600 rpm-tan, inguru tenperaturan eta 12 orduz burutu da (ikus 4. irudia). Behin erauzketa denbora amaituta, *twister*-ak ontzietatik atera dira eta Milli-Q uretan garbitu dira egon daitezkeen NaCl-ren arrastoak kentzeko; insertoetan sartu baino lehen paperarekin lehortu dira hezetasunak analisisan ekar ditzakeen arazoak ekiditeko.



4. irudia.- SBSE erauzketa egiteko ontzia eta *twister*-a.

3.4 ANALISIA

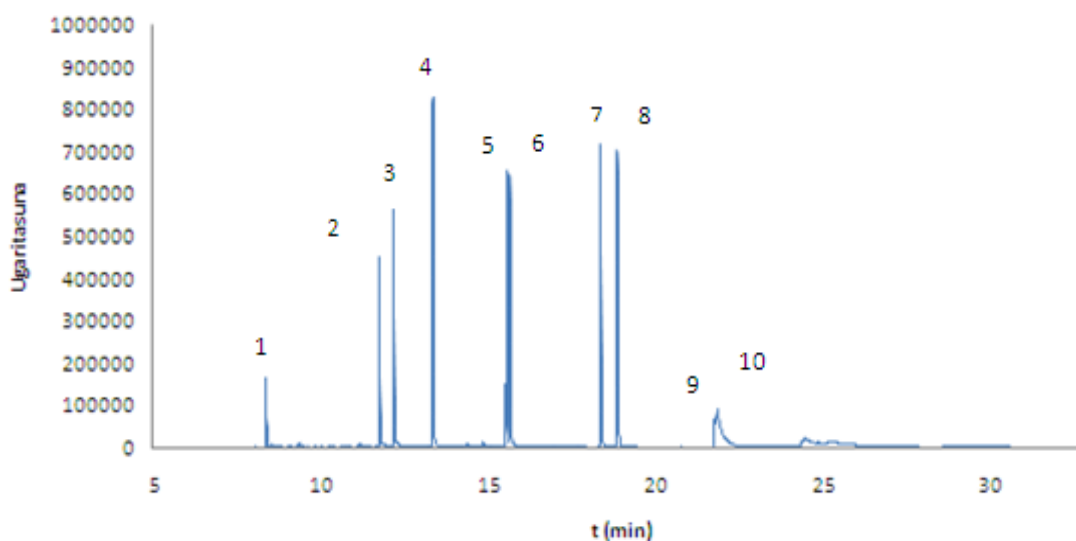
Twister-en analisia aurrera eramateko TD-GC-MS erabili da. *Twister*-ak desortzio-termikoaren bitartez desorbatu dira 10 minututan zehar 300 °C-ko tenperaturan; prozesu hau egiteko komertziala den TDU (*Thermal Desorption Unit, Gerstel*) erabili da CIS-4 injektorera (*Gerstel*) konektatuta. Desortzio unitatea Agilent 6890 gas kromatografo batean instalatuta dago eta, era berean, kromatografoa Agilent 5975 masa-espektrometro batera akoplatuta dago. TDU desortzio unitatearekin batera TDSA (*Gerstel*) laginak automatikoki injektatzeko sistema akoplatuta dago, bertan 98 *twister* neurtzeko aukera dago 98 posizio ezberdin dituelako. *Twister*-etatik analitoen desortzio egokia egiteko CIS-4 injektorearen hurrengo aldagaien balioak finkatu dira: desortzio-fluxua $100 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, buruguneko presioa 6,6 psi, fokatze-tenperatura 0 °C. Purga-denbora 0,01 minutukoa da eta *split* balbula 1,51 minutu bitartean itxita egongo da analitoak kuantitatiboki zutabera bideratzeko eta horretarako, injektorearen tenperatura 0 °C-tik 300 °C-ra igo da $12 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ -ko.

Analisia egiteko erabili den zutabe kromatografikoa HP5-MS (30m x 0,25mm, 0,25 μm , Agilent) izan da. Analisia egiteko erabili den labearen tenperatura programa hurrengoa izan da: labearen hasierako tenperatura 60 °C-koa (1 minutu) izan da, lehenengo tenperatura igoera 175 °C-ra izan da $5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ -eko malda batekin, bigarren tenperatura igoera 200 °C-ra izan da 175 °C-tik $3 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ -eko malda batekin, hirugarren tenperatura igoera 240 °C-ra izan da $5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ -eko maldarekin eta azkenengo tenperatura igoera 300 °C-ra izan da $30 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ -eko maldarekin. Analisisian Helioa (He) (99,9995 %, Carbueros Metálicos, Barcelona, *Spain*) gas garraiatzaile moduan erabili da eta bere fluxua konstante mantendu da analisi kromatografiko osoan zehar $1,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ -eko balioan.

Analitoen detekzioa egiteko masa-espektrometroak elektroio talkaren bitarteko ionizazioaren bitartez lan egin du eta kromatogramak SCAN eta SIM (*Selected Ion Monitoring*) moduan jaso dira. Analisisian aztertutako intereseko analitoen jarraitutako ioi esanguratsuak (m/z) 4. taulan jaso dira. Lehenengo ioia kuantifikatzeko eta bigarren ioia kualifikatzeko erabili da. Adibide gisa, 5. irudian disoluzio estandar baten kromatograma agertzen da.

4. taula.- GC-MS-ren bitartez analizatutako PAH-en zerrenda; alboan analito bakoitza kualifikatzeko eta kuantifikatzeko erabilitako ioiak agertzen dira.

Konposatua	Kualifikatzeko ioia (m/z)	Kuantifikazio ioia(m/z)
Naftalenoa (Naph)	128	129
Acenaftenoa (Ace)	153	154
Acenaftilenoa (Acy)	153	153
Antratzenoa (Ant)	178	179
Fenantrenoa (Phe)	178	179
Fluorenoa (Flu)	165	166
Fluorantenoa (Flr)	202	203
Pirenoa (Pyr)	202	203
Benzo[a]antratzenoa (B[a]A)	228	229
Crisenoa (Cry)	228	229
Benzo[b] fluorantenoa (B[b]F)	252	253
Benzo [k] fluorantenoa(B[k]F)	252	253
Benzo [a] pirenoa (B[a]P)	252	253
Dibenzo [a,h] antrazenoa (D[ah]A)	276	277
Benzo [ghi] perilenoa (B[ghi]P)	276	277
Indeno pirenoa (Ind)	276	277



5. irudia.- Milli-Q uretan PAH-en $125 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ -tan dopatutako kalibratuko puntu baten kromatograma. Gailur bakoitzari dagokion zenbakia: (1). Naftalenoa, (2). Acenaftilenoa, (3). Acenaftenoa, (4). Fluorenoa, (5). Fenantrenoa, (6). Antratzenoa, (7). Fluorantenoa, (8). Pirenoa, (9). Benzo[a]antratzenoa, (10). Crisenoa.

3.5 LAGINKETA

Itsasoko uraren laginketa egiteko bi puntu hartu dira. Lehenengo laginketa puntua Getxoko portuan (Bilboko itsasadarra) itsasontziak gasolina botatzeko dagoen gasolindegiaaren alboan izan da. Bertan eskuratutako ur-laginak itsas-azalera jaso dira eta ur-zikin moduan izendatu dira; 500 ml-ko botiletan jaso dira eta hozkailu txiki batean laborategira eraman dira. Aipatutako bigarren laginketa puntua Plentziako itsas-estazioa (PIE, Bilboko itsasadarra) izan da eta laginak modu berean jaso dira; oraingoan, ur-lagin hauek ur-garbi moduan izendatu dira. Bi erreferentzia puntuetako koordinatuak eta propietate fisiko-kimikoak (gazitasuna eta tenperatura) 5. taulan adierazita daude. Laborategian, ur-laginen analisia egin aurretik ur-laginak 0,45 µm-ko (90 mm diametre cellulose nitrate membrane filters, Whatman, Maidstone, UK) iragazkien bitartez iragazi dira.

5. taula.- Getxon eta Plentzian jasotako ur-laginen parametro fisiko-kimikoak (gazitasuna eta tenperatura), kokalekua eta ezaugarriak.

Laginketa-puntua	Kokalekua	Ezaugarriak	Propietate fisiko-kimikoak	
			Gazitasuna (g·L ⁻¹)	Temperatura (°C)
Getxo	43°20'19,2"N;3°00'52,6"W	Puntu zikina	17,4	18,9
Getxo	43°20'19,2"N;3°00'52,6"W	Puntu zikina	17,5	15,1
Getxo	43°20'19,2"N;3°00'52,6"W	Puntu zikina	17,5	15,5
Plentzia	43°24'50,4"N;2°56'45,0"W	Puntu garbia	29,8	15,9
Plentzia	43°24'50,4"N;2°56'45,0"W	Puntu garbia	27,6	16,3
Plentzia	43°24'50,4"N;2°56'45,0"W	Puntu garbia	27,5	16,4

4. EMAITZAK ETA EZTABAIDA

4.1 SBSE ERAUZKETAREN OPTIMIZAZIOA

SBSE erauzketa egiten denean analitoen berreskurapenean eragina izan dezaketen aldagaiak optimizatzea beharrezkoa da ^[1]. Teknikaren eraginkortasuna hobetzeko asmoz NaCl eta MeOH-ren gehiketa, erauzketaren tenperatura eta moduaren azterketa (HSSE vs SBSE), plaka irabiagailuaren abiadura eta erauzketa-denbora optimizatu dira. Optimizazioaren esperimentu guztietan 150 ml Milli-Q ura erabili da 250 ng·L⁻¹-ko kontzentrazio-mailan dopatuta.

4.1.1 NaCl eta MeOH-ren gehiketaren optimizazioa

Erauzketaren etekinean eragin handia izan dezaketen bi faktore NaCl eta MeOH-ren kantitateen gehiketak izan daitezke. Alde batetik, NaCl-a gehitzeak uraren solbatazioa aldatu egiten du eta hori dela eta ez-polarragoak log (K_{OW}>3) diren konposatuen erauzketaren etekina handiagoa izan daiteke. Bestalde, MeOH-a gehitzeak PAH-en artean ez-polarragoak diren konposatuen adsortzioa beirazko materialaren paretetan ekiditen du eta analitoak disoluzioan egotea ahalbidetzen du erauzketaren etekina handituz ^[1].

Gehitu beharreko bi konposatu hauen optimizazioa egiteko diseinu konposatu zentrolean CCD (*Central Composite Design*) oinarritutako esperimentu sorta planteatu da. Horretarako, *Unscrambler (7.5 version, Camo, Trondheim, Norvegia)* programa erabili da. Erantzun guztientzat aldagaien tartea % 0- % 20 bitartean aztertu da, bost maila ezberdinetan eta erdiko esperimentua hiru aldiz errepikatuz. Esperimentu diseinuko esperimentu guztiak baldintza berdinetan ezarri dira, plaka irabiagailuaren abiadura 700 rpm izanda eta ontziak 12 ordu utzita plakaren gainean inguruneko tenperaturan. 6. taulan burututako esperimentu guztien zerrenda agertzen da, esperimentu bakoitzean gehitutako NaCl-ren eta MeOH-ren kantitateak adieraziz.

Bota beharreko NaCl eta MeOH kantitateak optimizatzeko PAH-en artean lehenengo bederatzi analitoei dagozkien erantzun gainazalak kontuan hartu dira

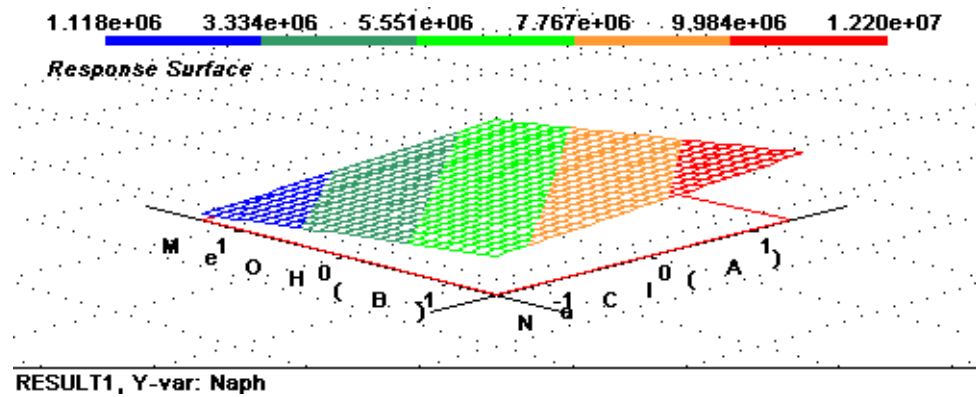
zutabearen bereizmen eskasa dela eta. Bi aldagai hauen eragina ikusteko, analito lurrunkorrenaren (Naph), lurrunkortasun ertaineko (Phe) eta aztertutako analitoen artean ez-lurrunkorrena (Pyr) den erantzun gainazalak adierazi dira adibide gisa (ikus 6. irudia (a, b eta c)). Erantzun gainazal hauek, esperimendu bakoitzean lortutako analito bakoitzaren seinale kromatografikoak erantzun gisa hartuta eraiki dira. Esperimentuen egokitasuna errepikatutako erdiko puntuen seinaleekin kudeatu da (% DEE (puntu zentralak) < % DEE (gainontzeko esperimenduak)) aztertutako esperimendu guztientzat.

6. taula.- Gehitu beharreko MeOH-ren eta NaCl-ren optimizazioa egiteko burututako 11 esperimentuen deskribapena.

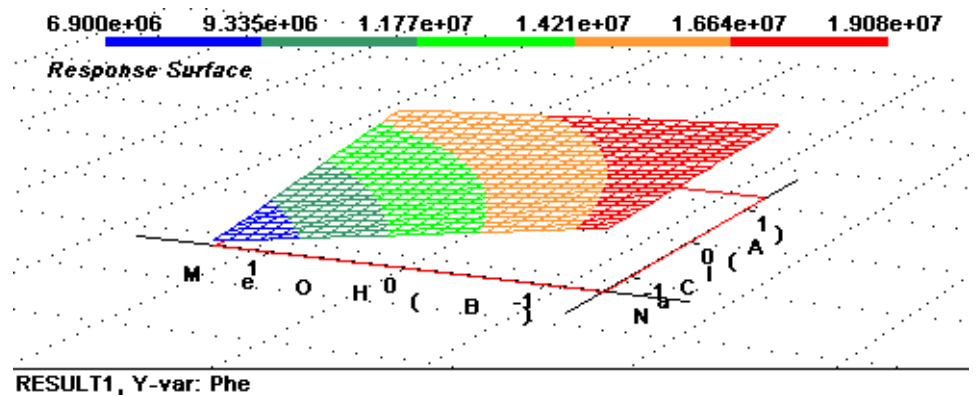
ESP	MOTA	NaCl	MeOH	NaCl(%)	MeOH(%)	NaCl(g)	MeOH(ml)
A1	*L:A-a	-1,4142	0	%0	%10	0	15
A2	*H:A-a	1,4142	0	%20	%10	30	15
A3	*L:B-a	0	-1,4142	%10	%0	15	0
A4	*H:B-a	0	1,4142	%10	%20	15	30
A5	Cube 001	-1	-1	%5	%5	7,5	7,5
A6	Cube 001	1	-1	%15	%5	22,5	7,5
A7	Cube 001	-1	1	%5	%15	7,5	22,5
A8	Cube 001	1	1	%15	%15	22,5	22,5
A9	Cent-a	0	0	%10	%10	15	15
A10	Cent-b	0	0	%10	%10	15	15
A11	Cent-c	0	0	%10	%10	15	15

CCD-rako lortutako erantzunak bariantzaren analisiaren bitartez aztertu dira. Beste artikuluetan agertzen den moduan ^[1,19], hasierako analitoetan (Naph, Acy, Ace, Flu) MeOH gehitzeak ez du eraginik izan (p -value > 0,05) eta NaCl gehitzea efektu positiboa eragiten du. Phe-tik aurrera, NaCl gehitzeak ez dauka eraginik (p -value > 0,05), hala ere, MeOH-a gehitzea analito hauen erauzketa faboratuko du. Orokorrean, zenbat eta analitoen pisu molekularra handiagoa izan MeOH gehitzeak analitoen erauzketa faboratu du baina aldi berean, NaCl-ak ez du eraginik izan. Hortaz, erauzketaren etekina ahalik eta altuena izateko hurrengo esperimenduetan MeOH-ren % 10 gehitzea eta NaCl-rik ez erabiltzea erabaki da.

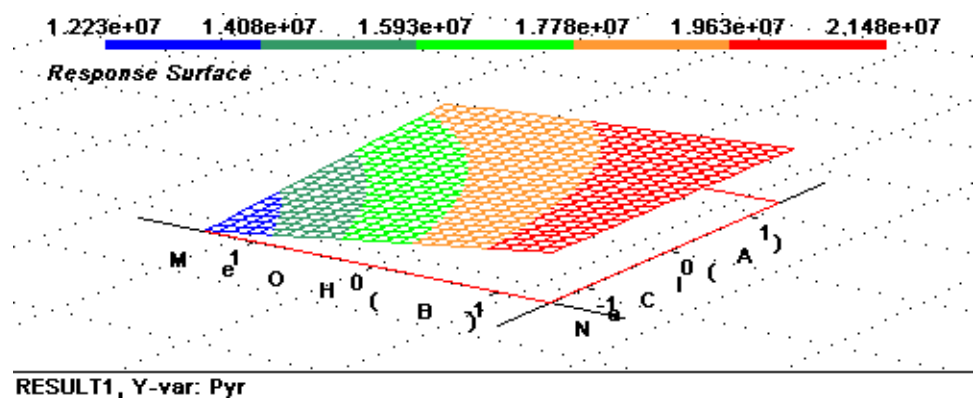
a)



b)



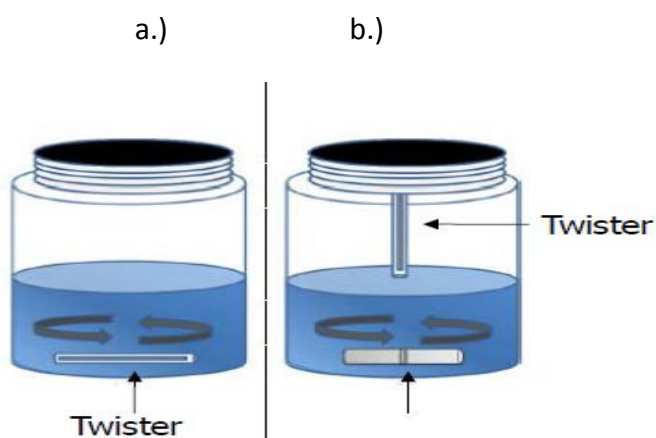
c)



6. irudia.- CCD bitartez proposatutako esperimentuen diseinuan MeOH eta NaCl-ren optimizazioa egiteko hiru analito ezberdinetarako lortutako erantzun gainazalak; a.) Naftalenoa b.) Fenantrenoa eta c.) Pirenoa

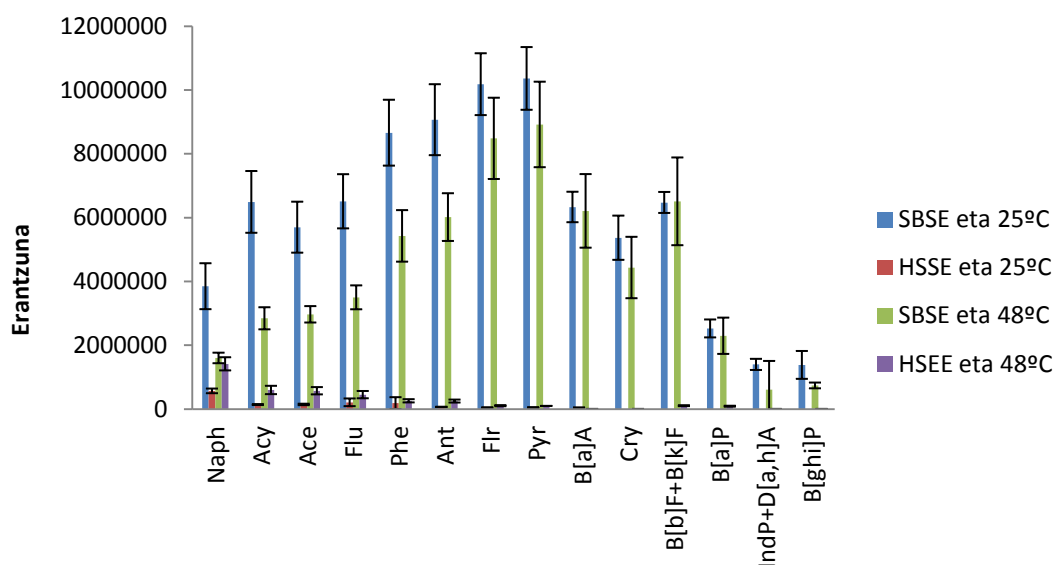
4.1.2 SBSE vs HSSE eta temperaturaren optimizazioa

Optimizatutako hurrengo bi aldagaiak tenperatura eta SBSE erauzketa egiteko dauden bi modu desberdinak dira, hots, murgilduta eta burugunean. Nahiz eta bi aldagaiak ezberdinak izan erlazionatuta daude, eta ondorioz, aldi berean optimizatu dira. Bi aldagai hauen optimizazioa egiteko 12 esperimentu proposatu dira: esperimentuak bi tenperatura ezberdinetan egin dira (25 °C eta 48 °C-tan) eta bi modu ezberdinetan, disoluzioan murgilduta (SBSE) eta burugunean (HSSE) esperimentu mota bakoitzaren 3 errepikapen eginez. HSSE moldaketan egindako esperimentuetan *twister*-a ontziaren burugunean kokatzeko eta disoluzioarekin kontaktua ez izateko ontziaren bolumen osoa 130 ml-koa izan da. Hortaz, MeOH-ren 13 ml gehitu dira bolumenaren % 10 izateko eta analitoak orekara heltzeko 5 ordu utzi dira esperimentuak plaka irabiagailuaren gainean 700 rpm-ko abiaduran. 25 °C-ko esperimentuak inguruko tenperaturaren prestatu dira, aldiz, 48 °C-koak ur-bainu baten bitartez berotu dira hauen tenperatura etengabe termometro baten bidez zehaztuz gutxi gorabehera tenperatura konstante lortu arte. Esperimentuen erdia *twister*-a disoluzioan murgilduta (ikusi 7. irudia (a)) kokatu da eta esperimentuen beste erdia, *twister*-a beirazko ontziaren burugunean (ikusi 7.irudia (b)) ikusten den eskema jarraituta kokatu da.



7. irudia.- SBSE (a) eta HSSE (b) erauzketen eskema grafikoa.

Baldintza desberdinetan proposatutako erauzketa bakoitzean lortutako erantzunak 8. irudian ikusten dira. Emaitzei erreparatuz, HSSE teknikaren bitartez lortutako erantzun handienak PAH lurrunkorrenentzat (Naph, Acy, Ace, Flu, Phe, Ant) ikusten dira, 48°C-tan egindako esperimentuetan. Izatez, 1.taulan (3. eta 4. orrialdeetan) ikusten den moduan aipatutako analito horien bapore-presioari erreparatuz (hots, $1 \cdot 10^{-5}$ KPa baino handiagoa) analito hauen erantzuna ez-lurrunkorrena baino handiagoa izatea espero da^[5]. Hala ere, HSSE bidez lortutako etekina SBSE moldaketa bidez egindakoak baino txikiagoak izan dira bai 25 °C-tan eta bai 48 °C-tan (ikusi 8. irudia). Hortaz, SBSE moldaketa izan da optimoa.



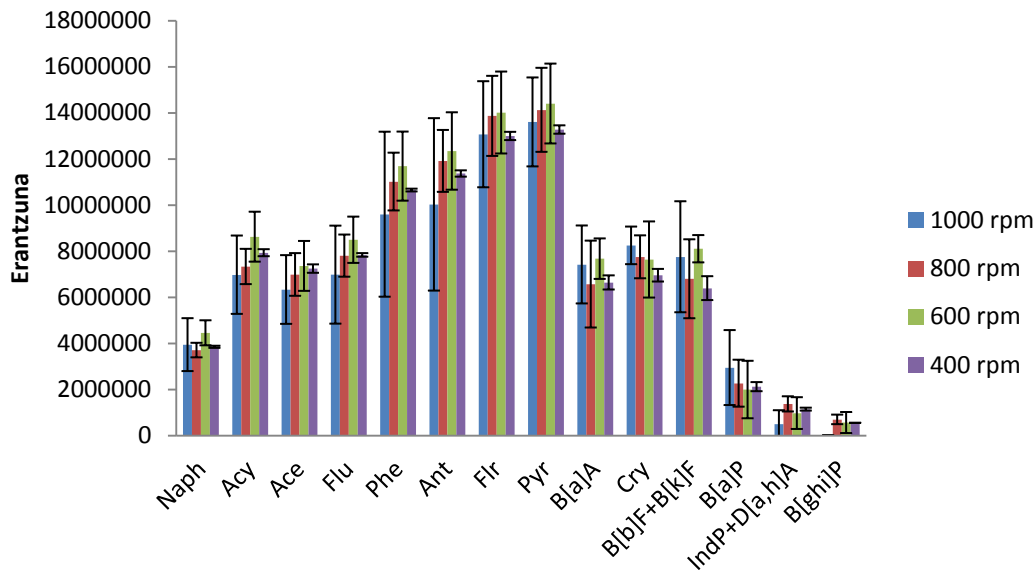
8. irudia.- SBSE erauzketa tenperatura eta modua optimizatzeko baldintza desberdinetan proposatutako esperimentuak izandako erantzunak adierazten dira esperimentu bakoitzaren ziurgabetasuna adieraziz % 95-eko konfidantza-maila batekin.

Moldaketa honetako erauzketa tenperaturari dagokionez, 25 °C-tan egindako erauzketa seinaleak handiagoak dira 48 °C-rekin konparatuz (ikusi 8. irudia) eta lortutako etekinak analitoen lurrunkortasunaren araberakoak izan dira. Era honetan, analito lurrunkorren kasuan (Naph, Acy, Ace, Flu, Phe, eta Ant), 25° C-tan lortutako seinaleak 48 °C-tan lortutakoak baino handiagoak izan dira, baina analito astunagoen (Flr, Pyr, B[a]A, Cry) kasuan, bi tenperaturatan egindako esperimentuak emaitza konparagarriak eman dituzte.

Aurreko argudio guztiak kontuan izanda eta erauzketan lortutako analitoen erantzuna handiena izateko asmoarekin *twister*-a disoluzioan murgilduta (SBSE) eta erauzketa inguruko tenperaturan (25 °C-tan) egitea erabaki da.

4.1.3 Erauzketaren abiaduraren optimizazioa

Abiaduraren eragina analitoen erauzketan prozesu kimiko-fisiko batekin erlazionatuta dago. *Twister*-aren biraketa-abiadura oso motela baldin bada, analitoak ez dira disoluzioan guztiz dispartsatuko eta, ondorioz, erauzketa ez da guztiz eraginkorra izango *twister*-ak analito guztiak absorbatzeko aukera izango ez duelako. Kontrara, *twister*-aren biraketa-abiadura oso azkarra baldin bada posiblea da bertan burbuilak eratzea eta honek masa-transferentzia ostopatzea ^[1]. Horrela bada, garrantzitsua da *twister*-aren abiaduran oreka lortzea erauzketa ahalik eta eraginkorrena izateko.



9. irudia.- SBSE erauzketan *twister*-a izan behar duen biraketa-abiaduraren optimizazioa egiteko frogatutako biraketa-abiadura ezberdinekin lortutako erantzunak eta esperimentu bakoitzerako lortutako ziurgabetasuna adierazten da % 95 konfidantza-maila batekin.

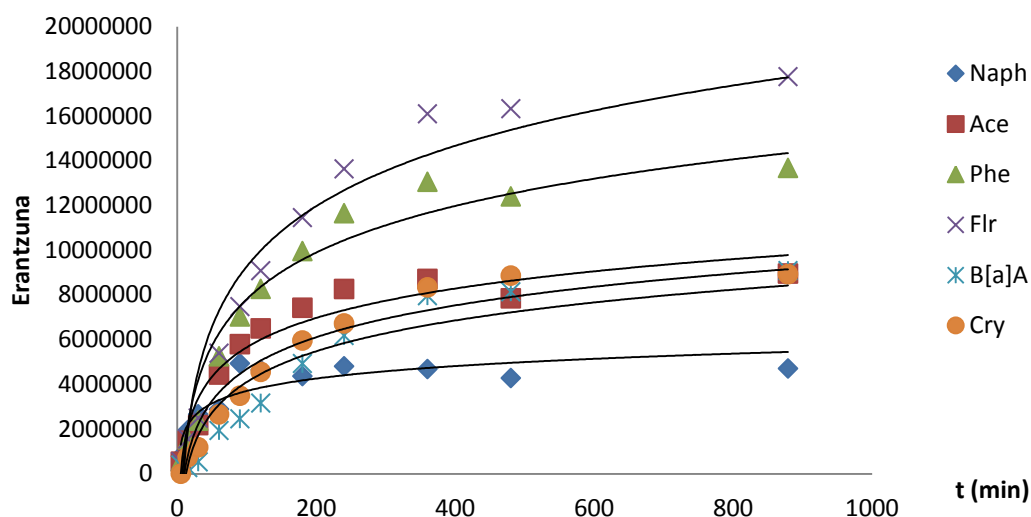
Erauzketaren abiaduraren optimizazioa egiteko lau abiadura (1000 rpm, 800 rpm, 600 rpm eta 400 rpm) ezberdin frogatu dira, bakoitzetik hiru erreplika eginez. Esperimentuak gauzatzeko optimizazioan aurrez ezarritako baldintzak aplikatu dira: % 10 MeOH (15 ml), inguruko tenperaturan (25 °C), twisterra disoluzioan murgilduta eta erauzketa denbora 12 ordukoa izanik.

9. irudian biltzen diren emaitzen arabera, erauzketa egiteko erabilitako biraketa-abiaduraren arabera analito bakoitzarentzat lortutako erantzunak nahiko ezberdinak dira. Lurrunkortasun altuko analitoetarako (Naph, Acy, Ace, Flu) lortutako erantzuna baxuagoa da esperimentu guztietan. Lurrunkortasun ertaineko analitoetan (Phe, Ant, Flr, Pyr), erantzun altuagoa lortzen da, hauek, hasierako analitoak bezain lurrunkorrek ez direlako eta beraz, galerak txikiagoak direlako. Azkenengo analitoetarako lortutako erantzunak askoz baxuagoak dira, batez ere, zutabearen degradazioa eta zutabeak konposatu hauek banatzeko dituen arazoak direla eta.

9. irudian lortutako emaitzak aztertuta analitoen erantzun handiena erauzketa 600 rpm-tan egiten denean lortzen dela ikusi daiteke; hortaz, PAH-en erauzketa egiteko erabiliko den biraketa-abiadura 600 rpm-koa izango da.

4.1.4 Erauzketaren denboraren optimizazioa

Erauzketaren optimizazioarekin amaitzeko, erauzketa orekara heltzeko beharrezkoa den denbora aztertu da. Horretarako, erauzketa denbora ezberdineko esperimentuak prestatu dira. Aukeratutako erauzketa denborak 5,15,30,60,90,120,180,240,360,480 eta 879 minutu izan dira eta esperimentu bakoitza birritan errepikatu da. Esperimentuak prestatzeko, aurretiaz optimizatutako baldintzak erabili dira eta lortutako emaitzak 10. irudian adierazi dira. Grafikoaren arabera, analitoak orekara helduko dira 400 minutu igaro ostean, hortaz, erauzketa mekanizagarriagoa izateko erauzketa denbora 12 ordukoa izatea erabaki da.



10. irudia.- Analitoen erauzketa orekara heltzeko beharrezkoa duen denboraren azterketa. Analitoen erantzuna vs t (min) adierazita.

4.1.5 Matrize efektuaren ebaluaketa

Lagin errealen analisia egiterakoan, matrizeak bai erauzketaren etekinean eta baita emaitzen zehaztasunean eragina izan dezake. Matrize efektuak analitoen seinale kromatografikoaren supresioa edo analitoek eman beharreko erantzuna errealitatean eman beharrezkoa baino handiagoa izatea eragin dezake. Hortaz, matrizeak duen efektua ebaluatzea beharrezkoa da. Orokorrean, uretan suspentsioan edota disolbatuta egon daitekeen materia organikoak batez ere analitoak konplexatu dezake, ur-laginetan dauden analitoak absorbatu eta erauzketa egiteko erabiliko den material absorbatzailearentzat konpetentzia izanik.

Printzipioz, egoera hau estuarioko uretan edota araztegiko uretan ezaguna den bitartean (materia organikoaren presentzia nabarmena dela eta⁴), itsasoko uretan ez da horren nabarmena. Hala ere, matrizearen efektuaren ebaluaketa egitea komenigarria izango da.

⁴Araztegiko uretan dagoen materia organikoaren informazioa. Web orrialde honetan: <http://www.eei.upc.edu/continguts/APUNTS/MASTER/Aguas%20residuales/2%20PARAMETROS%20DE%20CON TAMINACI%C3%93N.pdf>. (2015/06/20an azkenengoz ikusita)

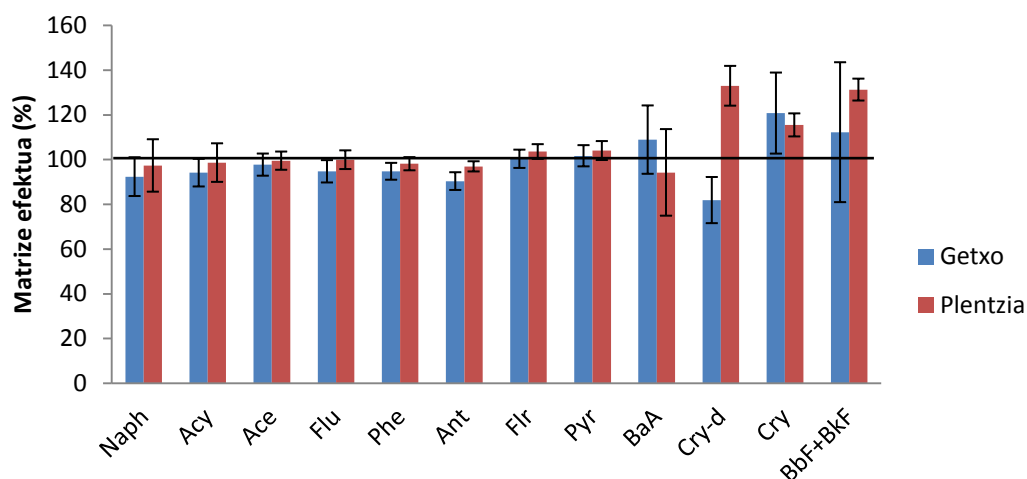
Edozein prozedura analitiko baten matrize efektua ebaluatzeko eta matrizearen eragina murrizteko, hainbat irtenbide erabili daitezke, laginaren diluzioa eginez, matrize antzekoa baina intereseko analitoa ez duen beste lagin baten bitartez kalibratua eginez (matrizera egokitzen den kalibratua), laginaren garbiketa eginez edota intereseko analitoen deuteratu analogoak erabiliz ^[2]. Lan honetan, trazagarri moduan erabiliko diren deuteratuen erabilera ekiditeko, lagin sintetikoak erabili dira, matrize egokitzen den kalibratuaren bitartez kontzentrazioa kalkulatzeko.

Horretarako, itsasoko ur-laginak izan dezaketen matrizearen efektua ebaluatzeko, dopatutako matrize errealetan (itsasoko ura) eta matrize efektua ez duen lagin batean (Milli-Q ura), aztergai ditugun konposatuen erantzunak erkatu dira.

Itsasoko ur-laginak PAH-ekin $100 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ -tan dopatu dira (n=3) eta emaitzak kontzentrazio-maila berean dopatutako Milli-Q uretan (n=3) lortzen diren emaitzekin konparatu dira. Itsasoko ur-laginean benetan egon daitekeen PAH-en kontzentrazioa kontuan hartzeko, dopatutako laginen kontzentrazioak dopatu gabeko laginek eman duten seinaleekin zuzendu dira. Honela 3. ekuazioa erabili da matrize efektua ebaluatzeko:

$$\text{Matrize efektua} = \frac{S_{lag(dop)} - S_{lag(ez-dop)}}{S_{mlQ(dop)}} \quad (3)$$

Ekuazio honen arabera, matrize efekturik ez egoteko emaitzak 100 ingurukoak izan beharko lirateke. Plentziako eta Getxoko laginen matrize efektua 3. ekuazioaren bitartez kalkulatu da eta lortutako balioak 11. irudian irudikatu dira. Emaitza hauen arabera, itsasoko uren analisisian matrize efekturik ez dagoela ondorioztatu daiteke.



11. irudia.- Matrice efektuaren ebaluaketa Plentziako eta Getxoko laginetan % 95-eko konfidantza-mailan.

4.2 METODOAREN BERRESPENA

Metodoaren parametro nagusiak SBSE-TD-GC-MS prozedura analitikoaren optimizazioa egiteko 7. taulan eta 8. taulan laburbilduta daude. Metodoaren parametro esanguratsuenen azterketa bi ur-matrise ezberdinetan egin da: (i) Milli-Q uretan (7. taula) eta (ii) itsasoko ur-sintetikoan (8. taula).

4.2.1 Kalibratu prozedurala (Milli-Q)

Milli-Q uraren bitartez egindako kalibratu prozeduralaren parametro esanguratsuek 7. taulan agertzen dira. Kalibrazio kurba PAH-en disoluzio estandarren bitartez 150 ml Milli-Q uretan kontzentrazio ezberdinetan ($10 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ -tik $250 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ -ra) dopatutako disoluzioen bitartez eraiki da. Analito gehientzat lortutako kalibratuen linealtasuna ona izan dela esan daiteke r^2 -ren balioak 0,960 eta 0,998 tartekoak izan direlako B[a]A eta Flr analitoentzat, hurrenez hurren.

Aurrera eramandako metodo osoaren doitasuna determinatzeko kalibratuko muga baxuko ($25 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) eta muga altuko ($125 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) disoluzioen erreplikak egin dira eta hauen bitartez metodoaren errepikakortasuna zehaztu da; muga baxuan eta muga

altuan bi erreplika egin dira, guztiak egun berean neurtuz. Analito bakoitzerako lortutako emaitzak 7. taulan zerrendatuta daude eta % de (desbiderapen estandar erlatibo) moduan eman dira; muga baxuan % de balioak % 2 eta % 8 tartekoak izan dira eta muga altuan % 3 eta % 16 tartekoak izan dira.

Erauzketaren berreskurapena kalkulatzeko, Milli-Q ur-lagin sintetikoak erabili dira bi kontzentrazio mailatan: muga baxuan ($25 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) eta muga altuan ($125 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$), bi kasuetan erreplikak neurtuz. SBSE-TD-GC-MS prozedura osoa pairatu duten erreplika hauei dagozkien seinaleak, alde aurretik eraikitako kanpo-kalibratuaren ekuazioan sartu dira. Kanpo-kalibratua (0,5-15 ng) tartean prestatu da. Horretarako, masa desberdina duten baina bolumen konstantea ($5 \mu\text{L}$) duten disoluzioak hexanotan prestatu dira eta kapilarren bitartez zuzenean TDU sisteman sartu dira. Beraz, kanpo-kalibratuko puntuak soilik TD-GC-MS prozedura pairatu dute. Erreplikei dagozkien ng-ak kalkulatu, teorikoki, erauzketan *twister*-ean absorbatutako kontzentrazioa zein den zehazteko, ontzian dagoen bolumen totalaren bitartez zatitu da. Lortutako balioak kontzentrazio teorikoarekin konparatu dira eta etekina kalkulatu da (ikusi 7. taula).

Erauzketaren etekinak analitoen arabera oso aldakorrak izan dira; hasierako analitoetan etekin minimoa lortzen da % 28 Naph-ren kasuan adibidez, eta etekin maximoa determinatutako azkenengo analitoan lortu da B[a]A-an hain zuzen, % 97-ko etekina lortuz. Etekin diferentzia hauek, berriro ere, analitoen lurrunkortasunean aurkitzen dira; analito lurrunkorrenen etekina baxua da lurrunkortasunak behera egitean etekinak gora egiten duelarik.

Metodoaren zehaztasunari dagokionez, etekin zuzendu moduan adierazi dira 7. taulan. Etekin zuzenduaren kalkulua egiteko bi irtenbide nagusi erabili daitezke. Lehenengo irtenbidea erauzketa egin baino lehen trazagarri moduan gehituko diren deuteratuak erabiltzea izan daiteke. Hala ere, deuteratuen kostu handiak saihesteko, kalibratu prozedurala erabili da, hots, kalibratuko laginek erauzketa eta analisi prozedura guztia pairatzen dute. Etekin zuzenduak muga baxuan ($25 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) eta muga altuan ($125 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) kalkulatu dira. Analitoei dagozkien etekin zuzenduak, % 83 eta % 94 tartekoak dira, b[a]A eta Ant analitoentzat, hurrenez hurren.

Detekzio mugak (DM) kalkulatzeko $S (DM) = S (zuria) + 3s_{zuria}$ ekuazioa erabili da non s_{zuria} errepikapen neurketatik lor daitekeen. Milli-Q uretan lortutako DM-ak PAH-en determinazioa egiten duten beste lanen antzeko balioak lortu dira [38-40]. Naph eta Pyr artean lortutako DM guztiak $1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ baino txikiagoak dira (ikusi 7.taula). Hortaz, metodo analitiko honek kutsatzaile organiko hauen determinazioa egitea ahalbidetzen du, legediak, (WFD 2000/60/CE) balio minimo moduan definitzen duen kontzentrazio azpitik¹. B[a]A analitotik aurrera lortutako DM-ak handiagoak izan dira irakite-puntu baxuagoko analitoekin konparatuz; honen arrazoa, zutabeak izan dezakeen degradazioa izan daiteke.

7. taula.- Milli-Q uretan egindako kalibratu prozeduralean SBSE-TD-GC-MS prozeduraren parametro nagusiak.

Analitoa	r ²	Errepikakortasuna		Zehaztasuna		
		Muga baxuan (% DEE, n=2) (25 ng·L ⁻¹)	Muga altuan (% DEE, n=2) (125 ng·L ⁻¹)	Erauzketaren etekina (%)	Etekin zuzendua (%)	DM (ng·L ⁻¹ , n=3)
Naph	0,990	7	15	28	86	0,8
Acy	0,992	8	14	30	91	1
Ace	0,991	5	13	47	92	0,1
Flu	0,993	3	12	53	92	1
Phe	0,996	2	9	75	92	1
Ant	0,996	4	9	71	94	1
Flr	0,998	3	8	85	93	0,3
Pyr	0,998	4	8	92	93	0,5
B[a]A	0,960	6	16	97	83	10
Cry	0,960	d.g.	11	d.g.	d.g.	10
B[b]F + B[k]	0,990	d.g.	7	d.g.	d.g.	25
B[a]P	0,970	d.g.	3	d.g.	d.g.	25
IndP + D[a,h]	0,970	d.g.	5	d.g.	d.g.	25
B[ghi]P	0,960	d.g.	6	d.g.	d.g.	25

d.g. = detektatu gabe.

4.2.2 Kalibratu prozedurala (Ur-sintetikoa)

Ur-sintetikoaren bidez egindako kalibratu prozeduralaren parametro adierazgarriak 8. taulan agertzen dira. Kalibrazio kurba PAH-en disoluzio estandarren bitartez 150 ml ur-sintetikoan kontzentrazio ezberdinetan (10 ng·L⁻¹-tik 250 ng·L⁻¹-ra) dopatutako disoluzioen bitartez eraiki da. Analito gehienentzat lortutako kalibratuen linealtasuna ona izan dela esan daiteke r²-ren balioak 0,980 eta 0,999 tartekoak izan direlako Naph eta Ant analitoentzat, hurrenez hurren. Hala ere, analito guztien kalibratua egitea ezinezkoa izan da, analito astunen detekzioa posible izan ez delako.

Metodoaren zehaztasuna determinatzeko aurreko prozedura berdina jarraitu da; kasu honetan, muga baxuko (25 ng·L⁻¹) bi erreplika erabili dira eta muga altuko (125 ng·L⁻¹) beste bi erreplika erabili dira, guztiak egun berean neurtuz. Muga baxuaren kasuan, % dee balioak % 0,2 eta % 13 tartekoak izan dira eta muga altuan % 1 eta % 21 tartekoak izan dira (ikusi 8. taula).

Erauzketaren berreskurapena kalkulatzeko, itsasoko ur-dopatuak erabili dira eta dopatutako Milli-Q ur disoluzioentzat jarraitu den prozedura bera jarraitu da. Aurreko kasuan bezala, analito lurrunkorrenarentzat (Naph) lortu da etekin txikiena % 37 eta neurtutako azkenengo analitoetan oso etekin altuak lortu dira; etekin altuena Phe-ean lortu da % 121 balioarekin.

Zehaztasunari erreparatuz, bi mailetan kalkulatu da, muga baxuan (25 ng·L⁻¹) eta muga altuan (125 ng·L⁻¹) eta Milli-Q uran jarraitutako prozedura bera erabili da. Modu laburrean, kasu honetan, kalibratu prozedurala itsasoko ur-sintetikoarekin egin da. Analitoei dagozkien etekin zuzenduak, % 81 eta % 98 tartekoak izan dira, Phe eta Flr analitoentzat hurrenez hurren.

Detekzio mugak (DM) kalkulatzeko $S (DM) = S (zuria) + 3s_{zuria}$ ekuazioa erabili da non s_{zuria} errepikapen neurketatik lor daitekeen. Ur-sintetikoaren bidez egindako kalibratuan lortutako DM-ak Milli-Q uretan lortutakoen antzekoak dira.

8. taula.- Ur-sintetikoan egindako kalibratu prozeduralean SBSE-TD-GC-MS prozeduraren parametro nagusiak.

Analittoa	r ²	Errepikakortasuna		Zehaztasuna		
		Muga baxuan (% DEE, n=2) (25 ng·L ⁻¹)	Muga altuan (% DEE, n=2) (125 ng·L ⁻¹)	Erauzketaren etekina (%)	Etekin zuzendua (%)	DM (ng·L ⁻¹ , n=3)
Naph	0,980	13	13	37	90	4
Acy	0,0992	5	7	43	93	2
Ace	0,996	8	2	67	96	1
Flu	0,995	2	2	93	92	1
Phe	0,994	1	3	121	81	1
Ant	0,999	2	1	94	97	1
Flr	0,998	0,2	1	109	98	0,1
Pyr	0,997	6	2	107	96	1
B[a]A	d.g.	7	21	104	d.g.	10
Cry	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	10
B[b]F + B[k]	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	25
B[a]P	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	25
IndP + D[a,h]	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	25
B[ghi]P	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	d.g.	25

d.g. = detektatu gabe

Naph ($4 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) eta Acy ($2 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) analitoentzat izan ezik, beste guztietarako lortutako DM-ak $1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ baino baxuagoak dira. MilliQ-ren bitartez egin den kalibratuaren antzera, lanerako baldintza hauek legediak ezarritako mugetan neurtzeko egokia da¹.

Lan honetan lortutako DM-en baliotasuna eta metodoaren errepikakortasuna konprobatzeko, bibliografian ^[1,4,34-37,41] aurkitu diren beste lanen emaitzak 9. taulan adierazi dira. Taulan agertzen diren lanetan PAH-en determinazioa matrize ezberdinetan egin da eta prozedura analitiko ezberdinak erabili dira. Lan honetan lortutako DM-ak ($0,1\text{-}25 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) eta lortutako errepikakortasunak (% DEE $0,1\text{-}21$) beste lanetan lortutakoekin konparagarritzat hartu daitezke.

9. taula.- PAH-en determinazioa egiten diren beste ikerketetan erabilitako prozedura analitikoak, lortutako detekzio mugak eta zehaztasuna.

Matrizea	Metodoa	DM	% DEE	Erreferentzia
Edateko ura	SBSE-LC-HPLC-FLD	0,2-1,5 ng·L ⁻¹	1,9-12,8	[37]
Edateko ura	SPE-TD-GC-MS	0,26-3,46 mg·L ⁻¹	1,1-11,18	[41]
Lur-azpiko urak	SBSE-TD-GC-MS	-	1,8-21,0	[34]
Euri-ura	SBSE-LC-LC-FLD	0,2-1,5 ng·L ⁻¹	5,3-12,8	[36]
MilliQ ura	SBSE-TD-GC-MS	0,05-3,3 ng·L ⁻¹	3-13	[1]
Estuarioko ura	SPME-TD-GC-MS	3-29 ng·L ⁻¹	< 20	[4]
Itsasoko ura	SBSE-TD-GC-MS	2,74-13,5 ng·L ⁻¹	-	[35]
Itsasoko ura	SBSE-TD-GC-MS	0,1-2,5 ng·L ⁻¹	3-13	[1]
Itsasoko ura	SBSE-TD-GC-MS	0,1-25 ng·L ⁻¹	0,2-21	[Lan hau]

Erauzketa teknikak: SBSE (Hagatxo birakariaren bidezko erauzketa); SPE (Fase solidoko erauzketa); SPME (Fase solidoko mikroerauzketa). Desortzio-urratsa: LC (Desortzio-likidoa); TD (Desortzio-termikoa). Analisi teknikak: LC (Likido-kromatografia); GC (Gas-kromatografia). Detektagailuak: MS (Masa-espektrometria); FLD (Fluoreszentiako detektagailua).

4.3 APLIKAZIOA LAGIN ERREALETAN

SBSE-TD-GC-MS garatutako metodo analitikoaren bideragarritasuna egiaztatzeko bi laginketa-puntu ezberdineko (ikusi 5. taulan laginketa-puntuen kokapena) ur-lagin errealak dituzten PAH-en kontzentrazioak neurtu dira; 10. taulan PAH-en kontzentrazioak $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ -tan adierazi dira.

10. taula.- Plentzia eta Getxoko PAH-en kontzentrazioak adierazten dira % 95-ko konfidantza-maila batekin (n=3). Laginketa-puntu bakoitzetik hiru errepikapen egin dira.

Analitoa	Itsasoko ura ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	Itsasoko ura ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
	Getxo	Plentzia
Naph	$17,2 \pm 0,6$	< DM
Acy	$4,1 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,3$
Ace	$2,1 \pm 0,3$	< DM
Flu	< DM	< DM
Phe	< DM	< DM
Ant	$6,1 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,6$
Flr	< DM	< DM
Pyr	$0,6 \pm 0,1$	< DM

Getxo eta Plentziako ur-laginetan lortutako emaitzei erreparatuz, konposatu arinen detekzioa egitea soilik posiblea izan da proposatutako prozedura honen bitartez. PAH-ak uretan duten disolbagarritasuna aztertuz, zenbat eta PAH-ren pisu molekularra txikiagoa izan, uretan duen disolbagarritasuna (ikus 1. taula) handiagoa izango da eta horrek konposatu arinen analisia ahalbidetuko du. 10. taulan Naph-tik Pyr-rako eskuratutako balioak adierazi dira, Pyr baino astunagoak diren PAH-ak metodoan lortutako DM-a baino balio baxuagoak direlako.

Getxoko ur-laginetan bost analitoen kontzentrazioa determinatzea posiblea izan da. Aldiz, Plentziako itsas-estazioan bildutako ur-laginetan bi analito baino ez detektatu dira. Emaitzei erreparatuta, bi laginketa-puntuetan lortutako PAH-en kontzentrazioen arteko konparaketa egiten bada, agerikoa da Getxoko laginak itsasontziek erregaia botatzeko dagoen gasolindegri baten alboan hartu direla,

laginketa-puntu honetan PAH-en presentzia handiagoa espero baita. Aldiz, Plentziako itsas-estazioko ur-laginetan PAH-en presentzia urriagoa espero da bertan uren tratamendu zehatza egiten delako.

5. ONDORIOAK

Hazkunde industrialak eta gizakiak eragiten dituzten aktibitate antropogenikoak sortutako kutsatzaile organikoak, ingurumenean sortzen dituzten arriskuak ebaluatzeko, hauen determinazioa ahalik eta eraginkorren ahalbidetzen dituzten errutinazko analisiak sortzea beharrezkoa da.

Lan honen bidez, SBSE-TD-GC-MS prozedura analitikoa erabilia, itsasoko uretan dauden PAH-en determinazioa egiteko beharrezkoa den prozeduraren garapena egin da eta batez ere, erauzketan eragina duten aldagaien optimizazioa egin da. Honela, errepikakortasun (DEE, % 0,2-% 21), zehaztasuna (% 81-% 98) eta $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ mailako detekzio-mugak dituen metodoa garatu da.

Lan honetan garatutako metodoa lagin errealetan aplikatu da eta matrizearen efektua aztertu da. Bi laginketa puntuetan eskuratutako emaitzen arabera, matrize efekturik ez dagoela ondorioztatu da. Naftalenoa (Getxo) eta Antratzenoa (Plentzia) izan dira kontzentrazio altuenean agertu diren PAH-ak. Lortutako emaitzen arabera, itsasontziek uretara isuritako erregaia eta orokorrean gizakiak uretara botatzen dituzten hondakinak direla eta, PAH-en kontzentrazioa handiagoa izatea eragiten du, horrek, itsasoan dauden espezieentzat suposatzen duenarekin.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] A.Prieto, O. Zuloaga, A. Usobiaga, N.Etxebarria, L.A. Fernandez, J. Chromatography. A. 2007, 1174, 40-49.
- [2] O. Posada-Ureta, M. Olivares, P. Navarro, A. Vallejo, O. Zuloaga, N. Etxebarria, J. Chromatography. A. 2012, 1227, 38-47.
- [3] Oscar Chacon M., Fabrizio Cuevas C., Christian de la Fuente O., Fabian Diaz A., Laura G. Huaquin M., Avances en ciencias veterinarias. 2007, 22, 42-48.
- [4] A. J.King, J.W. Readman, J. L. Zhou, Anal. Chim. Acta. 2004, 523, 259-267.
- [5] Maria Jesus Garcia Martinez. Los hidrocarburos policiclicos aromaticos asociados a combustibles fosiles. Caracterizacion, análisis y remediación. Universidad politécnica de Madrid, 2005. Tesis doctoral.
- [6] M. Miñana, J.E. Ortiz, T. Torres, L. Moreno y A. Díaz-Bautista, Geogaceta. 2008, 44, 143-156.
- [7] Alberto Rey Castro, Gonzalo Rodriguez Rodriguez, Revista Galega de economía. 2009, 18, 1-20.
- [8] Carlos Mastandrea, Carlos Chichizola, Beatriz Ludueña, Hector Sanchez, Horacio Alvarez, Andrea Gutierrez. Acta Bioquim Latinoam. 2005, 39, 27-36.
- [9] Mohammad Rezaee, Yaghoub Assadi, Mohammad-Reza Milani Hosseini, Elham Aghaee, Fardin Ahmadi, Sana Berijani, J. Chromatography. A. 2006, 1116, 1-9.
- [10] Jonathan G. Huddleston, Heather D. Willaver, Richard P. Swatloski, Ann E. Visser and Robin D. Rogers, Chem. Commun. 1998, 1765-1766.
- [11] Y. He, H. K. Lee, Anal. Chem. 1997, 69, 4634-4640.
- [12] Yaghoub Assadi, Fardin Ahmadi, Mohammad Reza Milani Hossieni, Chromatographia. 2010, 71, 1137-1141.
- [13] L. Brossa, R.M. Marce', F. Borrull, E. Pocurull, J. Chromatography. A. 2002, 963, 287-294.

- [14] R. Liu, J. L. Zhou, A. Wilding, J. Chromatography. A. 2004, 1022, 179-189.
- [15] Mohammad A. Mottaleb, Mohammad Z. Abedin, Mohammad S. Islam, Analytical Sciences. 2003, 19, 1365-1369.
- [16] D. Cam, S. Gagni, J. Chromatography. A. 2001, 39, 481-486.
- [17] Daniel L. Heglund, David C. Tilotta, Environ. Sci. Technol. 1996, 30, 1212-1219.
- [18] J.K. Lokhnauth, N.H. Snow, J. Chromatogr. A. 2006, 1105, 33-38.
- [19] A. Prieto, O. Zuloaga, A. Usobiaga, N. Etxebarria, L.A. Fernandez, C. Marcic, A. de Diego, J. Chromatogr. A. 2008, 1185, 130-138.
- [20] O. Alvarez-Aviles, L. Cuadra-Rodriguez, F. Gonzalez-Illan, J. Quinones-Gonzalez, O. Rosario, Anal. Chim. Acta. 2007, 35, 3486-3491.
- [21] Jone Omar Onaindia, Asier Vallejo Ruiz (eds), Ingurumen-kutsaduraren analisia. Euskal Herriko Unibertsitatea, Bilbo 2014.
- [22] Maria Beatriz Albero Romano. Determinacion de residuos de contaminantes organicos en miel y zumos. Universidad complutense de Madrid, 2009. Tesis doctoral.
- [23] E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. Cramers, J. Chromatogr. A. 1999, 33, 1491-1498.
- [24] A. Buettner, J. Agric. Food Chem. 2004, 52, 79-81.
- [25] L. Wennrich, P. Popp, J. Breuste, Chromatographia. 2001, 53, 380-386.
- [26] B.T. Weldegergis, A.M. Crouch, J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 10225-10236.
- [27] Man He, Beibei Chen, Bin Hu, Anal Bional Chem. 2014, 406, 2001-2026.
- [28] B. Tienpont, F. David, T. Benijts, P. Sandra, J. Pharm. Biomed. Anal. 2003, 32, 569-579.
- [29] A.R. Chaves, S.M. Silva, R.H.C. Queiroz, F.M. Lancas, M.E.C. Queiroz, J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. 2008, 48, 428-434.

- [30] C. Blasco, N. Fernandez, Y. Pico, G. Font, J. Chromatography. A. 2004, 1030, 77-85.
- [31] A. Prieto, O. Basauri, R. Rodil, A. Usobiaga, L.A. Fernandez, N. Etxebarria, O. Zuloaga, J. Chromatography. A. 2010, 1217, 2642-2666.
- [32] E. Baltussen, C. Cramers, P. Sandra, Anal. Bioanal. Chem. 2002, 373, 3-22.
- [33] A. Paschke, J. Brummer, G. Schuurmann, Anal. Bioanal. Chem. 2007, 387, 1417-1421.
- [34] J. De La Torre-Roche Roberto, W.-Y. Lee, I. Campos-Diaz Sandra, J. Hazard. Mater. 2009, 163, 946-958.
- [35] Y. Xu, W. Liu, J. Zhao, Y. Guan, Fenxi Huaxue, Chromatography. 2009, 69, 79-94.
- [36] M. Bourdat-Deschamps, J.-J. Daudin, E. Barriuso, J. Chromatogr. A. 2007, 1167, 143-153.
- [37] M.S. Garcia-Falcon, B. Cancho-Grande, J. Simal-Gandara, Water Res. 2004, 38, 1679-1684.
- [38] E. Cortazar, O. Zuloaga, J. Sanz, J.C. Raposo, N. Etxebarria, L.A. Fernandez, J. Chromatogr. A. 2002, 978, 165-175.
- [39] L. Brossa¹, R.M. Marcel, F. Borrull, E. Pocurull, J. Chromatogr. A. 2007, 1174, 40-49.
- [40] D.W. Potted, J. Pawliszyn, Environ. Sci. Technol. 1994, 28, 298-305.
- [41] Nora Emma Diaz Moroles, Juan Manuel Alfaro Barbosa, Humberto Garza Ulloa, Ciencia UANL. 2001, 4, 420-425.

ERANSKINA: Glosategi

AIRC	Minbiziaren Ikerketarako Instituto Amerikarra
CCD	Diseinu Konposatu Zentrala
DEE	Desbiderapen Estandar Erlatiboa
DM	Detekzio-muga
EPA	Estatu Batuetako Ingurumeneko Babes Agentzia
FLD	Fluoreszentiako detektagailua
GC	Gas-kromatografia
GC-MS	Gas-kromatografia - Masa-espektrometria
HPLC	Bereizmen handiko likido kromatografia
HSSE	Buru-gunea – Hagatxo birakariaren bidezko erauzketa
K_d	Banaketa koefizientea
LC	Desortzio-likidoa
LLE	Likido-Likido Erauzketa
OMS	Osasunaren Erakunde Mundiala
PAH	Hidrokarburo polizikliko aromatikoak
PDMS	Polidimetilsiloxano
PIE	Plentziako Itsas-estazioa
POP	Lehentasunezko kutsatzaile organikoak
SBSE	Hagatxo Birakariaren Bidezko Erauzketa
SPE	Fase Solidoko Erauzketa
SPME	Fase Solidoko Mikroerauzketa
TD	Desortzio-termikoa
TDU	Desortzio termiko unitatea
WDF	Europako Ur Esparru Zuzentaraua

