





eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

**Kimika Aplikatua Saila**

**Fase solidoko mikroerauzketan oinarritutako  
metodoen garapena hidrokarbuero aromatiko  
polizikloen determinaziorako. Aplikazioa eta  
ebaluazioa ingurumen laginetan**

**izena duen Txostena**

**Zientzia Kimikoetan Doktore-maila eskuratzeko**

**Daniel Zuazagoitia Rey-Baltar**

**Donostia 2011**







eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

## TESIAREN ZUZENDARIAREN BAIMENA TESIA AURKEZTEKO

**Esmeralda Millan Martin** eta **Rosa Garcia Arrona** andreak, **Fase solidoko mikroerauzketan oinarritutako metodoen garapena hidrokarburo aromatiko polizikloen determinaziorako. Aplikazioa eta ebaluazioa ingurumen laginetan** izenburua duen doktorego-tesiaren zuzendariak garenak, tesia aurkezteko baimena ematen dugu, defendatua izateko baldintzak betetzen dituelako. **Daniel Zuazagoitia Rey-Baltar** doktoregai jaunak egin du aipaturiko tesia, **Kimika Aplikatua Sailean**.

Donostian, 2010ko Abenduaren     a

TESIAREN ZUZENDARIAK

Iz.: Esmeralda Millan Martin

Iz.: Rosa Garcia Arrona



eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

## SAILAREN ADOSTASUNA

Kimika Aplikatua Saileko Kontseiluak, 2010ko Abenduaren ko bileran, **Fase solidoko mikroerauzketan oinarritutako metodoen garapena hidrokarburo aromatiko polizikloen determinaziorako. Aplikazioa eta ebaluazioa ingurumen laginetan** izenburua duen doktorego-tesia aurkeztearen alde dagoela adierazi du.

**Esmeralda Millan Martin** eta **Rosa Garcia Arrona** andreen zuzendaritzapean egin den tesi hori **Daniel Zuazagoitia Rey-Baltar** jaunak aurkeztu du sail honetan.

Donostian, 2010ko Abenduaren a

O.E. SAILEKO / INSTITUTOKO  
ZUZENDARIA

SAILEKO / INSTITUTOKO  
IDAZKARIA

Iz.: M<sup>a</sup> Angeles Garralda Hualde

Iz.: Rosa Garcia Arrona



eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

**DOKTORE GRADUKO AKTA**  
**DOKTORE TESIAREN DEFENTSAKO AKTA**

**DOKTOREGAIA: Daniel Zuazagoitia Rey-Baltar**

**TESIAREN IZENA: Fase solidoko mikroerauzketan oinarritutako metodoen garapena hidrokarburo aromatiko polizikloen determinaziorako. Aplikazioa eta ebaluazioa ingurumen laginetan.**

UPV/EHUKo Doktorego Azpibatzordeak epaimahaia izendatu zuen goian adierazitako doktore tesia epaitzeko. Epaimahai hori behean aipatzen den egunean bildu da, eta doktoregaiak defentsa burututa, eta aurkeztu zaizkion eragozpen edota proposamenei erantzuna eman ondoren, epaimahaiak, \_\_\_\_\_, honako kalifikazio hau eman dio:

*aho batez edo gehiengoz*



\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_(e)ko \_\_\_\_\_aren \_\_\_\_a

Epaimahaiko burua,

Idazkaria,

Izpta.: \_\_\_\_\_

Izpta.: \_\_\_\_\_

1. epaimahaikidea

2. epaimahaikidea

3. epaimahaikidea

Izpta.: \_\_\_\_\_

Izpta.: \_\_\_\_\_

Izpta.: \_\_\_\_\_

Doktoregaia,

Izpta.: \_\_\_\_\_



## **Eskerronak**

Hasteko eskerrak eman Gipuzkoako Foru Aldundiari, ikerlan hau aurrera ateratzeko jarritako berme ekonomikoa eta interesagatik. Rosa Garcia Arrona eta Esmeralda Millan eskertu nahi nituzke bihotzez, emandako laguntza guztiagatik, nigan uste osoa jartzeagatik eta bide honetan artez zuzentzeagatik, ezbairik gabe, eurak izan dira lan hau burutzeko giltzarri, hasiera hasieratik. Laborategiko kide guztiak ere, Maitena, Juan, Ainara, Maider, eta besteak, baita Donostiako Kimika Fakultateko jendea, Miren, Iñaki, Carlos, Gloria, Alfonso, Montse, Arantzazu, Aritz, ze giro ona izan genuen eta zein ongi hartu ninduzuen, segi horrela, eskerrik asko. Liher eta Mikel ere, pala partiduak eta bizikleta txangoak ezin ahaztu. Leioan, kimika analitikoan jakin-mina ixetu, eta egungo euskara erabili eta egoki txertatzeko grina itzartzeagatik Nestor Etxebarriari eta Fernando Mijangosi eskerrak be. Leioako Kimika Analitikoko Saitetik jasotako laguntza gomutan, eskerrak bereziki Olatz Zuloagari. Yorken, Ingalaterran DEFRA laborategietan Martin Rosek emandako aukera ez dut ahaztuko. Azken urte honetan idazten ibili naizenean Zarrizubiko koadrila osoari milesker, horrenbeste ordu ordenagailu aurrean nork ulertuko. Harresian Zulo, zuei be eskerrik asko, dena ez baita kimika mundu txoro honetan. Ondoan egon zareten lagunei besarkada handi bat. Bizitzan burua eta bihotza erabiltzen erakutsi didazuen guztioi eskerrik asko. Azkenik eta batez ere, etxekoei eskerrak, ez soilik lan honetarako emandako animoagatik, baizik eta jaio eta gaurdaino emandako guztiagatik.





*We are like sailors who on the open sea must reconstruct their ship but are never able to start afresh from the bottom. Where a beam is taken away a new one must at once be put there, and for this the rest of the ship is used as support. In this way, by using the old beams and driftwood the ship can be shaped entirely anew, but only by gradual reconstruction.*

Otto Neurath



Etxekoei



## **Aurkibidea**

### **Sarrera**

1. Sarrera.....	3
1.1 Kutsaduraren auzia Euskadin.....	4
1.2 Hidrokarbuero Aromatiko Polizikloak (PAHak), jatorria, metaketa, toxikotasuna eta indarrean dagoen legedia.....	7
1.3 Kreosota.....	11
2. PAHen ezaugarri analitikoak eta determinazioaren auzia.....	13
3. Fase Solidoko Mikroerauzketa (SPME).....	22
3.1 Oinarri teorikoak.....	23
3.2 SPME prozedura.....	25
3.3 SPME zuntz motak.....	28
3.4 SPMEaren gainean eragiten duten aldagaiak.....	30
3.5 Buru-Guneko mikroerauzketaren azken garapenak etorkizunari begira.....	32
4. Banaketa, detekzioa eta kuantifikazioa gas kromatografian.....	35
5. Esperimentuak diseinatzeko moduak eta metodo analitikoen optimizazioa.....	38
5.1 Diseinu faktorialak.....	39
5.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD).....	40
5.3 Diseinu esperimentalaren erabilerak ingurumen arloan.....	42
6. Erreferentziak.....	44

Helburuak.....	59
----------------	----

### **1. Kapituluak. Gipuzkoako gainazal uretan, hidrokarbuero aromatiko polizikloen determinaziorako, HS-SPME metodoen garapena eta aplikazioak**

1.1 Sarrera.....	63
1.2 Atal Esperimentala.....	66
1.2.1 Ekipamendua.....	66
1.2.2 Erreaktiboak eta materialak.....	67
1.2.3 Materialaren garbiketa.....	67
1.2.4 Ur-laginen kokalekua.....	68
1.2.5 Laginen ezaugarriak eta aurretratatamendua.....	77
1.2.6 Uretan aurki daitezkeen PAHen HS-SPME-ren bidezko determinazioa.....	79
1.3 Emaitzak eta Eztabaida.....	80

1.3.1 Diseinu esperimentalak.....	80
1.3.1.1 Diseinu faktorial zatikatua .....	80
1.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD).....	84
1.3.2 Ezaugarri analitikoak .....	89
1.3.2.1 Linealtasuna.....	89
1.3.2.2 Errepikakortasuna.....	89
1.3.2.3 Detekzio mugak.....	91
1.3.2.4 Zehaztasuna.....	91
1.3.3 Lagin errealen analisia .....	92
1.4 Ondorioak.....	98
1.5 Erreferentziak.....	99

## 2. Kapituluak. Gipuzkoako lurretan hidrokarburu aromatiko polizikloen determinaziorako, HS-SPME metodoen garapena eta aplikazioak

2.1 Sarrera .....	105
2.2 Atal Esperimentalak .....	108
2.2.1 Ekipamendua.....	108
2.2.2 Erreaktiboak eta materialak.....	109
2.2.3 Materialaren garbiketa.....	110
2.2.4 Laginketa-guneak.....	111
2.2.5 Laginketa eta laginaren aurretratatamendua.....	117
2.2.6 Lurraren ezaugarriak.....	117
2.3 Emaizak eta Eztabaida.....	122
2.3.1 Ultrasoinuen bidezko erauzle organikoko erauzketa eta HS-SPME-aren bidezko aurre-kontzentrazio metodoaren optimizazioa (SOE-HS-SPME).....	124
2.3.1.1 Plackett-Burman diseinu faktoriala.....	124
2.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD).....	133
2.3.2 Ur beroaren bidezko erauzketa eta HS-SPME-aren bidezko aurre-kontzentrazio prozedura zuzena (HWD-HS-SPME).....	138
2.3.2.1 Diseinu faktorial zatikatua.....	138
2.3.2.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD).....	144
2.3.3 Bi metodoen arteko erkaketa.....	147
2.3.4 Ezaugarri analitikoak .....	148
2.3.4.1 Linealtasuna.....	149
2.3.4.2 Detekzio mugak.....	149
2.3.4.3 Errepikakortasuna egun eta egunetan.....	150
2.3.4.4 Zehaztasuna.....	151
2.3.5 Lagin errealen analisia.....	152
2.4 Ondorioak.....	160
2.5 Erreferentziak.....	162

## 3. Kapituluak. Hidrokarburu aromatiko polizikloen determinazioa Bizkaiko Golkoko ibai, itsasadar eta kostako sedimentuetan

3.1 Sarrera.....	171
3.2 Atal Esperimentalak.....	173
3.2.1 Ekipamendua.....	173
3.2.2 Erreaktiboak eta materialak.....	174
3.2.3 Materialaren garbiketa .....	174
3.2.4 Laginketa-guneak.....	175
3.2.5 Laginketa eta laginaren aurretratatamendua.....	183
3.2.6 Sedimentuaren ezaugarriak.....	184
3.3 Emaizak eta Eztabaida.....	186
3.3.1 Ur-Beroko HS-SPME metodoaren optimizazioa.....	186
3.3.1.1 Diseinu faktorial osoa.....	187
3.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD) .....	195
3.3.2 Ezaugarri analitikoak eta metodoaren balidazioa .....	201

3.3.2.1 Linealtasuna.....	201
3.3.2.2 Detekzio mugak.....	201
3.3.2.3 Errepikakortasuna.....	202
3.3.2.4 Zehaztasuna.....	203
3.3.3 Lagin errealen analisia.....	204
3.3.3.1 PAHen kontzentrazioak gainazaleko sedimentuetan.....	205
3.3.3.2 Sedimentuen kalitatearen ebaluazioa .....	207
3.4 Ondorioak.....	213
3.5 Erreferentziak.....	215

#### 4. Kapituluak. Lur eta sedimentuen ebaluazioa

4.1 Sarrera.....	223
4.2 Erlazio isomerikoak.....	223
4.3 Analisi estatistikoak.....	225
4.3.1 Normalitate-testa.....	225
4.3.1.1 Kolmogorov-Smirnov froga.....	225
4.3.1.2 Shapiro-Wilk froga.....	225
4.3.2 Korrelazio linealak.....	225
4.3.3 Aldagai anitzeko analisia.....	226
4.3.3.1 Cluster analisia.....	226
4.3.3.2 Osagai nagusien analisia .....	227
4.3.3.3 Faktore-analisia.....	229
4.4 Lurraren ebaluazioa.....	229
4.4.1 Erlazio isomerikoak.....	229
4.4.2 Normalitate testa .....	232
4.4.3 Korrelazio linealak.....	234
4.4.4 Aldagai anitzeko analisia.....	234
4.4.4.1 Cluster analisia.....	234
4.4.4.2 Osagai nagusien analisia.....	237
4.4.4.3 Faktore-analisia.....	238
4.5 Sedimentuen ebaluazioa.....	239
4.5.1 Erlazio isomerikoak .....	239
4.5.2 Normalitate testa.....	241
4.5.3 Korrelazio linealak.....	243
4.5.4 Aldagai anitzeko analisia.....	245
4.5.4.1 Cluster analisia.....	245
4.5.4.2 Osagai nagusien analisia.....	247
4.5.4.3 Faktore-analisia.....	248
4.6 Ondorioak .....	250
4.7 Erreferentziak.....	251
Ondorio Orokorrak.....	257





**SARRERA**



## **1. Sarrera**

Hidrokarburo Aromatiko Polizikloak (HAPak edo PAHak ingelesezko siglak hartuz) eratzun aromatiko bakunen arteko fusioz eratutako konposatu kimikoak dira. Jatorri anitza izanik, euren nonahikotasunak mota askotako ingurumen laginetan topatzea ahalbideratzen du. PAHen presentzia zabala, eta hauetako zenbaiten izaera kartzinogeniko, mutageniko eta teratogenikoa kezka handiak itzarri ditu, horregatik asko dira ingurumen laginetan eta lagin biologikoetan egindako PAHen analisi ikerlanak. Kezka hauek Euskadiko Autonomi Erkidegoak (EAE) modu berean elkarbanatzen ditu, hortik Euskadiko ingurumen laginetan PAHen egoerari buruzko azterketa bat egitea interesgarritzat hartzea, bereziki Gipuzkoan. Horretarako, aldez aurretik eta oinarritzko urratsa izanik, erreztasunez eta konfiantzaz ingurumen laginetan PAHak determinatzea baimenduko luketen metodoen proposamena eta garapena burutu da.

PAHen determinazio analitikoa egiteko prozedurak ugariak dira; PAHen ezaugarri fisiko-kimikoak, polaritatea eta hegazkortasuna batez ere, metodo analitiko ugari garatzeko aukera eman dute. Hauetako metodo batzuk, miaketa, baheketa edo araketa analisi bezala ezagutzen dira (*screening methods*), tresneri, denbora eta disolbatzaile kantitate handirik gabe, bai-ez erantzun azkarra eman dezaketenak. Hauen artean Fase Solidoko Mikroerauzketa (SPME) prozedura dago, arina eta sinplea. Lan honetan erabilitako metodoa hain zuzen, buruguneko fase solidoko mikroerauzketa (HS-SPME) izan da, PAHen izaera erdi-hegazkorrari esker burutu ahal izan dena. Aurrekontzentrazioa SPME zuntzei esker burutu bada, analitoen desortzioa gas kromatografo batetan egin da, analitoen arteko banaketa lortuz, azkenik, garraren bidezko ionizazio-detektagailu (FID) batekin kuantifikatu direlarik.

Prozedura honetan sistemaren gainean eragiten duten aldagaien kopurua handia da. Horregatik diseinu esperimentalak aurrera eraman dira, prozeduraren erantzuna optimizatzearen. Datuen eskuratzea, euren analisisa eta interpretazioa, ohiko teknika estatistikoak erabiliz burutu da. Behin prozedura egokia ezarri denean, ur, lur eta sedimentu ingurumen laginak aztertu dira. Lorturiko PAHen kontzentrazioen datuak egun indarrean dagoen legediarekin eta beste ikerlan batzuekin erkatu dira, baita aldagai anitzeko teknikak erabiliz ebaluatu ere.

## 1.1 Kutsaduraren auzia Euskadin

Ur, lur eta eguratsaren kutsadura, gizarteak bere gain bat batean jaso duen errealitatea da. Ongizatea eta ekonomiaren garapena, ekoizpen sistema oldarkor bati esker eman da azken mendean. Ingurumenari begiratzen badiogu, kutsagarrien kontzentrazioak maila ikaragarrian topatuko ditugu naturan eta baita gure gorputzean ere. Kutsagarri hauen toxikotasuna altua dela baieztatu da, minbizia, antzutasuna eta zenbait osasun arazo ezberdin bidera ditzakelarik.

Kutsadura eta osasun arazoen arteko erlazioa zuzen proportzionala da. Zentzu honetan, Europako polutzaileen igorpenen erregistroa (EPER) agentziaren arabera [EPER], Espainian gaur egun oraindik, 1.200.000 tona kutsagarri baino gehiago isurtzen dira uretara urtero. Kutsagarri hauek 44 konposatu arriskutsu ezberdin osatzen dituzte, euren artean Hidrokarburo Aromatiko Polizikloak, azken hauen iturri nagusienak metalgintzan eta farmazian jarduten diren enpresak izanik. Zuzenean uretara eta eguratsera isuritako sustantziak eragin zuzena daukate animali eta gizakiongan, osasun arazoak sortuz, baita heriotza goiztiarrak ere. Europako Ingurumen Agentziaren arabera [EEA] kutsadura kimikoaren iturri nagusienak industri isurketa, hondakinen kudeaketa eta hidrokarburoetan topatzen dira. Agentzi honen datuen arabera, ekoizpen industrialak eta merkataritza lurzoru kutsaduraren %41 suposatzen du, hiri hondakinen isurketak eta tratamenduek %15, eta petrolioaren industriak %14. Beste iturri batzuk ere topa daitezke, hala nola, meatzaritza, nekazaritza eta agrokimika.

Kutsadurak ingurune ezberdinetan eragin dezake. Eguratsean adibidez, negutegi efektua gordintzen duten gasak topa ditzakegu (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>...), bestalde Hidrokarburo Aromatiko Polizikloak (PAHak) eta partikulak (PM<sub>10</sub> eta PM<sub>2,5</sub>) ere [Inza Aguirre, 2010]. Ur eta lurzoruetan aurki daitezken kutsagarri nagusienak nitrogenoa, fosforoa, metal astunak,

konposatu organokloratuak eta hidrokarburoak dira [**Eusko Jaurlaritzako Ingurumen, Lurralde Plangintza, Nekazaritza eta Arrantza Saila**].

Konposatu natural eta antropiko batzuen kontzentrazioen handitzeak, ingurumenaren baldintza kimikoak desoreka ditzake, ekosistemak aldatu, eta ondorioz baliabide naturalen kalitatearen degradazioa bideratu. Beste substantzi sintetiko askok, ur, lur eta eguratsaren baldintza fisiko kimikoak eraldatu ditzakete, arriskutsuak dira, arazoak eman ditzakete batez ere substantzi iraunkorrak (hamarkadetan edota mendeetan degradaezinak), biometagarriak (kate trofikoan gora animalien zuntzetan metatu daitezkenak), eta toxikoak (ekosistemen osasun arazoak bideratu ditzaketenak) badira.

Kutsaduraren ondorioz Euskadiko kostak, ibai eta lurrek degradazio latza jasan dute tokian toki. Kutsagune asko topa daitezke gaur egun oraindik Euskadin, [**Greenpeace**], Espainiako fabriken %33 bertan kokatzen dira, eta hauetatik %26 paper-fabrikak dira. Industri kimiko kutsakorrenen %12 Euskal lurretan jarduten du, haietariko batzuk itsas hondoetara isurbide zuzenak dauzkatarik. Bilbo aldean, Muskizen, Estatuko birfindegi handiena kokatzen da, urtean 11 milioi tona hidrokarburo ekoizten dituen. Kostaldetik zein lurretik jasaten den trafikoa ere, kutsadura iturri garrantzitsua da Euskadin. Nazio Batuetako Ur Baliabideen Garapenaren bigarren txostenak [**UNESCO**], Euskal kostaldea eta barnealdeko urek jasaten duten presio eta arriskuen berri ematen du, honako bi hauetan laburbildu daitezkelarik: isurketa kutsakorrak eta eraldaketa morfologikoak (kanalizazioak eta mareen arteko zonaldeen galera). Euskadik izan duen egitura industrialak dela eta, kostaldea eta bokaleak jasan duten isurketak historikoak izan dira (Nerbioi ibaia eta Pasaiako badia adibide garbienak izanik). Gaur egungo egoera baretu da zonalde batzuetan, baina okertu egin da aldiz beste askotan. Ur eta sedimentuen kalitateak horrela adierazten dute; kutsagarriak, metal astunak edota konposatu organikoak, inguru urtsuarekin kontaktuan jartzen dira disolbaturiko partikulen bitartez, industri zein hiri isurketa zuzenak dela medio. Euskal Uren Kalitatearen Sarearen [**Eusko Jaurlaritza**] ur, sedimentu eta biomonitoreren analisisien arabera, Nerbioi, Oiartzun eta Debako ur masak kutsatuenak dira gaur egun, baita euren ibai isurialdeak ere [**Borja et al., 2004**]. Europako Ur Esparru Zuzendaritzak egindako lanetan azpimarratzen da Euskal ur eta sedimentuetan topatutako merkurio, PAH eta PCB kontzentrazioak oso altuak direla, [**OSPAR Commission, 2007**]; era berean, ikerketa honek Euskal Herriko zenbait zonalde (Nerbioi aldea adibidez) araudiak ezartzen dituen helburuak betetzeko arazoak izango

dituztela adierazten du. Isurketa hauetan ere, elikagarri (nitrogeno eta fosforo), metal astunak (kromo, kadmio, berun, kobrea eta zink) eta gorotz bakteriak topatu dira kantitate handietan.

Nerbiotik gertu, Muskizen, Petronorreko birfindegia kokatzen da, orain dela 30 urte eraikia. Industri honek ere isurketa garrantzitsuen erantzule da. Estatuko Isuri eta Iturri kutsagarrien Erregistroaren arabera [PRTR] eta Eusko Jaurlaritzaren arabera ere [Demarcación de las cuencas internas del País Vasco (2004)], ur eta eguratsera egindako isurketak altuak izan dira. Enpresa honek petrolio-koke fabrika bat eraiki behar du etorkizunean, fuel hondakinetatik porlandegien labeak behar duten betagarria ekoizteko.

Pasaiako badien kutsadura maila altuak neurtu dira ere. Hiri eta industriaren arteko gertutasuna, egoera hau bideratu du. Nahiz eta azken urteetan Eusko Jaurlaritzak egoera honi buelta emateko urratsak eman dituen, 1997. urterarte Oiartzun ibaiaren bokaleak muturreko kutsadura mailak erakutsi ditu, espezie bizidunen erabateko desagertzea eman delarik [Departamento de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, 2007]. Gaur egun elikagarrien kantitate handiak detektatu dira, baita kutsagarrien presentzia uretan zein sedimentuetan [Borja *et al.*, 2004]. Esan bezala, Oiartzun ibaiaren bokalea presiopeko zonalde hiri-industrial da. Aintzinako berun eta zinkaren ustiapen artoa izandakoa (Arditurri). Zonaldeko aktibitate industrial garrantzitsuena gainazalen estaldura metalikoak dira, hemen sedimentuetan topaturiko metal astunen kontzentrazio altuen arrazoia. Elikagaien industria eta ibilgailuena ere presentzia nabarmena dauka. Eusko Jaurlaritzaren azken azterketek adierazten dute zonalde honetako ur, sedimentu eta bizidunetan aurkitu diren zenbait konposatu kimikoen kontzentrazio altuek ez dutela legedia betetzen. Kezkagarrienak uretan atzemandako zink eta kadmio kontzentrazioak, baita sedimentuetan neurtutako konposatu aromatikoak (bentzo(a)antrazenoa, bentzo(a)pirenoa, bentzo(a)perilenoa, fenantrenoa, fluorantenoa, bis2-etilohexilo ftalatoak (DEHP), eta PCBak), eta flora eta faunan determinaturiko artsenikoa, eztainua, beruna, kobrea, merkurioa, selenioa, PCBak eta EOXak. [Dirección de aguas, 2007]. Sustantzi guzti hauen presentzia hiri hondakin isurketa jarrai eta masiboetara zor zaie ere. Badiako puntu beltza Iberdrolako zentral termikoa da, Pasai Donibanen kokatua. Estatuko Isuri eta Iturri kutsagarrien Erregistroak emandako datuen arabera [PRTR], zentralak ur eta eguratsera egiten ditu isurketak, aire partikulak, negutegi efektuko gasak, nitrogenoa, kromo konposatuak, eta ur hozketarako urak.

Guzti hau kontutan hartuz, Euskadiko ur, lur eta eguratsaren kalitatea baxua dela kontsidera daiteke. Gaur egungo legediak egoera zuzendu dezakela pentsa daiteke, baina ekoizpen prozesuetan, lurraren artifizializazioan, mugikortasunean, eta energia kontsumoan, aldaketak egitea beharrezkoa ikusten da.

## **1.2 Hidrokarburo Aromatiko Polizikloak (PAHak), jatorria, metaketa, toxikotasuna eta indarrean dagoen legedia**

Hidrokarburo Aromatiko Polizikloen familia, fusionaturiko sei karbonok osatutako eraztun aromatiko bi edo gehiagoko molekula hidrokarburoen talde zabala da. Normalean, PAH gehienak euren artean loturiko bentzeno eraztunak dauzkate, nahiz eta alkilo taldeak dauzkaten PAHak ere existitu. Ehunka PAH konposatu ezberdin era daitezke materia organikoaren pirolisi edo erreketaren bidez, prozesu industrialen bitartez eta giza aktibitate ezberdinak dela medio. PAHak naturan, ikatz eta asfaltoaren ekoizpena, aluminioaren galdaketa, petrolioaren cracking prozesuak, diesel zein gasolina motorrak eta fuel-oil nahigabeko isurketa zuzenak dela medio topa daitezke [Dafflon *et al.*, 1995; European Commission, 2002]. PAHak konposatu organiko iraunkorrak dira, ingurumenean egon daitezke denbora tarte luzeetan euren propietate toxikoak eraldatu barik. PAHen propietate erdi hegazkorrek mugikortasun handia ematen diete konposatu hauei ingurugiroan zehar.

Esan bezala kutsadurak eragin zuzena dauka itsas eta kontinenteetako uretan, lurlean eta eguratsean. Biosfera guztiaren gainean du eragina alegia. Ondorioz, edozein izaki bizidun (landare zein animalia), bere baitan mota ezberdinetako kutsagarriak barneratzeko arriskuan dago. Ingurumenera isurtzen diren elementu eta konposatu kimiko ezberdinen artean, bere toxikotasunagatik eta arriskutsuak direlako, honako hauek ezberdindu behar dira: metal astunak, organokloratuak, PAHak, partikulak eta erradioaktiboak. Bakoitzaren eraginak osasunaren gainean baieztatuta daude eta ezberdinak dira kutsagarriaren arabera.

PAHak, atmosfera, deskarga eta zuzeneko isurketen bidez barnera daitezke gainazaleko uretan. Ur freatikotetan ere detektatu dira, gainazaleko ur kutsatuen migrazio zuzenetik, edo kutsatutako lurzoruen lixibatuen ondorioz. Iraunkortasun handieneko konposatuak landare, arrain eta ur zein lurrazaleko ornogabeetan metatzen dira. Landareak sustraien bitartez xurgatu ditzakete lur kutsatuetan. Pisu molekular txikiko PAHak, pisu molekular altukoak baino azkarrago xurgatzen dira. Ur sistemetan, PAHen toxikotasuna eta pisu molekularra

batera handitzen dira, gainera biometaketa azkarra ematen ohi da hemen. Lurretan ematen den PAHen absortzioa eta lurlean bertan dagoen materia organikoa zuzen proportzionalak dira, eta PAHen pisu molekularra eta partikula tamaina alderantziz proportzionalak dira. Pisu molekular txikiko PAHak bestalde, pisu molekular handikoak baino errazago hegazkortzen dira.

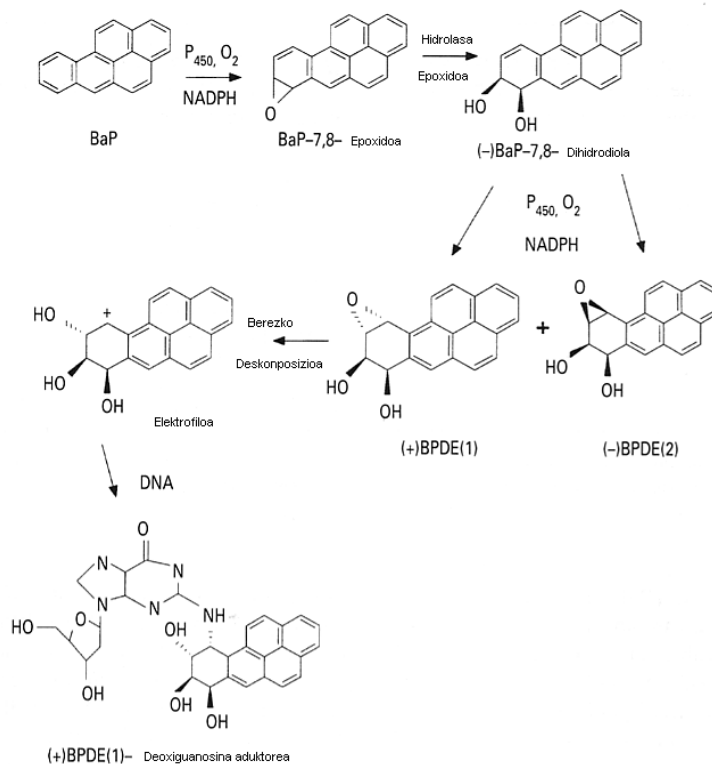
Ugaztunak PAHak xurgatu ditzakete, arnasketaz, larruazalaren kontaktu zuzenez, edota irenketaz ere. Gizakion kasuan, tabako ez-erretzaileentzat, PAHekiko esposizioa aire arnasketa eta jakien ingestaren bidez ematen da nagusiki. Halaber, beste esposizio bide urriagoak topa daitezke: lur eta hauts ingesta, edateko uraren ingesta, azal absortzioa lur eta uretatik, eta PAHekin kutsaturiko produktuen erabilpena, hala nola ikatz eta alkitranarekin egindako zenbait produktu. Airez garraiatutako PAHekiko esposizioa etxe barruan zein kanpoaldean eman daiteke. Giza esposizioa PAHei inguruko airearen arnasketa dela eta, asko alda daiteke urbanizazio, trafiko eta industrializazio mailaren arabera. 90. hamarkadan, bentzoa(a)pirenoaren ohizko mailarik altuenak nekazal guneeetan 0.1 eta 1 ng/m<sup>3</sup>-koa zen; hiri guneeetan aldiz, 0.5 eta 3 ng/m<sup>3</sup>-koa. Egun batetan arnastutako bentzoa(a)pirenoaren batz bestekoa beraz, 2-tik 60 nano-gramora dela esan daiteke, kontuan izanda gizakiak 20m<sup>3</sup> arnasten duela egunean, gutxi gora behera. 30 ng/m<sup>3</sup> baino goragoko mailak, ikatz industri gune barruan neurtu dira. Etxe barruko esposizioa PAHei, bai tabako keari, bai sukalde keari, eta baita tximini edota su-leku irekiei zor zaie. Gaizki edo gutxiegi aireztatutako etxe barruko bero iturriak, airean PAHen kontzentrazioa neurri handian igoarazi dezakete [Dafflon *et al.*, 1995; European Commission, 2002].

Jakietan, PAHen eraketa eman daiteke zenbait sukaldatze prozesu dela medio; hala nola keztutako, egositako eta frijituriko jakietan, baita labe elektriko edota barbakoan bidezko sukaldatze praktiken bidez. Barazkiak kutsaturik egon daitezke lur kutsatuetan haziak izan badira, edota PAHak hauspeatu egin direlako zuzenean airetik (kontzentrazio altuak neurtu daitezke errepede alboetan adibidez). Haragi, esne eta arrautzetan zaila da PAH maila altuak topatzea, izan ere metabolismo azkarra baitute jatorrizko espezie animaliak. Dena den, zenbait itsas bizidun, muskuilu eta langostak adibidez, uretatik zuzenean PAHak barneratu eta metatzen dituztela jakin da; ur hauek, fuel eta olio ezberdinen isurketak direla eta, kutsatuak badaude, bioakumulazio arriskua egon daiteke.



Ezagutzen diren ehunka PAHtik, aztertuen bentso(a)pirenoa (BaP) da, normalean aire eta jakietan indikatzaile gisa erabiltzen da. PAHekin, animalian eginiko toxikotasun esperimentu ezberdinek, efektu ugari erakutsi dute. Hala nola efektu hematologikoak, ugaltzeko eta garatzeko arazoak etab. Baina erakutsi duten genotoxi eta minbizia eratzeko potentziala da atentzia gehien erakarri duena. PAHekiko zuzeneko esposizioa, bai ingesta edo arnasketaren bidez, animali esperimentaletan minbizia sortzen duela egiaztatu da, baita genotoxizitate eta mutatzeko ahalmena *in vitro* eta *in vivo*-n [Montizaan *et al.*, 1989].

Hidrokarbu Aromatiko Polizikloek ibilbide metaboliko konplexua jarraitzen dute giza gorputzean barrena. Ibilbide honetan amaiera ezberdinak gerta daitezke. Normalean behazuna eta gerneraren bidez kanporatuko ditugu alde aurretik prozesu metabolikoetan eraldatutako PAHak. Kasu batzuetan entzimen bidezko eraldaketa jazo eta PAHak hidrofiliako bihurtu daitezke, modu horretan gorputzetik kanporatzeko errazago izanik. Baina beste batzuetan, hidroxilazio eta oxidazio prozesu luze baten ostean, gerta daitezke bentso(a)pirenoa aktibatu (1. Irudia) eta elektroizale bihurtzea adibidez. Kasu horretan B(a)P aktibatuak DNArekin erreakziona dezake, minbiziak eta mutazioak eragin daitezkeelarik [Townshend, 1995].



1. Irudia. Bentso(a)pirenoaren eraldaketa metabolikoa eta DNArekiko erreakzioa.

Amerikako Ingurugiroaren Babes Agentziak 16 PAH ezberdintzen ditu kutsatzaile arriskutsu bezala, eta haietariko batzuk potentzial kartzinogeniko handia erakusten dute. 16 PAHak honako hauek dira: Naftalenoa, Azenaftilenoa, Azenaftenoa, Fluorenoa, Fenantrenoa, Antrazenoa, Fluorantenoa, Pirenoa, Bentzo(a)antrazenoa, Krisenoa, Bentzo(b)fluorantenoa, Bentzo(k)fluorantenoa, Bentzo(a)pirenoa, Indeno(1,2,3-c,d)pirenoa, Dibentzo(a,h)antrazenoa eta Bentzo(g,h,i)perilenoa. Indarrean dagoen legediari dagokionez, ur eta lurretan zenbait muga jartzen zaizkio PAHen kontzentrazioei. Horrela, gaur egun Euskadin indarrean dagoen Real Decreto 140/2003, ur kontsumoren kalitateari dagozkion muga balioak ezartzen dizkio bentzenoarentzako ( $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ), 4 PAH (bentzo(b)fluorantenoa, bentzo(k)fluorantenoa, bentzo(g,h,i)perilenoa, indeno(1,2,3-cd)pirenoa) taldearen batz bestekoarentzako ( $<0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  guztira), eta bentzo(a)pirenoarentzako ( $<0.01 \mu\text{g L}^{-1}$ ) [**Real Decreto 140/2003**].

Europar Batasuneko Directive 2008/105/EC erabakian, EQS (*Environmental Quality Standards*) baloreak ur politikan kontutan hartzen dira; sailkapena bi ataletan banatzen da, urteko batez bestekoa edota baimendutako kontzentrazio maximo bezala. Azken erabaki honen arabera; antrazenoaren eta fluorantenoaren kontzentrazio maximoak  $0.4$  eta  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  dira hurrenez-hurren. Bentzo(a)pirenoarentzako baimendutako kontzentrazio maximoa  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ -ra igotzen da, eta 4 PAH-en multzoaren (bentzo(b)fluorantenoa, bentzo(k)fluorantenoa, bentzo(g,h,i)perilenoa, indeno(1,2,3-cd)pirenoa) kontzentrazio maximoa  $0.002$ - $0.03 \mu\text{g L}^{-1}$ -ko bitartean ezartzen da, tokian toki eta urteko batez besteko zein neurketa bakarraren baimendutako kontzentrazioa maximoaren arabera [**Decision 2455/2001/CE; Directive 2008/105/EC**].

Lurren kasuan bestalde, indarrean dagoen “lurzorua ez kutsatzeko eta kutsatutakoa garbitzeko” Euskadiko 1/2005 legean ere zenbait muga jartzen zaizkie PAHei aurkezten duten kontzentrazioei lurretan, industri, hiri, aisia, parke eta bestelako erabilerak dauzkaten lurren artean. Legeak helburu bikoitza du. Alde batetik, Autonomia Erkidegoan lurzorua babestea eta ekintza antropikoetatik ondorioztatutako kutsadura prebenitzea eta, bestetik, bere lurralde-esparruan kutsatutako eta aldatutako lurzoruei aplikatu dakiekeen erregimena ezartzea. PAH ezberdinen kontrola eramatea iradokitzen da lege honetan, horrela, antrazeno, bentzo(a)pireno, fluoranteno, naftaleno, azenafteno, bentzo(a)antrazeno, fluorenoa, pireno, bentzo(b)fluoranteno, bentzo(k)fluoranteno, kriseno eta dibentzo(a)antrazeno bezalako konposatu organikoei mugak jartzen zaizkie tokian-toki lur motaren arabera. [**Legea 1/2005**]. Europa mailan ez dago oraindik legedi komunik zentzu honetan, nahiz eta herrialde gehienek

antzeko urratsak jarraitu lurzoruen kalitatearen prebentzioan, eta lur kutsatuen determinazio eta garbiketan. Estatu mailan Apirilaren 21eko hondakinen 10/1998 legea, [**Ley 10/1998**] eta Urtarrilaren 14eko 9/2005 Dekretu Errealak zuzentzen ditu lur kutsatuen inguruko kezkek [**Decreto Real 9/2005**]. Euskadin, azaldutako 1/2005 legeaz aparte [**Legea 1/2005**], Otsailaren 27ko 3/1998 legea aipatu behar da, Euskadiko Ingurumenaren Babeserako Lege Orokorra hain zuzen [**Ley 3/1998**], zein duda barik, urrats handia suposatu zuen ingurugiroaren babes eta kontrolerako. Bestalde, 199/2006 dekretua aipatu behar da, urriaren 10ekoa [**Decreto 199/2006**], lurzoruen kalitatea ikertu eta berreskuratzeko erakundeak egiaztatuzeko sistema ezartzen duena, eta erakunde horiek lurzoruen kalitatearen gainean egindako ikerketen edukia eta norainokoa zehazten dituena. Azkenik, Euskadiko Lur Kutsatuen Plana 2007-2012 aipatu behar da [**Eusko Jaurlaritza, 2007**] bertan Euskadiko lur kutsatuen inbentarioa, eta berauei irtenbidea emateko lan ildoak eta epe mugak ezartzen dira.

### 1.3 Kreosota

Ikerketa honetan egindako PAHen zenbait analisi positibok kreosota izan dute abiapuntu. Kreosota 200 konposatu kimikoren nahastea deskribatzeko erabiltzen den izena da. Konposatu horietako gehienak hidrokarburo aromatikoak dira. Kreosota terminoaren barruan sartzen dira zur kreosota, ikatz-mundrunaren kreosota, ikatz-mundruna eta ikatz-mundrunaren brea. Kreosota babesle organiko oliotsu bat da, hau eskuratzeko 900 eta 1200°C bitartean eratutako koke metalikotik, gas fabriketako erretortetatik, edota hulla bezalako ikatz oliotsuen errekuntzatik lortutako mundrunaren 200 eta 400°C bitarteko destilazioa egin behar da.

Hainbat urtetan, substantzia hori iragazkaizte eragile gisa erabili izan da etxeetan, trenbide-trabesetan, linea elektriko eta telefono-lineako zutoinetan, hesietan, zubietan, etab. Europar Batasuneko 2001/90/CE agintea indarrean dagoenetik, debekatuta dago erabat kreosotaren erabilpena egurraren tratamendurako, baita modu honetan tratatutako egurraren merkaturatzea, nahiz eta baldintza zehatz batzuetan kreosotaren erabilpena baimentzen den [**Directive 2001/90/CE**]. Testuinguru honetan, zur kreosotatuaren hondakinak ezingo dira erabili eraikinen barruan, jolas lurretan, parkeetan, lorategietan, azala ukitzeko arriskua dagoen aisialdiko kanpoko instalazioetan, lorategiko altzarien fabrikazioan eta laborantzako edukiontzien eta lehengaietan, tarteko produktuak edo gizakien edo animalien kontsumorako produktuak uki ditzaketen ontzien fabrikazioan.

Kreosotaren osagai nagusiak bentzenotik eratorritako hidrokarburo aromatiko polizikloak dira, eta konposatu nagusia bentzo(a)pirenoa da. Hala, bentzo(a)pirenoa zur kreosotatuaren karakterizazioan erabiltzen den konposatua da. Bentzo(a)pirenoa produktu arriskutsu eta kantzerigeno gisa katalogatuta dago. Giza osasunean dituen ondorioak, besteak beste, azala, begiak eta muki-mintza narritatzea eta azaleko minbizia sortzeko arriskua dira. Dosi handien eraginpean egondako pertsonetan ondorio hauek ager daitezke: listu-jarioa, gonbitoa, zianosia, hipotermia, koma eta heriotza ere eragin dezake hutsegite multiorganiko baten ondorioz. Toxikologia, Ekotoxikologia eta Ingurumeneko Europar Batzorde Zientifikoak egindako azterketak zehaztu zuen kreosotak bentzo(a)pirenoaren %0,005eko masa baino handiagoko kontzentrazioa badu, kreosota hori duen zurak kontsumitzaileengan minbizia sortzeko arriskua duela. Zur kreosotatuaren karakterizazioan erabiltzen den beste parametro bat uretan atera daitezkeen fenolak dira, eta horretarako %3ko gehienezko muga ezartzen da masari dagokionez.

Kreosotaren osagai batzuk ez dira errez degradatzen eta ingurumenarentzat kaltegarriak dira. Hondakinen zerrandari buruzko Europar Elkarteko 2000/532/EC erabakiko bigarren artikulua arabera [**Decisión 2000/532/CE**], kantzerigeno gisa sailkatutako 2. kategoriako substantzia bat edo gehiago %0.1eko kontzentrazioan edo kontzentrazio handiagoan duten hondakinak, hondakin arriskutsutzat hartuko dira. Beraz, pisuari dagokionez %0.1 baino kreosota gehiago duen tratatutako zura hondakin arriskutsua izango da, eta hondakin arriskutsuei buruzko 91/689/CEE zuzentarauaren arabera manipulatu beharko da [**Directiva 91/689/CEE**], hondakinei buruzko 75/442/CEE zuzentzarauko 2. artikulua 2. paragrafoan zehazten denaren arabera [**Directiva 75/442/CEE; IHOBE**].

Gaur egungo joera, kreosotatutako egurren kudeaketan, euren metaketa eta ahaztea da. Praktika hau arriskutsua da, izan ere kreosotatutako egurra (trenbide zein telefono zutoinak), kutsatzaile asko igorri dezake ingurumenera. PAHen kasuan adibidez, oso errez eman dezateke jauzia, euren propietate hegazkorrei esker, eta gertuko lur zein landareak kutsatu daitezke [**Moret et al., 2007**].




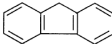
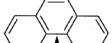



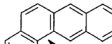
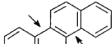

Kreosotaren analisisia edota kreosotatutako egurren analisisian jardun diren hainbat ikerlan topa daitezke, normalean beste analito batzuen artean, hidrokarburo aromatiko polizikloen determinazioan eta kuantifikazioan oinarrituz [**Ikarashi et al., 2005**]. Bestalde, kreosotaren

degradazioa ikertu duten lanak asko dira, ozono edota Fenton tratamenduekin besteak beste [Kulik *et al.*, 2006].

## 2. PAHen ezaugarri analitikoak eta determinazioaren auzia

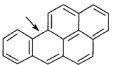
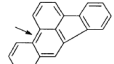
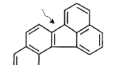
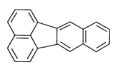
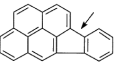
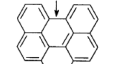
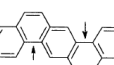
PAHen metaketa, ikusi dugunez, matrize ezberdinetan eman daiteke: Uretan, lurzoruetan, sedimentuetan, eguratsean, animalia ehunetan, etab. Ingurumenaren kalitatearen neurketa, edota osasun efektu monitorizaziorako toxikotasun azterketak, ezinbestekoak dira gaur egun pairatzen dugun kutsaduraren aurrean froga analitikoak ebazteko. Matrizearen arabera hortaz, garatutako metodo analitikoak anitzak dira. PAHen propietate fisiko kimikoen arabera (**1go Taula**), PAHak matritzetik erauzteko, interferentziak baztertzeko, euren artean banatzeko, eta azkenik determinatu eta kuantifikatzeko, prozedura analitiko asko dago. Estatu Batuako, Gaixotasun Errolda eta Substantzi Toxikoen Agentziaren (*Agency of Toxic Substance and Disease Register*) arabera [ATSDR] PAHen propietate fisiko eta kimikoak ondoren azaltzen dira. Oktanol/Ura partizio koefizientea ( $K_{ow}$ ), analitoaren kontzentrazioa ur eta oktanol fasearen arteko ratioa bezala ezagutzen da, bi fasetako oktanol/ur sistema batetan.  $K_{ow} = \text{oktanol faseko kontzentrazioa} / \text{Ur faseko kontzentrazioa}$ . Lur Karbono Organiko/Ura partizio koefizientea ( $K_{oc}$ ), lurlean adsorbatutako analito kimiko baten masa eta lur horretan dagoen karbono organiko masaren arteko ratioa da. Karbono organiko totalarekiko normalizatutako banaketa koefizientea da ( $K_d$ ).  $K_{oc}$  balioak, lurretako kutsagarri organikoen mugikortasuna auresateko baliogarriak dira.  $K_{oc}$  balio handiak konposatu organikoen mugikortasun eskasarekin datoz bat,  $K_{oc}$  balio txikiak aldiz, konposatu hauen mugikortasuna handia dela adierazten dute. Banaketa koefizientea ( $K_d$ ), aurrerago, HS-SPME teknikaren azalpen teorikoetan aztertuko den neurria da. Banaketa koefizientea ( $L \text{ Kg}^{-1}$ ) lur-ur sistema batetan, lurra xurgaturiko kontzentrazioa ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) eta orekan disolbaturiko ( $\text{mg L}^{-1}$ ) kontzentrazioaren arteko zatiketa da. Parametro hau tokian toki, lurraeran arabera, eta konposatuaren arabera, espezifikoa izango da. Henry legearen konstantea bestalde, orekan analito baten ur-aire arteko kontzentrazioen ratioa da. Parametro hau tenperaturarekiko eta konposatuaren masarekiko aldakorra da. Balio altuek hegazkortasun altua adierazten dute. Bapore presioa azkenik, sistema itxi batetan eta oreka termodinamikoan bapore batek bere kondentsatutako fasearekin duen presioa da. Likido eta solido gehienak dute gas fasera lurruntzeko joera, eta gero atzera solido edo likido egoerara kondentsatzeko joera. Likidotik (edo solidotik) jauzi egiteko joera adierazten du parametro honek. Bapore presio altuko balioek konposatuaren hegazkortasun handia adieraziko dute.

1. Taula. Zenbait PAHen propietate fisiko-kimikoak.

PAH izena	Formula Kimikoa	Egitura molekularra	Pisu molekularra	Henry legearen konstantea (atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Banaketa koef.		Bapore presioa (mm Hg)	Disolbagarritasuna	
					Log K <sub>ow</sub>	Log K <sub>oc</sub>		Uretan (mg L <sup>-1</sup> )	Organikotan
Naftalenoa	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>		128.17	4.5 10 <sup>-3</sup>	3.59	Daturik ez	Daturik ez	0.24	Metanol, etanol, eter
Azenaftilenoa	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>		152.20	1.45 10 <sup>-3</sup>	4.07	1.40	0.029	3.93	Alkohol, eter, bentzeno
Azenaftenoa	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>		154.21	7.91 10 <sup>-5</sup>	3.98	3.66	4.47 10 <sup>-3</sup>	1.93	Alkohol, bentzeno, az. Azetiko, tolueno
Fluorenoa	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>		166.20	1.0 10 <sup>-4</sup>	4.18	3.86	3.2 10 <sup>-4</sup>	1.82	Az azetiko, azetona, bentzeno, CCl <sub>4</sub> , etanol
Fenantrenoa	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>		178.20	2.56 10 <sup>-5</sup>	4.57	4.15	6.8 10 <sup>-4</sup>	1.20	Az. Azetiko, bentzeno, CCl <sub>4</sub> , eter, etanol
Antrazenoa	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>		178.20	1.77 10 <sup>-5</sup>	4.54	4.15	1.7 10 <sup>-5</sup>	0.076	Azetona, bentzeno, CCl <sub>4</sub> , eter, etanol
Fluorantenoa	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>		202.26	6.5 10 <sup>-6</sup>	4.90	4.58	5 10 <sup>-6</sup>	0.22	Alkohol, eter, bentzeno, az. azetiko
Pirenoa	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>		202.30	1.14 10 <sup>-5</sup>	4.88	4.58	2.5 10 <sup>-6</sup>	0.077	Bentzeno, dietil eter, etanol, tolueno
B(a)A	C <sub>18</sub> C <sub>12</sub>		228.29	1.0 10 <sup>-6</sup>	5.61	5.30	2.2 10 <sup>-8</sup>	0.010	Az azetiko, etanol beroa, azetona
Krisenoa	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>		228.30	1.05 10 <sup>-6</sup>	5.16	5.30	6.3 10 <sup>-7</sup>	2.8 10 <sup>-3</sup>	Azetona, Dietil eter, etanol, tolueno
B(e)P	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		252.30	Daturik ez	Daturik ez	Daturik ez	5.7 10 <sup>-9</sup>	6.3 10 <sup>-3</sup>	Azetona

B(a)A: Bentzo(a)antrazenoa, B(e)P: Bentzo(e)pirenoa, K<sub>ow</sub>: Oktanol/Ura banaketa koefizientea, K<sub>oc</sub>: Lur karbono organiko/Ura banaketa koefizientea.

1. Taula. Jarraipena.

PAH izena	Formula Kimikoa	Egitura molekularra	Pisu molekularra	Henry legearen konstantea (atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Banaketa koef.		Bapore presioa (mm Hg)	Disolbagarritasuna	
					Log K <sub>ow</sub>	Log K <sub>oc</sub>		Uretan (mg L <sup>-1</sup> )	Organikotan
B(a)P	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		252.30	4.9 10 <sup>-7</sup>	6.06	6.74	5.6 10 <sup>-9</sup>	2.3 10 <sup>-3</sup>	Etanol, metanol, bentzenoa, toluenoa, xilenoa
B(b)F	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		252.30	1.22 10 <sup>-5</sup>	6.04	5.74	5.0 10 <sup>-7</sup>	1.2 10 <sup>-3</sup>	Bentzenoa, azetona
B(j)F	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		252.32	1 10 <sup>-6</sup>	6.12	4.7	1.5 10 <sup>-8</sup>	6.8 10 <sup>-3</sup>	Alkohol, az. Azetiko
B(k)F	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>		252.30	3.87 10 <sup>-5</sup>	6.06	5.74	9.6 10 <sup>-11</sup>	7.6 10 <sup>-4</sup>	Bentzenoa, az. Azetiko, etanola
I(1,2,3-c,d)P	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>		276.30	6.95 10 <sup>-8</sup>	6.58	6.20	~10 <sup>-11</sup> 10 <sup>-6</sup>	0.062	Disolbatzaile organikoak
B(g,h,i)P	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>		276.34	1.44 10 <sup>-7</sup>	6.50	6.20	1.03 10 <sup>-10</sup>	2.6 10 <sup>-4</sup>	Bentzenoa, diklorometanoa, azetona
D(a,h)A	C <sub>24</sub> H <sub>14</sub>		278.35	7.3 10 <sup>-8</sup>	6.84	6.52	1 10 <sup>-10</sup>	5 10 <sup>-4</sup>	Etanol, azetona, az. Azetiko, bentzenoa, toluenoa

*B(a)P*: Benzo(a)pirenoa, *B(b)F*: Benzo(b)fluorantenoa, *B(j)F*: Benzo(j)fluorantenoa, *B(k)F*: Benzo(k)fluorantenoa, *I(1,2,3-c,d)P*: Indeno(1,2,3-c,d)pirenoa, *B(g,h,i)P*: Benzo(g,h,i)perilenoa, *D(a,h)A*: Dibenz(a,h)antrazenoa, *K<sub>ow</sub>*: Oktanol/Ura banaketa koefizientea, *K<sub>oc</sub>*: Lur karbono organiko/Ura banaketa koefizientea.

Lagin biologikoetatik PAHak erauzteko, soxhlet erauzketa [Soriano Sanz, 2009], ultrasoinuen bidezko erauzketa [Lambropoulou *et al.*, 2006] presiopeko jariakin bidezko erauzketa [Wise *et al.*, 2004], edota lagundutako mikrouhin erauzketa (*microwave assisted extraction*, MAE) prozeduretan [Cortazar *et al.*, 2008] oinarrituriko metodoak erabiltzen dira batik bat gaur egun. Lagin mota hauetan erauzketaren purifikazioa egiten da normalean, azido humikoak bezalako interferentziak baztertzearen. Honetareko fase solidozko erauzketa (*solid fase extraction*, SFE) edota silica gel zutabeak erabiltzen dira.

Ikerketa honi dagokionez, PAHak uretan, lurretan eta sedimentuetan determinatzeko beste lan ugari aztertu dira. Gaur egun alternatiba asko topa dezakegu konposatu hauen analisia egiteko. Horrela, matrizearen arabera, PAHen analisia modu askotan egin daiteke; erauzketa guztien oinarria PAHen polartasun eta hegazkortasun diferentzia da, eta euren arteko banaketa, kromatografiaren bidez egingo da, normalean gas kromatografia erabiliko delarik, nahiz eta likido kromatografiaren bidez ere lan asko egon. **2. Taulak** uretan PAHen aurrekontzentrazioa egiteko eta determinazioa burutzeko zenbait lan ezberdinen laburpena dakar.

2. Taula. PAHen determinaziorako prozedura ezberdinak uretan.

Analitoak	Matrizea	Erauzketa eta aurrekontzentrazioa	Banaketa Detektorea	Erreferentzia
PAHak	Ura	MASE	GC-MS	[Kubinec <i>et al.</i> , 1993]
PAHak	Ura	OTT	HPLC-GC-MS	[Mol <i>et al.</i> , 1993]
PAHak eta PCBak	Ura	SPME	GC-FID/GC-MS	[Pawliszyn, 1995]
PAHak eta PCBak	Ura	LLE	GC-MS	[Yrieix <i>et al.</i> , 1996]
PAHak	Ura	MISPE	LC-DAD	[Ferrer and Barceló, 1999]
PAHak eta PCBak	Ura	SDE	GC-MS	[Ma and Cantwell, 1999]
PAHak	Ura	SPE, diskoak	HPLC-FD	[Marce and Borrull, 2000]
PAHak	Ura	SPME	GC-MS	[Doong <i>et al.</i> , 2000]
PAHak	Ura	MMP	HPLC-FD	[Pino <i>et al.</i> , 2002]
PAHak	Ura	LLE	HPLC-UV	[Pino <i>et al.</i> , 2002]



## 2. Taula. PAHen determinaziorako prozedura ezberdinak uretan, jarraipena.

PAHak	Ura	SPE, kartutxoak	GC-FID	[Zhou and Maskaoui, 2003]
PAHak	Ura	SBSE	GC-MS	[León <i>et al.</i> , 2003]
PAHak	Ura	SPME	GC-MS	[King <i>et al.</i> , 2004]
PAHak eta PCBak	Ura	SPE, kartutxoak	GC-MS	[Zhang Z. <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Tea	HS-SPME + LC	GC-MS	[Viñas <i>et al.</i> , 2007]

DAD: Diodo ilara detektorea, FD: Fluoreszentzia detektorea, GC: Gas kromatografia, HPLC: Bereizmen handiko likido-kromatografia, HS-SPME: Buru-guneko fase solidozko mikroerauzketa, LC: Likido-kromatografia, LLE: Likido-likido erauzketa, MASE: Disolbatzailez lagundutako mikrouhin erauzketa, MISPE: Molekularki inprimaturiko fase solidoko erauzketa, MMP: Mizelen bidezko aurrekontzentrazio, MS: Masa-espektroskopia, OTT: Hodi irekiko harrapaketa, SBSE: Irabiagailu magnetikoaren bidezko erauzketa solidoa, SDE: Tanta bakarreko erauzketa, SPE: Fase solidoko erauzketa, SPME: Fase solidoko mikroerauzketa, UV: Ultramore detektorea.

Lur eta sedimentuetatik PAHak erauzteko teknikak erasokorrangoak izango dira, izan ere PAHen eta lur zein sedimentuetan topa daiteken karbono organikoaren arteko erlazioa sendoa baita, [He *et al.*, 2009]. Lur eta PAHen arteko banaketa koefizienteak, absortzio orekak, eta zinetika esperimentuak, kasuan kasu ezberdinak dira [Rivas *et al.*, 2008]. Teknika erabilienak PAHen erauzketa egiteko Soxhlet, MASE (*microwave assisted solvent extraction*) edo Ultrasoinuen bidezko prozedurak dira. Erabilitako detektoreen artean, masa espektroskopiari dagokiona erabiliena da, sentikortasun handia eta detekzio muga baxuenak lortzen baititu; FID eta UV bezalako detektoreak ere erabiltzen diren arren, emaitza onak erakusten dutelarik. **3. Taulan**, lur eta sedimentu matrizeetatik PAHen erauzketa egiteko aurki daitezkeen metodo ezberdinen laburpena ikus daiteke.

3. Taula. Sedimentu eta lurrean PAHen determinaziorako prozedura ezberdinak.

<b>Analitoak</b>	<b>Matrizea</b>	<b>Erauzketa eta aurrekontzentrazioa</b>	<b>Banaketa Detektorea</b>	<b>Erreferentziak</b>
PAHak	Sedimentua	US	RPLC-UV	[Sun <i>et al.</i> , 1998]
PAHak	Lur eta sedimentua	MASE eta Soxhlet	GC-MS	[Budzinski <i>et al.</i> , 1999; Shu <i>et al.</i> , 2003]
PAHak	Lurra	MASE	HPLC/PDA/FD	[Lee and Yi, 1999]
VOCs-PAHak	Lurra	HS-SPME	GC-MS	[Llompart <i>et al.</i> , 1999]
PAHak	Sedimentua	Soxhlet	GC-MS	[Yunker <i>et al.</i> 1999; Olajire <i>et al.</i> , 2005; Maliszewska-Kordybach <i>et al.</i> , 2009]
PAHs	Lur eta sedimentua	SPME	GC-MS	[Cam <i>et al.</i> , 2000; Cam <i>et al.</i> , 2004]
Kreosota	Egurra	Soxhlet	GC-HRMS	[Kohler <i>et al.</i> , 2000]
PAHak	Lurra	HS-SPME	GC-MS	[Eriksson <i>et al.</i> 2001]
PAHak	Lurra	HS-SPME, LLE eta Soxhlet arteko erkaketa	GC-MS	[Eriksson <i>et al.</i> , 2001]
PAHak	Lur eta Sedimentua	US	HPLC-UV	[Song <i>et al.</i> , 2002]
PAHak	Sedimentua	MASE eta SPME	GC-MS	[Pino <i>et al.</i> , 2003]
PAHak	Lurra	Erk. SFE, ASE, Soxhelt, eta US	HPLC-UV	[Hollender <i>et al.</i> , 2003]
PAHak	Sedimentua	Erk: Soxhlet, SFE, MASE	HPLC-PDA - FD	[Miegea <i>et al.</i> , 2003]
PAHak	Lur eta Sedimentua	US	HPLC-UV	[Chen <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Sedimentua	MASE	GC-MS	[Doong and Lin, 2004]
PAHak	Lur eta Sedimentua	US eta Soxhlet	GC-MS	[Grimalt <i>et al.</i> , 2004; Cai <i>et al.</i> , 2007]

### 3. Taula. Jarraipena

Analitoak	Matrizea	Erauzketa eta aurrekontzentrazioa	Banaketa Detektorea	Erreferentziak
PAHak	Sedimentua	US	GC-MS	[Kamalakkannan <i>et al.</i> , 2004; Zhang Z.L. <i>et al.</i> , 2004; Zhang <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Lur eta sedimentua	SFE eta Soxhlet	GC-MS	[Librando <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Lurra	Soxhlet	GC-FID	[Nadal <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Sedimentua	ASE	HPLC-UV	[Saison <i>et al.</i> , 2004]
PAHak	Sedimentua	MASE	GC-MS	[Bartolomé <i>et al.</i> , 2005; Prieto <i>et al.</i> , 2008]
PAHak	Sedimentua	Erkaketa: Soxhlet, ASE	GC-ITMS	[Helaleh <i>et al.</i> , 2005]
PAHak	Sedimentua	MASE eta LPME HFM	GC-MS	[Basheer <i>et al.</i> , 2005]
PAHak	Lurra	US	GC-FID	[Ke <i>et al.</i> , 2005]
PAHak	Sedimentua	PFE	GC-MS	[Shi <i>et al.</i> , 2005]
PAHak	Lurra	Pyrolyser	GC-MS	[Bucu <i>et al.</i> , 2007]
PAHak	Lurra	MASE eta HS-SPME	GC-FID	[Xu and Lee 2008]
PAHak	Lurra	PFE	GC-MS-MS	[Martínez Vidal <i>et al.</i> , 2009]
PAHak	Lurra	MUE	GC-MS	[Ozcan <i>et al.</i> , 2009]
PAHak	Lurra	US + SPME	GC-MS	[Wang <i>et al.</i> , 2009]
PAHak	Lurra	ASE	GC-MS	[Liu <i>et al.</i> , 2010]

ASE: Disolbatzaileen bidezkoa erauzketa azeleratua, FD: Fluoreszentzia detektorea, FID: Garraren bidezko ionizazio detektorea, GC: Gas-kromatografia, HFM: Hutsune mintz zuntza, HPLC: Bereizmen handiko likido-kromatografia, HRMS: Erresoluzio handiko masa-espektroskopia, HS-SPME: Buru-guneko fase solidoko mikroerauzketa, ITMS: Ioi harrapaketa masa-espektroskopia, LLE: Likido-likido erauzketa, LPME: Fase likidoko mikroerauzketa, MASE: Disolbatzailez lagundutako mikrouhin erauzketa, MS: Masa espektroskopia, MS-MS: Masa espektroskopia bikoitza, MUE: Miniaturizatutako erauzketa ultrasonikoa, PDA: Photodiodearray, PFE: Presiopeko jario erauzketa, RPLC: Fase erreserbatutako likido kromatografia, VOC: Konposatu organiko hegazkorak, US: Ultrasoinuak, UV: Ultramoreia.

Esan bezala, gaur egun, matrize konplexuen analisisetan, gas kromatografia (GC) teknika erabiliena da, likido kromatografia (LC) baino gehiago, PAHen banaketa, identifikazioa, eta kuantifikazioa burutzeko; gas kromatografiak selektibitate, erresoluzio, eta sentikortasun hobea erakusten baitu. Kapilare gas kromatografia ingurumeneko laginetan PAHen determinaziorako dagoen teknika arrakastatsua da [Poster *et al.*, 2006]. GC prozesuan fase geldikorra zutabeen giltzapetua dagoen filma mehea bat da, bitartean fase mugikorak (gas eramaileak) analitoak etengabe narrastuko ditu. Analitoen banaketa eta baldintza kromatografikoen optimizazioaren arteko erlazioa sendoa da. Baldintza hauek zutabe luzera eta diametroa, film lodiera, injekzio baldintzak, eta batez ere banaketa tenperatura programa dira. PAHen kasuan pisu molekular baxukoak eluitzen lehenengoak izango dira, eta altuenekoak azkenak. PAHen detekzioa egiteko gehien erabiltzen den detektorea masa espektroskopia da (MS), nahiz eta FID bezalako detektoreak ere gaurkotasun handi jarraitzen eduki gaur egun. Sistema berriak garatu dira azken hamarkadan, hala nola ioi harrapaketa masa espektroskopia (GC-*ion-trap* MS), zein lagin osoa *full-scan* moduan aztertzeo aukera ona ematen du, baina linealtasun eskasa du oraindik [Kucklick *et al.*, 1997; Filipkowska *et al.*, 2005]. Beste detektore bat egaldi denbora masa espektroskopia da (GC-*time of flight*-TOF-MS). Masaren neurketa zehatzak eta eskaneo osoa eskaini dezake denbora tarte laburrean [Koester, 2005]. Azken detektorea isotopen arteko ratio masa espektroskopia da (GC-*isotope ratio*-MS edo IRMS). Detektore honen bidez PAH bakoitzeko ingurumeneko sarrera jatorria determina daiteke. Analito zehatz bakoitzeko karbono isotopo ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) ratioen azterketak, jatorri ekarpenak aztertzeo erabili izan da detektore honen bidez [Stark *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2005].

Lan honen helburuetako bat, aurrerago ikusiko dugunez, HS-SPME teknikaren bidezko araketa (*screening*) metodo bat garatzea izan da. Araketa metodoa prozedura bat da, lagin batetan konposatu bat erauzi, isolatu eta identifikatzeko, ahalik eta urrats kopuru txikienarekin eta laginaren manipulazioa minimoa izanda. Gerta daiteke batzutan, analisiak emandako informazio kantitatea bezeroak eskatzen duena baino askoz handiagoa izatea, zentzu honetan interesgarria da araketa metodo sinpleen garapena [Muñoz-Olicas, 2004]. Ikuspuntu analitikotik “araketa” terminoa bi modutan definitua izan da: batetan analitoen presentzia muga gaintetik edo azpitik dauden adieraziko digu; eta bestea laginaren osagai guztien datu erdi-kuantitatiboen eskuraketaz mintzatuko da.

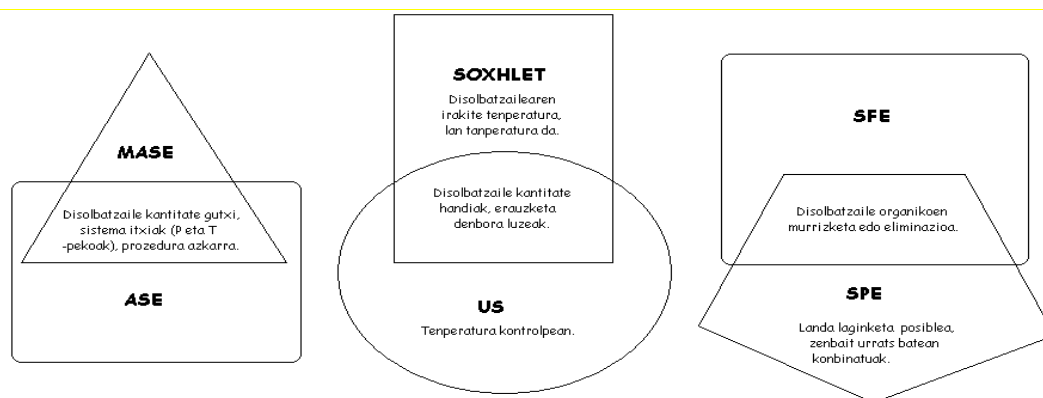
Orokorrean, araketa metodoek antzeko ezaugarri batzuk dituzte:

- a) Enfasi kualitatiboa dute, kuantitatiboa baino.
- b) Laginaren tratamendu txikia dute, edo ez dute.
- c) Azkarrak dira eta erantzuna erabakiak hartzeko lagunduko du.
- d) Lortutako erantzuna batzutan konfirmazioa beharko du ohiko metodoen bidez.

Laginen araketa sistemen helburu nagusiak honela defini daitezke hortaz:

- a) Lagin kopuru handien analisia sahiestu, momentuko erabakiak hartzeko, edo sustantzi toxiko eta kutsatzaileen neurketa orokorrak lortu.
- b) Ohiko metodo analitikoetan gogaikarriak, errore sistematikoen jatorri, denboran luzeegiak diren aurreko operazioak minimizatu.
- c) Mantenimendu, energia eta diru kostu handia duten tresnen erabileraren beharra txikitu; erantzun positiboa duten laginekin bakarrik erabiliko direnak.

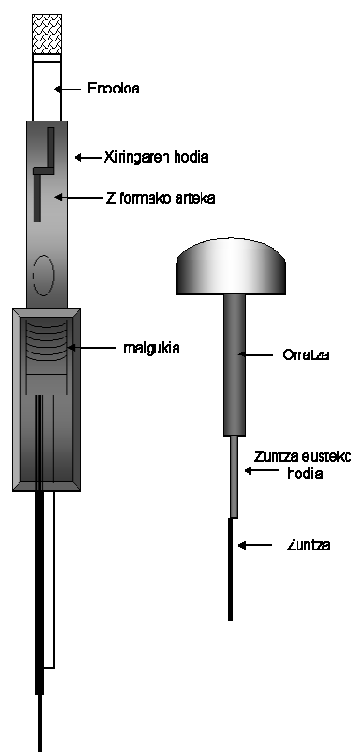
Trazabilitatea araketa metodoetan zihurtatu behar da, horretarako bi modu nagusi daude. Bata estandarizatutako metodoak erabiltzen, SOP delakoak (*Standard Operational Procedure, SOP*), eta bestea erreferentziazko materialak erabiltzen (*Certified Reference Material, CRM*). Bi kasuetan laginaren matrize mota kontutan hartzeko aldagai garrantzitsua da. Laginak behar duen tratamendua bestalde, araketa metodoetan puntu nabarmena da. Zentzu honetan, erauzketa metodo ezberdinak erabiltzen dira gaur egun analitoen azterketa egiteko. Soxhlet eta ultrasoinuen (US) bidezko erauzketak disolbatzaile eta denbora kantitate handien beharra dute. Mikrouhin (MASE) eta disolbatzaileen bidezko erauzketa azeleratuan (ASE) ez dira horrenbeste disolbatzaile behar, eta denbora gutxiago ere. Azkenik, jario superkritikoen erauzketan (SFE) eta fase solidoko erauzketan (SPE edo SPME) ia ez da disolbatzailerik behar, batzutan disolbatzailerik gabe ere lan egin daitekelarik. **2. Irudiak** teknika azkarren eta ohiko metodoen arteko diferentziak laburbiltzen ditu, abantaila edota desabantailak azpimarratuz.



2.Irudia. Erauzketa prozedura garrantzitsuenak, abantaila edo/eta desabantailak.

### 3. Fase Solidoko Mikroerauzketa (SPME)

Fase solidoko mikroerauzketa teknikaren oinarriak xamurrak dira. Laginaren matritzetik analitoen erauzketa burutzeko absorbatzaile (gehienetan polimerikoa) batekin estalita dagoen urtutako silize zuntz bat erabiltzen da, ondoren tenperatura edota disolbatzaile organiko baten laguntzaz analitoen desortzioa bideratuko da. Zuntzaren tamaina txikia da eta bere geometria zilindrikoa xiringa batetan egokitzea posible egiten du [Pawliszyn, 1995]. Modu honetan manipulazioa errazten den bitartean zuntza ere babesten da, hau erabiltzen ez denean, xiringaren orratz barruan gordeta mantendu baitaiteke. SPME tresna komertzialaren eskema **3. Irudian** ikus daiteke. Teknika honek abantaila ugari dauzka, beste aurre-kontzentrazio teknika batzuekin alderatuz. Oso teknika sinplea da, merkea da, automatizatu daitekeena, lagin kantitate txikia behar dituen eta orokorrean aurre-kontzentrazioa burutzeko disolbatzaile organikoen beharra ez duena, likido-likido erauzketak edota SPE erauzketak ez bezala. SPME teknikarekin bestalde, zuntzen gaitasun mugatua dela eta (batez ere tamainagatik), batzuetan detekzio muga ez oso baxuak lortuko dira, erabiltzen den kromatografia eta detektorea ere kontutan hartuz. Zuntz hauen bizi luzapena erabileraren araberakoa izango da, baina orokorrean erauzketa muga zehatz bat izaten dute, erabilitako tenperatura eta matrizearen arabera.



3. Irudia. SPME eragingailuaren eskema orokorra.

### 3.1 Oinarri teorikoak

SPME teknikaren oinarriak analitoen matrize-zuntz arteko partizioan edo jauzi ahalmenean oinarritzen da. Horrela, analitoen garraioa lagin matrizeetik zuntzeraino, azken hau orratzetik atera eta laginarekin kontaktua hartzen duenean hasten da. Erauzketa osoa eman dela kontsideratuko dugu, analitoaren kontzentrazioa, lagin eta zuntzaren artean, banaketa oreka lortu duenean bakarrik. Bi erauzketa modu nagusi ezagutzen dira SPMErako, bata zuntza laginean zuzenean murgiltzen duena (DI, *direct immersion*), eta bestea, buru-gunean (HS, *headspace*) moduan egiten dena. Xurgapen prozesuaren dinamika, matematika modeloek azaltzen dute, honen arabera oreka egoeran zuntzak xurgatzen duen analito kantitatea eta analito honen kontzentrazioa laginean erlazio lineala dute [Pawliszyn, 1997].

Lan honetan erabiliko den teknika, buru-guneko fase solidoko mikroerauzketan (HS-SPME) oinarrituko da, PAHen izaera erdi hegazkorra prozedura hau erabiltzea baimentzen baitute. Zentzu honetan, HS-SPME-aren oinarria, analitoen banaketa koefizientean datza, likido fasetik (lagin matrizea), buru-guneko fasera (gas fasea) eta ondoren, gas fasetik fase

solidora (zuntzaren estaldura) jauzi egiteko gaitasunean alegia [Pawliszyn, 1999]. Zuntzak xurgaturiko  $n$  analito mol kantitateak 1go ekuazioak ematen digu:

$$n = \frac{K_{fs} V_f C_O V_S}{K_{fs} V_f + V_S + K_{hs} V_h} \quad 1go \text{ Ekuazioa}$$

$V_h$ ,  $V_f$  eta  $V_s$ , buru guneko, zuntz eta laginaren bolumenak dira hurrenez hurren, eta  $C_o$ , analitoaren hasierako kontzentrazioa laginean.  $K_{fh}$  zuntz/headspace banaketa koefizientea da,  $K_{hs}$  headspace/lagin banaketa koefizientea, eta  $K_{fs} = K_{fh} \cdot K_{hs}$  da. Adierazgarria da nola, 1go ekuazioaren arabera, erauzitako analito kantitatea eta zuntzaren kokapena sisteman elkarren artean independenteak diren. 1go ekuazioaren izendatzailearen hiru terminoak, analitoarentzako hiru fase bakoitzeko edukierak adierazten dute: zuntza ( $K_{fs} V_f$ ), buru-gunea edo headspace ( $K_{hs} V_h$ ) eta lagin matrizea ( $V_s$ ). Demagun buru guneko faserik ez dugula sisteman (lagin likidoaren gaineko fase solidoko mikroerauzketa zuzena izango litzatekeena alegia, murgiltze erauzketa),  $K_{hs} V_h$  terminoa 1 ekuaziotik bazter daiteke beraz:

$$n = \frac{K_{fs} V_f C_O V_S}{K_{fs} V_f + V_S} \quad 2. \text{ Ekuazioa}$$

Kasu askotan, lagin matrize eta zuntzaren arteko banaketa konstatea  $K_{fs}$ , erlatiboki txikiagoa da lagin matrize eta zuntz bolumen faseen arteko ratioarekin alderatuz ( $V_f \ll V_s$ ). Kasu hauetan, lagin matrizearen edukiera zuntzarena baino handiagoa da, ondorioz 2. ekuazioa modu honetan adieraz daiteke:

$$n = K_{fs} V_f C_O \quad 3. \text{ Ekuazioa}$$

Aurreko ekuazioan ikus daiteke nola erauzitako analito kantitatea ( $n$ ), eta laginean dagoen analitoaren kontzentrazioa, zuzen proportzionalak dira. 3. ekuazioa, polimero likido estaldura zuntzak erabiltzen duten SPME tresnertzako bakarrik balio du, absortzioan oinarrituta dauden zuntzentzako alegia. Aurreko modelo matematiko guztiak zuntzaren absortzio erauzketa moduan daude oinarritua. Baina, ikusiko dugunez, adsortzio moduan



erauzten duten zuntzak ere merkatuan egon badaude. Kasu honetan, eredu matematikoa apur bat ezberdinago da, eta 4. ekuazioak adierazten du:

$$n = \frac{K_{fs}^D V_f C_O V_S (C_{f \max} - C_f)}{K_{fs} V_f + V_S (C_{f \max} - C_f)} \quad 4. \text{ Ekuazioa}$$

non,  $K_{fs}^D$ , zuntzaren gainazala eta laginaren analitoaren arteko banaketa koefizientea da,  $C_f$  zuntzaren gainazalean analitoaren kontzentrazio finala da, eta  $C_{f \max}$  aldiz, zuntzaren gainazalean analitoak har dezakeen kontzentrazio maximoa. Beste parametro guztiak 1go ekuazioan adierazitakoak dira. Erauzketa buru-gunean egiten denean, gas faseko aldagaiak ere kontutan hartu behar dira, eta ondorioz ekuazioa apur bat aldatzen da.

SPME prozesuaren zinetika kontutan hartu beharra dago ere, izan ere murgiltze SPMEan adibidez, analitoak lagin matritzetik zuntzeraino garraiatuak izan behar dira, edo lagin matritzetik buru-gunera eta hortik zuntzera, azken hau buru-guneko fase solidoko mikroerauzketaren kasuan (HS-SPME). Erauzketaren abiadura handitzeko, likidoen kasuan batez ere, irabiatze sistema ezberdinak asmatu dira, hala nola, barra magnetiko irabiatzaileak, ultrasoinuak, etab. 1-4 ekuazioetan ikus daiteke erauzketaren eraginkortasuna banaketa koefizientearen menpean dagoela,  $K_{fs}$ , edota adsortzio banaketa koefizientearen menpean,  $K_{fs}^D$ , analito-zuntz bikote bakoitzeko parametro adierazgarriak izanik, zuntzaren estalkiaren propietateak deskribatzen dituen eta bere afinitatea analito bakoitzeko [Eisert and Levsen, 1996; Zhang and Pawliszyn, 2003].

### 3.2 SPME prozedura

SPME prozesuetan bi urrats nagusi ezberdinu daitezke. Lehenengoan, temperatura eta denbora zehatz batzuetan zuntza eta lagina kontaktuan jartzen dira erauzketa burutzeko, soluziotik zuntzera analitoen migrazioa emango delarik, oreka egoera lortu arte. Bigarrena aldiz, zuntzean atxikitutako analitoen desortzioan datza.

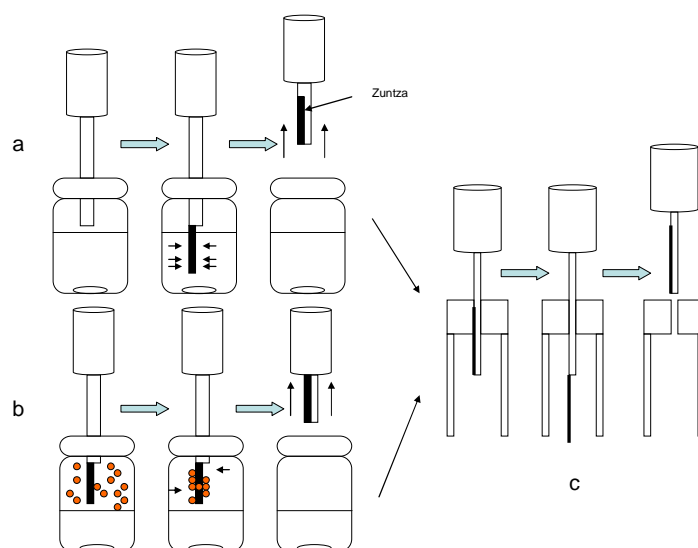
Esan bezala, SPME bi modu ezberdinetan eman daiteke, zuzenean zuntza laginean murgilduz, edota buru-gunean. Buru guneko SPME erauzketa mota oso erabilgarria da zuntza zaindu nahi ezker, izan ere laginean aurki daitezken molekula handiak (proteinak edo azido humikoak) zuntza hondatu dezakete. Modu honetan interferentzi ez hegazkorrak,

eta pisu molekular handiko molekulak ekidituko dira. Gainera, buru-guneko SPME erauzketa matrizea modifikatzeko aukera ematen du, pHaren aldaketa eginez adibidez, zuntza hondatu gabe.

Buru guneko erauzketan oreka azkarrago eskuratzen da murgiltze erauzketan baino; izan ere, molekulen mugimendua azkarragoa da airean likidoan baino, ondorioz analitoen banaketa zuntz estaldurara arinagoa da. Bapore presio altua erakusten duten analitoak buru guneko zein murgiltze erauzketaren bidez erauzi daitezke, bapore presio balio baxuak dutenak aldiz, murgiltze erauzketaren bidez bakarrik erauzi daitezke.

Sedimentu edo lurra bezalako matrize arazotsuetatik analitoen erauzketa burutzea ingurunearen naturarekiko menpekotasun handia du. Hondarra bezalako lur matrizeak, analito/matrize elkarrakzio ahularekin, erreztasun handiz askatzen dituzte analitoak buru gunera. Adsortzio izaera handiko lurrek, buztin kantitate handiekin, karbono organiko eta beste hainbat espezie adsorbatzaileekin osatutakoak, analito/matrize elkarrakzio sendoak erakusteko joera daukate, buru guneko erauzketa zailduz. Kasu hauetan laginaren beroketa analitoen erauztea erraztu dezake buru gunera, baita ur kantitate txikien adizioa, irabiazioa edota matrizetik buru gunera analitoen askapenean lagundu dezakeen edozein konposatu aktiboen adizioa [King *et al.*, 2003]. Metodo hau sedimentuak, lurrak eta jakiak analizatzeko oso baliogarria da, baita lagin biologikoak ere, kasu hauetan matrizearen interferentzia handia baita, nahiz eta konposatu hegazkor edo erdi-hegazkorrentzako bakarrik balio izan. Laburpen gisa, lehen aipatutako aldagaiak, disoluzioaren tenperatura eta denbora, oso garrantzitsuak izango dira matrizetik analitoen zenbateko eta nolako adierazgarri batetan erauzketa burutzeko.

Azaldutako SPME modalitate biak 4. Irudian adierazi dira: a) Murgildutako eta b) buru-guneko SPME teknika biak [Alpendurada, 2000].



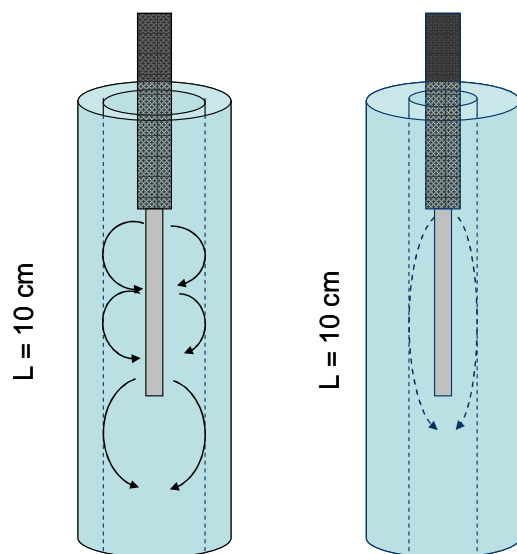
4. Irudia. a) Murgildutako eta b) buru-guneko, SPME tekniken eskema, azkenik c) GC-an desortzio termikoa.

Behin analitoak zuntzan adsorbatuta/absorbatuta daudenean, desortzio urratsa dator. Urrats hau bi modutan eman daiteke: gas-kromatografian erabiltzen den desortzio termikoa edo likido-kromatografian erabilitako disolbatzaile organikoen bidez. Ohiko prozedura da analitoen desortzio termikoa gas kromatografoaren injekzio-portu beroan egitea, 4. Irudian ikus daiteken bezala. Tenperatura igotzerakoan, konposatuen afinitatea zuntzarekiko jaisten da, eta analitoak kromatografoaren zutabeen barneratuko dira gas garraiatzaileari esker. 5. ekuazioan ikusi daiteke nola partizio koefizienteak linealki jeisten diren tenperatura igotzerakoan:

$$\log K_{fs} = a \left( \frac{1}{T} \right) + b \quad 5. \text{ Ekuazioa}$$

Non,  $K_{fs}$  zuntz eta lagin likidoaren arteko analitoaren banaketa koefizientea den, a eta b konstanteak eta T, tenperatura. *Split/splitless* injekzio portuetan balbula itxita egon behar du desortzioan zehar, analito guztiak zutabe kromatografikoan sartzen direla baieztatzeko. Gainera, injektorearen atorraren (*liner*) diametroa eta zuntzaren diametroa ahalik eta antzekoenak izatea komeni da analitoak oso hegazkorak badira. Analito erdi hegazkorren

kasuan ator arruntak erabili daitezke, beti ere barruan daramaten beira artilea kentzen bada. 5. irudian desortzioa emateko injekzio portuko bolumen ezberdinen efektua adierazten da.



5. Irudia. Ator ezberdinen eragina analitoen jarreraren desortziorako.

### 3.3 SPME zuntz motak

Gaur egun, zuntz estaldura ezberdin asko topa daitezke merkatuan, SPME teknika asko zabaldu delarik, eta determinatu daitezken konposatuak anitzak direlarik. Lehenengo estaldura polimerikoak polidimetilsiloxano (PDMS) eta poliakrilatozkoak (PA) izan ziren, baina gaur egun eskaintza biderkatu da, eta aukera zabala dago. **3. Taulan** Supelco etxe komertzialak eskaintzen dituen zuntzak eta bakoitzaren propietateak laburbiltzen dira, zuntz bakoitzarentzako diametro ezberdinak daudela ere kontutan hartuz [Supelco].

Orokorrean, analitoaren izaerak determinatuko du erabiliko den zuntz mota. Gehienetan, estaldura polarrak, PA edota carbowax bezalakoak, analito polarrekin erabiltzen dira, fenolak adibidez; aldiz, estaldura apolarrek, PDMS bezalakoak, analito apolarrekin erabiliko dira, PAHak edota BTEXak kasu. Nahiz eta, ikerketa honetan ikusiko den bezala, PA bezalako zuntz polarra, PAH analito apolarrekin emaitza onak aurkeztu, honen arrazoia analitoen hegazkortasunean eta zuntzaren absortzio, eta ez adsortzio gaitasunean datza. PDMS zuntzekin gauza bera gertatzen da, nahiz eta konposatu apolarrekin afinitate handiagoa erakutsi, zenbait konposatu polar erauzteko gai dira, pH-a, gatzaren adizioa eta tenperatura

aldatzen badira. Salerositako zuntzak lodiera ezberdinak dauzkate, horrela, lodiera handiko zuntzak banaketa koefiziente txikiko analitoentzako egokiak dira, eta alderantziz. Baina kontutan hartu behar da ere zuntzaren lodiera oso txikia bada, beraren bizi iraupena txikia izango dela ere, ematen zaion erabilpenaren arabera [Alpendurada, 2000].

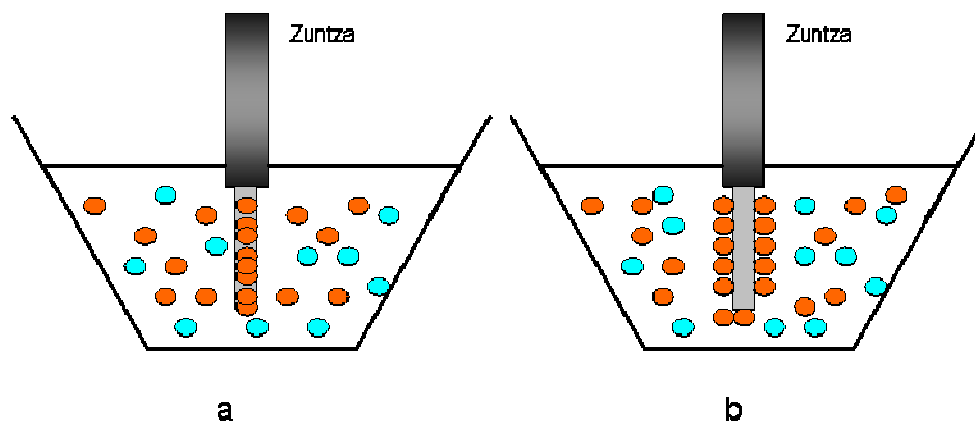
3. Taula. Supelco etxe komertzialak eskaintzen dituen zuntzak eta euren propietateak.

Zuntza	Laburdura	Izaera	Erretentzio mota	T maximoa (°C)	Lan egiteko T tartea (°C)
Polidimetilsiloxanoa	PDMS	Ez polarra	Absortzioa	280	200-280
Polidimetilsiloxano/ dibinilbentzenoa	PDMS/DVB	Bipolarra	Adsortzioa	270	200-270
Poliakrilatoa	PA	Polarra	Absortzioa	320	220-310
Carboxen/ polidimetilsiloxanoa	CAR/PDMS	Bipolarra	Adsortzioa	320	250-310
Carbopack-Z fibers	Carbopack-Z			340	250-340
Carbowax/templated erretxina	CW/TR	Polarra	Adsortzioa	--	--
Dibinilbentzeno/ carboxen/polidimetilsiloxanoa	DVB/CAR/PDMS	Bipolarra	Adsortzioa	270	230-270
Carbowax/polietilenglikol	PEG	Polarra	Absortzioa	250	200-250

PDMS bezalako zuntzak (polimero likidoa) absortzio prozesuaren bitartez erazten dituzte analitoak, nahiz eta ikerketa batzuen arabera, batzutan, analitoen erazketa (oso apolarrak diren analitoak) adsortzioaren bidez egiten dela baieztatu, bi efektuen arteko lehia moduko bat egongo balitz bezala. Kontutan hartu behar da ere erazketa ezin direla egin 4-10 pH bitartetik kanpo. PA zuntzak aldiz, analito polarrentzako egokiak dira, [Dugay *et al.*, 1998], nahiz eta estaldura polimero solido bat izan, erakusten duten dentsitate baxua analitoen absortzioa bideratzen dute, PDMS kasuan bezala. Bestalde, PA zuntzetan analitoen banaketa koefizienteak PDMS zuntzetan erakusten duten koefizienteak baino txikiagoak dira, ondorioz, konposatu hegazkorren kasuan erazketa denbora luzeagoak behar dira buru-guneko SPME prozesuetan.

Polimero bat baino gehiago konbinatzen duten zuntzak, PDMS/DVB edo CAR/PDMS kasu, hegazkorrek diren analitoak determinatzeko egokiagoak dira, PDMS eta PA bezalako zuntzetan ez bezala, non analito eta zuntzaren arteko interakzioa adsortzio bidez ematen da,

polimero zurrinak baitira. Orokorrean, mota honetako zuntzak, banaketa koefiziente handiagoak erakusten dituzte. Kontran, bitarte lineal dinamikoa txikiago erakusten dutela, absortzio zuntzekin alderatuz, eta desplazamendurako izaten dituzten arazoak ere. **6. Irudian** SPME-ren bidezko absortzio eta adsortzio erauzketa bide ezberdinak azaltzen dira [Pawliszyn, 1997].



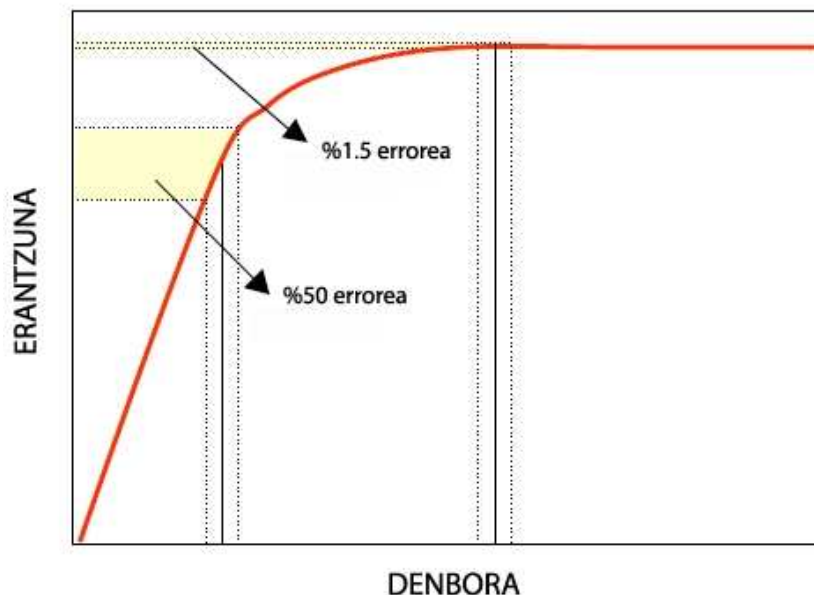
6. Irudia. SPME-aren bidezko erauzketa a) absortzioaren bidez eta b) adsortzioaren bidez.

### 3.4 SPMEaren gainean eragiten duten aldagaiak

Erauzketaren eraginkortasuna hobetzeko zenbait aldagai esperimentalen balioak berraldatu daitezke SPME prozesuetan. Aldagai hauen artean egon daitezke: laginaren irabiatzea (orekara heltzeko denbora murrizten du), erauzketa denbora eta temperatura, laginaren baldintzen eraldaketa (pHa, gatz geldoen adizioa etab.), eta desortzio urratsari dagozkion aldagaiak ere [Peñalver *et al.*, 1999; Beltran *et al.*, 2000].

Absortzio eta adsortzio urratsean eragiten duten aldagaiak beraz hurrengoak dira: erauzketa denbora eta temperatura, lagin bolumena, eta laginaren baldintzak (pHa, gatz geldoen adizioa edo disolbatzaile organikoak). SPME prozesuetan hartutako erauzketa denbora oso parametro garrantzitsua da. SPME metodo analitiko bat garatzerakoan, analito-zuntza erlazio bakoitzarentzat bakarra den orekara ailegatzeko denbora determinatu behar da, eta saiatu baldintza horietan lan egiten. Oreka denboratik aurrera, erauzitako analito kantitatea konstante mantentzen da. Dena den, zenbait konposatuentzako oreka egoera honetara heltzeko denbora oso luzea izaten da, horregatik ez-oreka denboran lan egitea proposatzen da, eta erauzketa denbora txikiagoak hautatzen dira analisis larregi ez

luzatzearen [Pawliszyn, 1999]. Kasu hauetan, oso garrantzitsua da erauzketa denbora zehazki kontrolatzea, izan ere, denboraren neurketaren bariazio txikienak ere erauzitako analito kantitatea aldatu dezake, **7. Irudian** ikus daitekeen bezala:



*7. Irudia. Erauzketaren denboraren neurketaren aldakuntzak erauzitako analito kantitatean gainean duen eragina eta errorearen aldakuntza.*

Garrantzi handiko beste aldagai bat erauzketa tenperatura da. Kontrako bi zentzutan eragiten du parametro honek erauzketa gainean. Alde batetik, laginaren analitoen difusio koefizienteak hazten dira tenperatura igotzerakoan, erauzitako analito kantitatea hazten delarik. HS-SPME teknikarekin gainera, tenperatura igotzerakoan, analitoen kontzentrazioa buru-guneko gas fasean ere igotzen da, erauzketa hortaz, azkarragoa da. Bestalde, tenperaturaren igotzeak, analitoaren banaketa koefizientea txikitzen du lagin eta zuntzaren artean, erauzketa eragingarritasuna txikitzen delarik. Zentzu honetan lagina berotu eta zuntza hozten duten sistemak martxan jarri dira arazoari irtenbidea emanez.

Gatz kontzentrazioa laginean, eta honen pH-aren modifikaziak ere, eragina izan dezake SPME prozesuari. Gatz geldoen presentzia laginean (normalean NaCl edo Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), ionizatu gabeko analitoen banaketa koefizientea handitu dezake, erauzitako analito zenbatekoa handituz. Hori hala izan arren, analitoak ionizaturik badaude, erauzketa eragingarritasuna jaitsiko da. Hau espezie ionikoen aktibitate koefizientearen igoerari zor zaio, disoluzioaren indar ionikoa igotzen baita. Gatz geldoen adizioak, uretan indar ionikoen igoera eta

analitoen disolbagarritasunaren jaitsiera dakar, ondorioz, erauzketaren eraginkortasuna handiagotu egiten da [Zhou *et al.*, 2005].

Esan bezala, pHa ere kontutan hartzeko beste aldagai bat da SPME prozedura baten optimizazioan, izan ere, analitoen presentzia laginean forma neutroan izan behar da bere erauzketarako. Adibidez, analitoak azidoak badira, pKa-tik berako bi puntutako pH lan baldintzetan lan egitea gomendatzen da, analitoak izaera neutroan egon daitez. Kontu handia izan behar da erauzketaren pHaren aukeraketarekin, zenbait kasutan pH ez egoki batek, zuntzaren hondatzea suposatzen baitu.

Laginaren bolumena beste aldagai garrantzitsu bat da. Kasu honetan banaketa koefizienteak ( $K_{fs}$ ) kontutan hartu beharko dira aldagai honen balioak aukeratzeko. Hauek datu bibliografikoetatik atera edo matematikoki kalkula daitezke. 1go ekuazioan ikus daitekeen bezala, lagin bolumena handitzerakoan,  $v_s$ , erauzitako analito zenbatekoa  $n$ , modu berean handitzen da.

Desortzio urratsean ere aldagai ezberdinen aldaketa erantzunaren gaineko eragina izan dezakete. Bi motatako desortzio daude: termikoa edo disolbatzaile organikoen bitartez eginikoa. Desortzioa termikoki egiten bada gas kromatografo batetan, optimizatu beharreko aldagaiak tenperatura eta desortzio denbora dira. Tenperatura, ekoizleak gomendaturiko lan baldintza tenperaturan ezartzea gomendatzen da, eta desortzio denbora egokia berriz, zuntzetik analitoen erabateko desortzioa emateko lain eta oroimen efektua ez egoteko beste izan beharko da. Desortzioa disolbatzaile organiko batekin egin ezker, kromatografia likidoan, optimizatu beharreko aldagaiak disolbatzaile organiko bera eta, disolbatzaile bolumena dira [Peñalver Hernando, 2002].

### **3.5 Buru-Guneko mikroerauzketaren azken garapenak etorkizunari begira**

Buru-guneko (HS) mikroerauzketaren prozedurak, hala nola, fase solidoko mikroerauzketa (SPME), tanta bakarreko mikroerauzketa (SDME) edota fase likidoko mikroerauzketa (LPME), ingurumeneko kutsatzaile organikoen erauzketarako geroz eta gehiago erabiltzen ari dira; ur, likin, erdi-solido eta solidoak bezalako matrize ingurumen eta biologiko ezberdinetan aplikatzen direlarik. Nahiz eta zuntz mota berrien komertzializazioa asko hazi den, aspalditik ekoiztutako PDMS 100  $\mu\text{m}$  eta PA 85  $\mu\text{m}$  zuntzak dira gehien



erabilitakoak. Erauzketari indarra emateko normalean irabiagailuak edo ultrasoinu sistemak erabiltzen dira, eta matrizearen arabera, agian interferentziak baztertzearren *clean-up* urrats bat jasaten dute lehendabizi. Sistema honi loturiko banaketa prozedurak gas eta likido kromatografiak (GC eta HPLC) nagusi jarraitzen dute izaten. Detekziorako masa espektroskopia (MS) asko erabiltzen bada ere, FTD, NPD, elektro harrapaketa detektagailua ECD, MS-MS, igorpen atomikozko detektagailuak AED, hegaldi denborazko detektagailua TOF-MS, garraren bidezko ionizazio detektagailua FID, eta UV-IMS bezalako detekzio sistemak, detekzio muga eta zehaztasun neurri onak erakusten dute [**Dietz et al., 2006; Lambropoulou et al., 2007**].

Uretan eginiko PAHen azken azterketak [**Lopez-Darias et al., 2010**], lurretan eginikoak [**Martiz eta Ruiz, 2007; Wang et al., 2009**] eta sedimentuetan ere burututakoak [**Guerra-Abreu et al., 2008; Fernandez-Gonzalez et al., 2008; Zuazagoitia et al., 2009**], teknika honen gaurkotasuna ezbairik gabe berresten dute. HS-SPME teknika PAHen aurrekontzentrazioa burutzeko erabilia izan da zenbait ikerketan, ondoren gas kromatografiaren bidez analisia egiteko. Mohammadi eta kideen lanean [**Mohammadi et al., 2005**], zuntz elektromikikoko estaldura (EFC) teknika erabili da dodezilsulfato-polipirrol dopatua (PPy-DS) prestatzeko, zein zuntz berrian aplikatu da zortzi PAHen determinazioa burutzeko, GC-FID eta GC-MS instrumentuei lotuta. PPy-DS-aren polimerizazioaren baldintzak lan berean azaltzen dira. Zuntz honen errepikakortasuna emaitza onak erakutsi ditu  $\text{ng g}^{-1}$  mailatan. Polimero berri hau PAH bezalako analitoekin eta HS-SPME moduan erabil daitekeela erakutsiz. HS-SPME, PPy-DS zuntza eta GC-MS konbinazioak, lagin errealetan detekzio muga baxuak lor daitezkeela erakutsi du. Pisu molekular baxuko PAHen erauzketa egiterakoan, PPy-DS zuntza berriak PDMS baino detekzio muga hobegoak lortu ditu. Vilchez eta kideek ordea, antrazenoaren traza kantitateak neurtzeko HS-SPME metodoa garatu dute [**Vilchez et al., 2006**], bai itsas uretan, zein hondakin uretan, ezti eta txistuan ere. Isotopo diluzioaren bidezko masa espektroskopia erabili da. Metodoaren sinpletasuna eta sentikortasuna beste bi eta hiru eraztun bentzeniko dauzkaten PAHentzako zabaltzeko aukera irekitzen du, ingurumen eta toxikotasun azterketetan. Ghiasvand eta kideek [**Ghiasvand et al., 2006**] ere, matrize solidoetan (sedimentuetan) PAHen determinazioa egiteko, hobetutako hoztutako-zuntz HS-SPME metodoa erabili dute. Buru-guneko eta hoztutako zuntzaren arteko tenperatura gradientea banaketa koefizienteak handitzen ditu zuntzaren aldera. Are gehiago, metodoa automatizatzeko urratsak emanda daude, aplikagarritasuna zabalduz. Kalibrazio kurben erregresioak ezin hobegoak dira, errepikakortasuna eta zehaztasun bikainak

eskaintzen duelarik GC-FID bati lotutako garatutako CF-HS-SPME metodo hau. Eriksson eta kideek GC-MS detektoreari lotutako garatutako HS-SPME metodoa [Eriksson *et al.*, 2001] lurretako PAHen determinazioari zuzenduta dago. Metodoa likido-likido metodoekin alderatu da emaitza onak aurkeztuz. Miaketa metodo bezala proposatu da azken lan hau, lur laginen gainean, zuzenean ikasitako analitoen eta beste sustantzi hegazkor ez-polarren azterketa egiteko. Bestalde, Waidynatha eta kideek [Waidynatha *et al.*, 2003], koke labearekin lan egiten duten langileen gernuan zenbait PAHen azterketa burutu dute. Zentzu berean, Campo eta kideek metabolizatu gabeko gernuko zenbait analitoen presentzia determinatu dute, zoladura asfaltikoa jartzen duten langileetan, HS-SPME/GC-MS tekniken bidez, PDMS zuntza erabiliz [Campo *et al.*, 2006].

Buru guneko SPME tekniken bidezko azken ikerketen kopurua eta norabidea, prozedura honek dauzkan erabilerak oraindik ez direla agortu baieztatzen du. Buru-guneko tanta bakarreko mikroerauzketa (HS-SDME), garapen tarte zabala izan du azken hamarkadan, nahiz eta azken ikerketetan agerraldi asko ez izan. GC-MS eta HPLC-Fluoreszentzia detektorearen bidez determinaturiko klorobentzeno eta zenbait PAH aztertu dira ur eta ingurugiro laginetan modu honetan. Teknika honetan, fase erauzlea tolueno edo n-hexano eta B-cyclodextrin tanta bat izanik, hurrenez hurren [Vidal *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2008].

Zuntz estaldura berrien garapenean ere, silika-gel, [Hu *et al.*, 2006; da Silva *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2007; Azenha *et al.*, 2009], calix(6)arene, [Ye *et al.*, 2009], pirrol [Bagheri *et al.*, 2009], politiopenoa [Li *et al.*, 2008], poliftalazineter-sulfoketona [Guan *et al.*, 2007], zeramika-karbonoan [Zeng *et al.*, 2008], karbono nanotuboak [Wang *et al.*, 2006], molekularki inprimaturiko materialetan [Hu *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2009] eta latexeko nanopartikuletan [Kaykahaii *et al.*, 2010] oinarrituriko aurrerakuntza handiak egon dira.

Material berrietan oinarrituriko tresna berriak ere garatu dira; xiringa tranpa delakoak (ehunetan laginak hartzeko zuzendua) adibidez [Eom *et al.*, 2008; Niri *et al.*, 2009], HS-SPME-ari lotutako Hodei Lurrin Zonalde (CVZ, *Cloud Vapor Zone*) teknika berriak [Huang *et al.*, 2007], edota aldiberean determinazio asko egiteko gai den automatizaturiko in-tip-SPME teknika, [Xie *et al.*, 2009].

Metodo berri asko automatizazioa eta eramangarritasuna jorratu dute, modu honetan lan sama handia kenduko die etorkizuneko ikertzaileei, alde batetik erauzketaren prozezuaren

gaineko urrats guztien menpe egotea nekeza delako, eta bestalde, laginketa gunean bertan hasierako miaketa analisi (*screening*) bat egitea oso interesgarria delako [Ouyang and Pawliszyn, 2006; Altaki *et al.*, 2009].

#### **4. Banaketa, detekzioa eta kuantifikazioa gas kromatografian**

SPME prozedurei lotuta gas kromatografia (GC) bezalako banaketa teknika erabiltzen da gehienbat gaur egun. GC teknikak bereizmen altuko kapazitatea duen banaketa prozedura da, horregatik aplikazio ugari dauzka. Gas-kromatografiaren bitartez, 350-400°C-tan baino tenperatura baxuagotan lurrunkortasun nabaria duten osagaiak determina daitezke. Horrez gain, tenperatura horretan analitoak egonkorrak izan behar dira, hau da, ezin dira degradatu edo galdu. Osagai kimikoaren egitura eta pisu molekularra adierazpide egokiak dira lurrunkortasuna aurreratzeko. Hau da, pisu molekularra edo polaritatea handituz gero, lurrunkortasuna txikiagoa ohi da [Grob and Barry, 2004].

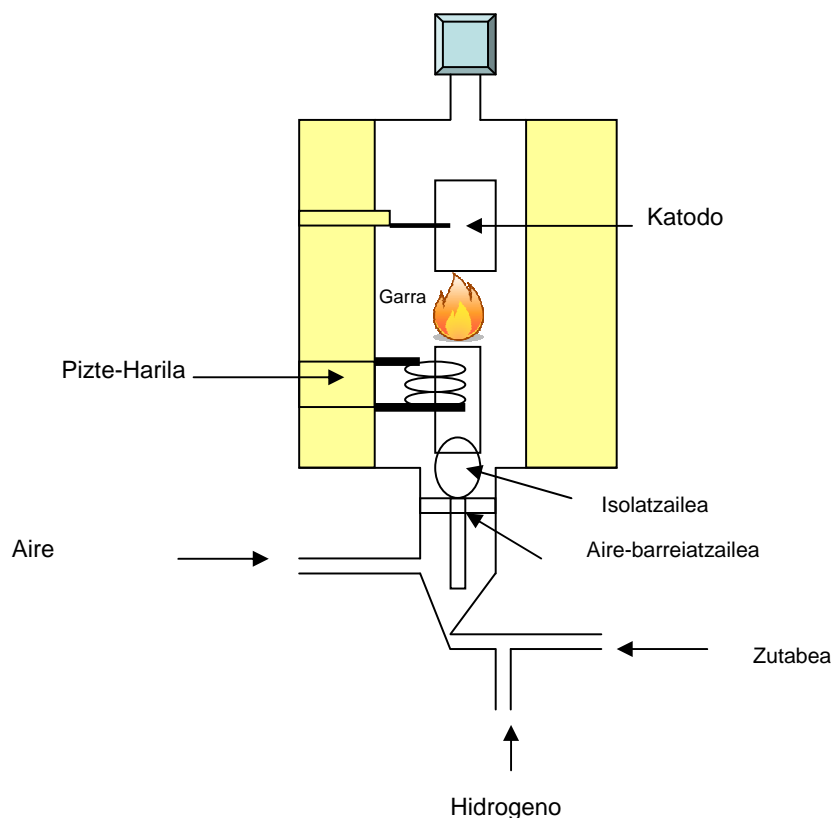
Gas kromatografiari lotuta, detektore mota ezberdin ugari erabiltzen dira gaur egun, hala nola, garraren bidezko ionizazio detektagailua (FID), elektroio harrapaketa detektagailua (ECD), igorpen atomikozko detektagailuak (AED), edota masa espektrometroak (MS). Ikerketa honetan FID detektagailua erabili da. Detektagailu honek kontzentrazio bitarte zabala determinatzeko aukera ematen du, baina ez ditu lortuko adibidez MS-ak ezartzen dituen detekzio muga txikiak eta selektibitatea [Handley and Adlard, 2001].

FID (*flame ionization detector*) edo garraren bidezko ionizazio-detektagailuak gasen elektroio-eroaletasunean oinarritzen da konposatuaren adierazpideak emateko. Tenperatura eta presio arruntetan, gasak ez dira eroaleak baina garraren energiaren bidez gas horretan doazen analitoak ionizatzen badira, eroaletasunaren aldaketa neur daiteke. **8. Irudian** adierazi den bezala, garraren bidezko ionizazio-detektagailua pizgailua da, non, hidrogenoaren eta airearen nahastuz, garra lortzen den. Garraren bero energia zenbait molekula ionizatzeko ahalmena du.

Pizgailuaren eta ioi-biltzaile moduan jokatzen duen bigarren elektrodoaren artean kokatutako ehunaren artean voltetako potentzia-diferentzia aplikatzen da. Ereku horren barnean, garran eratutako ioien higiduraren ondorioz lortutako korrontearen intentsitatea neur daiteke. Eratutako korrontek oso txikiak direnez ( $10^{-12}$  A), haren amplifikazioa beharrezkoa da, bestela pikoamperimetro bat erabili behar da.

Karbono konposatuen ionizazioaugarrean gutxi ezagutzen den prozesu bat da, nahiz eta sorturiko ioi kantitatea etaugarrean oxidaturiko karbono atomoa kantitatea ia proportzionala da. Denbora unitateko garraren bidezko ionizazio detektagailuan sartzen diren karbono atomo kopuruari erantzuten dio detektagailuak; masarekiko sentikorra den detektagailua dugu beraz, ez kontzentrazioarekikoa.

Garraren bidezko ionizazio-detektagailuan, C-H loturak dituzten konposatu organiko guztiek erantzuna lor daiteke. Ez ordea,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SiF}_4$  eta nitrogeno oxidoak bezalako gasena. Detekzio-mugarik hoberenak  $\text{N}_2$  gas garraiatzaileak ematen ditu.



8. Irudia. FID detektagailuaren eskema.

Analitoen banaketa kromatografikoari esker, errententzio denboren araberako determinazioa egingo da. Detektoreak antzemandako seinaleak adieraziko du konposatu bakoitzaren abiadura zutabe kromatografikoa zeharkatzen. Ikerketa honetan erabili den FID detektoreari esker, analito bakoitzaren kantitatea gailur kromatografiko bat irudikatu du,

kontzentrazioa eta gailurraren azalera zuzen proportzionalak izanik. Analitoen kuantifikazioa egiteko, kanpo-kalibrazioa egin daiteke (neurtu nahi diren laginak eta eredia zehazteko erabiltzen diren estandarrak guztiz independenteak dira). Horrelako kalibrazioa egokitzen emateko (konparazioak egokitzeko eta emaitzak interpretatzeko) estandarren eta laginaren matrizeak ahalik eta antzekoenak izan behar dira edo seinalearen gaineko laginaren matrizearen eragina arbuiagarria izan behar da. Horrelako baldintzak betetzen ez direnean, osagai kimiko ezezagunen interferentziak daudelako edo gertakizun fisiko-kimiko ez-espezifikoak ematen direlako, kanpo-kalibrazioaren bidezko determinazioak errore sistematiko nabariak izan ditzake eta emaitza txarrak bideratu.

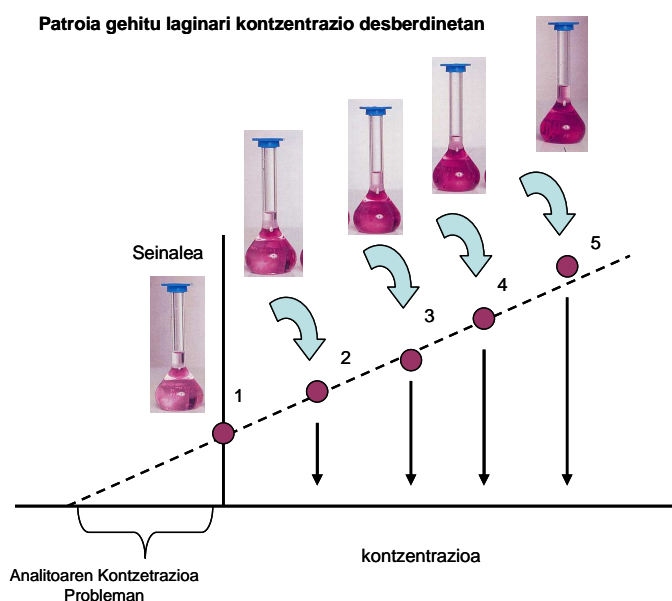
Matrize efektuaren arazoa gainditzeko, barne estandarren gehipena edota isotopo diluzio teknikak erabili daitezke, baina gure ikerketan adizio estandarren metodoa proposatu eta garatu da. Nolakoa den teknika analitikoa arinki desberdina bada ere, ondoko atal komunak ditu adizio estandarrak:

1. Neurtu nahi den laginaren prestaketa (erreaktibo osagarri guztiekin) eta horren neurketa.
2. Aurreko laginari/disoluzioari analittoa duen disoluzio estandarren diluzioz alikuota desberdinen gehiketa eta disoluzio berriaren neurketa.

Metodo hau soilik erabil daiteke ondoko baldintzak betez gero:

1. Seinalea eta kontzentrazioaren artean erlazio lineala dago.
2. Analittoa daraman laginak ezin du analittoa enmaskaratu.

Adizio estandarren bidezko kalibrazioaren metodologia azaltzeko, **9. Irudiaz** baliatuko gara. Laginaren eta estandarren nahasteak prestatu behar dira. Prestatze horretan, laginaren gainean gehitzen diren estandarren bolumenak oso txikiak direnez gero, laginaren kontzentrazioa estandarrena baino handiago izan behar du. Laginaren matrizea ez da aldatzen analitoaren kontzentrazioak nahi den bitartean aldatu arren. Gehienetan, lagina bera ez ezik beste hiru edo lau adizio egiten dira. Lortutako neurri esperimentalen eta gehitutako kontzentrazioen arteko kalibrazio-eredua egin ondoren, lagina duen analitoaren kontzentrazioa estrapolazioaren bitartez lortzen da [Miller and Miller, 2002].



9. Irudia. Adizio estandarren bidezko prestaketa eta kalibrazioa.

## **5. Esperimentuak diseinatzeko moduak eta metodo analitikoaren optimizazioa**

Polartasunean eta hegazkortasunean ezaugarri ezberdinak dauzkaten hidrokarbuero aromatiko poliziklo ezberdinen aldibereko analisirako metodoen garapena egin behar dela kontutan hartuz, eta are gehiago, matrize ezberdinetan erauzketa hauek burutuko direla kontutan hartuz, neurketak egiteko baldintzen optimizazioa ezinbestekotzat jo da. Prozesu guztietan parte hartzen duten aldagai kimiko, fisiko eta instrumentalak kontutan hartu beharko dira, erauzketa eta desortzio urratsetan, erantzuna ezin hobea lortu nahi bada. Esperimentuen diseinua tresna eraginkorra da esperimentuaren emaitzen etekin maximoa lortu nahi ezker. Zentzu honetan, biderik sinpleena, aldagai bakoitzeko banakako azterketa izango litzateke. Aldagai baten aldakortasuna ikertzen da beste aldagai guztiak konstante mantentzen diren bitartean. Horrela, banaka, aldagai guztien erantzun optimoa bilatuko da, sistemaren gainean eragiten duten parametro guztiak ikertu arte. Optimizazio metodo honen desabantaila nabariena zera da: aldagaien arteko elkarrekintzak ez direla modu honetan antzematen, ondorioz aldagai bakoitzaren balio optimoa bilatzeak ez du suposatzen, sistema osoaren erantzun optimoa bilatu dugunik.

Diseinu esperimentalak aukera interesgarria da, aldi berean aldagai ezberdinak aintzat hartzen baitituelako [Tranter, 2000]. Lehenengo urrats batek sistema analitikoaren faktore esanguratsuenak determinatzen lagunduko digu, halako behaketa bat non, eragin azpimarragarria ez duten aldagaiak zuzenean baztertuko ditugun. Lanerako baldintza hoberenak hurrengo urratsean lortzen dira, aurreko urratsean lortutako aldagai esanguratsuei aldibereko diseinuen aplikazioen emaitzak aztertu eta gero hain zuzen.

Mikroerauzketan aldagai asko kontutan hartu behar dira eta horretarako diseinu esperimentalak aukera paregabea bihurtzen da, Stalikas eta kideen artikuloan mikroerauzketaren optimizazioa eta ebaluaketarako diseinu esperimentalaren erabilera ezinbestekoa dela proposatzen dute [Stalikas et al., 2009]. Horregatik, diseinu esperimentalaren planteamenduarekin, hidrokarburo aromatiko poliziklo ezberdinen aldibereko determinazioa burutzeko beharrezkoak diren HS-SPME-aren baldintza esperimentalak optimizatzea nahi da. Diseinu esperimentalak beraz denbora aurrezten lagunduko digu, saiakera kopuru gutxiagorekin aldagai adierazgarrienak determinatzen baitira. Lan honetan erabilitako diseinu ezberdinak honako hauek dira:

### 5.1 Diseinu faktorialak

Esperimentuak diseinatzeko erabilitako *diseinu faktoriala osoa*, erantzunaren gainean eragiten duten aldagaiak ebaluatu eta euren arteko elkarrekintzak determinatzeko balio duen tresna eraginkorra da. Esperimentu kopurua  $f$ , 6. ekuazioan adierazita dator, non,  $m$ , aldagaiak neurtutako mailak izango dira, eta  $k$ , aldagai kopurua:

$$f = m^k \quad 6. \text{ Ekuazioa}$$

Burutu beharreko esperimentu kopurua murrizteko bidea, aldagai bakoitza bi eragin mailarekin erkatzean datza, altua (+) eta baxua (-). Beraz  $m = 2$  izan da kasu guztietan. Aztertu nahi ditugun aldagai kopurua altua denean, lortzen den saio kopurua murrizteko, aurreko ekuazioan zatiketa mailak sar daitezke. Zatiketa mailak sartzeak, zenbait aldagai beste aldagaien konbinazio lineal moduan definitzea da, 7. ekuazioaren bidez definitzen delarik,  $p$  zatiketa maila izanik. Diseinu mota honek *diseinu faktorial zatikatua* bezala ezagutzen da.

Mota honetako diseinuak aldagai esanguratsuenak ezberdindu eta efektu nagusiak ebaluatzea baimentzen du saiakera gutxitan.

$$f = m^{(k-p)} \quad 7. \text{ Ekuazioa}$$

Miaketa egiteko erabilitako beste diseinu faktorial bat **Plackett-Burman** deritzona da. Diseinu honen bidez aldagaien eragin kualitatiboa zein den aztertzen da. Mota honetako diseinuak aldagai esanguratsuenak ezberdindu eta efektu nagusienak ebaluatzea baimentzen du saiakera minimoarekin. Plackett-Burman diseinu mota honetan, aldagai kopurua totalak 4 zenbakiaren multiploa izan behar du. Kasu honetan ere, aldagaiak euren artean konbinatuko dira, hau da efektu printzipalak ortogonalak izan behar dira eta bi mailako interakzioekin nahastuko dira.

Kasu guzti hauetan, lorturiko emaitzen tratamendua, bariantza analisiaren bidez egin daiteke (ANOVA). Horrela, F froga aplikatuz, aldagai bakoitzaren eragina ebaluatuko da, eta aldagaien arteko interakzioen eragina erantzunaren gainean neurtuko dira. Diseinu faktorialeko emaitzak tratatzeko beste modu bat erregresio linealen bidezkoa izan daiteke. Erantzunaren gaineko parametro ezberdinen garrantzia aintzat hartzeko edo ez, kalkulu tresna ezberdinak erabili daitezke. Lan honetan, STATISTICA programak eskeintzen dituen Pareto grafikoak, eta Desiragarritasun Gainazalak eraikiko dira zenbait diseinuen emaitzen analisirako [**Statistica, Statsoft**].

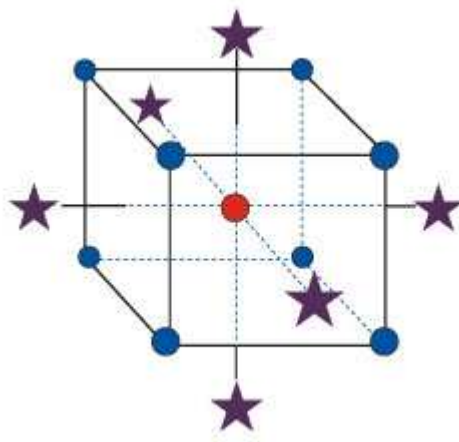
Diseinu faktoriala hortaz, sistemaren neurketa kualitatiboa egiteko eta beraren gainean zinez eragiten duten aldagaiak zehazteko balio du. Aldagai hauen balioak optimizatzeke, beste tresna batzuen beharra dago, ondoren azalduko den diseinu konposatu zentralaren modukoak.

## 5.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD)

Diseinu konposatu zentrala (CCD), diseinu faktorial osoa, zatikatua, puntu zentralak (●) eta izar taldez (★) osatuta dago. Izar diseinua eraikitzeke, esperimentu bakoitzean aldagai bakoitza ardatz balio batetan mantentzen da, aldagai bateko altuena ( $+\alpha$ ) edo txikiena ( $-\alpha$ ), beste guztiak erdiko balio baten mantentzen direlarik (ikusi **10. Irudia**). Diseinu



ortogonalaren ardatz balioak 8. ekuazioaren bitartez kalkulatzeko distantzia ( $\alpha$ ) batera kokatzen dira,  $p$  zatiketa maila izanik eta  $k$ , aldagai kopurua izanik [Hanrahan, 2009].



10. Irudia. 3 faktoreentzako diseinu konposatu zentralaren esperimentuen adierazpena.

$$\alpha = 2^{(k-p)/4} \quad 8. \text{ Ekuazioa}$$

Bariantzaren ebaluaketa esperimentalak puntu zentralen errepikaturiko neurketen bidez egiten da, diseinu faktorialean gertatzen den moduan. Esperimentu kopurua 9. ekuazioak definituko ditu,  $n_0$ , puntu zentralerako errepikapen kopurua izanda.

$$f = 2^{(k-p)} + 2k + n_0 \quad 9. \text{ Ekuazioa}$$

Diseinu faktorialaren kasuan bezala, erantzunaren emaitzak bariantza analisiarekin tratatu daitezke (ANOVA), edota 10. ekuazioaren bidez erregresio linealari egokituz [Bezerra et al., 2008].

$$Y = \beta_0 + \sum_i \beta_i x_i + \sum_{ij} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_i \beta_i x_i^2 \quad 10. \text{ Ekuazioa}$$

$Y$ , erantzuna izango da,  $x$ , optimizatu beharreko aldagaiak, eta  $\beta$ , 11. ekuazioaren minimizazioaren bidez kalkulatu beharreko parametroak; lan honetan STATISTICA programaren bidez burutuak.

$$U = \sum_i^n (Y_{\text{exp}} - Y_{\text{calc}})^2 \quad 11. \text{ Ekuazio}$$

10. ekuazioaren  $\beta$  parametro guztiak ez dute zertan adierazgarriak izan behar. Diseinu esperimentalaren tresnak, adierazgarriak diren eta ez diren artean ezberdindu beharko du, ekuaziotik azken hauek baztertuz, erantzunaren ekuazioa sinplifikatuz. Statistica programak berak, hautaturiko  $\beta$  parametroekin, desiragarritasunaren erantzun gainazalak eraikitzeko gai da, eta nola ez, erantzuna optimizatzen duten baldintzen neurria emateko ere.

### 5.3 Diseinu esperimentalaren erabilerak ingurumen arloan

Iraganean, metodo bat aplikatzerakoan zenbait konposaturen determinaziorako, aldagaien optimizazioa bakarkako prozesua jarraitzen zuten. Gaur egun tratamendu estatistikoa aplikatzen da, diseinu esperimental hain zuzuen, honekin aldagai ugari aldi berean optimiza daitezke, denak batera, denbora aurrezte eta abaintala hobezina izanik gaurko laborategien garapenarako [Miller and Miller, 2002].

Huang eta kideen ikerketan [Huang *et al.*, 1997], bentzeno deribatuen determinazioan SPME aplikatzerakoan, aldagaien optimizazioa bakarka burutzen da, aldagai bakoitza aldi berean optimizatuz, Zhou eta kideek bezala, [Zhou *et al.*, 2005], konposatu fenolikoak ur hodakinetan determinatzerakoan.

PAHen kasuan konkretuki, Djozan eta Assady [Djozan and Assady, 1999] ikerketan, uretan SPMEa erabiliz PAHen monitorizazioa egiten da, hemen SPMEaren gainean eragiten duten aldagaiak banan-banan optimizatuak izan dira.

Diseinu esperimental aplikatzean, determinazioan eragiten dituzten aldagaiak batera optimiza daitezke. Horrela ikusi daiteke adibidez, Salafranca eta kideen lanetan, [Salafranca *et al.*, 1999; Salafranca *et al.*, 2003] zenbait konposatu organikoren determinazioa SPMEren bidez burutzen da jakien simulanteetan eta bestalde Duero ibaian zenbait analitoen

determinazioa ere. Llompart eta kideen ikerketan [Llompart *et al.*, 2002] adibidez, kutsatzaile fenoliken optimizazioa egiten da ur laginetan. Polo eta kideak [Polo *et al.*, 2005] antzera ftalatoak determinatzerakoan. Beste matrize batzuetan ere diseinuen aplikazioa eman da, hala nola, Carrillo eta kideen lanean [Carrillo *et al.*, 2007], non konposatu hegazkorren determinazioa egiten da ardotan. Bestalde, Arambarri eta kideek dialkil eterrak et BTEX-a determinatzen dituzte ur laginetan buru guneko SPME erabiliz [Arambarri *et al.*, 2004].

Azkenik, eta PAHen determinazioari so eginez, Cortazar eta kideek, [Cortazar *et al.*, 2002] multisimplex optimizazioa erabiltzen dute, uretan PAHak determinatzeko SPMEren bidez. Pino eta kideak ere [Pino *et al.*, 2000] PAHak determinatzen dituzte sedimentuetan baina kasu honetan MAE-HPLC erabiliz.

## **6. Erreferentziak**

- Alpendurada M.F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 889:3-14.
- Altaki, M.S., Santos, F.J., Galceran, M.T. (2009). Automated headspace solid-phase microextraction versus headspace for the analysis of furan in foods by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, 78:1315-1320.
- Arambarri I., Lasa M., Garcia R., Millán E. (2004). Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 1033: 198-203.
- ATSDR. Agency for toxic substances & disease registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.html>
- Azenha M., Ornelas M., Silva F. (2009). A solid-phase microextraction Ni-Ti fibers coated with functionalised silica particles immobilized in a sol-gel matrix. *Journal of Chromatography A*, 1216: 2302-2306.
- Bagheri H., Babanezhad E., Khalilian F. (2009). An interior needle electropolymerized pyrrole-based coating for headspace solid-phase dynamic extraction. *Analytica Chimica Acta*, 634:209-214.
- Bartolome L., Cortazar E., Raposo J.C., Usobiaga A., Zuloaga O., Etxeberria N., Fernandez L.A. (2005). Simultaneous microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenils, phthalate esters and noniphenols in sediments. *Journal of Chromatography A*, 1068: 229-236.
- Basheer C., Obbard J.P., Lee H.K. (2005). Analysis of persistent organic pollutants in marine sediments using a novel microwave assisted solvent extraction and liquid-phase microextraction technique. *Journal of Chromatography A*, 1068:221–228.
- Beltran J., López F.J., Hernández F. (2000). Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 885:389-404.
- Bezerra M.A., Santelli R.E., Oliveira E.P., Villar L.S., Escalera L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76: 965-977.
- Borja A., Solaun O., Galparsoro I., Tello E.M., Muxika I., Valencia V., Bald J., Franco J., Manzanos A. (2004). Caracterización de las presiones e impactos en los estuarios y costa del País Vasco. Informe de la Fundación AZTI para la Dirección de Aguas del Departamento de Ordenación del Territorio y Medio Ambiente, Gobierno Vasco, 322 p.
- Buco S., Moragues M., Sergent M., Doumenq P., Mille G. (2007). An experimental design approach for optimizing polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in contaminated soil by pyrolyser-gas chromatography-mass spectrometry. *Environmental Research*, 104: 209–215.

- Budzinski H., Letellier M., Garrigues P., Le Menach K. (1999). Optimization of the microwave-assisted extraction in open cell of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils and sediments. Study of moisture effect. *Journal of Chromatography A*, 837:187-200.
- Cai Q.Y., Mo C.H., Li Y.H., Zeng Q.Y., Katsoyiannis A., Wu Q.T., Ferard J.F. (2007). Occurrence and assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from vegetable fields of the Pearl River Delta, South China. *Chemosphere*, 68: 159–168.
- Cam D., Gagni S., Meldolesi L., Galletti G. (2000). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment using solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 38: 55-61.
- Cam D., Gagni S., Lombardi N., Punin M.O. (2004). Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental solid matrices. *Journal of Chromatographic Science*, 42: 329-335.
- Campo L., Addario L., Buratti M., Scibetta L., Longhi O., Valla C., Cirila P.E., Martinotti I., Foà V., Fustinoni S. (2006). Biological monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons by determination of unmetabolized compounds in urine. *Toxicological Letters*, 162: 132-138.
- Carrillo J.D., Salazar C., Moreta C., Tena M.T. (2007). Determination of phthalates in wine by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry: Fibre comparison and selection. *Journal of Chromatography A*, 1164: 248-261.
- Chen B., Xuan X., Zhu L., Wang J., Gao Y., Yang K., Shen X., Lou B. (2004). Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments and soils of Hangzhou City, China. *Water Research*, 38: 3558-3568.
- Cortazar E., Bartolomé L., Arrasate S., Usobiaga A., Raposo J.C., Zuloaga O., Etxebarria N. (2008). Distribution and bioaccumulation of PAHs in the UNESCO protected natural reserve of Urdaibai, Bay of Biscay. *Chemosphere*, 72: 1467-1474.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxebarria N., Fernández L.A. (2002). Multisimplex optimisation of the soil phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. *Journal of Chromatography A*, 978:165-175.
- da Silva R.C., Zuin V.G., Lopes AL., Yariwake J.H., Eberlin M.N., Augusto F. (2007). Fiber introduction mass spectrometry: determination of pesticides in herbal infusions using a novel sol-gel PDMS/PVA fiber for solid-phase microextraction. *Journal of Mass Spectrometry*, 42:825-829.
- Dafflon O., Gobet H., Koch H., Bosset J.O. (1995). Le dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le poisson, les produits carnés et le fromage par chromatographie liquide à haute performance, *Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène* 86:534–555.

- Decisión 2000/532/CE de 3 mayo por la que se establece una lista de residuos peligrosos. O.J. 6.9.200, LC 226, 3-24.
- Decisión 2455/2001/CE de 20 noviembre. Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. O.J. 15.12.2001, LC 331, 1-5.
- Dekretua 199/2006 Urriaren 10ekoa, lurzorua kalitatea ikertu eta berreskuratzeko erakundeak egiaztatze sistema ezartzen duena, eta erakunde horiek lurzorua kalitatearen gainean egindako ikerketen edukia eta norainokoa zehazten dituen. <http://www.ejgv.euskadi.net/bopv2/datos/2006/11/0605516a.pdf>
- Demarcación de las cuencas internas del País Vasco (2004). Informe relativo a los artículos 5 y 6 Directiva Marco del Agua 2000/60/CE. Gobierno Vasco. pp284.
- Departamento de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. (2007). Red de seguimiento del estado ecológico de las aguas de transición y costeras de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Tomo 14, Resumen y conclusiones. Ingurumena. Gobierno Vasco. 45 p.
- Dietz C., Sanz J., Cámara C. (2006). Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. *Journal of Chromatography*, 1103:183-192.
- Dirección de Aguas (2007). Red de vigilancia del estado de la contaminación por sustancias prioritarias en ríos de la C.A.P.V. Informe de resultados. Campaña 2006: Diagnóstico por Unidades Hidrológicas. Oiartzun. Ingurumena. Departamento de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Gobierno Vasco. 266 p.
- Directiva 75/442/CEE del Consejo, de 15 de julio de 1975, relativa a los residuos. <http://www.gestion-ambiental.com/norma/ley/375L0442.htm>.
- Directiva 91/689/CEE del 12 de diciembre relativa a los residuos peligrosos. <http://www.gestion-ambiental.com/norma/ley/391L0689.htm>.
- Directiva 98/83/CE del 3 de noviembre de 1998 relativa a la calidad de aguas destinadas al consumo humano. D.O. L 330 de 05.12.98 pag 32-54.
- Directiva 2001/90/CE de la Comisión Europea, del 26 de octubre de 2001. Consejo relativo sobre la comercialización y uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (Creosota) D.O.L. 283 del 27.10.2001, pag 41-43.
- Directive 2008/105/EC on the environmental quality standards in the field of water policy. O.J. 348, 24.12.2008, 84-97.
- Djozan D., Assady Y. (1999). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography. *Microchemical Journal*, 63:276-284.
- Doong R., Chang S., Sun Y. (2000). Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US EPA PAHs in water samples. *Journal of Chromatography A*, 879:177-182.

- Doong R., Lin Y. (2004). Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminations in surface sediment and water from Gaoping River, Taiwan. *Water Research*, 38:1733-1744.
- Dugay J., Miége C., Hennion M.C. (1998). Effect of the various parameters governing solid-phase microextraction of the trace-determination of pesticides in water. *Journal of Chromatography A*, 795: 27-42.
- EEA, European Environment Agency, <http://www.eea.europa.eu/>
- Eisert R., Levsen K. (1996). Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A*, 733:143-157.
- Eom I.Y., Tugulea A.M., Pawliszyn J. (2008). Development and application of needle trap devices. *Journal of Chromatography A*, 1196-1197:3-9.
- EPER, European Pollutant Emission Register. <http://eper.ec.europa.eu/>
- Eriksson M., Faldt J., Dalhammar G., Borg-Karlson A.K. (2001). Determination of hydrocarbons in old creosote contaminated soil using headspace solid phase microextraction and GC-MS. *Chemosphere*, 44:1641-1648.
- European Commission. Scientific Committee on food. Opinion of the Scientific Committee of Food on Tahitian Noni Juice. December 2002.
- Eusko Jaurlaritza (2007). Lur Kutsatuen Plana 2007-2012. E.J./G.V. [http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.net/r497932/es/contenidos/plan\\_programa\\_proyector/suelos\\_contaminados/es\\_plan/adjuntos/plan\\_suelos\\_contaminados.pdf](http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.net/r497932/es/contenidos/plan_programa_proyector/suelos_contaminados/es_plan/adjuntos/plan_suelos_contaminados.pdf)
- Eusko Jaurlaritza. Euskal Uren Kalitatearen Sarea. [https://www6.euskadi.net/u810003/es/contenidos/informacion/calidad\\_aguas/es\\_doc/calidad\\_aguas\\_superficiales.html](https://www6.euskadi.net/u810003/es/contenidos/informacion/calidad_aguas/es_doc/calidad_aguas_superficiales.html)
- Eusko Jaurlaritzako Ingurumen, Lurralde Plangintza, Nekazaritza eta Arrantza Saila, <http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.net/>
- Fernández-González V., Concha-Grana E., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Prada-Rodríguez D. (2008). Pressurized hot water extraction coupled to solid – phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *Journal of Chromatography A*, 1196-1197:65-72.
- Ferrer I., Barceló D. (1999). Validation of new solid-phase extraction materials for the selective enrichment of organic contaminants from environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*. 18:180–192.
- Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons analysis in different matrices of the marine environment. *Analytical Chimica Acta*. 547:243–254.

- Ghiasvand A.R., Hosseinzadeh S., Pawliszyn J. (2006). New cold-fiber headspace solid-phase microextraction device for quantitative extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment. *Journal of Chromatography A*, 1124: 35-42
- Greenpeace. Destruccion en toda la costa de Euskadi. <http://www.greenpeace.org/raw/content/espana/reports/destrucci-n-a-toda-costa-en-eu.pdf>.
- Grimalt J.O., van Drooge B.L., Ribes A., Fernández P., Appleby P. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbon composition in soils and sediments of high altitude lakes. *Environmental Pollution*, 131: 13-24.
- Grob R.L., Barry E.F. (2004). *Modern Practice of gas chromatography*. Wiley Interscience. JohnWiley & Sonc, Inc. New Jersey. USA.
- Guan W., Feng X., Wenmin L., Jinghong Z., Yafeng G. (2007). A new poly(phthalazine) ether sulfone ketone-coated fiber for solid-phase microextraction to determine nitroaromatic explosives in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1147: 59-65.
- Guerra-Abreu L., Pino V., Anderson J.L., Afonso A.M. (2008). Coupling the extraction efficiency of imidazolium-based ionic liquid aggregates with solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. Application to polycyclic aromatic hydrocarbons in a certified reference sediment. *Journal of Chromatography, A*, 1214: 23-9.
- Handley A.J., Adlard E.R. (2001). *Gas Chromatographic techniques and applications*. Sheffield Academic Press. Sheffield. England.
- Hanrahan G. (2009). *Environmental Chemometrics: Principles and modern applications*. Analytical Chemistry Series, CRC Press. Taylor & Francis Group, London.
- He F., Zhang Z., Wan Y., Lu S., Wang Bu Q. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of Beijing and Tianjin region: Vertical distribution, correlation with TOC and transport mechanism. *Journal of Environmental Sciences*, 21: 675-685.
- Helaleh M.I.H., Al-Omair A., Nisar A., Gevao.B. (2005). Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1083:153-160.
- Hollender J., Koch B., Lutermann C., Dott W. (2003). Efficiency of different methods and solvents for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 83:21-32.
- Hu X., Hu Y., Li G. (2007). Development of novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber and its application for the determination of triazines in complicated samples coupled with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1147:1-9.



- Hu Y., Wang Y., Hu Y., Li G. (2009). Liquid-liquid-solid microextraction on membrane-protected molecularly imprinted polymer fiber for trace analysis of triazines in complex aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1216: 8304-8311.
- Hu Y.L., Fu Y.L., Li G.K. (2006). Preparation of anilinemethyltriethoxysilane/polydimethylsiloxane sol-gel coatings for solid-phase microextraction of aromatic compounds. *Analytica Chimica Acta*, 567: 211-217.
- Huang S.D., Cheng C.P., Sung Y.H. (1997). Determination of benzene derivatives in water by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 343:101-108.
- Huang Y.C., Su Y.S., Muniraj S., Zhang W., Jen J.F. (2007). New cloud vapor zone (CVZ) coupled headspace solid-phase microextraction technique. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388: 377-83.
- IHOBE, Ingurumen Jarduketarako Sozietate Publikoa.  
[http://www.kideitu.euskadi.net/contenidos/inventario/madera\\_tratada/eu\\_pub/adjuntos/residuos\\_madera.pdf](http://www.kideitu.euskadi.net/contenidos/inventario/madera_tratada/eu_pub/adjuntos/residuos_madera.pdf).
- Ikarashi Y., Kaniwa M., Tsuchiya T. (2005). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and water-extractable phenol in creosotes and creosote-treated woods made and procurable in Japan. *Chemosphere*, 60:1279-1287.
- Inza Aguirre A. (2010) Estudio de series temporales y composición química del material particulado atmosférico en distintas áreas del País Vasco. Tesis doctoral, UPV/EHU.
- Kamalakkannan R., Zettel V., Goubatchev A., Stead-Dexter K., Ward N.I. (2004). Chemical (polycyclic aromatic hydrocarbon and heavy metal) levels in contaminated stormwater and sediments from a motorway dry detention pond drainage system. *Journal of Environmental Monitoring*, 6:175-181.
- Kaykhani M., Dicoski G.W., Smedley R., Pawliszyn J., Haddad P.R. (2010). Preparation and evaluation of solid-phase microextraction fibres based on functionalized latex nanoparticle coatings for trace analysis of inorganic anions. *Journal of Chromatography A*, 1217: 3452-3456.
- Ke L., Yu K.S.H., Wong Y.S., Tam N.F.Y. (2005). Spatial and vertical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments. *Science of The Total Environment*, 340: 177-187.
- Kim M., Kennicutt M.C.I., Qian Y. (2005). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Purification Procedures for Compound Specific Isotope Analysis. *Environmental Science Technology*, 39:6770-6776.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2003). The applications of solid-phase micro-extraction (SPME) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environmental Geochemistry and Health*, 25:69-75.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2004). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 523:259-267.

- Koester C.J. (2005). Trends in environmental analysis. *Analytical Chemistry*, 77:3737–3754.
- Kohler M., Kuenniger T., Schmid P., Gujer E., Crockett R., Wolfensberger M. (2000). Inventory and emission factors of creosote, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), and phenols from railroad ties treated with creosote. *Environmental Science and Technology*, 34:4766-4772.
- Kubinec R., Kuran P., Ostrovsky J., Sojak L. (1993). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from bitumen concrete roads in drainage water by microextraction, large-volume sampling and gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring. *Journal of Chromatography A*, 653:363–377.
- Kucklick J.R., Sivertsen SK., Sanders M., Scott G.I (1997). Factors influencing polycyclic aromatic hydrocarbon distributions in South Carolina estuarine sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 213:13–29.
- Kulik N., Goi A., Trapido M., Tuhkanen T. (2006). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 78:382-391.
- Lambropoulou D.A., Konstantinou I.K., Albanis T.A. (2006). Sample pretreatment method for the determination of polychlorinated biphenyls in bird livers using ultrasonic extraction followed by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1124: 97-105.
- Lambropoulou D.A., Konstantinou I.K., Albanis T.A. (2007). Recent developments in headspace microextraction techniques for the analysis of environmental contaminants in different matrices. *Journal of Chromatography A*, 1152:70–96.
- Lee B., Yi J. (1999). A statistical approach for determining the environmental impact of polynuclear aromatic hydrocarbons in an oil spill-contaminated coastal area. *Environmental Pollution*, 105:391-396.
- Legea 1/2005, otsailaren 4koa, lurzorua ez kutsatzeko eta kutsatutakoa garbitzekoa. 2005eko otsailak 16, 32. ZK. 2113 eta 2125 orrialdeak. <http://www.euskadi.net/bopv2/datos/2005/02/0500661a.pdf>.
- Legea 3/1998 otsailak 17koa. Euskal Herriko ingurugiro babesteko lege orokorra. <http://www.euskadi.net/bopv2/datos/1998/03/9801344a.pdf>.
- León V.M., Alvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Valor I. (2003). Analysis of 35 priority semivolatle compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 999: 91–101.
- Ley 10/1998, de 21 de Abril. Ley de residuos. BOE 22.04.1998, num 96, pag 13372-13384.
- Li X., Li C., Chen J., Li C., Sun C., (2008). Polythiophene as a novel fiber coating for solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1198-1199:7-13.
- Librando V., Hutzinger O., Tringali G., Aresta M. (2004). Supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from marine sediments and soil samples. *Chemosphere*, 54: 1189-1197.

- Liu S., Xia X., Yang L., Shen M., Liu R. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons in urban soils of different land uses in Beijing, China: Distribution, sources and their correlation with the city's urbanization history. *Journal of Hazardous Materials*, 177: 1085–1092.
- Llompart M., Li K., Fingas M. (1999) Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for the determination of volatile and semivolatile pollutants in soils. *Talanta*, 48: 451–459.
- Llompart M., Lourido M., Landin P., Garcia-Jares C., Cela R. (2002). Optimization of a derivatization-solid phase microextraction method for the analysis of thirty phenolic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A*, 963:137-148.
- López-Darías J., Pino V., Anderson J.L., Graham C.M., Afonso A.M. (2010). Determination of water pollutants by direct-immersion solid-phase microextraction using polymeric ionic liquid coatings. *Journal of Chromatography A*, 1217: 1236-1243.
- Ma M., Cantwell F.F. (1999). Solvent Microextraction with Simultaneous Back-Extraction for sample cleanup and preconcentration: preconcentration into a single microdrop. *Analytical Chemistry*, 71:388–398.
- Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B., Klimkowicz-Pawlas A. (2009). Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *The Science of the Total Environment*, 407: 3746–3753.
- Marce R.M., Borrull F. (2000). Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. *Journal of Chromatography A*, 885:273–290.
- Martínez Vidal J.L., Garrido Frenich A., Barco Bonilla M.N., Romero-González R., Padilla Sánchez J.A. (2009). Simultaneous extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in agricultural soils by pressurized liquid extraction and determination by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395:1551–1562.
- Miegea C., Dugayb J., Hennionb M.C. (2003). Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 995: 87–97.
- Miller N.J., Miller J.C. (2002). *Estadística y quimiometria para Química Analítica*. Pearson educación, S.A., Madrid.
- Mohammadi A., Yamini Y., Alizadeh N. (2005). Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*, 1063:1-8.
- Mol H.G.J., Staniewski J., Janssen H.G., Cramers C.A., Ghijsen R.T., Brinkman U.A.T. (1993). Use of an open-tubular trapping column as phase-switching interface in online coupled reversed phase liquid chromatography-capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 630:201–212.

- Montizaan G.K., Kramers P.G.N., Janus J.A., Posthumus R. (1989). Integrated Criteria Document Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Effect of 10 selected compounds. Bilthoven: National Institute of Public and Environmental Protection.
- Moret S., Purcaro G., Conte S.L. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of soil and olives collected in areas contaminated with creosote released from old railway ties. *Science of the Total Environment*, 386:1–8.
- Muñoz-Olicas R., (2004). Screening analysis: an overview of methods applied to environmental, clinical and food analyses. *Trends in Analytical Chemistry*, 23:203-206.
- Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environmental Pollution*, 132: 1-11.
- Niri V.H., Eom IY., Kermani F.R., Pawliszyn J. (2009). Sampling free and particle-bound chemicals using solid-phase microextraction and needle trap device simultaneously. *Journal of Separation Science*, 32:1075-1080.
- Olajire A.A., Altenburger R., Küster E., Brack W. (2005). Chemical and ecotoxicological assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated sediments of the Niger Delta, Southern Nigeria. *Science of The Total Environment*, 340:123-36.
- OSPAR Commission (2007). 2006/2007 CEMP Assessment -Trends and concentrations of selected hazardous substances in the marine environment, pp63.
- Ouyang G., Pawliszyn J. (2006a). Recent developments in SPME for on-site analysis and monitoring. *Trends in Analytical Chemistry, TrAC*, 25:692-703.
- Ouyang G., Pawliszyn J. (2006b). SPME in enviromental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386:1059–1073.
- Ozcan S., Tor A., Aydin M.E. (2009). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by miniaturized ultrasonic extraction and gas chromatography-mass selective detection. *Clean: Soil,Air,Water*, 37: 811 – 817.
- Pawliszyn J. (1995). New directions in sample preparation for analysis of organic compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, 14:113–118.
- Pawliszyn J. (1997). *Solid phase microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH, New York.
- Pawliszyn J. (1999). *Applications of solid phase microextraction. RSC Chromatography Monographs*, ed. R.M. Smith. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Peñalver A., Pocurull E., Borrul F., Marcé R.M. (1999). Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 18:557-568.
- Peñalver-Hernando A. (2002). *Aplicación de la microextracción en fase sólida al análisis medioambiental. Tesis Doctoral*, Tarragona.

- Pino V., Ayala J.H., Afonso A.M., Gonzalez V. (2000). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments by high performance liquid chromatography after microwave-assisted extraction with micellar media. *Journal of Chromatography A*, 869:515-522.
- Pino V., Ayala J.H., Afonso A.M., Gonzalez V. (2002). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sea water by high performance liquid chromatography with fluorescence detection following micelle-mediated preconcentration. *Journal of Chromatography A*, 949:291-299.
- Pino V., Ayala J.H., Afonso A.M., Gonzalez V. (2003). Micellar microwave-assisted extraction combined with solid-phase microextraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in a certified marine sediment. *Analytica Chimica Acta*, 477: 81-91.
- Polo M., Llompart M., Garcia-Jares C., Cela R. (2005). Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, 1071:63-72.
- Poster D.L., Schantz M.M., Sander L.C., Wise S.A. (2006). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386:859-881.
- Prieto A., Zuloaga O., Usobiaga A., Bartolomé L., Fernández L.A., Etxebarria N., Ciprain E., Alonso A. (2008). Levels and spatial distribution of inorganic and organic contaminants in sediments along the Bilbao estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 56:2082-2105.
- Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE 21.02.2003, num. 45, pag. 7228-7245.
- Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. BOE 18.01.2005, num. 15, pag. 1833-1843.
- PRTR. Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes, <http://www.prtr-es.es/>
- Rivas F.J., García de la Calle R., Alvarez P., Acedo B. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons sorption on soils: Some anomalous isotherms. *Journal of Hazardous Materials*, 158:375-383.
- Saison C., Perrin-Garnier C., Schiavon M., Morel J.L. (2004). Effect of cropping and tillage on the dissipation of PAH contamination in soil. *Environmental Pollution*, 130:275-285.
- Salafranca J., Batlle R., Nerín C. (1999). Use of solid-phase microextraction for the analysis of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether in food simulants. *Journal of Chromatography A*, 864:137-144.
- Salafranca J., Domeño C., Fernández C., Nerín C. (2003). Experimental design applied to the determination of several contaminants in Duero River by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 47:257-267.

- Shi Z., Tao S., Pan B., Fan W., He X.C., Zuo Q., Wu SP., Li B.G., Cao J., Liu W.X., Xu F.L., Wang X.J., Shen W.R., Wong P.K. (2005). Contamination of rivers in Tianjin, China by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Pollution*, 134:97-111.
- Shu Y.Y., Lai T.L., Lin H.S., Yang T.C., Chang C.P. (2003). Study of factors affecting on the extraction efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils using open-vessel focused microwave-assisted extraction. *Chemosphere*, 52:1667-1676.
- Song Y.F., Jing X., Fleischmann S., Wilke B.M. (2002). Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments. *Chemosphere*, 48: 993-1001.
- Soriano Sanz J.A. (2009). Evaluación y seguimiento del contenido en hidrocarburos aromaticos policíclicos (PAHs) en mejillón silvestre de la costa de Galicia, antes y después del vertido del B/T Prestige. Tesis doctoral, Universidad Da Coruña.
- Stalikas C., Fiamegos Y., Sakkas V., Albanis T. (2009). Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction. *Journal of chromatography A*, 1216:175-189.
- Stark A., Abrajano T., Hellou J., Metcalf-Smith J.L. (2003). Molecular and isotopic characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons distributions and sources at the international segments of the St Lawrence River. *Organic Geochemistry*, 34:225–237.
- Statistica. Stafsoft. Tulsa. USA. <http://www.statsoft.co.uk/textbook/stathome.html>
- Sun F., Littlejohn D., Gibson M. (1998). Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. *Analytica Chimica Acta*, 364: 1-11.
- Supelco-Sigma Aldrich Web orria. <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spme/solid-phase-microextraction.html>.
- Townshend A., ed. (1995). *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Academic Press. London.
- Tranter R.L. (2000). *Design and analysis in chemical research*. Sheffield Academic Press. CRC Press. Sheffield. England.
- UNESCO. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. [http://www.unesco.org/water/wwap/wwdr/wwdr2/index\\_es.shtml](http://www.unesco.org/water/wwap/wwdr/wwdr2/index_es.shtml).
- Vidal L., Canals A., Kalogerakis N., Psillakis E. (2005). Headspace single-drop microextraction for the analysis of chlorobenzenes in water samples. *Journal of Chromatography A*, 1089: 25-30.
- Vílchez J.L., Prieto A., Araujo L., Navalón A. (2006). Application of isotope dilution to the determination of anthracene in environmental samples by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Microchimica Acta*, 155:435–439.

- Viñas P., Campillo N., Aguinaga N., Pérez-Cánovas E., Hernández-Córdoba M. (2007). Use of headspace solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea infusions. *Journal of Chromatography A*, 1164: 10–17.
- Waidyanatha S., Zheng Y., Rappaport S.M. (2003). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine of coke oven workers by headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chemico-Biological Interactions*, 145: 165-174.
- Wang J.X., Jiang D.Q., Gu Z.Y., Yan X.P. (2006). Multiwalled carbon nanotubes coated fibers for solid-phase microextraction of polybrominated diphenyl ethers in water and milk samples before gas chromatography with electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 1137: 8-14.
- Wang W., Meng B., Lu X., Liu Y., Tao S. (2007). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Analytical Chimica Acta*, 602:211–222.
- Wang Y., Zhang J., Ding Y., Zhou J., Ni L., Sun C. (2009). Quantitative determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soil samples using solid-phase microextraction. *Journal Separation Science*, 32:3951–3957.
- Wise S.A., Poster D.L., Schantz M.M., Kucklick J.R., Sander L.C., Lopez de Alda M.J., Schubert P., Parris R.M., Porter B.J. (2004). Two new marine sediment Standard Reference Materials (SRMs) for the determination of organic contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378:1251–1264.
- Wu Y., Xia L., Chen R., Hu B. (2008). Headspace single drop microextraction combined with HPLC for the determination of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *Talanta*, 74: 470-477.
- Xie W., Mullet W.M., Miller-Stein C.M., Pawliszyn J. (2009). Automation of in-tip solid-phase microextraction in 96-well format for the determination of a model drug compound in human plasma by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B*, 877: 415-420.
- Xu L., Lee H.K. (2008). Novel approach to microwave-assisted extraction and micro-solid-phase extraction from soil using graphite fibers as sorbent. *Journal of Chromatography A*, 1192: 203-207.
- Ye C.W., Gao J., Yang C., Liu X.J., Li X.J., Pan S.Y. (2009). Development and application of an SPME/GC method for the determination of trace phthalates in beer using a calix[6]arene fiber. *Analytica Chimica Acta*, 641: 64-74.
- Yrieix C., Gonzales C., Deroux J.M., Lacoste C., Leybros J. (1996). Contercurrent liquid/liquid extraction for analysis of organic water pollutants by GC/MS. *Water Research*, 30:1791– 1800.



- Yunker M.B. Macdonald R.W., Goyette D., Paton D.W., Fowler B.R., Sullivan D., Boyd J. (1999). Natural and anthropogenic inputs of hydrocarbons to the Strait of Georgia. *The Science of the Total Environment*, 225:182-209.
- Zeng J., Yu B., Chen W., Lin Z., Zhang L., Lin Z., Chen X., Wang X. (2008). Application of ceramic/carbon composite as a novel coating for solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1188:26-33.
- Zhang Z., Pawliszyn J. (1993). Headspace solid-phase micro extraction. *Analytical Chemistry*, 65:1843-1852.
- Zhang Z., Huang J., Yu G., Hong H. (2004). Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. *Environmental Pollution*, 130: 249-261.
- Zhang Z.L., Hong H.S., Zhou J.L., Yu G. (2004). Phase association of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Minjiang River Estuary, China. *Science of the Total Environment*, 323:71-86.
- Zhou F., Li X., Zeng Z. (2005). Determination of phenolic compounds in wastewater samples using a novel fiber by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 538:63-70.
- Zhou J., Yang F., Cha D., Zeng Z., Xu Y. (2007). Headspace solid-phase microextraction with novel sol-gel permethylated-beta-cyclodextrin/hydroxyl-termination silicone oil fiber for determination of polybrominated diphenyl ethers by gas chromatography-mass spectrometry in soil. *Talanta*, 73: 870-877.
- Zhou J.L., Maskaoui K. (2003). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and surface sediments from Daya Bay. *Environmental Pollution*, 12:269-281.
- Zuazagoitia D., Millán E., Garcia-Arrona R. (2009). A Screening Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Determination in Sediments by Headspace SPME with GC-FID. *Chromatographia*, 69:175-178.



**HELBURUAK**



## Helburuak

Ikerketa honetan hurrengo helburu orokorrak planteatu dira:

- 1.- HS-SPME aurrekontzentrazio metodoen garapena, Gipuzkoako ur, lur eta sedimentu laginetan, aldibereko pisu molekular ertain eta baxuko hidrokarburo aromatikoen presentzia eta kontzentrazioa determinatzeko.
- 2.- Diseinu esperimentalaren erabilpena metodoen gainean eragiten duten aldagai adierazgarrien determinazioa burutzeko eta metodo beraren optimizazioa burutzeko, ahalik eta saiakuntza kopuru txikienarekin erantzun optimoa lortzearen.
- 3.- Balioztatutako miaketa edo “*screening*” metodoen garapena matrize ezberdinetan, PAHen presentzia modu azkar eta seguru batetan determinatzeko ingurumen laginetan, HS-SPME eta GC-FID bezalako baliabide tekniko xamurrak erabiliz.
- 4.- Petrolio isurketak, industria eta kreosota bezalako kutsadura iturri anitzak kontutan hartuz, Gipuzkoako ur, lur eta sedimentuen ingurumen kalitatea aztertu PAHei dagokionez, eta kutsadura maila determinatu egun indarrean dagoen legediarekin alderatuz.
- 5.- Erlazio isomerikoak, normalitate testak, korrelazio linealak, eta aldagai anitzeko analisisien bidez, Gipuzkoako ur, lur eta sedimentuetan aurkituriko PAH ezberdinen jatorria eta beraien arteko erlazioa determinatu, ebaluazio orokor bat egin, ausazko gertakarietan baldintza erregularrak azaltzen saiatuz.



# **1. KAPITULUA**

**GIPUZKOAKO GAINAZAL URETAN,  
HIDROKARBURO AROMATIKO POLIZIKLOEN  
DETERMINAZIORAKO,  
HS-SPME METODOEN GARAPENA ETA APLIKAZIOAK**



## 1.1 Sarrera

Hidrokarburo aromatiko polizikloak (PAHak) konposatu organiko iraunkorrak dira, hortaz ingurumenean denbora luzez egon daitezke beraien propietate toxikoak aldatu barik. Konposatu hauek jatorri naturala zein antropogenikoa izan dezakete, osagabeko errekuntza eta pirolisi prozesuetatik datoz, hala nola ikatz eta asfaltoaren ekoizpenetik, aluminioaren galdaketa, petrolioaren *cracking* prozesutik, diesel zein gasolina motorretatik eta nahigabeko fuel isurketa zuzenetatik, Prestige petrolio-ontzia kasu.

Amerikako Ingurugiroaren Babes Agentziak (USEPAk) 16 PAH ezberdintzen ditu kutsatzaile arriskutsu bezala, eta haietariko batzuk potentzial kartzinogeno handia erakusten dute [USEPA]. Agentzia honek ere, bestalde, ur edangarrirako baliokidetzat mugak ezarri ditu [USEPA], naftalenoa ( $0.7 \text{ mg L}^{-1}$ ) eta antrazenoaren ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) kontzentrazio balioak minimo eta maximoak izanik, hurrenez hurren. Europar Elkarteak ere 2455/2001/EC erabakian zenbait konposatu aromatiko bere ur politika barruan erantsi ditu lehentasunezko sustantzi lez [Directive 2455/2001]. 98/83/EC erabakian [Directive 98/83/EC] ur kontsumoren kalitateari dagozkion muga balioak ezartzen dira bentzenoarentzako ( $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ), 4 PAH (Bentzo(*b*)fluorantenoa, Bentzo(*k*)fluorantenoa, Bentzo(*g,h,i*)perilenoa, Indeno(*1,2,3-cd*)pirenoa) taldearen batz bestekoarentzako ( $<0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  guztira), eta Bentzo(*a*)pirenoarentzako ( $0.01 \mu\text{g L}^{-1}$ ), gaur egun Euskadin indarrean dagoen 140/2003 aginteak edateko urei ezartzen zaien bezala [Real Decreto 140/2003]. Europar Batasuneko 2008/105/EC erabakian aldiz [Directive 2008/105/EC], sailkapena bi ataletan banatzen da, urteko batez bestekoa eta baimendutako kontzentrazio maximo bezala. Azken erabaki honen

arabera, orokorrean bentzo(a)pirenoarentzako baimendutako kontzentrazio maximoa  $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$  -ra igotzen da, eta 4 PAHen multzoaren kontzentrazio maximoa  $0.002\text{-}0.03 \mu\text{g L}^{-1}$ -ko bitartean ezartzen da.

Ur laginetatik PAHak erauzteko erreferentziatzko metodoak, likido-likido erauzketa (LLE) eta fase solidozko erauzketa (SPE) oinarritzen dira batez ere [Ross and Oros, 2004; Martínez *et al.*, 2004; Filipowska *et al.*, 2005, Poster *et al.*, 2006]. Barra xurgakor irabiatzaileen bidezko erauzketa (SBSE) eta fase solidoko mikroerauzketa (SPME) ohizko erauzketen aukera gisa erabiltzen ari dira. SPMEak ez du disolbatzaile bolumen handien beharra, eta zuzenean fase likidoan egin daiteke (DI), edota lagin likidoaren buru-gunean (HS) [Rawa-Adkonis *et al.*, 2006; Pawliszyn, 1997]. Buru-guneko erauzketa komenigarriagoa da matrize efektua ekidin nahi izatekotan, eta erauzketa denboraren murrizpena behar denean [Zhang and Pawliszyn, 1993].

Teknika hau (SPME), konposatu oso hegazkorren (VOC) eta erdi-hegazkorren (PCB, pestizida kloratuak, hidrokarbuo aromatiko polizikloak) erauzketetan aplikatua izan da ingurugiroko lagin ezberdinetan. Doong *et al.*-en lanean gas kromatografo bati lotutako garraren bidezko ionizazio detektagailua (GC-FID) erabili da SPME teknika aplikatu ostean 16 PAHen determinazioa egiteko ibaietako uretan. Doong-en beste lan batean ere pisu molekular handiko beste PAH batzuen determinazioa egin da ur eta lurretan [Doong *et al.*, 2000; Doong *et al.*, 2000]. Bi ikerketetan, erabilitako zuntza murgilduz, eta buru-gunean (HS) erabili da. Baldintza hauek ere King *et al.*-en lan batetan topa ditzakegu [King *et al.*, 2004a], baita Llompart eta kideen ikerketan [Llompart *et al.*, 2002], baina determinazioa SPME-GC-MS-rekin egiten da kasu honetan. Erabilitako zuntz mota aintzat edukitzeko aldagaia da. Kontutan hartzeko beste aldagai garrantzitsu bat erauzketa denbora da, izan ere oreka erdiesteko behar den denbora hidrokarbuoaren pisu molekularrarekin batera handitzen baita.

Asko dira buru-guneko fase solidoko mikroerauzketaren (HS-SPME) gainean eragiten duten aldagaiak, hala nola, zuntz mota, erauzketa denbora, erauzketa tenperatura, gatz inerteen adizioa, buru-guneko fase bolumena, eta desortzio baldintzak besteak beste [Beltran *et al.*, 2000]. Aldagaiak banaka kontutan hartzen dituzten betiko ikerketak [Djozan and Assadi, 1999; Doong *et al.*, 2000; Doong *et al.*, 2000] esperimentu kopuru handia behar dute eta hortaz lan eskerga eta denbora handia suposatzen dute. Kasu hauetan erantzunik hoberena bilatzen da erauzketa prozesuaren gainean eragiten duten aldagaien banakako azterketa



eginez. Zentzu honetan diseinu esperimentalak aukera interesgarria da, aldi berean aldagai ezberdinak aintzat hartzen baitituelako [Brereton *et al.*, 2003]. Lehenengo urrats batek sistema analitikoaren faktore esanguratsuenak determinatzen lagunduko du, halako behaketa bat non, eragin azpimarragarria ez duten aldagaiak zuzenean baztertuko dira. Lanerako baldintza hoberenak hurrengo urratsean lortzen dira, aurreko urratsean lortutako aldagai esanguratsuei aldibereko diseinuen aplikazioen emaitzak aztertu eta gero hain zuzen. Ikerketa askok hurbilketa interesgarri bat egiten dute zenbait kutsatzaile aromatikoaren azterketan [Salafranca *et al.*, 2003; Llompert *et al.*, 2002; Polo *et al.*, 2005], baina batek ere ez ditu azaltzen uretan PAHak HS-SPME bidez determinatzeko baldintza esperimentalak.

Diseinu esperimentalaren planteamenduak, hidrokarburo aromatiko poliziklo ezberdinen aldibereko determinazioa burutzeko beharrezkoak diren HS-SPME-aren baldintza esperimentalak optimizatzea du helburu. Lehenik eta behin diseinua ura bezalako matrize bakun batetik analitoak erauzteko prozesuaren optimizaziorako erabiliko da. Diseinu esperimentalak beraz denbora aurrezten lagunduko digu, saiakera kopuru gutxiagorekin aldagai adierazgarrienak determinatzen baitira.

Laburtuz, ikerketa honen xedea ekipamendu bakuna erabiliz (GC-FID-ari lotutako HS-SPME teknika) uretan dauden PAH-en ebaluaketa egin dezakeen miaketa metodo arin eta errez bat lortzea da. HS-SPME erauzketaren baldintza esperimental egokienak bilatzearen bi urrats nagusiz osatutako diseinu esperimental bat eraiki da. Hiru PAH, naftalenoa (NAF), antrazenoa (ANT) eta fluorantenoa (FLT), bi, hiru eta lau eraztun aromatikoaren ordezkari bezala hautatu dira, eta hiru analito hauek emandako erantzun orokorraz baliatuz emaitzen ebaluaketa egin da. Prozeduraren egokiera ur kutsatuetan egon daitezken beste zazpi PAH-tara (3 eta 4 eraztunekoak) zabaldu da: azenaftenoa (AZE), fluorenoa (FLU), azenaftilenoa (AZI), fenantrenoa (FEN), pirenoa (PIR), krisenoa (KRI) eta bentzo(a)antrazenoa (BaA). Optimizaturiko metodoa lagin errealetan aplikatu da, Gipuzkoako itsas, ibai eta ur lixibiatuetan.

## **1.2 Atal Esperimentala**

### **1.2.1 Ekipamendua**

Neurketa guztiak garraren bidezko ionizazio detektagailu bati lotuta (FID) (Agilent Technologies, Wilmington, AEB) eta banaketa injektore (*split-splitless*) batekin ekipatua dagoen HP 6890 gas kromatografo batekin aurrera eraman dira. Injekzio portua 0.75 mm-ko barne-diametroa duen injekzio ator batekin (*liner*) ekipatuta dago (Supelco), eta *splitless* moduan lan egiten du *split-splitless* balbula minutu batez zabalik egonik injekzioaren ostean. Injektore eta detektorearen tenperaturak 250°C eta 300°C-koak dira hurrenez hurren, eta helio gas garraiatzailearen fluxua 2.0 mL min<sup>-1</sup>-koa da. Banaketa kromatografikoa Supelco etxe komertzialeko EQUITY™ 5 kapilare zutabe batetan egin da (30m × 0.25mm i.d. × 0.25µm, %5 difenil-%95 dimetilpolisiloxanozkoa). Detektorea 300°C-ko tenperaturan egon da eta banaketarako erabilitako tenperatura-programa honako hau da: 40°C-an minutu batez mantendu, 20°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduran 220°C-ra eraman eta minutu batez mantendu, azkenik 40°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduran 300°C-ra eraman eta 9 minutuz mantendu. Datuen eskuratzea eta prozesatzea egiteko kromatografoari lotutako Chemstation softwarea (Agilent Technologies etxe komertzialekoa) daukan PC ordenagailu bat erabili da.

Erauzketak azkartzeko Heidolph MR 3003 irabiagailu magnetiko bat erabili da (Heidolph Elektro GmbH & Co KG, Kelheim, Alemania). Erauzketa aurretik, ur laginak 40 mL-ko anbar bialeetan sartu dira, Supelcon eskuratutako PTFE-ko septa eta haridun tapoiekin. Bial barruan, irabiaketa laguntzeko, tefloiaz estalitako 25 mm-ko barra magnetiko irabiagailuak jarri dira. Ondoren, bial hauek, tenperatura kontrolpean mantentzen duen LAUDA RE 104 bainu batean murgildu dira (Lauda, GmbH & Co.KG, Alemania), bainua bera irabiagailu gainean egonik. Erauzketa SPME zuntzak irabiagailuak sortutako zurrunbiloaren buru gunean (HS) eseki direnean hasi da. Analitoak fase urtsutik fase gaseosora, eta ondoren, fase solidora jauzi egin dute, zuntz hauetan aurrekontzentrazioa emanez.

Azkenik, STATISTICA® (StatSoft, Tulsa, AEB) ordenagailu programa erabili da matrize esperimentalen diseinua egiteko, baita emaitzen ebaluaketa eta datuen tratamendu estatistikoa burutzeko ere. Zentzu honetan metodoaren kalitate analitikoari buruzko informazioa lortu da, metodoa bera balioztatuz.

## 1.2.2 Erreaktiboak eta materialak

Fase solidoko mikroerauzketa (SPME) egiteko euskarriak erabili dira eta Supelco etxe komertzialeko (Sigma-Aldrich Química, Madril, Espainia) 100  $\mu\text{m}$ -ko lodiera duten polidimetilsiloxanozko (PDMS) eta 85  $\mu\text{m}$ -ko lodiera duten poliakrilatozko (PA) zuntz estaldurak. Zuntzak etxe komertzialaren araberako argibideei jarriki egokitu egin dira gas kromatografoaren injektorean. **1.1 Taulan** agertzen dira zuntz hauek egokitzeko jarraitutako argibideak.

1.1. Taula. Erabilitako SPME zuntzak egokitzeko eta erabiltzeko jarraibideak.

Zuntzak	Lodiera ( $\mu\text{m}$ )	pH	Temperatura maximoa ( $^{\circ}\text{C}$ )	Lan Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Egokitze Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Egokitze denbora (h)
PDMS	100	2-11	270	200-270	250	0.5
PA	85	2-11	320	220-300	280	1

PDMS: Polidimetilsiloxanoa; PA: Poliakrilatoa.

Erabilitako naftalenoa (%99.0), antrazenoa (%96.0), azenaftenoa (%95.0), fluorenoa (%90), fluorantenoa (%98.5), azenaftilenoa (%75), fenantrenoa (%98), pirenoa (%98) eta krisenoa (%98) Fluka (Buchs, Suitza) etxe komertzialekoak izan dira. Bentzo(a)antrazenoa (%98) Supelco (Bellefonte, PA, AEB) etxe komertzialekoa. Azetona (PA kalitatea) Panreac (Bartzelona, Espainia) etxe komertzialekoa. Bentzeno eta PAH ezberdinen disoluzio estandarrak azetonan prestatu dira (1000 mg L<sup>-1</sup> hasieran eta hortik diluzioak). Disoluzio hauek iluntasunean eta 4 $^{\circ}\text{C}$ -an mantendu dira, analito ezberdinen degradazioa edo galera saihestearren. Behar izan denean, kontzentrazio baxuagoko disoluzioak, aurreko patroik disoluzioetatik abiatuta prestatu dira.

## 1.2.3 Materialaren garbiketa

Ur laginak aztertzeko erabilitako materiala era metodikoan garbitu da, kutsadura arrasto guztiak eliminatzeko asmoz. 40 mL-ko topaziozko ontziak, tapoiak eta irabiagailu magnetikoak xaboi eta iturriko urarekin garbitu dira hasteko, ondoren ur birdistilatuarekin garbitu eta azkenik gau batez azetona bainu batetan utzi dira. Hurrengo egunean berriro

iturriko urarekin garbitu eta ondoren ur birdistilatuarekin berriro ere. Irabiagailu magnetikoak eta tapoiak 50°C-tan lehortu dira labean, eta topaziozko ontziak aldiz 350°C-tan muflan erabat sikatu dira. Giro tenperaturara hoztean, erabiltzeko prest egon dira materialak.

#### 1.2.4 Ur-laginen kokalekuak

Laginketa egin aurretik gasolina edota gasolioaren nahigabeko isurketak direla medio balizko kutsadura puntuen azterketa orokor bat egin da. Honen ostean, hamahiru laginketa-gune ezberdin aukeratu dira, haietariko sei ibai eta erreketan, lau kostaldean, eta beste hiru kutsaturiko lurren ur lixibatueta. Itsas laginak Gipuzkoako kostaldean zehar hartu dira, kirol portu eta itsas portuetan, hemen ustekabeko olio zein fuel isurketak eman baitaitezke. Ibai eta erreketan harturiko laginetan ere kutsadura iturburu ezberdin asko topa daitezke, etxeko hondakinak edota gasolindegia kasu. Azkenik, ur lixibatuak, kreosotaz trataturiko egur biltegi batetik, itxitako errauskailu batetik eta antzinako argindar gas fabrika batetik hartu dira. **1.1 Irudian** laginketa-gune guzti hauek adierazten dira.

Gipuzkoako ibai eta erreketan egindako laginketen kokalekuak zehatz-mehatz azaltzen dira ondoren:

**U1 kokalekua:** Donostian, Igara auzoan, Artikula erreka. Laginketa gune hau, industrigune, hiri eta bestelako kutsadura iturri puntuetatik urrun gelditzen den zonaldea da. Berez, kutsadura eza agerikoa behar litzateke puntu honetan. Zentzu honetan lagin puntu hau beste analisi guztien kontrolerako erabili da. **(1.2 Irudia)**

**U2 kokalekua:** Beasainen, Estanda ibaia. Estanda ibaiaren arroan gora, Ormaiztegi aldean emandako meatze ustiapenak, eta Beasainen bertan kokaturiko burdinolak, ibai honen ur kalitatea okertu dute. Aktibitate hauek direla medio, uretan metal astunen presentzia nabaria izan da, pentsa liteke PAHen kontzentrazio adierazgarriak topatzea ere. **(1.3 Irudia)**

**U3 kokalekua:** Legorretan, Oria ibaia. Laginketa gune hau gasolindegi baten parean kokatzen da. Nahigabeko isurketak, edota fuel gordailuetatik emandako irazteak, ura kutsatu dezakete. Goierri arroko ur emari ezberdinek ere euren ekarpena egiten diote azken puntu honetan Oria ibaiari. **(1.4 Irudia)**



1.1. Irudia. Laginketa-guneak eta gertuko herriak.

**U4 kokalekua:** Eibarren, Ego ibaia. Urteetan Debagoieneko arroko urek araztegitik pasa gabe aranean behera egin dute industrialde eta hiri hondakin guztiak jasoz. Etxe hondakinak zein industri astunaren kutsadura, Ego ibaia eta aurrerago Deba ibai bera ere, maila ikaragarrian kutsatu dute. Araztegi berrien eraikuntzak egoera hau apalduko dutela pentsatzen da. **(1.5 Irudia)**

**U5 kokalekua:** Elgoibarren, Deba ibaia. Deba ibaiaren arroan ere, Eibar baino apur bat beherago beste kontrol laginketa gune bat ezarri da. Goragoko kutsaduraz aparte, Elgoibarreko udalerrian dauden industrigune ezberdinek eta baita etxe hondakinak egindako ekarpenak neurtzeko asmoz. **(1.6 Irudia)**

**U6 kokalekua:** Azpeitian, Urola ibaia. Deba ibaia baino garbiagoa den arro hau, burdinola astunen kutsaduraren ekarpena jasan behar du Azkoitia eta Azpeitiako udalerrietan. PAHen presentzia aztertu da beraz, aktibitate hauek analito hauen presentzia maila adierazgarrietan bermatu baitezakete. **(1.7 Irudia)**

Itsasaldeko lau kokapenak ondoko hauek izan dira:

**U7 kokalekua:** Pasaiako Badian. Gipuzkoako industri eta merkatal portu handiena den hau, aktibitate ezberdinak jasaten ditu: itsasontzien joan etorria, metalen pilatzea, zentral termiko bat, errepide nagusien gertutasuna etab. Kutsadura iturri ezberdin asko pairatzen ditu zonaldeak, eta bertako urak ez dira salbuespena. **(1.8 Irudia)**

**U8 kokalekua:** Donostia kirol-portuan. Lagintze puntu honetan itsasontzi txiki eta ertainen joan etorri handia ematen da. Gasolindegia txiki bat ere bertan kokatzen da. Motorretatik zein gasolindegitik eman daitezkeen nahigabeko isurketen eragina aztertu dira. **(1.9 Irudia)**

**U9 kokalekua:** Getariako arrain-portuan. Kokaleku honetan ematen den itsasontzi handien joan etorria nabaria da. Aktibitate honek inguruko kutsadurari egindako ekarpena aztertu da ere. **(1.10 Irudia)**

**U10 kokalekua:** Getariako kirol-portuan. Donostiako kirol-portuan bezala, itsasontzi txiki eta ertainen joan etorri handia ematen da hemen. Motorretatik eta gasolindegitik eman daitezkeen isurketak kaiaren ur kalitatea hondatu dezakete. **(1.11 Irudia)**

Lixibatuak berriz puntu hauetan hartu dira:

**U11 kokalekua:** Donostia, Oriamendiko kreosotaz trataturiko egur biltegian. Kreosota hidrokarburo aromatiko polizikloz osaturiko egur babesle bat da, eta meteorizazioaren bidez, egur ezpala txikiak aska daitezke, lurra joz eta azkenik ur lixibatuaren bidez inguruko zonaldeak kutsatu daitezkeelarik. **(1.12 Irudia)**

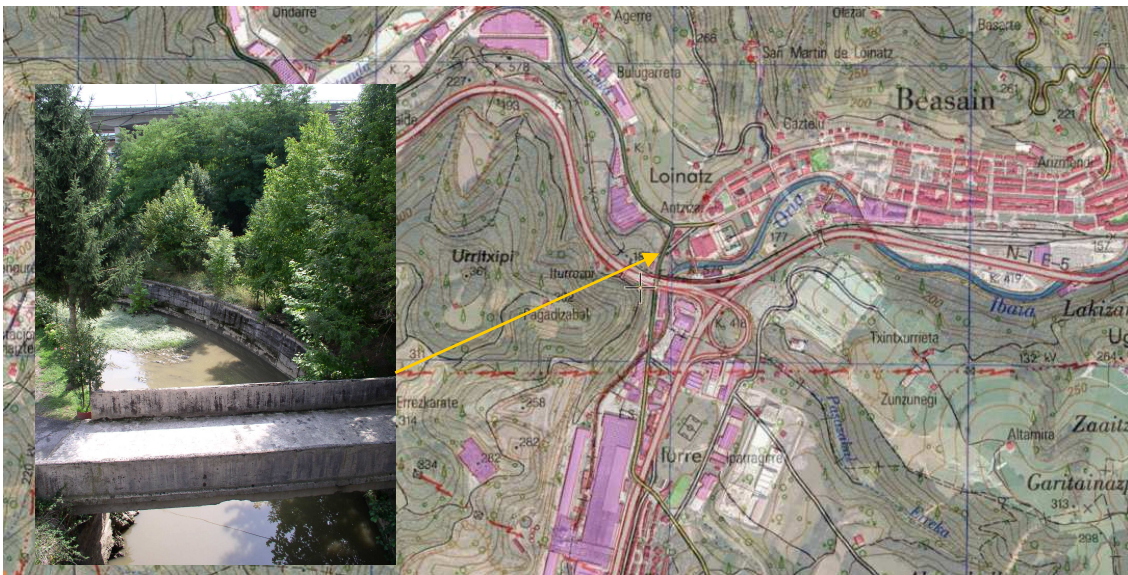
**U12 kokalekua:** Arrasateko Akei errauskailu zaharrea. Inguru honetan urteetan Arrasate udalerriko zarama eta hondakinak metatu eta erre egin ziren Akei errauskailuan. Errausen kudeaketa txarra dela medio, inguruko lur eta urak kutsatu ziren, eta gaur egun kontrolpean daude. Lur kutsatuetatik askatutako ur lixibatuak direla medio PAHen presentzia ematea posible da. **(1.13 Irudia)**

**U13 kokalekua:** Donostiako Amara auzoko gasifikadora zaharrea. Gasifikadora honek Donostiako argi indarra sortzen zuen ikatz eta gas errekontzatatik abiatuz. Sortutako hondakinen kudeaketa txarra dela medio, inguruko ur eta lurak kutsatu ziren. Lur hauetatik eratorritako ur lixibatuak oraindik PAHen kontzentrazio handiak ager dezakete. **(1.14 Irudia)**





1.2. Irudia. U1 kokalekua. Artikula errekastoa, Igara/Donostia.

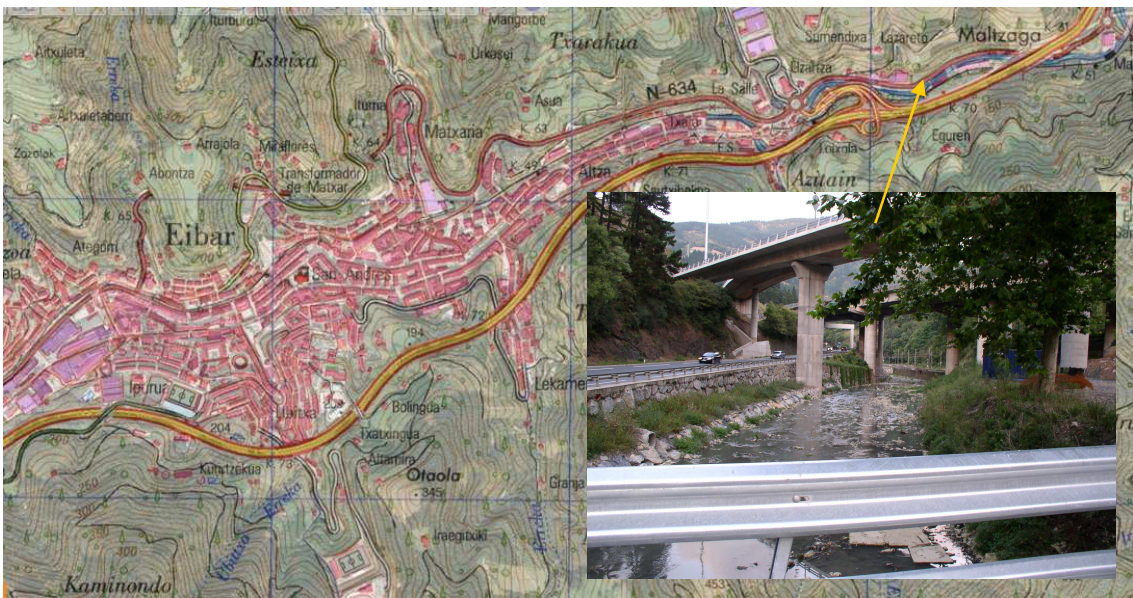


1.3. Irudia. U2 kokalekua, Estanda ibaia, Beasain.





1.4. Irudia. U3 kokalekua, Oria ibaia, Legorreta, Gasolindegi atzean.



1.5. Irudia. U4 kokalekua, Ego ibaia, Eibar.



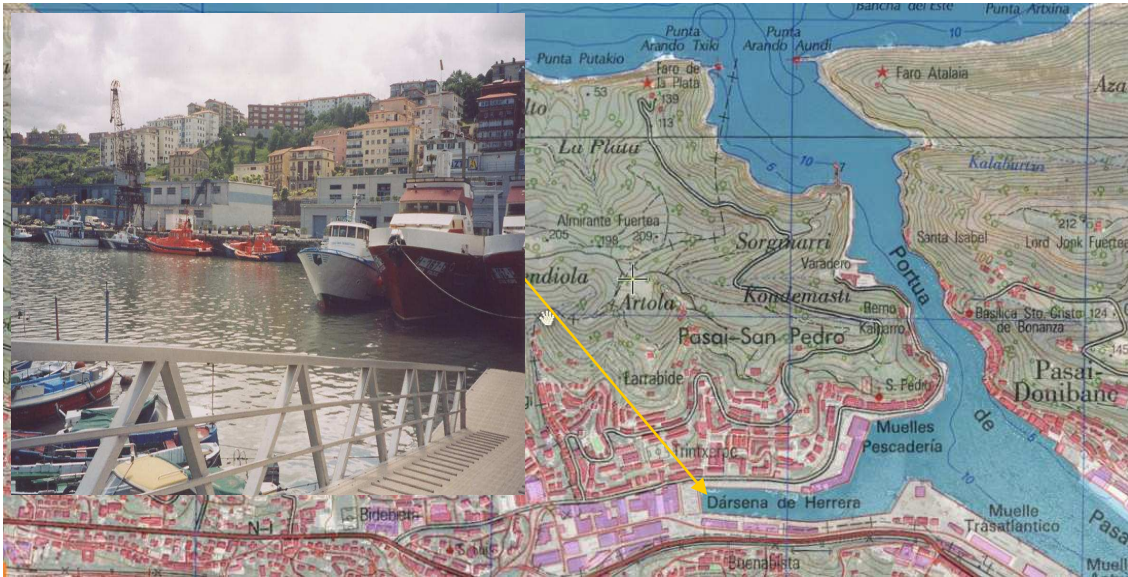


1.6. Irudia. U5 kokalekua, Deba ibaia (Altzola auzoa), Elgoibar.



1.7. Irudia. U6 kokalekua, Urola ibaia, Azpeitia.





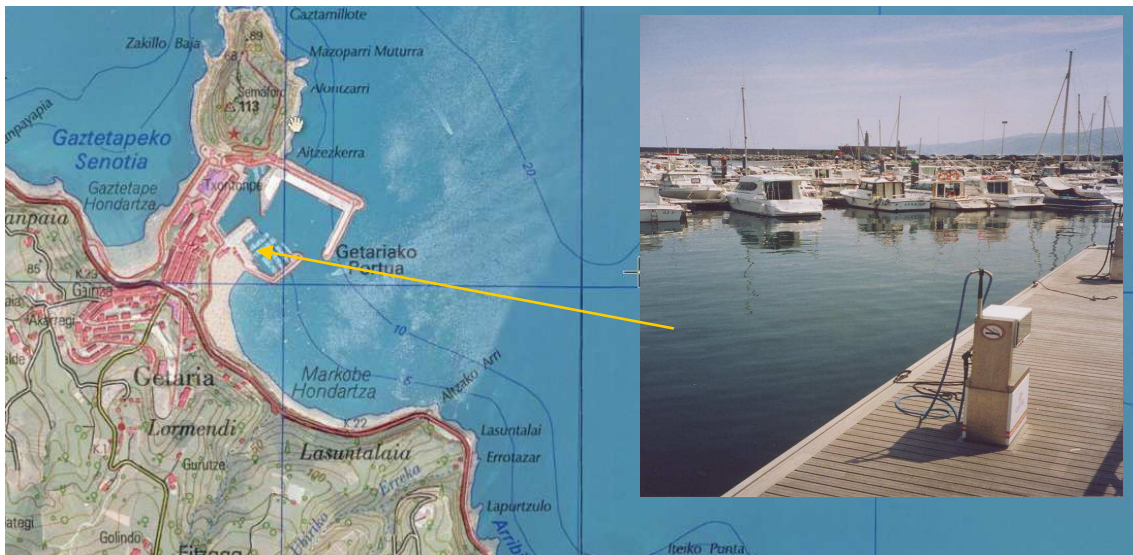
1.8. Irudia. U7 kokalekua, Herrera/Hospitalilloko kaia, Pasaiaiko Badia.



1.9. Irudia. U8 kokalekua, Donostiako kirol-portua.



1.10. Irudia. U9 kokalekua, Getariako arrain-portua.

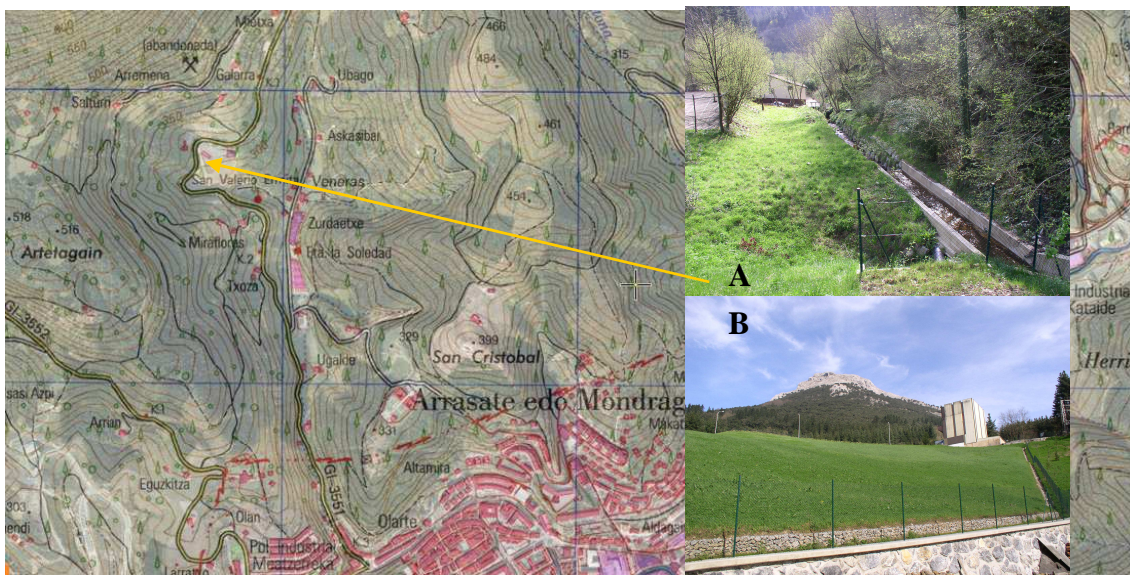


1.11. Irudia. U10 kokalekua, Getariako kirol-portua.



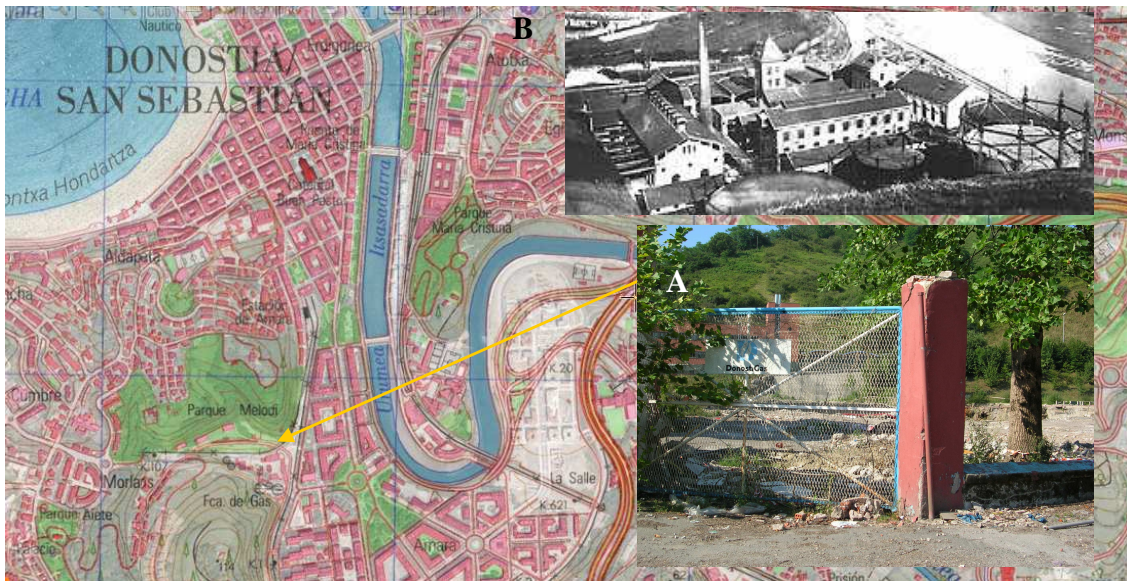


1.12. Irudia. U11 kokalekua, Oriamendiko kreosotaz trataturiko egur biltegia, Donostian.



1.13. Irudia. a) U12 kokalekua, Akei errauskailu zaharraren solairuan.  
b) Akei errauskailu zaharra, Arrasate.





1.14. Irudia. a) U13 kokalekua Amara auzoko gasifikadora zaharra.  
b) Gasifikadora zaharraren argazkia (1908. urtea), Donostia.

### 1.2.5 Laginen ezaugarriak eta aurretratamendua

Laginketa-gune berean (*in situ*) zenbait parametro ezberdin neurtu dira aurretiaz laborategian kalibraturiko eraman-ekartzeko tresneriarekin. Neurtutako parametroak eta neurketa unitateak honako hauek izan dira: uraren tenperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), eroankortasuna ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ), disolbaturiko oxigenoa ( $\text{mg L}^{-1}$  eta %) eta pHa. Laginketa-gune bakoitzean egindako neurketa guztien datuak **1.2 Taulan** adierazita datoz.

Konduktibitatea neurtzeko Scharlau Science etxe komertzialeko HI 8733 konduktimetroa erabili da. Uretan oxigenoaren kontzentrazioa momentuan determinatzeko Yellow Springs Instrument etxe komertzialeko YSI-55 *dissolved oxygen* aparatua erabili da, aldi berean uraren tenperatura neurtzeko aukera ematen duena (Yellow Springs Instrument, Ohio, AEB).

Datu hauek ikertu ezker, pHaren balioa maila normaletan dagoela ikusi daiteke, 7.4 – 8.4 bitartean, hain zuzen. Udako hilabetei dagokien bezala, ur-tenperaturak altuak izan dira. Azkenik, eroankortasuna, balio altuagoak eman zituen itsas laginetan ibai laginetan baino, disolbaturiko gatz kopuru handiagoak dela medio. Zenbait gunek disolbaturiko oxigeno kantitate baxua erakusten dute, honen arrazoiak ibaietara isurtzen diren hondakin organikoko bolumen handietan bilatu behar da, hauen oxidazio edo degradaziorako behar den oxigeno

eskaria handia izaten baita. Kostaldeko gune guztietatik, disolbaturiko oxigenoari dagokionez, egoerarik okerrera U7 kokapenak erakusten du. Gune hau Pasaiako badiaren mutur batetan kokatuta dago, ur-berriztapena erraztasunez ematen ez den kokapena, eta beraz hondakinak metatzen diren lekua. U11, U12 eta U13 kokalekuetan egindako laginketetan ez dira parametro hauek neurtu, izan ere lixibaturiko ur hauen emaria eta kantitatea ez baitu baimentzen parametro hauek neurtzeko tresneria egoki erabiltzea.

1.2. Taula. Ikerturiko ur-laginen temperatura, eroankortasuna, pH eta disolbaturiko oxigenoaren emaitzak.

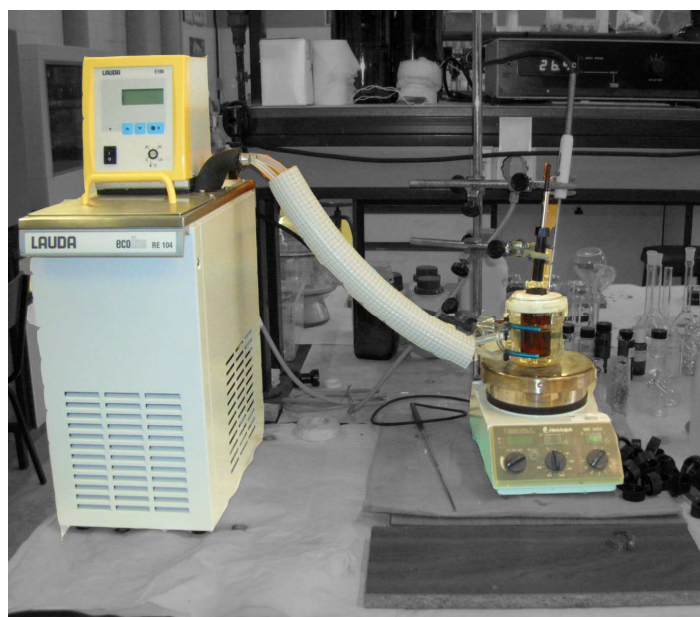
Kokalekuak	Temperatura (°C)	Eroankortasuna ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	pH	Disolbaturiko oxigenoa ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Disolbaturiko oxigenoa (%)
U1	16.6	430	7.92	8.5	88.4
U2	14.0	648	8.18	9.3	89.6
U3	21.1	548	7.74	3.2	35.0
U4	20.1	660	8.22	1.6	18.0
U5	18.0	651	8.05	4.2	62.0
U6	19.7	421	7.72	8.8	98.0
U7	21.5	25000	8.16	3.9	56.1
U8	21.5	38100	8.26	6.6	96.0.
U9	24.0	51400	8.32	6.4	94.1
U10	23.9	52800	8.27	5.1	76.1

Laginketa zein laginen garraioan ondoko neurriak hartu dira: aurretiaz arduraz garbituriko beirazko ontzietan jaso dira laginak, plastikoarekin kontaktu guztia ekidinez, aluminioz estalitako tapak erabiliz, gero hozkailuetan laborategiraino eramanez. Laginen analisisia biltze-egunean bertan egin da, eta egun berean ezin izan denean ahalik eta azkarren. Laginketa eta analisiaren arteko epe-muga 48 ordukoa izan da. Kutsadura arriskua kontrolatzeko, ur birdistilatuz osatutako lagin zuria gehitu da laginketa prozesuari, lagin errealean baldintza berdinetan mantenduz. Lixibatuen kasuan, esekiduran dagoen materiala ez da kendu, izan ere erauzketa buru-gunean ematen denez matrizearen eragina desagertzen da.

### 1.2.6 Uretan aurki daitezkeen PAHen HS-SPME-ren bidezko determinazioa

PAHen aurrekontzentrazioa burutzeko Buru-Guneko Fase Solidoko Mikroerauzketa (HS-SPME) metodoa proposatu da. Bi fasetan, aplikaturiko diseinu esperimentaletik abiatuta, lorturiko analito ezberdinen aldibereko determinaziorako prozedura optimizatua honako hau da:

Laginen edota lagin gehi estandarren 20 mL, 40 mL-tako saiodi barruan ipini dira, barruan tefloiez babesturiko 25 mm luzerako barra magnetiko irabiagailua dagoelarik. Ontziek politetrafluoroetilenozko (PTFE) atorra duen silikonazko *septum*-a dute. Analitoen erauzketa buru-gunekoa izan da, iman irabiagailuak sortzen duen zurrumbilo barruan 85 $\mu$ m lodierako PA-zko zuntza esekiz. Laginak 1000 rpm-tara irabiatu dira eta erauzketak 50°C-tan 60 minutuz luzatu dira. **1.15 Irudian** ikus daiteke erabilitako muntaia uretan dauden PAHen erauzketa burutzeko. Analitoak fase urtsutik, gaseosora, eta ondoren solidora jauzi eta aurrekontzentratu direnean, zuntza atzera gorde da orratzean, eta hau gas kromatografoaren injekzio portuan ziztatu da, analitoak termikoki desorbatu direlarik 2 minutuz 250°C-tan, banaketarik gabe, *splitless* moduan. Ez da inongo soberakinik igarri saiakeraren ostean SPME zuntza zuzenean berriro ziztatuz, honek desortzioa egokia eta erabatekoa dela adierazten digu, oroimen-efekturik gabe.



1.15. Irudia. Laborategian PAHen erauzketa prozesurako HS-SPME muntaia.

PAH ezberdinen kuantifikazioa egiteko adizio estandarra erabili da. Disoluzio estandarrek 5 eta 20  $\mu\text{g L}^{-1}$  bitarteko kontzentrazioak izan dituzte. Ikerketan zehar zuri-aren analisiak egin dira, kutsadura ematekotan hau identifikatzearren.

## **1.3 Emaitzak eta Eztabaida**

### **1.3.1 Diseinu esperimental**

HS-SPME metodoa optimizatzeko asmoz, prozesua bi urratsetan burutu da. Lehenengoan (miaketa, araketa), diseinu faktorial zatikatu bat erabili ostean, erauzketa eta aurrekontzentrazioari dagozkion aldagai esanguratsuenak antzematea lortu da. Bigarrenean (optimizazioa), aldagai hauen erantzun optimoa bilatu da diseinu zentral konposatu batekin (CCD). Bi, hiru eta lau eraztun aromatikoko PAHen ordezkari lez, naftalenoa, antrazenoa eta fluorantenoa hautatu dira. Hiru analito hauen kontzentrazioa 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ -koa izan da optimizazio prozesu osoan zehar.

#### 1.3.1.1 Diseinu faktorial zatikatua

Mikroerauzketa prozesuaren gainean eragiten duten faktore ezberdinen eragina ebaluatzeko, diseinu faktorial zatikatu bat proposatu da. Beste ikerlari batzuen lan eskarmentuan oinarrituz [Peñalver *et al.*, 1999; Arambarri *et al.*, 2004; Alpendurada, 2000; Stalikas *et al.*, 2009], eta laborategiko esperientzia kontutan hartuz, sei aldagai ezberdin aukeratu dira ikerketa eremua definitzeko. Zuntz mota, sodio kloruro gatz kontzentrazioa uretan, disoluzio bolumena, erauzketa tenperatura, erauzketa denbora eta desortzio denbora izan dira kontutan harturiko aldagaiak. Zuntz mota aldagai kualitatiboa da, beste bostak aldagai kuantitatiboak diren bitartean.

Diseinuan erabilitako zuntzak, (1) 100  $\mu\text{m}$ -ko PDMS eta (2) 85  $\mu\text{m}$ -ko PA zuntzak izan dira. Sodio kloruro gatz kontzentrazioa 0-tik 200  $\text{g L}^{-1}$ -ko bitartean aztertu da. Gatz inerteen adizioa soluzioaren indar ionikoa handitzen du, eta konposatu ezberdinen disolbagarritasuna txikitu, faseen arteko jauzia erraztuz [Beltran *et al.*, 2000]. Disoluzioaren bolumena, buru-  
guneko bolumenaren alderantzizkoa alegia, 10 eta 30 mL artean aztertu da. Aldagai hau garrantzitsua da, bere eragina handia baita analito ezberdinen oreka egoera ur fase, fase hegazkor eta fase solidoaren artean aztertzerakoan. Erauzketa tenperatura 20 eta 50°C



bitartean aztertu da, eta erauzketa denbora buru-gunean 20 eta 60 minutu bitartean. Azken bi aldagai hauek eragin zuzena dute zuntzak erauzi dezakeen analito kantitatearekin. Azken aldagaia desortzio denbora da, 2 eta 5 minutu bitartean aztertu delarik. Sei aldagai hauek, eta maila altu zein baxuen balioak, **1.3 Taulan** adierazi dira.

$2^{6-2}$  diseinu faktorial zatikatua aplikatu da. Diseinu mota honekin denbora asko aurrezten da, diseinu faktorial osoak 64 saiakuntza ezberdin behar baditu ( $2^6$ ), honek 16 bakarrik behar ditu eta. Diseinu mota honek eskaintzen duen bereizmena IVkoa da, ez baititu nahasten efektu printzipalak eta bi faktoreen arteko interakzioak beste batekin. Puntu zentralerako beste lau saio gehitu zaizkio diseinuari. Aldagai kuantitatiboetan, erdiko puntua dagokion heinaren batz bestekoa da; aldagai kualitatiboetan aldiz, saio bakoitza bikoiztu egin da (1) PDMS eta (2) PA zuntz ezberdinentzako. Eraikitako matrize diseinu formatuak beraz, 20 saio ezberdin dauzka guztira, eta **1.3** eta **1.4 Tauletan** laburbiltzen da. Saiakuntzak ausaz egin dira, bestelako faktoreen eragina ekiditeko. Aintzat hartutako hiru PAHen erantzunak (hautazko gailur azalera unitateetan) **1.4 Taulan** jaso dira.

*1.3. Taula.  $2^{6-2}$  Diseinu faktorial zatikatuan, aldagai esperimentalak eta mailak, uretan naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren HS-SPME-ren bidezko determinaziorako.*

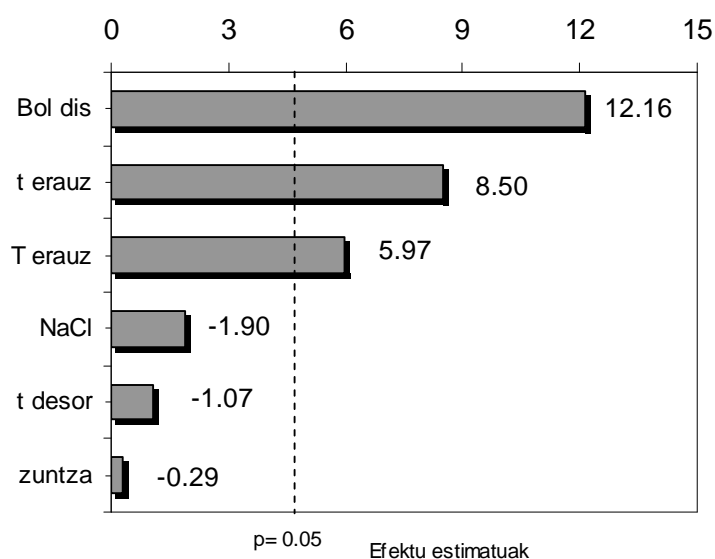
Aldagaiak	Kodigoa	Maila	
		Baxua	Altua
Zuntz mota	Zuntza	(1) PDMS	(2) PA
NaCl gatz kontzentrazioa ( $\text{g L}^{-1}$ )	NaCl	0	200
Erauzketa tenperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_{\text{erauz}}$	20	50
Erauzketa denbora (min)	$t_{\text{erauz}}$	20	60
Desortzio denbora (min)	$t_{\text{desor}}$	2	5
Disoluzio bolumena (mL)	$\text{Bol}_{\text{dis}}$	10	30

1.4. Taula.  $2^{6-2}$  Diseinu faktorial zatikatuan, diseinu matrizea eta hautazko azalera unitateetan lorturiko emaitzak, uretan naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren HS-SPME-ren bidezko determinaziorako.

Saiakera	Zuntza	NaCl	T <sub>erauz</sub>	t <sub>erauz</sub>	t <sub>desor</sub>	Bol <sub>dis</sub>	NAF	ANT	FLT	ΣPAH
1	1	0	20	20	2	10	2901	242	348	3491
2	1	0	20	60	2	30	987	886	1374	3247
3	2	200	20	60	2	10	1817	604	821	3242
4	2	200	20	20	2	30	597	32	65	694
5	2	0	50	60	2	10	476	3144	6287	9907
6	2	0	50	20	2	30	27900	6425	3525	37850
7	1	200	50	20	2	10	2428	978	1505	4911
8	1	200	50	60	2	30	15200	12800	25200	53200
9	2	0	20	20	5	10	720	148	337	1205
10	2	0	20	60	5	30	42600	1916	1977	46493
11	1	200	20	60	5	10	10500	795	849	12144
12	1	200	20	20	5	30	7908	276	230	8414
13	1	0	50	60	5	10	1413	3744	7630	12787
14	1	0	50	20	5	30	682	2646	2283	5611
15	2	200	50	20	5	10	656	1079	2670	4405
16	2	200	50	60	5	30	461	2745	8521	11727
17(z)	1	100	35	40	3.5	20	3359	956	1166	5481
18(z)	2	100	35	40	3.5	20	678	414	929	2021
19(z)	1	100	35	40	3.5	20	5791	2020	2541	10352
20(z)	2	100	35	40	3.5	20	632	489	1057	2178

(z): Puntu Zentrala

Aldagaien arteko elkarrekintza kontutan hartuz, bariantzaren analisisia egin da (ANOVA) efektu nagusien ebaluaketa egiteko. Grafikoki begiztatzeko STATISTICA<sup>®</sup> programak Pareto grafikoak eraikitzeo aukera ematen du, **1.16 Irudian** agertzen den moduan. Grafiko honetan eraginen balioak azaltzen dira (balio absolutuan) aldagai bakoitzarentzako. Irudi honetan lerro bertikal bat gehitu da, konfiantzaren %95-eko tarteari dagokiona. Lerro hau gainditzen duten balioak esanguratsuak bezala hartzen dira %95-eko konfiantzapean. Eraginen zeinua, erantzunean handitze (+) edo txikitze (-) bat adierazten du, aldagaietan balio baxu batetik handira pasatzerakoan. Pareto grafiko hau kontutan hartuz, argi esan daiteke aldagai adierazgarrienak disoluzio bolumena, erauzketa tenperatura eta erauzketa denbora direla. Beste aldagaiak ez adierazgarriak izanik, honako lan baldintzak hautatu dira: 0 g L<sup>-1</sup> gatz, bi minutu desortzio denbora eta 2 zenbakia duen zuntza (PA). PA zuntzaren aukera arrazoi teknikoengatik egin da, izan ere PDMS zuntza baino desortzio tenperatura altuagoa jasaten du, eta horrek pisu molekular handiko PAHen desortzioa ziurtatuko du [Eisert and Levsen, 1996].



1.16. Irudia. Eragin nagusien PARETO grafikoa, 2<sup>6-2</sup> diseinu faktorial zatikatutik lortuta, naftalenoa, antrazenoa eta fluorantenoaren determinazioan emaitza orokorrentzako.

### 1.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD)

Aurreko urratsean lorturiko hiru aldagai esanguratsuen baldintza esperimental egokienak definitzeko optimizazio pausu berri bat burutu da. Hiru aldagaiak kontutan hartuz diseinu konposatu zentral bat (CCD) planifikatu da, maila baxu, erdi eta altuak definituz: 15 – 20 – 25 mL buru-gune bolumenarentzako; 35 – 45 – 55 °C erauzketa tenperaturarentzako; eta 45 – 60 – 75 minutu erauzketa deborarentzako. Aldagaiak eta euren balioak **1.5 Taulan** bildu dira. CCDa, diseinu faktorialak ematen dizkizun puntuetan ( $2^N$ ) eta  $(2N + 1)$  “izar puntuen” gehipenean datza, N aldagai kopurua izanik. Ikerketa honetan  $2^3$  gehi  $(2 \times 3 + 1)$  izar puntu hartu dira kontutan (izar puntuak aldagaiei ezarritako mailak baino apur bat harago doazen puntuak dira). Izar puntuak ikerketa eremuaren zentrotik  $+\alpha$  eta  $-\alpha$ -era kokatu dira. Errotabilitate baldintza finkatzearen  $\alpha$  distantzia axialari 1.68 balioa eman zaio. Diseinua puntu zentralako hiru saiakera gehiagorekin osatu da. Horrela, diseinuak 18 saiakuntza ezberdin izan ditu azkenik. Saiakuntzak ausaz burutu dira, eta bakoitza hiruna aldiz egin da lagin independenteekin. Saiakuntza independente bakoitzeko balioen batez besteko data (gailur azaleran) **1.6 Taulan** bilduta dago. Taula honen azkeneko zutabean datorren hiru analitoen azalaren batuketa erabili da CCDaren emaitzen ebaluaketa egiteko.

STATISTICA<sup>®</sup> programak erabilitako eredua diseinu konposatu zentral estandarra (CCDa) eraikitzeko, bigarren mailako polinomioa da. Lorturiko erregresio koefizienteak, menpeko aldagaien ( $\Sigma$  PAH) auresandako balioak kalkulatzeko erabili dira. **1.17 Irudian** CCD diseinuaren emaitzak 3-D grafikoki adierazita ikus daitezke, erantzuna (azalera osoa) erauzketa tenperatura eta buru-guneko bolumenaren funtzioan (a) alde batetik, eta bestetik erantzuna erauzketa denbora eta tenperaturaren funtzioan (b). Buru-guneko bolumena aztertu ezkerre argi ikusi daiteke emaitzarik onenak bolumena 20 mL denean lortzen direla (saiodia 40 mL-koa izanik, bolumenaren erdia alegia). Kondizio hau ere beste lan batzuetan lortu da, dialkil eterrak eta BTEX-en determinazioan HS-SPME moduan [Arambarri *et al.*, 2004]. Honek zentzua dauka izan ere, analitoak fase likidotik fase hegazkorrera jauzi egiterako orduan, esperimentu honetan egindako muntaian, 20 mL-ko bolumenarekin saiodi barruan sortutako zurrunbiloak espazio egokia sortzen baitu zuntzaren kokapenerako. Tenperaturari dagokionez erantzun hoberena 50°C inguruan ematen da, eta azkenik, erauzketa denborari dagokionez, zenbat eta denbora luzeagoz erauzten utzi, orduan eta emaitza hobetoak lortu dira, maximoa lortu gabe.

Metodoa miaketa prozedura bat bezala kontsideratu dugunez hasieratik, eta arrazoi praktikoak kontutan hartuz, erauzketa denbora 60 minututan ezarri da. Denbora hau konposatuen galera adierazgarria eman gabe, emaitza kuantitatiboak emango dituela kontsideratu da. Antzeko tenperatura (60°C) proposatu da uretan pisu molekular baxuko PAHen (60°C) eta pisu molekular altuko PAHen (80°C) analisirako [Doong *et al.*, 2000]. Aurreko lan honetan oreka ez da lortu PAH guztientzako erauzketa 540 minutura heldu ez den arte. Horren denbora luzea ez da batere praktikoa, miaketa metodo bat garatzen ari garela kontutan hartuz. Beste lan batzuen arabera, zuntzaren esposizioa 45 minutuz luzatu ezker, erantzun optimoa lortzeko denbora nahiko dela adierazten dute [King *et al.*, 2004a]. Beste batzuetan ordea, nahiz eta erantzun optimoa 90 minututan eman, 30 minutuekin konformatzen dira, errutinazko analisiak egiteko orekara iristea behar ez delako [Negrão and Alpendurada, 1998].

1.5. Taula. Diseinu konposatu zentralerako (CCD) aldagai esperimentalak eta mailak, uretan naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren HS-SPME-ren bidezko determinaziorako.

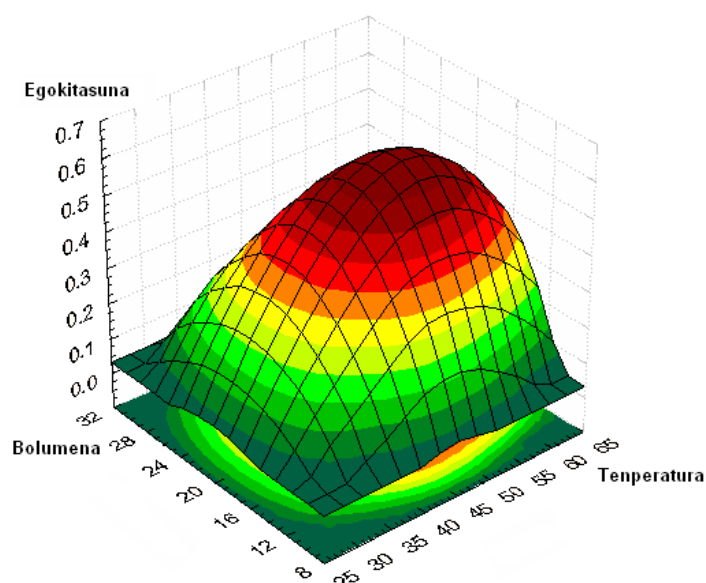
Aldagaia	Kodigoa	Maila		
		Baxua	Erdikoa	Altua
Disoluzio bolumena (mL)	Bol <sub>dis</sub>	15	20	25
Erauzketa tenperatura (°C)	T <sub>erauz</sub>	35	45	55
Erauzketa denbora (min)	t <sub>erauz</sub>	45	60	75

1.6. Taula. Diseinu konposatu zentralean (CCD) hautazko azalera unitateetan lorturiko emaitzak, naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren HS-SPME-ren bidezko determinaziorako uretan.

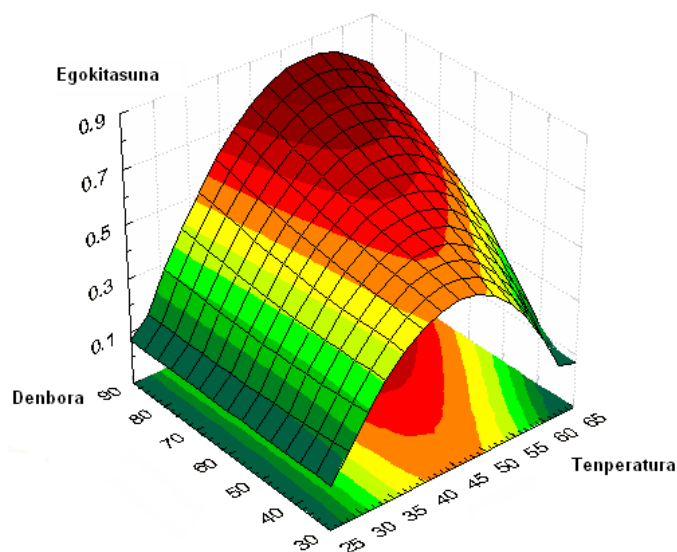
<b>Saiakera</b>	<b>Bol<sub>dis</sub></b>	<b>T<sub>erauz</sub></b>	<b>t<sub>erauz</sub></b>	<b>NAF</b>	<b>ANT</b>	<b>FLT</b>	<b>ΣPAH</b>
1	15	35	45	712	836	1374	2922
2	25	35	75	705	1093	1940	3738
3	25	35	45	687	869	1605	3161
4	25	35	75	585	1151	2874	4610
5	15	55	45	873	4526	7263	12662
6	15	55	75	817	4449	8912	14178
7	25	55	45	789	4392	6448	11629
8	25	55	75	759	5111	10219	16089
9	20	28	60	766	582	1020	2368
10	20	60	60	449	2816	7057	10322
11	11	45	60	530	1757	2670	4957
12	28	45	60	486	2202	4526	7214
13	20	45	34	1336	3089	4772	9197
14	20	45	85	1071	3929	6860	11860
15(z)	20	45	60	1233	2529	3082	6844
16(z)	20	45	60	930	2851	4492	8273
17(z)	20	45	60	721	2279	4088	7088
18(z)	20	45	60	725	2373	4113	7211

(z): Puntu Zentrala

(a)



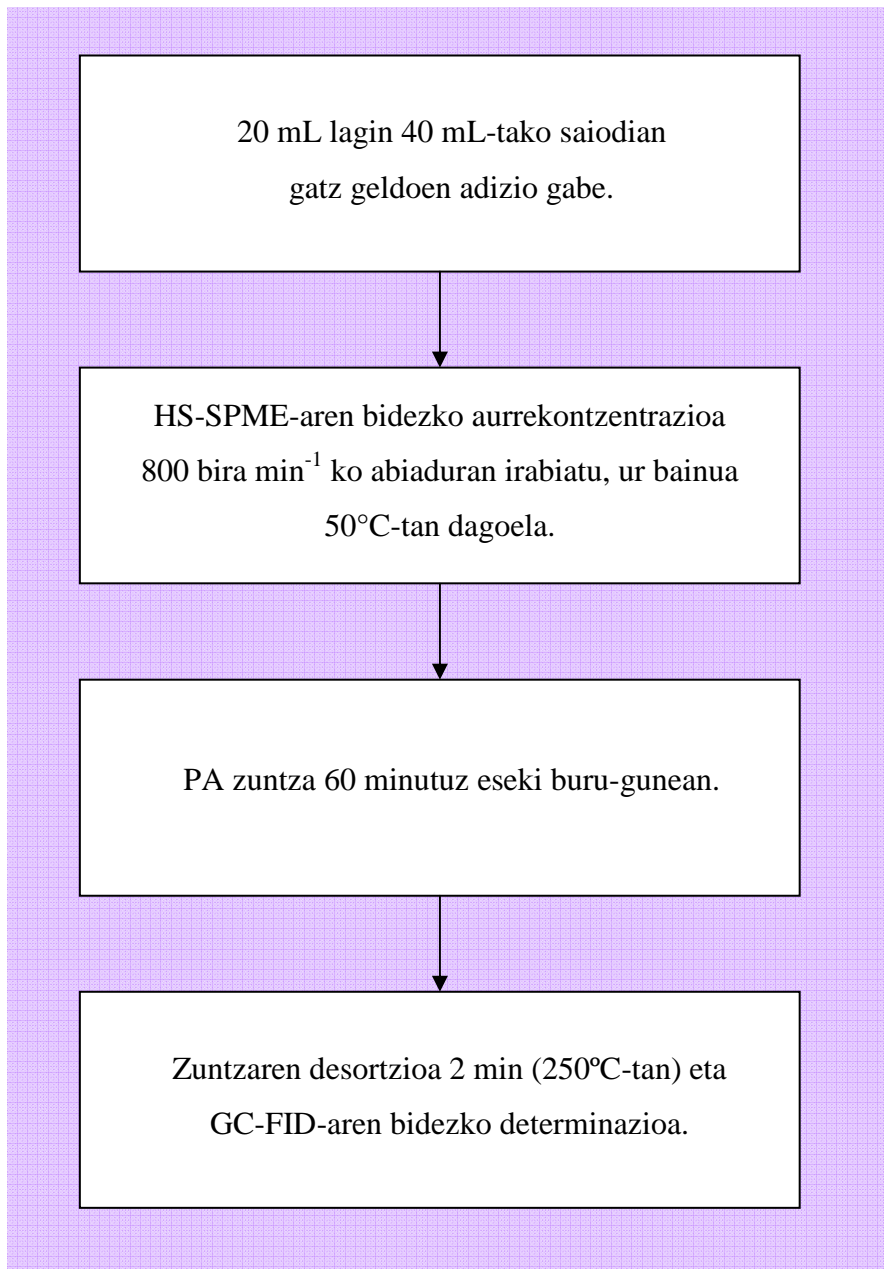
(b)



1.17. Irudia. Diseinuarekin (CCD) lorturiko erantzunen desiragarritasun gaizanalak: (a) Disoluzioaren bolumena vs. erauzketa temperatura. (b) Erauzketa denbora vs. erauzketa temperatura.

Laburtuz, hauek izan dira HS-SPME metodoarentzako aukeratutako lan baldintzak: 20 mL bolumena buru-gunean, 40 mL-tako saiodiekin, 50°C erauzketa temperatura, eta 60 minutu erauzketa denbora. Aurretik finkatutako aldagaiak: PA zuntza, gatz inertearen adizio eza, eta 2 minutuko zuntz desortzio denbora izan dira. Prozedura osoa eskema batetan laburtu da **1.18 Irudian**. Behin erauzketa metodoaren baldintza nagusiak definituta, ur kutsatuetan aurki

daitezkeen beste zazpi PAHtara azterketa zabaldu da. Helburua honako hamar PAHen aldibereko analisi eta kuantifikazioa egitea izan da: naftalenoa, antrazenoa, azenaftilenoa, azenaftenoa, fluorenoa, fluorantenoa, fenantrenoa, pirenoa, krisenoa eta bentzo(a)antrazenoa. Beste PAHen erantzuna, antzeko eraztun kopurua dutela kontutan izanda, eta antzeko hegazkortasuna adierazten dutela jakinik, naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren modukoa izango dela aurrez onartu da.



1.18. Irudia. Ur laginetan aldibereko PAH adierazgarrien erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko Ur-Bero-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra.



### 1.3.2 Ezaugarri analitikoak

Proposaturiko metodoaren kalitatea baieztatzeko, linealtasuna, errepikakortasuna, detekzio mugak eta zehaztasuna aztertu dira. Orokorrean emaitza onak lortu dira zentzu honetan, bentzo(*a*)antrazeno eta krisenoaren kasuan salbu, bi analito hauen banaketa kromatografikoa erabatekoa izatea ez delako lortu. Arazo hau zutabe kromatografikoaren zahartasunari egotzi dakioke, izan ere, ondorengo lanetan, zutabe berri batekin eginiko azterketa berrietan, banaketa egokia izatea lortu baita. Bi analito hauek beraz, ez dira azkenean azterketa honetan gehitu.

#### 1.3.2.1 Linealtasuna

HS-SPME metodoaren linealtasuna ebaluatzeko, kalibrazio lanak egin dira. Kalibratzaileko laginak kontzentrazio hein bitan prestatu dira, 10-100  $\mu\text{g L}^{-1}$  eta 100-1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  bitartean hain zuzen. Heineko bakoitzeko korrelazio koefizienteak ( $R^2$ ) **1.7** eta **1.8 Taulan** ikus daitezke. Aztertutako hamar PAHetatik zortzik, HS-SPME prozedurarako jokabide lineal ona erakutsi dute, esan bezala bentzo(*a*)pirenoa eta krisenoa ezin izan baitira kromatografikoki erabat banatu.  $R^2$ -ren balioak 0.9885-0.9995 bitartean egon dira kontzentrazio baxuko heinean, eta 0.9821-0.9987 bitartean kontzentrazio altuko bitartean. Lorturiko  $R^2$  balioak eta SPME murgiltze zuzenaren bidez eginiko beste ikerketa batzuetan lorturikoak antzekoak dira [Doong *et al.*, 2000].

#### 1.3.2.2 Errepikakortasuna

Errepikakortasuna, desbideratze estandar erlatiboa lez adierazia (DEE, %), egun berean analizaturiko kontzentrazio bereko ondoz ondoko sei lagin independenteen emaitzetatik lortu da. Analisi guztien emaitzen faktore bakarreko bariantza analisisia egin da (ANOVA) eta lortutako F balioak F kritikoa baino txikiagoak dira ( $F_{\text{krit}}=2,43 > F=0,06$ ). Emaitzen arabera ez dago ezberdintasun esanguratsurik egun berean egindako neurketa ezberdinen artean %95ko konfiantza mailan. Analito bakoitzeko 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  kontzentrazioak erabiliz aztertutako DEEak (%-tan) **1.9. Taulan** jaso dira. Lortutako DEE balioak kontzentrazio altuekin %10 baino txikiagoak izan dira beti, eta %6.8 eta %12.8 bitartean kontzentrazio baxuetarako. PDMS eta PA zuntzekin, eta zuntzaren murgiltze zuzen moduan lan egin duten ikerketek [Doong *et al.*, 2000; King *et al.*, 2004a] ere antzeko balioak lortzen dituzte.

1.7. Taula. HS-SPME-GF-FID metodoaren linealtasuna PAHen determinaziorako uretan 10-100  $\mu\text{g L}^{-1}$  bitartean.

Analitoak	Ekuzioak	R <sup>2</sup>
NAP	S = 4.0061 C + 8.76	0.9941
AZI	S = 12.759 C + 0.91	0.9929
AZE	S = 22.593 C + 27.16	0.9927
FLU	S = 27.773 C + 69.08	0.9915
FEN	S = 45.65 C + 291.22	0.9990
ANT	S = 48.905 C + 241.89	0.9995
FLT	S = 35.695 C + 364.28	0.9891
PIR	S = 34.479 C + 320.89	0.9885

B(a)A + KRI Ezin izan dira kromatografikoki banatu

S: Analitoaren seinalearen azalera; C: Analitoaren kontzentrazioa.

1.8. Taula. HS-SPME-GF-FID metodoaren linealtasuna PAHen determinaziorako uretan 100-1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  bitartean.

Analitoak	Ekuzioak	R <sup>2</sup>
NAP	S = 4.2998 C + 1.029	0.9986
AZI	S = 12.926 C + 145.2	0.9962
AZE	S = 23.393 C + 266.8	0.9960
FLU	S = 28.964 C + 271.65	0.9962
FEN	S = 46.204 C + 281.36	0.9987
ANT	S = 25.343 C + 4354.6	0.9821
FLT	S = 28.751 C + 1583.1	0.9969
PIR	S = 25.859 C + 1897.3	0.9962

B(a)A + KRI Ezin izan dira kromatografikoki banatu

S: Analitoaren seinalearen azalera; C: Analitoaren kontzentrazioa.

1.9. Taula. HS-SPME-GF-FID metodoaren errepikakortasuna eta detekzio mugak PAHen determinaziorako uretan.

Analitoak	DEE (%) 50 µg L <sup>-1</sup> n = 6	DEE (%) 500 µg L <sup>-1</sup> n = 6	DM (µg L <sup>-1</sup> )
NAP	9.6	4.8	0.20
AZI	8.3	3.2	0.17
AZE	10.5	3.1	0.11
FLU	12.8	3.3	0.15
FEN	10.1	5.2	0.09
ANT	6.8	4.0	0.08
FLT	11.4	7.3	0.14
PIR	11.0	7.4	0.13
<b>KRI + B(a)A</b>	Ezin izan dira kromatografikoki banatu		

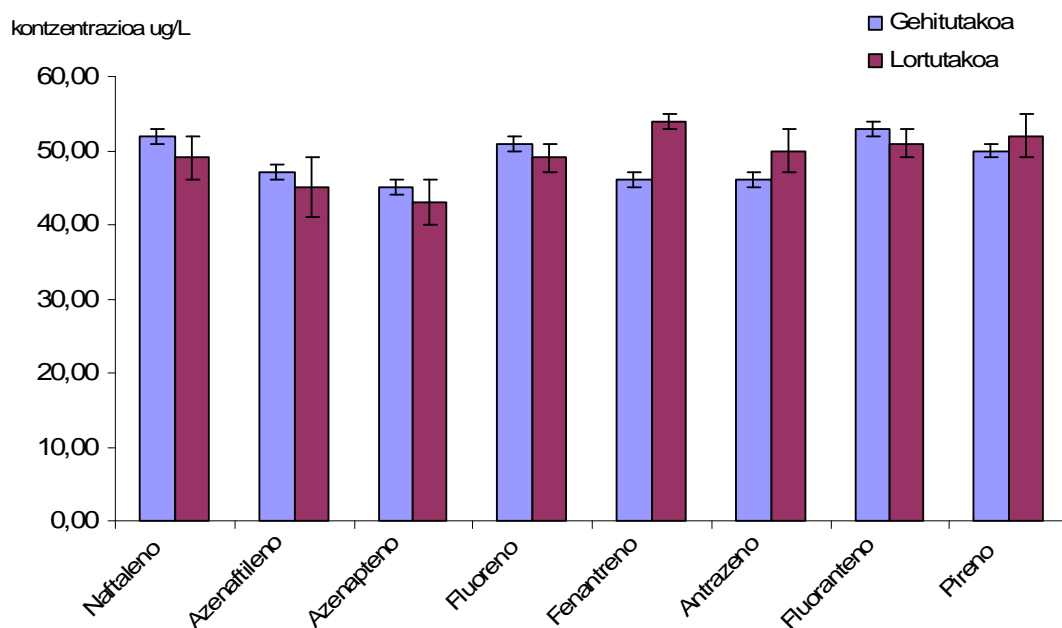
### 1.3.2.3 Detekzio mugak

Detekzio-muga (DM) zuriaren seinalea gehi hiru aldiz horren desbideratze estandarra bezala definitu da [Miller and Miller, 2002] gailur kromatografikoa detektatu denean analitoaren erretentzio denboran (ikus **1.9 Taula**). Lorturiko detekzio mugen balioak (0.08–0.20 µg L<sup>-1</sup> bitartean), DI-SPME eta GC-FID metodoak erabili duten beste ikerketa batzuekin parekatuz antzekoak dira [Doong *et al.*, 2000], eta altuagoak GC-MS ekipamendua erabiltzen duten ikerketekin [King *et al.*, 2004a; Doong and Lin, 2004] alderatu ezker. Detekzio muga hauek, konfiantza tarte zabalarekin baimenduko lukete erdi-go mailako kontzentrazioak dituzten PAHak desberdintzea ur laginetan.

### 1.3.2.4 Zehaztasuna

Metodoaren zehaztasuna aztertzeko erreferentziako material zertifikaturik ezin izan da eskuratu, ondorioz hurrengo hurbilketa egin da. Birdistilatutako ur gainean azterturiko PAH ezberdinen kantitate ezagunak gehitu dira, 50 µg L<sup>-1</sup> ingurukoak. Horrela, laginak

dauzkan analitoen kontzentrazioak, kalibrazio kurbekiko kalkulatu dira. Lortutako emaitzak **1.19 Irudian** ikus daitezke PAH guztientzako, kriseno eta bentzo(a)antrazenoa ezik, ezin izan baitira banatu kromatografikoki. Gehitutako PAHen kontzentrazioak eta balio teorikoen arteko diferentziak ez dira estatistikoki adierazgarriak (%95ko konfiantza mailan), fenantrenoaren kasuan ez ezik, nahiz eta kasu honetan ere gertu egon. Balio teorikoaren desbiderazio estandarra errorearen propagazioaren bidez kalkulatu da. Zentzu honetan optimizaturiko HS-SPME prozedura PAHak uretan determinatzeko, prozedura zehatza dela esan daiteke.



1.19. Irudia. Zehaztasunaren azterketan PAHentzako lortutako balio esperimental eta balio teorikoen arteko erkaketa, bataz bestekoaren desbiderazio estandarrekin.

### 1.3.3 Lagin errealen analisia

Hamahiru ur lagin ezberdin jaso eta analizatu egin dira optimizaturiko metodoarekin. Haietariko sei ibai eta erreka gainazal uretan, beste lau kirol zein arrain portuetako itsas uretan, eta beste hirurak kutsaturiko lur lixibatuetan. Laginketa ez da zorizkoa izan, laginketa gune guztiak kutsadura iturri batetik gertu daudelako.

PAHen kuantifikazioa adizio estandarren metodoarekin egin da [Ouyang and Pawliszyn, 2008]. Ikerketa honetan, lur kutsatuetako ur lixibatuetan besterik ez dira aurkitu PAHen kontzentrazio aipagarriak. Ur lixibatuak kreosotatutako egur biltegi batetan,

errauskailu zahar batetan eta gas faktoria batetan hartu dira. Lorturiko emaitzak **1.10 Taulan** bilduta daude. Bi salbuespenekin baino ez, ikerturiko beste PAH guztiak topatu dira analizaturiko laginetan. Nahiz eta bentzo(a)antrazenoaren eta krisenoaren arteko banaketa kromatografiko osoa ez den lortu, aldibereko determinazio eta kuantifikazioa egin da, hurbilpen honen bidez ideia adierazgarri bat izateko. Kontzentrazioarik altuenak, alde batetik pirenoak eman ditu egur biltegiaren ur lixibatuetan ( $13.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ) eta bestetik, naftalenoak gasifikadorako ur lixibatuetan ( $17.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Kokalekuaren arabera analizaturiko PAHen kopuru osoa  $5.7 - 75.5 \mu\text{g L}^{-1}$  bitartean egon da. Adibide bezala, kreosotatutako egur biltegitik hartutako ur lixibatuen kromatograma **1.20 Irudian** azaltzen da. A irudia jatorrizko lagina da eta B irudia berriz, jatorrizko lagina gehi  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ -ko adizio estandarrekin.

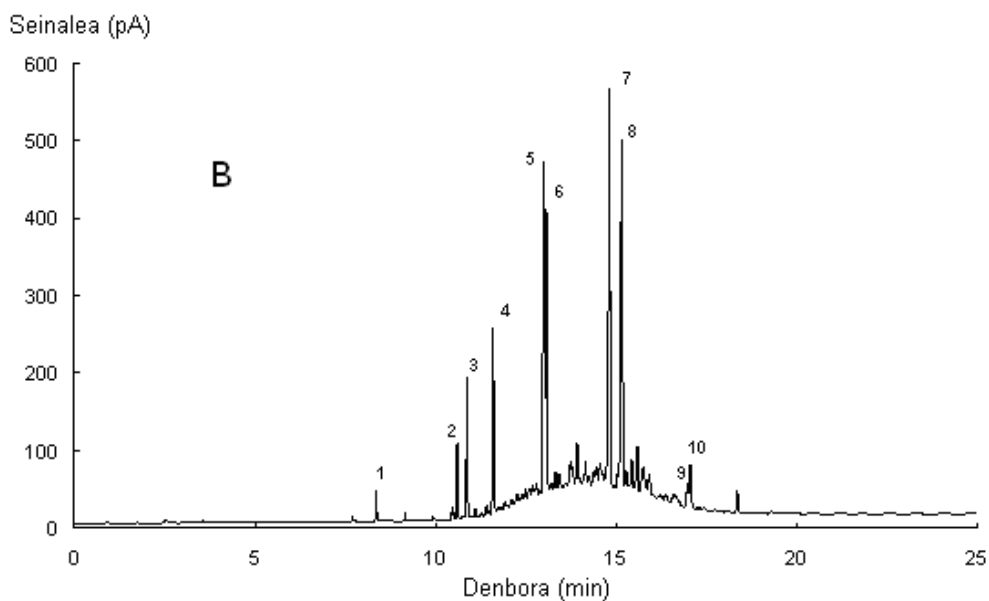
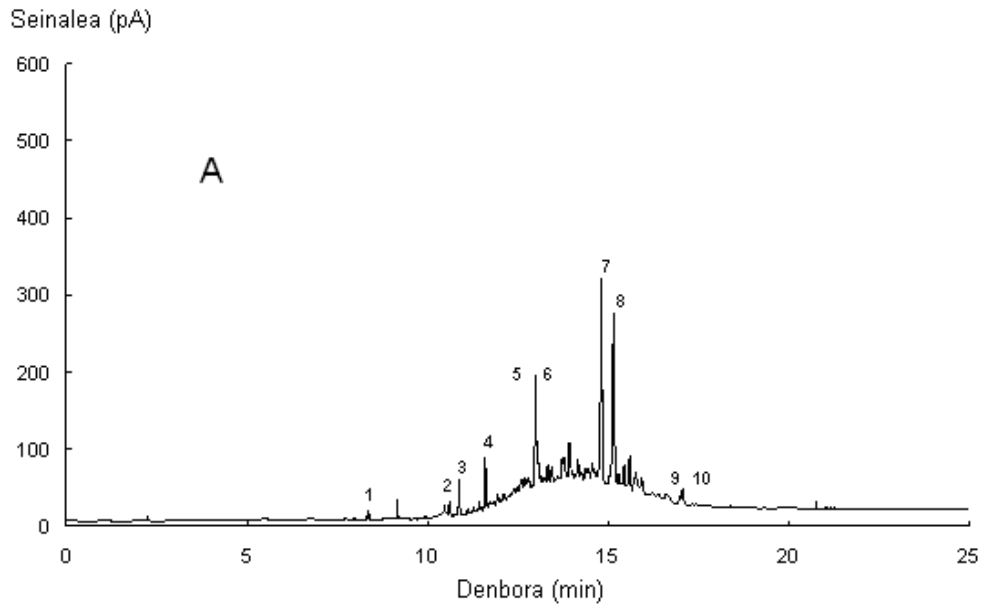
1.10. Taula. Kutsatutako lurren ur lixibatuetan determinaturiko PAHen kontzentrazioak ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Analitoak	Egur biltegia	Erraustegi zaharra	Gasifikadora
<b>NAP</b>	6.8	-	17.0
<b>AZI</b>	6.6	0.44	4.4
<b>AZE</b>	4.9	-	4.8
<b>FLU</b>	7.5	0.78	8.9
<b>FEN</b>	11.3	0.89	7.4
<b>ANT</b>	3.2	<D.M.	2.4
<b>FLT</b>	7.5	0.83	6.6
<b>PIR</b>	13.0	0.62	3.9
<b>KRI + B(a)A</b>	10.8	2.15	2.1
<b><math>\Sigma</math> PAHs</b>	75.5	5.71	57.5

<D.M.: Detekzio mugaren azpitik

Ur lixibatuen kasuan, esekiduran dauden lur eta egur zati txikiak ez dira baztertu, buru-guneko fase solidozko mikroerauzketaren bidezko aurrekontzentrazioak baimentzen duelako; eta aldi berean adizio estandarren metodoak matrize efektua gainditzen duelako. Zentzu honetan susma daiteke urak berak zenbait PAH disolbatuta dakarrela, edota gure

analisian ur beroketaren ondorioz esekiduran dauden material kutsatuetatik ur beroaren bitartez PAHak erazteak lortu dela.



1.20. Irudia. Kreosotatutako egur biltegitik lixibaturiko ur kutsatuen GC-FID kromatograma (A) adizio barik eta (B)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  estandar adizioarekin. Gailur esleipena: (1) Naftalenoa, (2) Azenaftilenoa, (3) Azenaftenoa, (4) Fluorenoa, (5) Fenantrenoa, (6) Antrazenoa, (7) Fluorantenoa, (8) Pirenoa, (9) Bentzo(a)antrazenoa, (10) Krisenoa.

Itsas zein ibaietako ur laginei dagokionez, gure ikerketan bezala, beste lan batzuetan, Bizkai Golkoko gainazaleko uretan adibidez, ez dira PAHen kontzentrazio adierazgarriak

aurkitu. Soilik nahigabeko isurketa handiak edota denboran zehar isurketa iraunkorrak jasan dituzten zonalde kutsatuak aurkezten dituzte horren PAH kontzentrazio maila adierazgarriak [Cortazar *et al.*, 2002]. Tonghui ibaian, Txinan [Zhang *et al.*, 2004], eta Brighton itsasoan, Erresuma Batuan [King *et al.*, 2004b], uretan agertzen diren PAHak 2 eta 3 eraztun aromatikoko konposatuak dira batez ere, eta balio maximoak PAHen kontzentrazio osorako (16 konposatu ezberdin kontutan hartuz)  $2.6 \mu\text{g L}^{-1}$ -koa eta  $11.4 \mu\text{g L}^{-1}$ -koa dira hurrenez hurren. Kutsadura astuna jasan duen beste zonalde bat adibidez, Minjiang ibaiko estuarioa, Txinan [Zhang *et al.*, 2004] PAHen kontzentrazioa  $9.9$  eta  $474 \mu\text{g L}^{-1}$  bitartean dago (ikus **1.11 Taula**). Hidrokarbuero aromatikokoak uretan daukaten disolbagarritasun baxua dela eta, lurzoru zein sedimentu bezalako beste matrizeetan metatzeko joera izaten dute (pisu molekular altuko PAHak) edo lurrundu eta airearekin nahasteko joera (pisu molekular baxuko PAHak).

Begi bistakoa da Eibarko Ego ibaia, edota Pasaia Badiako itsas urek ez dutela oso egoera osasuntsua erakusten. PAHen ekarpena zentzu honetan ez da oso handia emaitzak erakusten duten bezala. Segur aski beste motatako hondakin isurketa batzuek bideratu dutela kokapen hauen egoera tamalgarria, eta ez poliziklo aromatikoko hidrokarbueroen sorkuntzan erlazonaturiko aktibitateak, fuel edo gasolina errekontzak kasu, edota nahigabeko isurketak adibidez. Nahiz eta kontrol gabeko isurketak non-nahi topatu laginketa-guneetan (ibai zein kirol-portu ondoko gasolindegietan esate baterako), hauek ez dira behar bezain garrantzitsuak izan PAHen kontzentrazio nabarmenak ur hauetan bideratzeko. Agian eguneko baimendutako kontzentrazio maximoak gainditzen dituen neurketak egin litezke, baina urteko batez besteko PAH ezberdinen kontzentrazioen batez besteko adierazgarriak aurkitzea zaila da, honetarako isurketa kantitate oso handiak behar baitira. Euskadi eta Europar Batasunean indarrean dauden aginteen arabera ingurumen kalitate estandarrak **1.12 Taulan** agertzen diren bezala neurtzen dira gaur egun. Ikerketa honetan egindako analisietan, lixibatutako uretan soilik aurkitu dira PAH kontzentrazio adierazgarriak. Ur hauetan analizaturiko PAHak ez dira aginte hauetan kontutan hartzen gaur egun. Dena den, lortutako emaitzak adierazi lezakete pisu molekular handiagoko PAHen presentzia, aginte hauetan taulatzen diren PAHentzako adibidez. Aurrera begira, detekzio mugaz gainetiko sedimentu zein lurzoruetan PAHen kontzentrazio nabariak topatzea espero da, bizi iraupen luzea baitute konposatu hauek, eta matrize mota hauetan metatzeko joera baitute.

1.11. Taula. Uretan PAH ezberdinentzako determinatutako kontzentrazio ezberdinak mundu osoko zenbait lekuetan ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Analitoak	Gure ikerketa			Txina		Ingalaterra	Euskal Herria
	Egur biltegiko ur lixibatuak	Erraustegi zaharreko ur lixibatuak	Gasifikadorako ur lixibatuak	Tonghui ibaia	Minjiang ibaia	Brighton itsasoa	Bizkaiko golkoa
<b>NAP</b>	6.8	-	17.0	0.380	0.48	11.30	0.19
<b>AZI</b>	6.6	0.44	4.4	0.009	0.55	0.110	0.15
<b>AZE</b>	4.9	-	4.8	0.032	0.49	0.081	-
<b>FLU</b>	7.5	0.78	8.9	0.058	0.58	0.239	-
<b>FEN</b>	11.3	0.89	7.4	0.122	1.7	1.030	0.12
<b>ANT</b>	3.2	<D.M.	2.4	0.014	0.71	0.041	0.10
<b>FLT</b>	7.5	0.83	6.6	0.034	1.20	0.363	-
<b>PIR</b>	13.0	0.62	3.9	0.028	1.20	0.547	-
<b>KRI + B(a)A</b>	10.8	2.15	2.1	0.017	2.14	0.297	-

<D.M.: Detekzio mugaren azpitik



1.12. Taula. Uretan PAHentzako ingurumen kalitate estandarrak Euskadi eta Europako aginteen arabera ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).

Analitoak	Ingurumen kalitate estandarrak				
	Euskadin	AA-EQS (1)		MAC-EQS (3)	
Real Decreto	Barnealdeko gainazal	Bestelako gainazal	Barnealdeko gainazal	Bestelako gainazal	Bestelako gainazal
140/2003	urak (2)	urak	urak (2)	urak	urak
<b>Bentzo(b)fluorantenoa</b>	$\sum\text{PAH}<0.1$	$\sum = 0.03$	$\sum = 0.03$	Ez aplikagarria	Ez aplikagarria
<b>Bentzo(k)fluorantenoa</b>		-----			
<b>Bentzo(g,i,h)perilenoa</b>		$\sum = 0.002$	$\sum = 0.002$	Ez aplikagarria	Ez aplikagarria
<b>Indeno(1,2,3cd)pirenoa</b>					
<b>Bentzo(a)pirenoa</b>	0.01	0.5	0.5	0.1	0.1

(1) Parametro honek isomero ezberdinen kontzentrazio totalaren urte osoko batez bestekoa adierazten du.

(2) Barnealdeko gainazal urak, ibai, laku eta artifizialki eraturako ur bolumen handiak hartzen ditu.

(3) Parametro honek baimendutako kontzentrazio maximoa adierazten du. Ez aplikagarri bezala markatuta dauden balioak, urte osoko batz bestekoan dute babesa, izan ere isurketa txiki eta jarraituen aurrean muga honekin lan egingo baita.

## **1.4 Ondorioak**

**1.-** Ikerketa honek uretan pisu molekular baxu eta ertain PAHen determinazioa egiteko HS-SPME metodo bakun eta arina proposatzen du. Garatutako prozedura honekin denbora eta kostua aurrezten da, miaketa metodo egokia da hortaz. Analisi positiboak lortu ezkerro, aukera egongo litzateke sentikorragoak diren detektoreak erabiliz, MS kasu, berriro analizatu, eta laginean dauden PAHak determinatu eta kuantifikatzea. Metodoaren alde aipagarri bat ekipamenduaren samurtasuna izan da: PA zuntz bat erauzketa egiteko, ur bainua temperatura kontrolatzeko, eta gas kromatografoa FID detektoreari lotua besterik ez dira beharrezkoak. Metodoak uretan  $0.20 \mu\text{g L}^{-1}$  baino handiagoak diren kontzentrazioak determinatzea baimentzen du.

**2.-** Diseinu esperimentalaren erabilgarritasuna agerian utzi da HS-SPME metodoaren erauzketa baldintza egokienak saio kopuru zentzudun batetan bilatzerako orduan. Diseinuaren bidez metodoa optimizatzea lortu da STATISTICA<sup>®</sup> programak eraikitako matrize esperimentuarekin, aldagai bakoitza banan-banan aztertu beharrean, diseinu faktorial zatikatuak aldagai guztien eragina sistemaren gainean aldi berean aztertu ditu, baita aldagaien arteko elkarrekintzak ere.

**3.-** Gipuzkoako lagin errealean analisisiek adierazi dute, orokorrean, itsas zein ibai urek ez dutela PAHen kontzentrazio aipagarrikerik erakusten. Begi bistakoa da ur hauen osasun maila eskasa dela kasu askotan, baina kutsaduraren jatorria ezin dakioke PAHei egotzi.

**4.-** Metodoaren baliagarritasuna beste matrize likidoetan egiaztatu da lur kutsatuetako ur lixibatuekin. Lixibatuetatik abiatuz kutsatutako zonaldeen azterketa egiteko bidea zabaltzen du ikerketa honek, garatutako metodo hau erabilgarria izan baitaiteke PAHen banaketa eta kontzentrazioa ebaluatzerako orduan. Ur lixibatuen kutsadurak argi adierazten digu jatorrizko lur horietan PAHen kontzentrazioa altua izan behar duela derrigorrez. HS-SPME-ren bidezko tekniken bitartez lur hauen analisia egitea posiblea den edo ez burutu beharreko hurrengo urratsak izan dira.

## **1.5 Erreferentziak**

- Alpendurada M.F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 889:3-14.
- Arambarri I., Lasa M., Garcia R., Millán E. (2004). Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 1033: 198-203.
- Beltran J., López F.J., Hernández F. (2000) Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 885:389-404.
- Brereton R.G. (2003). *Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxebarria N., Fernández L.A. (2002). Multisimplex optimisation of the solid phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples. *Journal of Chromatography A*, 978:165-175.
- Directive 2008/105/EC on environmental quality standards in the field of water policy, O.J. L 348, 24.12.2008, 84-97.
- Directive 2455/2001/EC establishing the List of Priority Substances in the Field of Water Policy. O.J. L 331, 15.12.2001, 1-5.
- Directive 98/83/EC on the Quality of Water intended for Human Consumption. O.J. L 330, 5.12.1998, 32-54.
- Djozan D., Assady Y. (1999). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography. *Microchemical Journal*, 63:276-284.
- Doong R., Chang S., Sun Y. (2000). Solid-phase microextraction for determining the distribution of sixteen US EPA PAHs in water samples. *Journal of Chromatography A*, 879:177-182.
- Doong R., Lin Y. (2004). Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminations in surface sediment and water from Gaoping River, Taiwan. *Water Research*, 38:1733-1744.
- Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C. (2000). Solid-phase microextraction and headspace solid phase microextraction for the determination of high molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water and soil samples *Journal Chromatography Science*, 38: 528-534.

- Eisert R., Levsen K. (1996). Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A*, 733:143-157.
- Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons analysis in different matrices of the marine environment. *Analytical Chimica Acta*, 547:243–254.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2004a). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 523:259-267.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2004b) Dynamic behaviour of polycyclic aromatic hydrocarbons in Brighton marina, UK. *Marine Pollution Bulletin*, 48:229–239.
- Llompart M., Lourido M., Landin P., Garcia-Jares C., Cela R. (2002). Optimization of a derivatization-solid phase microextraction method for the analysis of thirty phenolic pollutants in water samples. *Journal of Chromatography A*, 963:137-148.
- Martínez E., Gros M., Lacorte S., Barceló D. (2004). Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and mussels. *Journal of Chromatography A*, 1047:181–188.
- Miller N.J., Miller J.C. (2002). *Estadística y Quimiometría para química analítica*. Pearson educación S.A. Madrid.
- Negrão M.R., Alpendurada M.F. (1998). Solvent-free method for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in waste water by solid-phase microextraction-high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 823:211-218.
- Ouyang G., Pawliszyn J. (2008). A critical review in calibration methods for solid phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 627: 184-187.
- Pawliszyn J. (1997). *Solid Phase-Microextraction: Theory and Practice*. Wiley-VCH, New York.
- Peñalver A, Pocurull E, Borrull F, Marcé R.M. (1999). Trend in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry, TrAC*, 18:557–568.
- Polo M., Llompart M., Garcia-Jares C., Cela R. (2005). Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, 1071:63-72.

Poster D.L., Schantz M.M., Sander L.C., Wise S.A. (2006). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386:859-881.

Rawa-Adkonis M, Wolska L., Namiesnik J. (2006). Analytical procedures for PAH and PCB determination in water samples - error sources. *Critical Review in Analytical Chemistry*, 36:63-72.

Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE 21.02.2003, num. 45, pag. 7228-7245.

Ross J.R.M., Oros D.R. (2004). Analytical procedures for PAH and PCB determination in water samples-Error sources. *Chemosphere*, 57:909-920.

Salafranca J., Domeño C., Fernández C., Nerín C. (2003). Experimental design applied to the determination of several contaminants in Duero River by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 47:257-267.

Stalikas C., Fiamegos Y., Sakkas V., Albanis T. (2009). Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction. *Journal of chromatography A*, 1216:175-189.

USEPA. United States Environmental Protection Agency.  
<http://www.epa.gov/waterscience/criteria/drinking/>

Zhang Z., Huang J., Yu G., Hong H. (2004). Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. *Environmental Pollution*, 130: 249-261.

Zhang Z., Pawliszyn J. (1993). Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 65:1843-1852.

Zhang Z.L., Hong H.S., Zhou J.L., Yu G. (2004). Phase association of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Minjiang River Estuary, China. *Science of the Total Environment*, 323:71-86.



## **2.KAPITULUA**

**GIPUZKOAKO LURRETAN HIDROKARBURO  
AROMATIKO POLIZIKLOEN DETERMINAZIORAKO,  
HS-SPME METODOEN GARAPENA ETA APLIKAZIOAK**





## **2.1 Sarrera**

Hidrokarburo aromatiko polizikloen determinazioa ingurugiro azterketetan, geroz eta garrantzi handiagoa hartu du azken hamarkadetan, euren efektu toxiko, kartzinogeniko eta mutagenikoak dela medio. Konposatu hauen jatorria errekuntza prozesuetan dago, azpiproduktu bezala ingurugirora heldu daitezke bertan metatuz. PAHak barreiatzeko eta kutsadura zabaltzeko biderik errazena garraio atmosferikoa da. Petrolioaren isurketa zuzenak ere kutsa dezakete ingurumena PAHekin. Zonaldearen ezaugarrien arabera, lur gainazaleko PAHak eurien laguntzarekin migratu dezakete, beste nonbaiten metatuz, edota lurrazpiko urak kutsatuz. Hala ere, beste kutsatze bide ezberdin batzuk ere topa daitezke, hala nola kreosotaz trataturiko materialen higadura, edota argindar gas faktoretatik erdi erretako hondarrak adibidez. Zentzu honetan, egindako ikerketa askotan PAHen maila ezberdinak topatu dira, hiri, herri eta industri guneeetan.

Amerikako Ingurugiroaren Babes Agentziak (USEPA) 16 PAH ezberdintzen ditu kutsatzaile arriskutsu bezala, eta haietariko batzuk potentzial kartzinogeno handia erakusten dute. 16 PAHak honako hauek dira: naftalenoa, azenaftilenoa, azenaftenoa, fluorenoa, fenantrenoa, antrazenoa, fluorantenoa, pirenoa, bentzo(*a*)antrazenoa, krisenoa, bentzo(*b*)fluorantenoa, bentzo(*k*)fluorantenoa, bentzo(*a*)pirenoa, indeno(*1,2,3,-c,d*)pirenoa, dibentzo(*a,h*)antrazenoa eta bentzo(*g,h,i*)perilenoa [USEPA].

Indarrean dagoen “lurzorua ez kutsatzeko eta kutsatutakoa garbitzeko” Euskadiko 1/2005 legean ere zenbait muga jartzen zaizkie PAHek lurretan, industri, hiri, aisia, parke eta

bestelako erabilerak dauzkaten lurretan aurkezten duten kontzentrazioei. Legeak helburu bikoitza du. Alde batetik, Autonomia Erkidegoan lurzorua babestea eta ekintza antropikoetatik ondorioztatutako kutsadura prebenitzea eta, bestetik, bere lurralde-esparruan kutsatutako eta aldatutako lurzoruei aplika dakiekeen erregimena ezartzea. PAH ezberdinen kontrola eramatea iradokitzen du lege honek, horrela, antrazeno, bentzo(a)pireno, fluoranteno, naftaleno, azenafteno, bentzo(a)antrazeno, fluorenoa, pireno, bentzo(b)fluoranteno, bentzo(k)fluoranteno, kriseno eta dibentzo(a)antrazeno PAHei mugak jartzen zaizkie tokian-toki lur motaren arabera [Legea 1/2005].

PAHak konposatu bezala dauzkaten produktuen artean kreosota aipatu behar da. Kreosota babesle organiko oliotsu bat da, hau eskuratzeko 900 eta 1200°C bitartean eraturako koke metalikotik, gas fabriketako erretoretatik, edota harrikatza bezalako ikatz oliotsuen errekuntzatik lortutako mundrunaren 200 eta 400°C bitarteko destilazioa egin behar da. Europar Batasuneko 2001/90/CE agintea indarrean dagoenetik, debekatuta dago erabat kreosotaren erabilpena egurraren tratamendurako, baita modu honetan tratatutako egurraren merkaturatzea, nahiz eta baldintza zehatz batzuetan kreosotaren erabilpena baimentzen den [Directive 2001/90/CE].

Agente kutsakorrek lurretatik erauztea ohiko teknika erabiliz desabantaila ezberdinak dauzka, hala nola, laginaren aurretratamenduaren kostu handia, laborategi poluzio arrisku altua, eta erauzte denbora luzeak. Konposatu organikoak ingurumen laginetan selektiboki determinatzeko eraginkorrak diren erauzketa eta aurre-kontzentrazio teknika berrien garapena garrantzi handia daukate gaur egun. Mota honetako analitoak matrize solido batetik erauztea soxhlet, mikrohuin eta ultrasoinu teknikak erabiliz lor daiteke [Berset *et al.*, 1999; Budzinski *et al.*, 1999; Bakker *et al.*, 2000; Crnkovic *et al.*, 2007; Agarwal T., 2009; Bu *et al.*, 2009; He *et al.*, 2009].

Azken hamarkada hauetan, laginaren aurretratamendua eta erauzketaren denbora laburtu, analitoaren berreskuratze zehaztasuna hobetu, eta disolbatzaile organikoen erabilera murriztu duten teknika berriak garatu dira. Fase solidoko mikroerauzketak (SPME) zenbait bereizgarri onuragarri dauzka beste metodo batzuekin alderatu ezker. Zentzu honetan alderdi nabarmen bi ditu: ez du disolbatzaile organikoen beharra erauzketa egiteko, eta zuzenean likido fasean (DI-SPME) egin daiteke edota iman irabiatzaile baten bidez lagin likidoan sortutako zurrunbiloaren buru-gunean (HS-SPME) egin daiteke ere [Pawliszyn, 1997;

**Llompарт et al., 1999; Cam et al., 2000; Eriksson et al., 2001; Fuster et al., 2005; Wang et al., 2009].**

Bi SPME estrategia ezberdin proposatu dira lurretatik PAHak erauzi eta aurrekontzentratzeko: bata erauzketa zuzena buru-gune moduan lur-ur nahaste beroaren gainean oinarritzen da, eta bestea aldiz, disolbatzaile organiko lagundutako ultrasoinu erauzketa ondoren alikuota bati aplikaturiko HS-SPME teknikan du oinarria. Buru-guneko erauzketa zuzena askotan erabili da konposatu organiko hegazkorak analizatzeko [**Doong et al., 2000; Doong and Liao, 2001; Ezquerro et al., 2004**]. Bestalde, ultrasoinu erauzketa disolbatzaileekin zenbait ingurumen lagin solidoetan aplikatu da [**Bouaid et al., 2001; Song et al., 2002; Ke et al., 2004; Chen et al., 2004**]. Gaur egun, erauzketa metodo berriak garatzen ari dira lurretan aurki daitezken PAHak eta PCBak aldibereko determinaziorako [**Wang et al., 2007; Martínez Vidal et al., 2009**].

HS-SPME teknika erabiltzerakoan, suerta dakiguen arazorik nagusiena erauzketa burutzeko prozesuarekin zerikusia duten aldagai kopuru handia da. Zentzu honetan, prozeduran operatzeko baldintzarik onenak ezartzeko hurbilketarik egokiena diseinu esperimentalak dela ikusi da. Diseinuaren lehenengo atala baheketa da, aldagai esanguratsuenak determinatu eta besteak baztertzea alegia. Bigarren urratsa aldiz, optimizazioa da, lehenengo urratsean esanguratsutzat hartutako aldagaiei neurri egokiak esleitu ahalik eta erantzun hobereana lortzeko [**Brereton, 2003; King et al., 2003; Cam et al., 2004**]. Ikerketa askotan teknika estatistikoak erabili dira lurrean kutsatzaile ezberdinen determinazio metodoak optimizatzeko [**Llompарт et al., 2002; Sun and Lee, 2003; Polo et al., 2005**].

Lagin solidoetan, matrize efektua dela eta, SPMEaren kalibrazioa burutzeko adizio estandarra erabiltzen da normalean [**Ouyang and Pawliszyn, 2008**]. Lurretatik PAHak erauzteak ez da uretatik erauzteak bezain erreza, lurraren atxiki efektua handiagoa da, PAHak erauzteko baldintza gogorragoak beharko ditugula aurre suposa daiteke. Arrazoi honegatik dopatutako lur bat erabili da diseinu esperimentalak eta optimizazio urratsa burutzeko, PAHentzako erauzketa aldagairik egokienak topatzearen. Ikuspuntu analitikotik, landa laginetan konposatu organikoen erauzketa eta determinazioa burutzeko gai diren metodo berrien garapena ezinbestekoa da. Erauzketa metodo berria balidatzeko erreferentziatzko material zertifikatua erabili da [**Nam et al., 2003; Criado et al., 2004; Morillo et al., 2008**].

Kapitulu honetan egindako ikerketaren helburua lurretan PAHen presentzia determinatzeko ahalezko miatze metodologia berri bat gauzatzea da. PAHen determinazioa egiteko bi metodo ezberdin proposatu eta ikertu dira, eta ondoren, behin optimizatu direla, euren artean erkatuko dira, lortutako emaitzen arabera, eta prozedura bakoitzaren berezitasunen arabera, bietako bat aukeratuko da Gipuzkoako leku ezberdinetatik hartutako lagin errealean analisisia egiteko.

## **2.2 Atal Esperimentala**

### **2.2.1 Ekipamendua**

Neurketa guztiak garraren bidezko ionizazio detektagailu bati lotuta (FID) eta banaketa injektore (*split-splitless*) batekin ekipatua dagoen HP 6890 gas kromatografo batekin (Agilent Technologies, Wilmington, AEB) aurrera eraman dira. Injekzio portua 0.75 mm-ko barne-diametroa duen injekzio estalki batekin ekipatuta dago (Supelco, Bellefonte, AEB), eta *splitless* moduan lan egiten du *split-splitless* balbula 3 minutu zabalik mantenduz injekzioaren ostean. Injektorearen tenperatura 250°C-koa izan da, eta bestetik, helio gas garraiatzailearen fluxua 2.0 mL min<sup>-1</sup>-koa izan da. Banaketa kromatografikoa EQUITY-5, 30m × 0.25mm × 0.25µm, %5 difenil - %95 dimetilpolisiloxanozko kapilare zutabe batetan eman da (Supelco, Bellefonte, AEB). Detektorearen tenperatura 300°C-koa da eta banaketarako erabilitako tenperatura-programa honako hau izan da: 40°C-tan minutu batez mantendu, 20°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduran 220°C-ra eraman eta minutu batez mantendu, azkenik 40°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduran 300°C-raino eraman eta 9 minutuz mantendu. Datuen eskuraketa eta prozesatzea egiteko kromatografoari lotutako Agilent Technologies-eko Chemstation softwarea daukan PC ordenagailu bat erabili da.

Erauzketak burutzeko irabiagailu magnetiko bat erabili da (Heidolph MR 3003, Elektro, Kelheim, Alemania), eta estaldura termostatikoa duen erreakzio ontzia LAUDA ecoline RE 104 termostatora konektatu da (E 100, GmbH & Co.KG, Lauda, Alemania) (Ikus **2.1 Irudia**). Erreakzio ontzi hauetan 40 mL-ko anbar saiodiak ipini dira, erauzketa burutzearren, Supelcon eskuratutako PTFE-silikonazko septa tapoiekin estaliz. Saiodi barruan, irabiaketa laguntzeko, tefloiez estalitako 25 mm luzerako (saiodiaren diametroa hain zuzen) barra magnetiko irabiatzaileak sartu dira. PAHen erauzketa lurrean errazteko tenperatura (90°C-raino) eta denbora (15 minuturaino) programagarriak dituen Fungisonic LU 5.7 (FUNGILAB S.A.

Bartzelona, Espainia) ultrasoinu bainua erabili da. Lurrean PAHen nahasketa egokirako HS-250 (IKA Laboratory Technology, Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen, Alemania) joan etorriko irabiagailu horizontala erabili da, baita Heidolph VV 2000 (Elektro, Kelheim, Alemania) errotabaporea. Centronic motako Selecta zentrifugagailua erabili da (Selecta, Bartzelona, Espainia) fase solidoak eta likidoak banatzeko. LECO CHNS-932 (LECO Corporation, St. Joseph, MI, AEB) mikroanalizadorea erabili da zenbait parametro inorganiko lurretan determinatzeko. STATISTICA<sup>®</sup> (StatSoft, Tulsa, AEB) ordenagailu programa erabili da matrize esperimentalen diseinua egiteko, eta datuen tratamendu estatistikoaren bidez emaitzen ebaluaketa egiteko ere.



2.1. Irudia. Lurretan HS-SPME-aren bidezko erauzketak egiteko ur-termostatoa eta lagin irabiatzailea.

### 2.2.2 Erreaktiboak eta materialak

Erabilitako naftalenoa (%99), antrazenoa (%96), azenaftenoa (%95), azenaftilenoa (%75), fluorenoa (%90), fenantrenoa (%98), fluorantenoa (%98,5), pirenoa (%98), eta krisenoa (%98) Fluka (Sigma-Aldrich Química, Madrid, Espainia) etxe komertzialekoak dira. Bentzo(a)antrazenoa (%98), fase solidozko mikroerauzketa egiteko euskarriak (SPME), lagin saiodiak (25 mm-zko barne diametro eta 40 mL, anbar beira), PTFE-silikonazko septak eta 100  $\mu\text{m}$ -ko lodiera duten polidimetilsiloxanozko (PDMS) eta 85  $\mu\text{m}$ -ko lodiera duten poliakrilatozko (PA) zuntz estaldurak Supelco etxe komertzialekoak (Bellefonte, PA, AEB)

erabili dira. Zuntzak etxe komertzialaren araberako argibideei jarriki egokitu egin dira gas kromatografoaren injektorean (**2.1 Taulan** agertzen dira zuntz hauek egokitzeko jarraibideak).

2.1. Taula. Erabilitako SPME zuntzak egokitzeko eta erabiltzeko jarraibideak.

Zuntza	Lodiera (µm)	pH	Temp maximoa (°C)	Gomendatutako Temp (°C)	Egokitzeko Temp (°C)	Egokitzeko denbora (h)
PDMS	100	2-11	270	200-270	250	0.5
PA	85	2-11	320	220-300	280	1

PDMS: Polidimetilsiloxanoa

PA: Poliakrilatoa

Hidrogeno peroxidoa, azido sulfurikoa (%96.0, PA kalitatea) eta azetona (PA kalitatea) Panreac (Bartzelona, Espainia) etxe komertzialekoak izan dira. HPLC kalitateko metanola Chromasolv (Sigma-Aldrich Química, Madrid, Espainia) etxe komertzialekoa izan da. Sodio kloruroa Merck (%98, Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania) etxe komertzialekoa da. Laborategian erabilitako ura birdistilatua izan da. PAH ezberdinen disoluzio estandarrak (1000 mg L<sup>-1</sup>) azetonan prestatu dira, eta 4°C-tan hozkailuan, eta iluntasunean gorde dira, analito ezberdinen degradazioa edo galera saihestearren. Kontzentrazio baxuagoko disoluzioak behar izan direnean, aurreko estandar disoluzioetatik abiatuta prestatu dira.

Prozedura analitikoak optimizatzeko eta balioztatzeko RTC-CRM-123-100, “BNA’s in soil” erreferentziako materiala erabili da. Erreferentziako material ziurtatua Resource Technology Corporation RTC-koa da (Laramie, WY, AEB) eta LGC Promochem (Barcelona, Espainia) etxe komertzialaren bitartez eskuratu da. Material hau Amerikako mendebaldeko estatuetan bildutako PAHeekin kutsatutako lurrez osatuta dago.

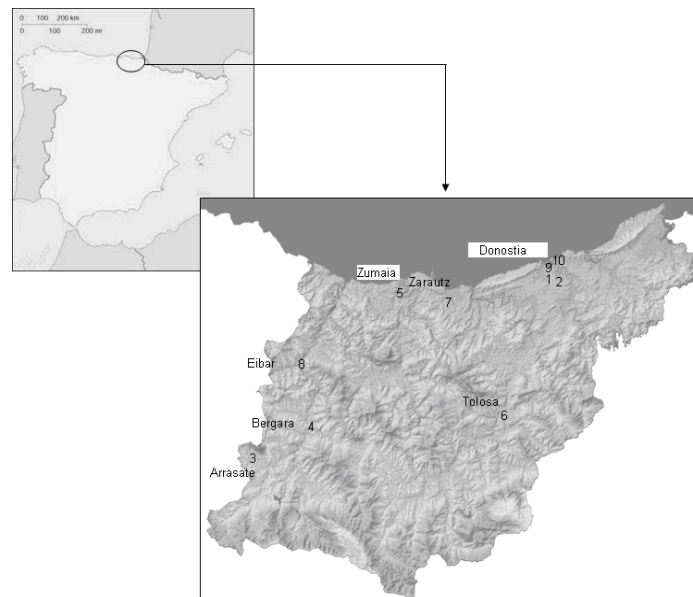
### 2.2.3 Materialaren garbiketa

Lur laginak aztertzeko erabilitako materiala egoki garbitu behar izan da, kutsadura arrasto guztiak baztertzeko asmoz. 40 mL-ko anbar saiodiak eta tapoiak xaboi eta iturriko urarekin garbitu eta ondo lauskitu dira hasteko, ondoren 24 orduz disoluzio alkalino batetan (%5) murgildu dira, gero iturriko urarekin berriro garbitu eta 12 orduz azido nitriko (%5) disoluzioan lagatzeko, xaboi arrastoak kentzearren. Tapoiak 50°C-tan lehortu dira labean eta saiodiak aldiz 4 orduz 350°C-tan muflan erabat sikatu arte utzi dira (PAH erdi-hegazkor

guztien desagerpena ziurtatuz). Imanei dagokionez, lehenengo eta behin ur eta xaboiarekin ondo garbitu eta lauskitu dira. Iturriko urarekin garbitu ondoren, hauspeakin ontzi batetan sartuko dira eta ur oxigenatuarekin estali, ostean azido sulfurikoa apurka gehituko da, irabiatuz, eta erreakzioaren indarra galdu arte bertan utziko dira (ordu bat gutxi gorabehera). Ur birdistilatuekin garbitu eta 50°C-tan lehortu dira labean. Material guztia azetonarekin (PA) garbitu eta berriro sikatu da labean 50°C-tan. Materiala giro tenperaturara hoztean, erabiltzeko prest egon da.

#### 2.2.4 Laginketa-guneak

Laginketa egin aurretik PAHeekin kutsatuta egon daitezkeen zonaldeak non topatu ikertu da: hala nola, gas fabrika zaharrak edota errauskailuak, errepide handien ondoko lur eremuak, edo urte askotan kreosotaz (egurraren babeserako zenbait agente organiko hegazkorrez osaturiko konposatu oliotsua, burdinbideetan erabilia batez ere, minbizi eragilea) trataturiko egurren bilketarako erabili diren lur sailak. Lur lagin guztiak Gipuzkoako lurraldean hartu dira. Guztira lur azaleko (0-10 cm sakonera) hamar lagin ezberdin bildu dira. **2.2 Irudian** laginketa-gune guzti hauek adierazten dira. Laginketen kokalekuak hauek izan dira zehatz-mehatz:



2.2. Irudia. Lur gainazaleko laginketa guneak eta gertuko herriak.

**Igo eta 2. kokalekuak.** Oriamendin (**2.3 Irudia**) bi puntu ezberdinetan hartu dira laginak: kreosotatutako egur oholak zuzenean metatzen diren lursailean (Oriamendi-2) eta lur

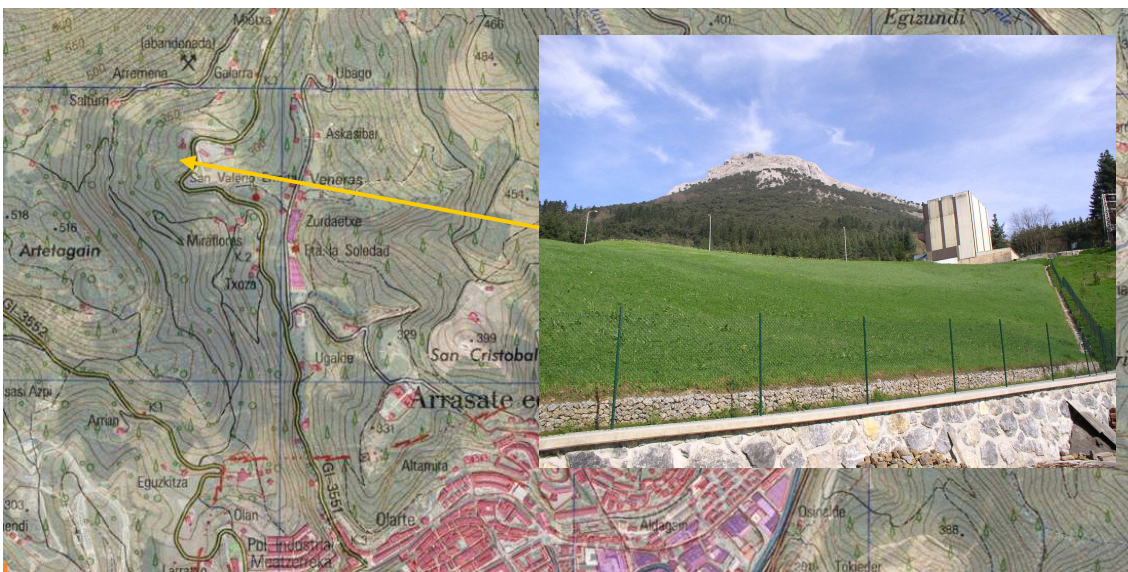


eremu honen ondoan kokatzen diren lurrak (Oriamendi-1), transferentzia kasuak ematen diren edo ez zehaztearren. Kokapen hau Lastuene parketik gertu dago, Hernani eta Donostia artean.



2.3. Irudia. 1 eta 2. kokalekuak. Oriamendi 1 eta 2, Donostia.

**3. kokalekua.** Arrasaten, Meatzerreka auzoan, Akei errauskailu zaharraren parean ere laginketa egin da (**2.4 Irudia**), materia organikoaren erreketa dela eta sorturiko azpiproduktu toxikoak barreiatu daitezke zonaldean, nahiz eta prozesu hauetako ondar toxikoen tratamendua oso kontrolatua egon. Zonaldea garbiketa prozesu sakon bat jasan zuen, eta eraikina berez gaur egun Debagoieneko hiri hondakinak jasotzen dituen transferentzi planta bihurtu da.



2.4. Irudia. 3. kokalekua. Akei errauskailua zaharra, Arrasate.



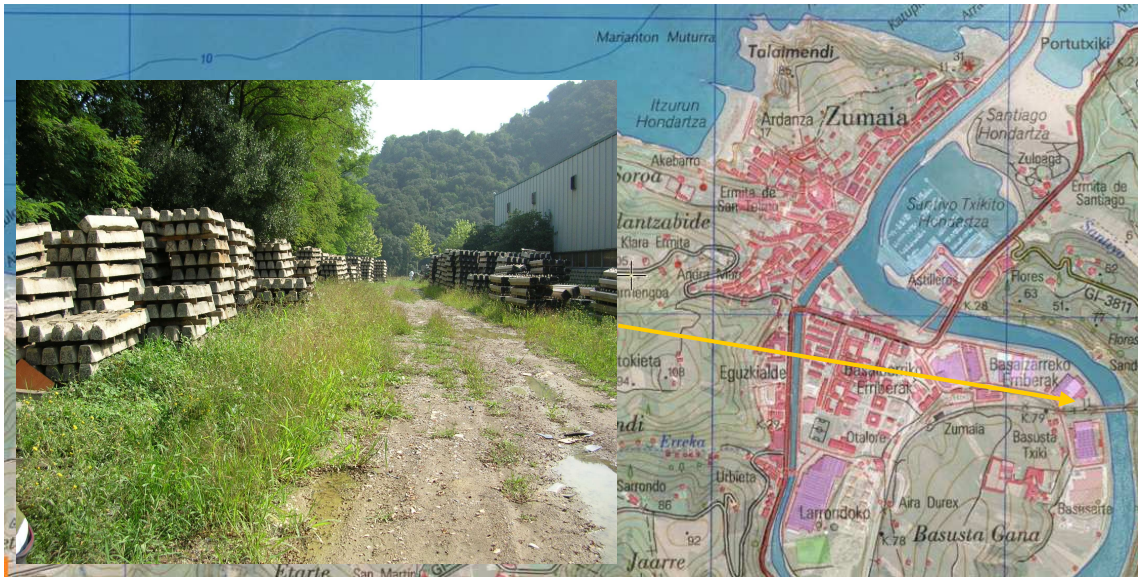
**4. kokalekua.** Bergaran (**2.5 Irudia**) burdinola baten ondoan lur eta baratzetan laginak hartu dira, tximinietatik ateratako kea haizeak barreia ditzaketen PAHen kantitatea handia izan daitekeelako. Esan beharra dago PAHak barreiatzeko biderik arruntena aire transferentzia dela, eta giza kate trofikora jauzi egiteko biderik errazena jakietatik datorrela, ortuari eta barazkien ingestatik batez ere.



2.5. Irudia. 4. kokalekua. Arcelor-Mittal burdinola, Bergara.

**5. kokalekua.** Zumaian ere laginak hartu dira (**2.6 Irudia**) trenbide eta zonalde industrial baten artean, urtetan kreosotaz trataturiko egurra metatuta izan den lekua hain zuzen. Nahiz eta egurra bakarrik kreosotaz tratatu bere garaian, denbora eta higadura agenteen eraginpean, egur zati txikiak, ezpalak, lurrera jauzi egin dira, lurra bera kutsatuz [ECH].

**6. kokalekua.** N-1 autobidea Tolosa parean (**2.7 Irudia**). Errepide nazional honek ibilgailuen dentsitate oso altua jasaten du, hortaz PAHak inguruan metatuta aurkitzeko aukera badago, motorrek erretako gasolina eta gasolioa dela eta. Errepide honetan zirkulazioaren batez besteko intentsitatea honako hauek dira; 2005ean 43816 ibilgailu eguneko; 2006ean 47321 ibilgailu eguneko [Dip. Foral Gipuzkoa].



2.6. Irudia. 5. kokalekua. Zumaiaiko industrigunea, Zumaia.



2.7. Irudia. 6. kokalekua. N-1 Errepidea, Tolosa inguruan.

**7. kokalekua.** A-8 errepideko lagin bat hartu da (**2.8 Irudia**), Zarautz parean: Autopista honek ibilgailu dentsitate oso altua dauka, kasu honetan ere PAHak inguruan kontzentratuta aurkitzeko aukera egon daiteke, motorrek erretako gasolina eta gasolioa dela eta. Errepide honetan zirkulazioren batez besteko intentsitatea honako hauek dira; 2005ean 25860 ibilgailu eguneko; 2006ean 26943 ibilgailu eguneko [**Dip. Foral Gipuzkoa**].





2.8. Irudia. 7. kokalekua. A-8 autopista, Zarautz.

**8. kokalekua.** Maltzaga, Soraluze, Eibar eta Elgoibarko udalerriek muga egiten duten guneari deritzo. Oso gune estrategikoa da, bertan GI-627 errepidea eta N-634 errepideak elkartzen dira errotonda batean (**2.9 Irudia**). Antzina, trenbideak ere bertan elkartzen ziren. Errotonda hau industrigune batetan kokatuta dago, burdinola batetik gertu eta ibilgailu astunen dentsitate handia jasaten du. Hortik PAHen kontzentrazio altuak topatu ahal izatea bertako lurretan. Errepide honetan zirkulazioaren batez besteko intentsitatea honako hauek izan dira; 2005ean 16163 ibilgailu eguneko; 2006ean 16564 ibilgailu eguneko [**Dip. Foral Gipuzkoa**].

**9. eta 10. kokalekuak.** Donostiako Amara auzoan, gasifikadora zaharrea (**2.10 Irudia**), bi puntu ezberdinetatik hartu dira laginak: bata, ate nagusitik oso gertu, lur eta harriz osatutako irabiatu berri den lur ilun bat (Amara 1), eta bestea barrurago, lur kolore argia eta egonkortuagoa (Amara 2). 1861. urtean Donostia hiria argitzen zuten olioeko argiontzi zaharrak ordezkatu nahietan, "Empresa del Alumbrado de Gas de San Sebastián" izeneko enpresak, San Bartolome mendixkaren magalean ezarri zuen fabrika eta gasometro berria, urteko 300 m<sup>3</sup> ekoiztuz. 1893. urtean, udaletxeak hartu zuen zerbitzuaren ardura, "Fábrica Municipal de Gas de San Sebastián S.A", izena hartu zuelarik, eta gaur egungo Amara auzoko Morlans aldera eraman zuten. Lantegi berriaren ekoizpena eguneko 500 m<sup>3</sup> igo zen, eta 1939an 28.000 m<sup>3</sup> eguneko. Banatzen zen erregaia "gas ciudad" zuen izena, hasiera batean ikatzaren errekontzatik lortzen zen, eta 1970. urtetik aurrera petrolioaren deribatuetatik, nafta arinen *cracking* katalitiko sistema bati esker, eta horrela 10.000 m<sup>3</sup> orduko ekoiztea lortu zen.



Hondakinen kudeaketarako agente berezirik ez zegoen garai horietan, eta beraz, ekoizpen prozesuetatik lortutako soberakinak zuzenean lurrera botatzen ziren besterik gabe, zonalde hauen kutsatze masiboa bideratuz [**Patrimonio y Arqueología Industrial**].



2.9. Irudia. 8. kokalekua. Maltzagako errotonda, Elgoibar ondoan.



2.10. Irudia. 9. eta 10. kokalekuak. Donostiako gasifikadora zaharra, Donostia.

### 2.2.5 Laginketa eta laginaren aurretratamendua

PAHak non metatu daitezkeen aztertu da lehenengo, eta gero puntu hauek Gipuzkoako zein lekuetan topa daitezken pentsatu da. Lur laginak, orokorrean, 0-10 cm-ko sakontasunean hartu dira. Gure kasuan paleta baten bidez egin dira, 20 cm sakontasuneko V itxurako zulo txiki bat eginez, eta albo-pareta baten xerra bat ebakiz, erdiko alea (gehipena) beirazko ontzi batera eraman da, ertzak baztertuz. Eragiketa hau 20 bat aldiz errepikatuko da, gehipen guztiak aurrez egoki garbitutako beirazko ontzietan gordez, beharrezko lur kantitatea eduki arte. Laginketan eta laginaren garraioan, plastikoarekin ukipen guztiak ekidin dira, aluminioa erabiliz estalkietan, kutsadura ekiditeko. Laginketa gune bakoitzeko kilogramo bat lur jaso da gutxi gora behera, eta beste 100 g gehiago pH, nitrogeno maila (TN), karbono organiko totala (TOC) eta karbono totala (TC) kalkulatzeko.

Analisiari ekin aurretik, lurra giro tenperaturan lehortzen utzi da. Lur laginak paper zabal batzuen gainean zabaldu dira, denbora pasa ostean material lodiena kendu da, harriak, hostoak eta adarrak lez. Ondoren, mortairuan ehotu eta gero bahetu egin dira, 63 µm eta 2 mm sare-begiko bi bahe erabiliz. Azkenik lurra beirazko saioidietan sartu eta 4°C-tan gorde dira hozkailuan. Antzeko aurretratamendua da Belkessam *et al* erabiltzen dutena lur laginekin [Belkessam *et al.*, 2005].

### 2.2.6 Lurraren ezaugarriak

Lur lagin bakoitzaren pH balioak, karbono organiko totala (TOC), eta karbono totala (TC) neurtu dira. pHa neurtzeko, 63µm-tan bahetutako 10 g lur lehor 25 mL ur desionizatuan nahastu dira, hamar minutuz irabiatu eta 30 minutuz jalkitzen utzi da. Ondoren aurretiaz kalibratutako pHmetroa erabiliz, lagin bakoitzaren pH kalkulatu da. Lurren pH-en media 8.02 da (7.65-8.33), neurrian alkalinoak direla esan daiteke beraz (**2.2 Taula**).

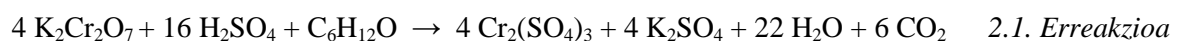
TOC, TC (TC = TOC + Karbono inorganikoa) eta nitrogeno maila (TN), LECO CHNS-932 mikroanalizadorean (**2.11 Irudia**) neurtu dira, HCl tratamendua erabili delarik karbono inorganikoa baztertzeke karbono organiko totalaren neurketan [Hedges and Stern, 1984].



2.11. Irudia. LECO CHNS-932 mikroanalizadorea.

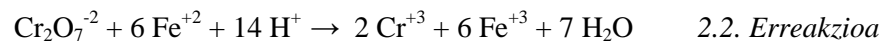
Materia organikoa lurzoru eta sedimentuetan oso zabalduta dago lurrazalean zehar, lur eta ur ingurune gehienetan topa dezakegarrik. Lurrak konposatu organiko ezberdin asko izan ditzake bere baitan, hala nola, azukre eta karbohidrato bakunak, konplexuagoak diren gantz, proteinak, argizari eta azido organikoak adibidez. Materia organikoa ezaugarri bereziak dauzka: uretan disolbagarriak edo disolbaezinak diren ioi metaliko zein hidroxido konplexuak eratu eta garraiatu (truke ionikoa), buztinen mineralekin elkarreagin eta partikulak elkarrekin bildu, konposatu organiko naturalak zein antropogenikoak (PAHak adibidez) xurgatu edo desorbatu, landare elikagarriak harrapatu edo solte utzi (N, P eta S eskuragarritasuna), eta urari eutsi lur ingurunean besteak beste. Ezaugarri guzti hauek kontutan hartuta, karbono totalaren determinazioa ezinbestekotzat jotzen da edozein lur zein sedimenturen karakterizazioan, (C/N, C/P, eta C/S balioak jakitea ahalbidetzen du) bere izate edo gabeziak eragina izan dezakeelako analitoak matrizean izango duen jarrera eta bizi iraupenarekin [Wang *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006].

Karbono organikoa neurtzeko beste metodo bat erabili da ere, Walkley eta Black-en [Wackley and Black, 1934] errekontza hezea hain zuzen. Prozedura hau dikromato anioiaren erredukzioan datza (2.1 Erreakzioa), eta gero erreduzitu gabeko dikromatoaren atzerako balorazioan (2.2 Erreakzioa). Emandako oxidazio erredukziozko erreakzioa honako hau da:



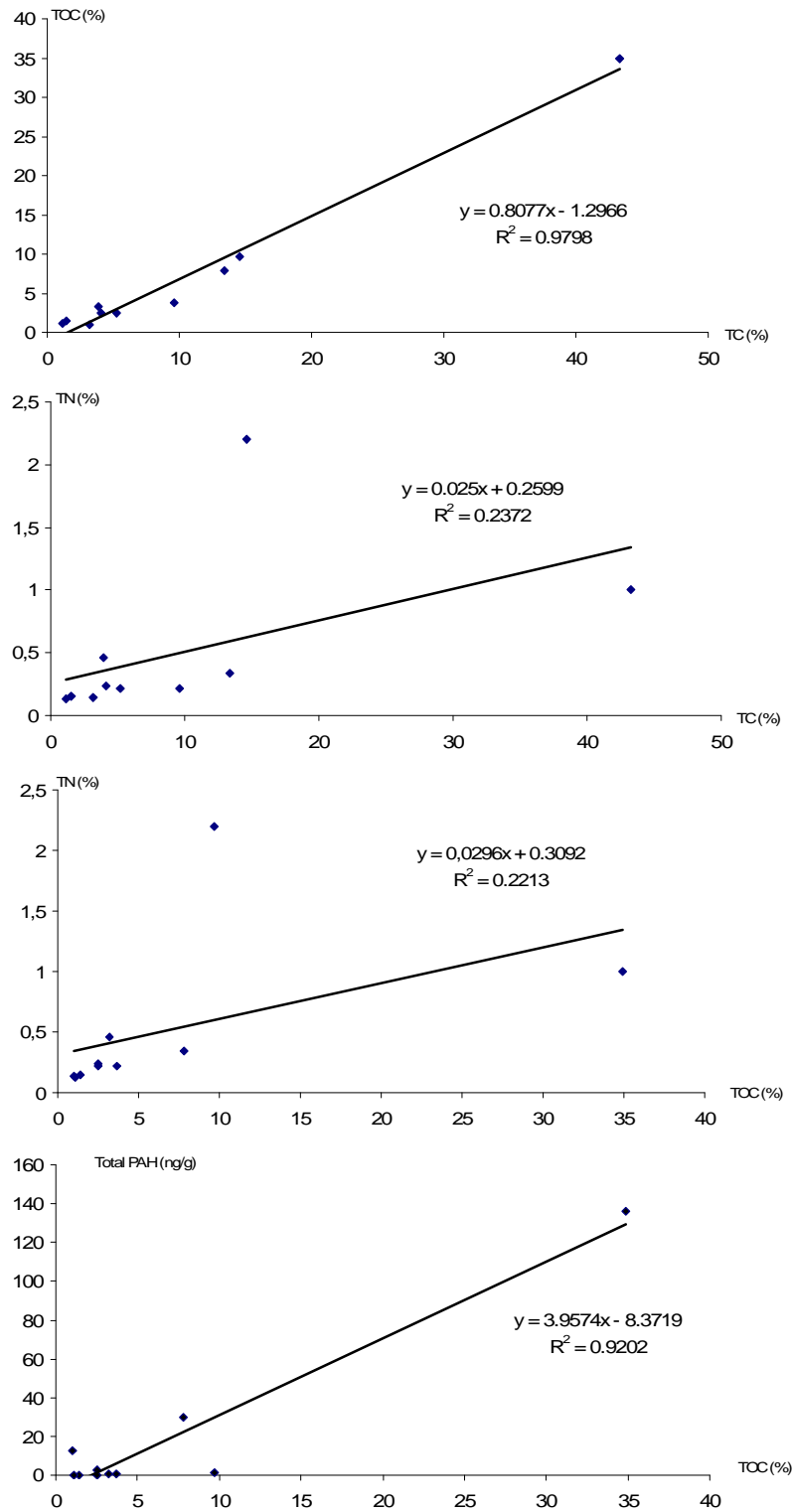
Jakin denez, erreakzio honen bidez karbonoaren %75 oxidatzea bakarrik lortzen da, zuzenketa faktore bat aplikatu behar zaio beraz (1.33-1.44 inguruan). Faktore hau ikerketen arabera aldatzen da [EPA].

Walkley eta Black-en errekuntza hezea egiteko prozedura honako hau izan da: 0.5g lur pisatu dira 500 mL-tako erlenmeyerrean, 10 mL K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 1N gehitu eta eragin ondoren, 20 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kontzentratua gehitu eta eragin da, 30 minutuz utzi delarik kanpaia azpian. Ondoren 200 mL ur birdistilatu gehitu eta hozten utzi ondoren sodio difenilsulfonatoa adierazlea gehitu da. Ondoren erreakzionatu gabeko dikromatoa baloratu egin da 0.5 N Morh gatzarekin, ondoko oxidazio erredukziozko erreakzioa jarraitzen duelarik:



LECO aparatua eta Walkley eta Black-en errekuntza hezetik lortutako TOC emaitzak antzekoak izanik, batez bestekoa kalkulatu da eta **2.2 Taulan** adierazi dira datuak.

Lagin ezberdinetan aztertutako karbono organiko totalen (TOC) bestalde, % 6.8-ko batez bestekoa lortu da (heina %1.0 - %34.9 izanik). Hauetako balio batzuk oso maila altua dute hiri-lurzoruetarako, segur aski giza jardueri zor zaie, edota kutsadura maila altuei aurrerago ikusiko denez. Lur lagin ezberdinen C/N ratioak antzekoak izan dira, hiru kasuetan izan ezik, non materia organikoaren maila altua eta nitrogenoaren maila baxua ratio handiagoak baldintzatu dituzte, giza aktibitatea dela medio [Wang *et al.*, 2006]. Antzeko balioak lortu dira Hong Kong-en analizaturiko lur batzuetan [Zhang *et al.*, 2006]. Lagin arteko TC-TN arteko erlazioa eta TOC-TN arteko erlazioa baxua da ( $r^2 = 0.24$  eta  $r^2 = 0.22$  hurrenez hurren); aldiz, TOC-TC arteko erlazioa altua da ( $r^2=0.98$ ), **2.12 Irudian** ikus daiteken bezala. Antzeko balioak lortu dira beste ikerketa batzuetan [He *et al.*, 2009]. Lan honetan aurrerago analizaturiko lur laginen PAHen kontzentrazioak (**2.14 Taula**) eta TOC balioen arteko korrelazio altuak ikus dezakegu ( $r^2=0.920$ ). Holako korrelazio altuak beste ikertzaile batzuek ere lortu dituzte [Viguri *et al.*, 2002; Vane *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2010].



2.12. Irudia: Lurren ezaugarrien arteko korrelazioak.

Lurrak daukan hezetasun maila ezagutzea garrantzitsua da ere, analisiak egin ondoren PAH bakoitzaren kontzentrazioa pisu lehorrarekiko birkalkulatu da. Hezetasun maila kalkulatzeko; laginaren 10 g, 105°C-tan 24 orduz mantendu dira labean sikatzeko, eta pisu



konstantea izan arte pisatu dira. Hezetasunaren batez bestekoa ehunekotan adierazteko **2.1 Formula** erabili da; eta **2.2 Formula** aplikatu da analitoen kontzentrazio erreal berria jakiteko. Hezetasun maila %2.2 eta %3.9 bitartean egon da PAH guztientzako **2.2 Taulan** ikus daiteken bezala.

$$\text{Hezetasuna}(\%) = \left[ \left( \frac{\text{Pisu}_{\text{hezea}} - \text{Pisu}_{\text{lehorra}}}{\text{Pisu}_{\text{lehorra}}} \right) \right] \times 100 \quad 2.1. \text{ Formula}$$

$$\text{Kontzentrazio}_{\text{lehorra}} = \frac{\text{Kontzentrazio}_{\text{hezea}}}{\left( 1 - \frac{\text{Hezetasuna}(\%)}{100} \right)} \quad 2.2. \text{ Formula}$$

2.2. Taula. Lur laginen ezaugarriak; % Hezetasuna, pH-a, karbono totala (TC), karbono organiko totala (TOC), nitrogeno totala (TN) eta C/N ratioa.

Lurra Kokalekuak	Hezetasuna (%)	pH-a	TC (%)	TOC (%)	TN (%)	C/N ratioa
1. Oriamendi 1	3.95	8.01	3.9	3.2	0.46	8.6
2. Oriamendi 2	3.72	8.21	13.4	7.8	0.34	39.3
3. Arrasate	3.12	7.98	1.5	1.4	0.15	10.2
4. Bergara	2.58	8.31	1.2	1.1	0.13	9.5
5. Zumaia	2.47	7.99	5.2	2.5	0.22	23.9
6. Tolosa	2.89	8.17	9.6	3.7	0.22	43.5
7. Zarautz	3.75	7.80	14.6	9.7	2.20	6.6
8. Maltzaga	3.16	7.85	4.1	2.5	0.24	17.0
9. Amara 1	2.27	7.65	3.2	1.0	0.14	23.0
10. Amara 2	2.38	8.33	43.3	34.9	1.00	43.3

## **2.3 Emaitzak eta Eztabaida**

Lan ikerketa honetan, PAHak lurlean determinatzeko garatu diren bi erauzketa metodoak gauzatzeko, kutsatu gabeko lur bat dopatu egin da PAHekin ondoren azaltzen den bezala: Lagin lehorraren 100 g eta azetonan 2 mg L<sup>-1</sup>-ko kontzentrazioa duen 3 PAH adierazgarrien (Naftalenoa, Antrazenoa eta Fluorantenoa) nahasketa baten 500 mL sartu dira 1000 mL-ko errotabapore ontzi biribil batetan. Azetona errotabaporean lurrundu da 30-35°C-tan, PAHak lur matrizean harrapatuz [Sawada *et al.*, 2004] **2.13 Irudian** agertzen den lez. Kutsatutako lur hau 40 mL-ko beirazko ontzietan gorde da hozkailuan, 4°C-tara, metodo ezberdinen optimizazioa egiteko momentua heldu den arte. Lagin errealetan PAHen determinazioa egiterakoan, analizaturiko PAH kopurua hamarrera zabaldu da. Kuantifikazioa adizio estandarren bitartez egin da beti, matrizearen efektua baztertuz.



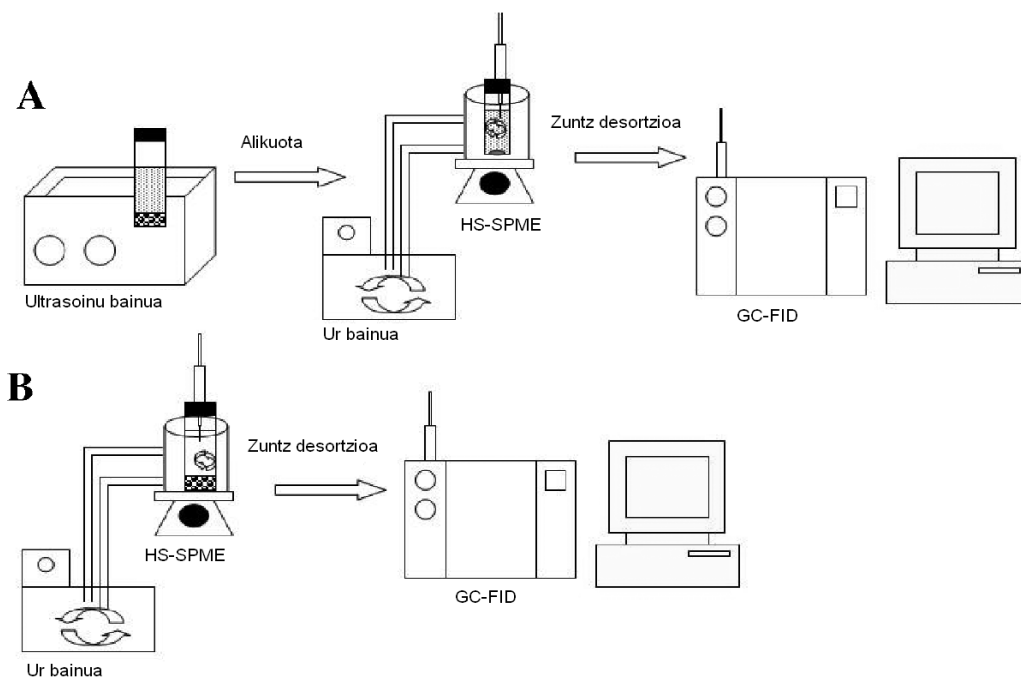
2.13. Irudia. Errotabaporean lur garbia PAHekin dopatzen.

Bi erauzketa metodo ezberdin optimizatu eta alderatu dira lurlean PAHen determinazioa burutzeko. Lehenengo metodoan ultrasoinuen indar erauzlea erabili da, saioidi batean lurrari azetona-metanol disoluzioa erabiliz erauzle gisa. Saiodia zentrifugatu ostean, 0.2 mL-tako alikuota bat hartu eta urari gehitu zaio (20 mL-raino) zuzenean. Ondoren HS-SPME teknika aplikatu da, azkenik zuntza GC-FID-ean desorbatu delarik.

Bigarren erauzketan aldiz, saioidi batetan lurrari ur birdistilatua gehitu zaio, nahasketa berotuz eta irabiatuz HS-SPME teknika aplikatu da zuzenean. Lur-ur nahasketa ordubetez eragin zaio, eta ondoren SPME zuntza ziztatu da eta buru gunean eseki da. Lurrean PAHen

determinazioa burutzeko proposaturiko bi prozedura hauen adierazpen eskematikoa **2.14 Irudian** azaltzen da. A prozeduran, eraztle organikoko ultrasoinuen bidezko buru guneko fase solidoko mikroerauzketa bat proposatzen da (SOE-HS-SPME, *Sonication with Organic Extractant – Headspace- Solid Phase Microextraction*). B prozeduran aldiz, ur beroko buru guneko fase solidoko mikroerauzketa zuzena proposatzen da (HWD-HS-SPME, *Hot Water Direct– Headspace- Solid Phase Microextraction*).

Laborategiko esperientzian eta bilaketa bibliografiko zabal batetan oinarrituz [Beltran *et al.*, 2000; Cortazar *et al.*, 2002; Dron *et al.*, 2002; Salafranca *et al.*, 2003; King *et al.*, 2004; Arambarri *et al.*, 2004], prozeduraren araberako erauzketa metodo bakoitzeko aldagai ezberdinak sailkatu dira ikerketa esparrua definitzeko. Proposaturiko metodoen garapenean laborategiko tresneria ahal den neurrian egokitu behar dela kontutan izan da beti. “Miaketa edo *Screening*” metodo bi optimizatu eta alderatu dira; erantzun azkar eta zehatz bat bilatu da metodo mota hauekin, ekonomikoki errentagarria, ingurumenarekin adeitsua (disolbatzaile kantitate gutxi) eta denbora luzez lan egin gabe emaitzak eskaintzen dutenak.



2.14. Irudia. Lurrean PAHen determinazioa burutzeko proposaturiko bi prozeduren adierazpen eskematikoa: SOE-HS-SPME (A) eta HWD-HS-SPME (B).

### 2.3.1 Ultrasoinuen bidezko erauzle organikoko erauzketa eta HS-SPME-aren bidezko aurre-kontzentrazio metodoaren optimizazioa (SOE-HS-SPME)

Baldintzarik onenak definitzearen, bi diseinu esperimental aurrera eramán dira: hasteko, Plackett-Burman diseinu bat erabili da disolbatzaile organikoen bidezko ultrasoinu erauzketa zein HS-SPME aurre-kontzentrazio prozesuen gainean eragiten duten aldagai nagusien arteko elkar eragina ebaluatzeko. Ondoren optimizaziorako diseinua egin da, diseinu konposatu zentrala hain zuzen, aldagai esanguratsuenen erantzun optimoena bilatzeko erabili dena alegia. Prozedura orokorraren adierazpen eskematikoa **2.14 Irudian** (A) azaltzen da. Ikerketa honetarako  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  kontzentrazioko 3 PAH-ekin (NAF, ANT eta FLT) dopatutako lur bat erabili da.

#### 2.3.1.1 Plackett-Burman diseinu faktoriala

Erabilitako diseinu faktoriala Plackett-Burman izan da. Mota honetako diseinua aldagai esanguratsuenak ezberdindu eta efektu nagusienak ebaluatzea baimentzen du saiakera gutxitan. Plackett-Burman diseinuan, aldagai kopurua totalak 4 zenbakiaren multiploa izan behar du (saio kopurua = aldagaien kopurua +1 izanik). Horregatik hemen hamaika aldagai aukeratu dira, honela 12 saiakuntza egingo dira, puntu zentralak aparte. Saiakera bakoitzean erabilitako aldagai ezberdinen balioak aurkezten dira diseinuaren matrizean, **2.3 Taulan**. Matrize diseinua 20 saiakera ezberdinek osatzen dute (**2.4 Taula**), horietatik zortzi erdiko puntuei dagozkie. Saiakerak zorizkoak izan dira. Saiakera bakoitzean lorturiko emaitzak (nahierako azalera unitateetan) taula berean datoz laburbilduta.

Aldagai hauek, euren kodea, balio altu eta baxua (aldagai kuantitatiboak) **2.4. Taulan** jasotzen dira. Aztertutako zoru mota, zuntz mota eta erauzle motaren kasuan (aldagai kualitatiboak) balio altua (1) edo baxua (2) baldintza bakoitzari egokitzen zaizkio. Aldagai bakoitza banan-banan aztertu ezker bakoitza bere garrantzia daukala ikus daiteke:

- Lurra bahetzeko sare-begia: Bi sare-begi erabili dira, bata  $63 \mu\text{m}$ -koa, txikiena, eta bestea 2 mm-takoa, handiena. Lur partikulek dauzkaten tamaina eragina izango dute bai erauzleek analitoak matrizeatik erauzterako orduan, baita sistemak ultrasoinuen bidez disolbatzaile-lur nahastea eragiteko duen gaitasunean ere.

- Pisatutako lur kantitatea: Pisatutako lur kopurua ezin da handiegia izan, bestela sistemak ez du lur bolumen guzti horretatik PAHak erazteko gaitasuna izango. Baina analizatzeko lur kantitatea txikiegia bada, oso txikia alegia, errorea handiagoa izan daiteke, kontzentrazio erreala eta eman daitezkeen kutsadurak nahastu baitaitezke.
- Ultrasoinu bainuaren tenperatura: Ultrasoinu bainuak lurra eragiten duen bitartean, lurra + disolbatzaile nahastea duen saiodia berotzeko aukera dauka aparatuak. Dakigunez PAH konposatu erdi-hegazkorrak dira, eta tenperatura handitzearekin batera hauek erazteko gaitasuna handituko dela pentsa liteke.
- Ultrasoinu denbora: Ultrasoinuan erazten dagoen denbora garrantzitsua izango da modu berean. Zenbat eta denbora gehiago egon, geroz eta PAH gehiago pasako dira lurretik disolbatzailera. Baina metodoak bere mugak izan behar ditu, horregatik 60 minututan finkatu da hau, izan ere PAHak lurretan analizatzeko metodo arin baten bila baikabiltza ikerketa honetan.
- Alikuota: Behin lurretan dauden PAHak fase organikora erazi direla, hartuko den alikuotaren tamaina garrantzitsua da, ondoren HS-SPME moduan zuntzean aurrekontzentrazioa egiteko. Alikuota txikiegia bada errore asko eman ditzake, desbideratze estandar handia bideratuz. Alikuota handiegia bada bestalde, disolbatzaile organikoa, erazlea alegia, zuntza asetu dezake, eta ondorioz kromatograma hondatu.
- Erazle organikoa: PAHak lurretik erazteko disolbatzailerik egokienak bilatzeko bilaketa bibliografiko sakon bat egin da [Chen *et al.*, 2004; Nadal *et al.*, 2004; Tao *et al.*, 2004; Belkessam *et al.*, 2005]. Bi erazleen nahasketak hautatu dira, bata azetona/metanol eta bestea azido azetiko/metanol. Kontutan hartu behar da alde batetik erazlea indarra izan behar duela matrizean zehar sartzeko, eta bestalde, erazleak berak ere xedetzat jarritako analitoa bere baitan erazteko gaitasun minimoa eduki behar duela.
- Erazle erlazioa: Erazle nahasketa osotzen duten osagaien arteko erlazioa ere aztertu da. Erlazio hau 1/4-etik 4/1-era aldatuko da. Erazle nahasketa osatzen duten bi disolbatzaile organikoen proportzioak aldatzerakoan erantzunean eraginik ba ote dagoen aztertu nahi izan da.

- Zuntz mota: Supelco etxe komertzialak, HS-SPME moduan PAHen aurrekontzentrazioa egiteko bi zuntz mota gomendatzen ditu batez ere: Polidimetilsiloxanozkoa (PDMS) eta Poliakrilatozkoa (PA), bi hauen arteko erauzteko gaitasun diferentzia aztertuko da diseinuan ere.
  
- SPME tenperatura: Buru-guneko fase solidoko mikroerauzketan tenperatura oso aldagai garrantzitsua da [Pawliszyn, 1997]. Aldagai honen arabera analito batzuk fase likidotik fase solidora (zuntza) pasatzeko aukera izango dute edo ez. Fase likidotik fase solidorako PAH ezberdinen arteko lehia, aldagai honen handitze edo txikitzeak aldakuntza nabarmena suposatzen du lortutako erantzunean. Eratzun gutxiko PAHak (naftalenoa adibidez, bi eratzun bentzeniko) hegazkortasun handiagoa erakusten dute eratzun handiagoko beste PAH batzuen aurrean (krisenoa kasu, lau eratzun bentzeniko), azkeneko hauek tenperatura altuagoak behar dituztelarik fase aldaketa egiteko.
  
- SPME denbora: Buru-guneko fase solidoko mikroerauzketan denborak ere zeresan asko dauka, izan ere orekara heltzeko analito batzuk denbora gutxiago behar badute (pisu molekular baxuko PAHak bezala), beste batzuk denbora luzez egon behar dira (pisu molekular altuko PAHak) [Pawliszyn, 1997]. Bi mutur hauen artean oreka lortzeko diseinu esperimentalak ezinbestekoa da.
  
- Desortzio denbora: Zuntzaren desortzioa kromatografoaren injektorean 250°C-tan egin da, eta bertan lagatako denbora eraginik duen edo ez aztertzeko aldagai hau ere diseinuan sartu da, 1 eta 5 minutuko bitartea aztertuz. Galera igarriko balitz bata eta bestearen artean, injektorean desorbatu barik analito kantitate bat gelditu denaren seinale.

2.3. Taula. SOE-HS-SPME erauzketarentzako aldagai esperimentalak eta mailak.

Aldagaiak	kodea	Maila	
		Baxua	Altua
<b>Bahetutako zoru mota:</b>	Zorua	(1) 63µm	(2) 2mm
<b>Zoru pisua (g)</b>	Zorua (g)	0.5	5.0
<b>Ultrasoinu tenperatura (°C)</b>	US T	20	40
<b>Ultrasoinu denbora (min):</b>	US t	30	60
<b>Alikuota (mL)</b>	Alikuota	0.5	2.5
<b>Erauzle organikoa:</b>	Erauzlea	(1) Azetona/metanol	(2) Az. Azetiko/metanol
<b>Erauzle erlazioa</b>	Erlazioa	1/4	4/1
<b>Zuntz mota</b>	Zuntza	(1) PDMS	(2) PA
<b>SPME tenperatura (°C)</b>	SPME T	20	80
<b>SPME denbora (min)</b>	SPME t	20	100
<b>Desortzio denbora (min)</b>	t desor	1	5

2.4. Taula. SOE-HS-SPME erauzketarentzako Plackett-Burman diseinu matrizea eta emaitzak.

Saiakera	Zorua	Zorua (g)	Zuntza	UST	US t	Alikuota	Erauzlea	Erlazioa	SPME T	SPME t	t desor	NAF	ANT	FLT
<b>5</b>	2	0.5	2	40	30	2.5	1	3	20	20	5	5250	1845	0
<b>8</b>	1	5.0	2	20	60	2.5	1	3	80	20	1	2113	11640	4369
<b>17(z)</b>	1	2.75	1	30	45	1.5	2	2	50	60	3	2385	11459	10723
<b>7</b>	1	2.75	1	40	60	2.5	2	3	20	100	1	9166	7238	3322
<b>15(z)</b>	1	2.75	2	30	45	1.5	1	2	50	60	3	7445	35172	14515
<b>14(z)</b>	2	2.75	1	30	45	1.5	1	2	50	60	3	2995	18993	15612
<b>13(z)</b>	1	2.75	1	30	45	1.5	1	2	50	60	3	2992	16251	10499
<b>4</b>	2	0.5	1	20	60	2.5	2	1	80	20	5	1289	9568	13856
<b>1</b>	2	5.0	1	20	60	0.5	1	3	20	100	5	8144	21399	7944.6
<b>10</b>	2	0.5	2	20	30	0.5	2	3	80	100	1	4927	133684	469391
<b>18(z)</b>	2	2.75	1	30	45	1.5	2	2	50	60	3	3834	24229	15360
<b>16(z)</b>	2	2.75	2	30	45	1.55	1	2	50	60	3	8112	36423	17539
<b>9</b>	1	5.0	2	20	30	2.5	2	1	20	100	5	11224	10988	2242.6
<b>20(z)</b>	2	2.75	2	30	45	1.5	2	2	50	60	3	8190	37447	18278
<b>6</b>	2	5.0	2	40	60	0.5	2	1	20	20	1	6133	8048	1835.7
<b>12</b>	1	0.5	1	20	30	0.5	1	1	20	20	1	8264	6047	7933.2
<b>3</b>	1	0.5	2	40	60	0.5	1	1	80	100	5	8883	144628	543031
<b>2</b>	2	5.0	1	40	30	2.5	1	1	80	100	1	1415	11296	15546
<b>11</b>	1	5.0	1	40	30	0.5	2	3	80	20	5	1933	19045	32359
<b>19(z)</b>	1	2.75	2	30	45	1.5	2	2	50	60	3	8576	42428	20278

(z) Puntu zentrala



Lorturiko datuak ANOVA bariantza analisiarekin ebaluatu dira aldagai eta modeloaren esanahia determinatzeko. **2.5 Taulan** agertzen dira ANOVAn lorturiko datuak. Gailurraren azaleraren aldakortasuna 0.85-0.98 bitartean dagoela erakutsi du  $R^2$ -ren balioak egokitutako ereduarentzako.  $p < 0.05$  baino txikiago baldin bada (taulan beltzez adieraziak), orduan aldagai horren aldakortasuna adierazgarria da %95ko konfiantza mailan. Zuntza, Zoru pisua, Alikuota, SPME denbora eta temperatura dira beraz adierazgarriak, eta Pareto grafikoarekin alderatu ezker (2.15 Irudia) aldagai esanguratsuenak hauek direla baieztatu daiteke.

2.5. Taula. SOE-HS-SPME erauzketaren emaitzen ANOVaren datuak naftaleno, antrazenoa eta fluorantenoarentzako.

Naftalenoa					
$R^2 = 0.8535$ ; Adj:0.6521					
Aldagaiak	SS	df	MS	F	p
(1) Zorua	8057101	1	8057101	2.3978	0.1601
(2) US T	843661	1	843661	0.2511	0.6298
(3) US t	614894	1	614894	0.1830	0.6801
(4) Alikuota	5105482	1	5105482	1.5194	0.2527
(5) Zuntza	40423826	1	40423826	12.0301	<b>0.0085</b>
(6) Erauzlea	209106	1	209106	0.0622	0.8093
(7) Erlazioa	2684525	1	2684525	0.7989	0.3975
(8) Zorua g	3872972	1	3872972	1.1526	0.3143
(9) SPME T	29382535	1	29382535	8.7442	<b>0.0182</b>
(10) SPME t	63574298	1	63574298	18.9196	<b>0.0024</b>
(11) t desor	1844289	1	1844289	0.5489	0.4800
Error	26881849	8	3360231		
Total SS	183494539	19			

## Antrazenoa

R<sup>2</sup> = 0.9768; Adj:0.9448

Aldagaiak	SS	df	MS	F	p
(1) Zorua	193238	1	193238	0.0023	0.963
(2) US T	125237	1	125237	0.0015	0.970
(3) US t	32060449	1	32060449	0.3825	0.5535
(4) Alikuota	65461422E2	1	65461422E2	78.096	<b>0.00002</b>
(5) Zuntza	50174000E2	1	50174000E2	59.857	<b>0.00006</b>
(6) Erauzlea	9678	1	9678	0.0001	0.9917
(7) Erlazioa	1524240	1	1524240	0.1818	0.8961
(8) Zorua g	40551722E2	1	40551722E2	48.378	<b>0.0001</b>
(9) SPME T	62125242E2	1	62125242E2	74.116	<b>0.00003</b>
(10) SPME t	62698452E2	1	62698452E2	74.800	<b>0.00003</b>
(11) t desor	72615943	1	72615943	0.8663	0.3792
Error	670577301	8			
Total SS	28878190	19			

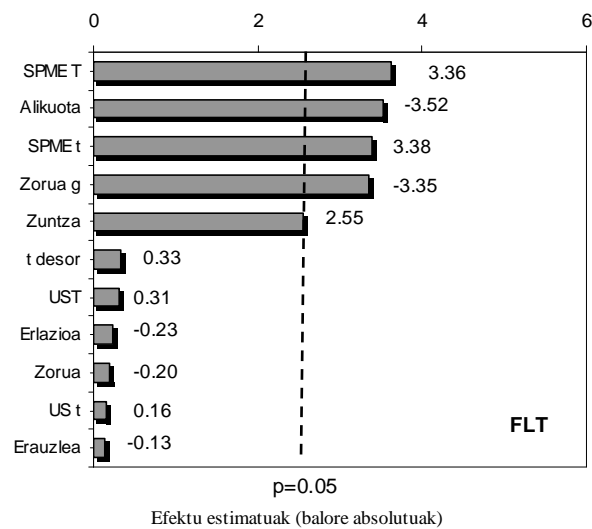
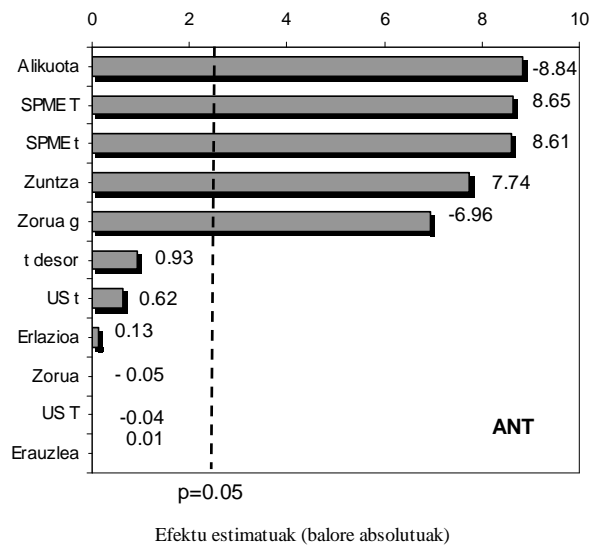
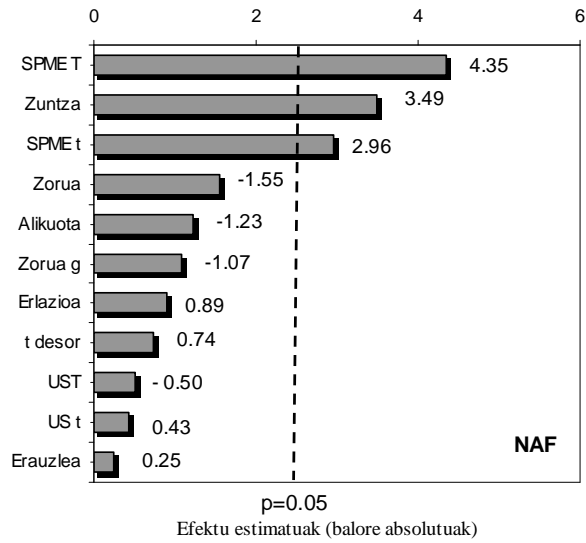
## Fluorantenoa

R<sup>2</sup> = 0.8731; Adj:0.6987

Aldagaiak	SS	df	MS	F	p
(1) Zorua	273124108	1	273124108	0.0388	0.8487
(2) US T	680362942	1	680362942	0.0966	0.7638
(3) US t	183204397	1	183204397	0.0260	0.8758
(4) Alikuota	87237844E3	1	87237844E3	12.393	<b>0.0078</b>
(5) Zuntza	4519220E3	1	4519220E3	6.523	<b>0.03396</b>
(6) Erauzlea	121729225	1	121729225	0.173	0.8986
(7) Erlazioa	374730241	1	374730241	0.0532	0.8233
(8) Zorua g	78932490E3	1	78932490E3	11.213	<b>0.0101</b>
(9) SPME T	80216914E3	1	80216914E3	11.396	<b>0.0097</b>
(10) SPME t	92800432E3	1	92800432E3	13.183	<b>0.0067</b>
(11) t desor	7846678011	1	7846678011	0.1115	0.7471
Error	56313502E3	8			
Total SS	44383823E4	19			

Aldagai kualitatiboak erauzketarako baldintzarik egokienetan finkatu dira Pareto grafikoetatik abiatuz (**2.15 Irudia**), grafiko hauetan aldagai bakoitzarentzat efektuen balioak (balio absolutuetan) erakusten dira. Irudian %95-eko konfiantzari dagokion marra bertikal bat irudikatu da. Marra hau gurutzatzen duten balioak adierazgarritzat hartzen dira %95-ean. Efektuen sinua, erantzunean igoera (+) edo beherakada (-) ematen den adierazten digu, aldagai bakoitzaren balio baxutik handira pasatzerakoan. 2.15 irudiko hiru grafikoak kontutan hartuta beraz, aldagai kualitatiboen baldintzarik onenak hauek lirateke: PA zuntza PDMS zuntzaren aurrean, zoru bahe finena, 63 $\mu$ m-koa alegia, eta azkenik, azido azetiko-metanol (1:4) nahasketa erauzle gisa, PDMS zuntza eraginkortasun handia erakutsi du pisu molekular baxuko PAHentzako, baina orokorrean analizaturiko PAH guztientzako PA zuntzak erantzun hobegoak eman ditu. PA zuntzaren estaldura polarragoa izanik, afinitate handiagoa du PAH eratzun kopuru handientzako.

Pareto grafikoak zera adierazten du ere, ultrasoinu bainuaren aldagaiak ez direla mugatzaileak, modu honetan finkatu dira beraz: Ultrasoinu bainuko ura 25°C-tan, ultrasoinuetako erauzketa denbora 60 minutu eta erauzleen arteko proportzio erlazioa 1:4 azetiko-metanol. Gas kromatografoan zuntza desorbatzeko denbora 3 minututan ezarri da. Bestalde, optimizazio urratserako aintzat hartutako aldagai esanguratsuenak hauek izan dira: Alikuotaren bolumena, pisatutako zoru kantitatea, HS-SPME erauzketa denbora eta tenperatura.



2.15. Irudia. Plackett-Burman diseinuaren bidez lorturiko efektu nagusien Pareto grafikoa, naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren SOE-HS-SPME erauzketan.

## 2.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD)

Bigarren urratsean, aldagai adierazgarrienak optimizatzeko asmoarekin, diseinu konposatu zentral (CCD) bat eraiki da,  $2^4$  diseinu faktorialean oinarrituz. Diseinu mota honek  $2^4 + [(2 \times 4) + 1]$  izar puntuaren saiakuntzak ditu guztira, ikerketa eremuaren ortogonilitatea  $\alpha \pm 1.607$ -ra izanik. Hau da, zortzi izar puntu ditu non horietako bat zentrala den. Diseinua osatzeko, erdi puntuko hiru saiakuntza gehitu dira ere. Horrela, diseinu matrizea ausaz egindako 28 saiakuntza ezberdinetan oinarritu da, kanpo aldagai kutsatzaileen efektua ekiditeko. **2.6 Taulan** adierazten dira lehenengo urratsean ezberdindutako aldagai esanguratsuak, baita bigarren urrats honetarako egokitutako balio baxu, ertain eta handiak ere. Balio hauek, aurreko diseinuko emaitzetatik abiatuz aukeratu dira. SPME denbora eta tenperatura adibidez, beti adierazgarriak eta positiboak direla ikus dezakegu Pareto grafikoetan, horregatik optimizaziorako aukeratutako bitarteak maila altuan daude. Hartutako alikuota eta pisatutako lur kantitatea adierazgarriak izan dira kasuan kasu, eta beti zeinu negatiboaz; ondorioz aukeratutako bitarteak bi aldagai hauentzako maila txikikoak izan dira. **2.7 Taulan** aldagai bakoitzari egokitutako balioen diseinu matrizea azaltzen da. Saiakuntza ezberdin bakoitzetik lortutako erantzunen emaitzak ere bertan datoz, hautazko azalera unitateetan.

2.6. Taula. Diseinu konposatu zentralerako (CCD) aldagai esperimentalak, mailak, naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren determinaziorako SOE-HS-SPME erauzketaren bitartez.

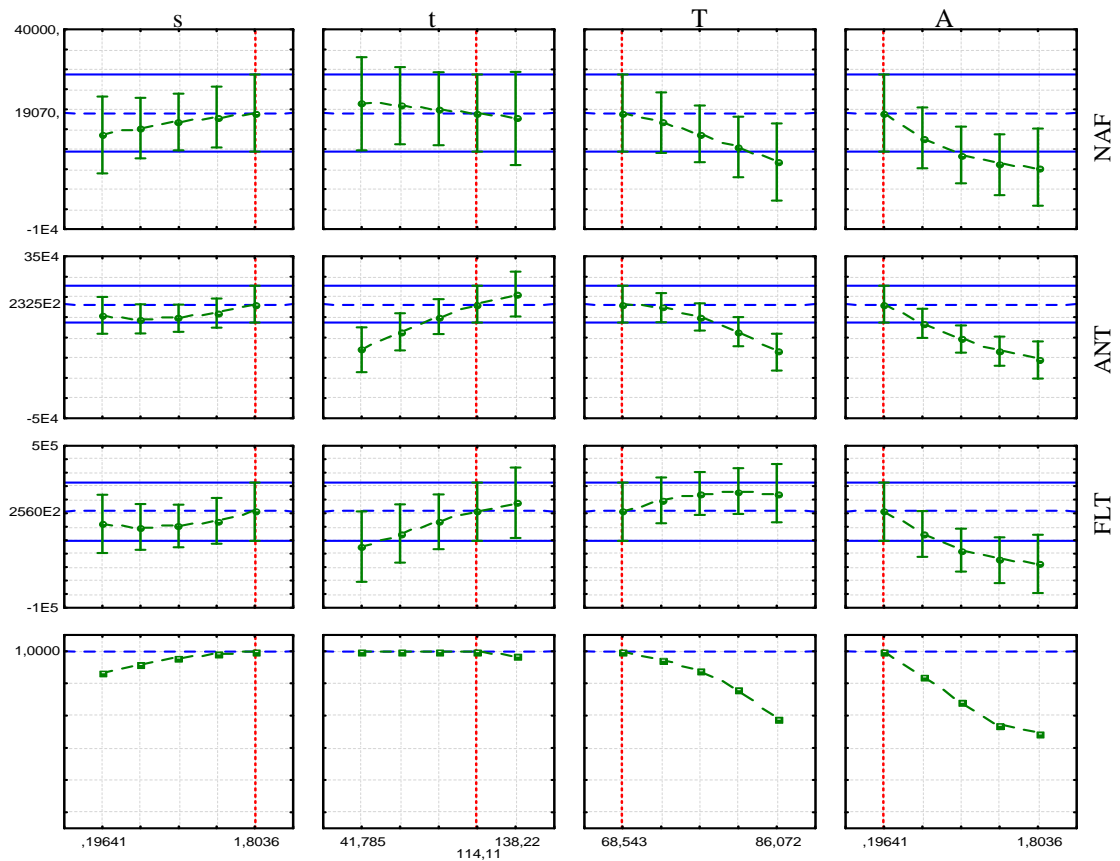
Aldagaiak	Kodea	Mailak		
		Baxua	Ertaina	Altua
Zoru kantitatea (g)	S	0.5	1.0	1.5
Erauzketa tenperatura (°C)	T	60	70	80
Erauzketa denbora (min)	t	60	90	120
Alikuota (mL)	A	0.5	1.0	1.5

2.7. Taula. Diseinu konposatu zentralerako (CCD) aldagai esperimentalen diseinu matrizea eta erantzunak (nahierako azalera unitateetan), naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren determinaziorako SOE-HS-SPME erauzketaren bitartez.

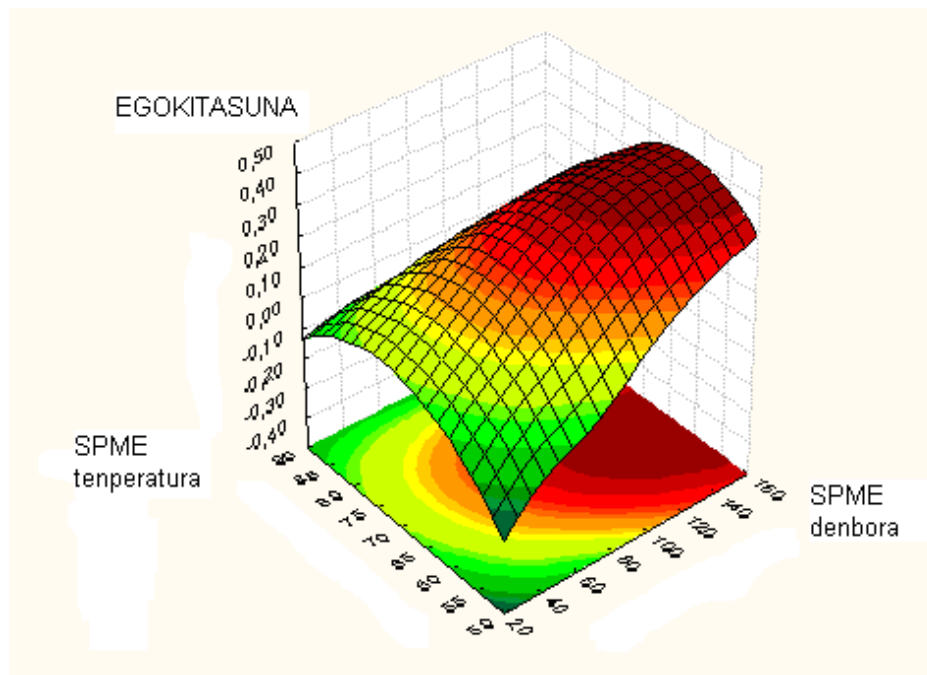
Saiakerak	S	t	T	A	NAF	ANT	FLT
7	0.5	120	80	0.5	4481	119185	242359
11	1.5	60	80	0.5	5721	90244	147200
24	10	90	70	1.80	4208	69462	67661
9	1.5	60	60	0.5	10464	104686	89469
21	1.0	90	53.9	1.0	9963	85591	52600
20	1.0	138	70	1.0	6011	101076	186573
19	10	42	70	1.0	8457	77637	65548
6	0.5	120	60	1.5	7155	105793	100880
1	0.5	60	60	0.5	10027	124762	96998
13	1.5	120	60	0.5	12503	198339	222902
22	1.0	90	86.1	1.0	3891	63183	155006
18	1.8	90	70	1.0	6288	106871	118183
14	1.5	120	60	1.5	6715	99458	90413
28(z)	1.0	90	70	1.0	6302	103884	141442
10	1.5	60	60	1.5	7924	70694	41727
25(z)	1.0	90	70	1.0	60956	102771	121651
8	0.5	120	80	1.5	11216	96692	217880
4	0.5	60	80	1.5	4534	77683	76530
3	0.5	60	80	0.5	6178	125118	204222
2	0.5	60	60	1.5	7403	57887	37424
16	1.5	120	80	1.5	3828	69254	126085
12	1.5	60	80	1.5	4207	64334	63815
27 (z)	1.0	90	70	1.0	6597	115034	117651
15	1.5	120	80	0.5	6468	125602	270019
23	1.0	90	70	0.2	18904	169580	297734
26 (z)	1.0	90	70	1.0	6662	111525	111153
5	0.5	120	60	0.5	9817	166805	192315
17	0.2	90	70	1.0	8427	138721	215018

(Z): Puntu Zentrala

Lorturiko datuen bariantzaren analisia egin da, eta STATISTICA<sup>®</sup> programak eraikitako auresandako balioen eta egokitasunaren profiletatik (**2.16.a Irudia**), optimizaturiko balioak modu honetan finkatu dira: 0.2 mL-ko alikuota (alikuota bolumen handiak zuntza ase dezakete), 2.0 g zoru pisua, 115 min HS-SPME erauzketa denbora eta 70°C HS-SPME erauzketa tenperatura. Zentzu berean, SPME denbora eta tenperaturarentzako bakarrik dagokion egokitasun profila eraiki da (**2.16.b Irudia**). Bi grafiko hauek behatuz, argi ikus dezakegu prozedurak erantzun hobeagoak eskainiko dituela alikuota txikiak hartu ezker, zenbat eta alikuota handiagoa hartu geroz eta disolbatzaile gehiago topatuko du zuntzak buruguneko mikroerauzketan, eta PAHen arteko lehia gogortu egingo da zuntzean leku bat topatzeko. Bestalde, SPME denborari dagokionez, pisu molekular baxuko PAHak (naftalenoa gure kasuan) erauzketa denbora txikia nahiago dute pisu molekular altuko PAHen arteko lehian badaude, azken hauek denbora luzeagoak behar baitituzte orekara heltzeko. Tenperaturarekin antzeko gauza gertatzen da, izan ere naftalenoak ez du tenperatura handirik behar fasez aldatzeko, antrazenoa eta fluorantenoa aldiz tenperatura handiagoak behar dituzte fase solidora (zuntza) jauzi egiteko. Joera hau hurrengo ikerketetan errepikatuko da beti, eraztun bentzeniko gutxi dauzkaten PAHak (naftalenoa lez, 2 eraztun bentzeniko) hegazkortasun handiagoa erakusten dute, eta alderantziz, eraztun bentzeniko asko dauzkaten PAHak (krisenoa lez, 4 eraztun bentzeniko) hegazkortasun txikiagoa erakusten dute. Azkenik, PAH guztien kasuan, pisatutako lur kantitatea handia izatea komenigarriagoa da (erantzunak pisuarekiko birkalkulatu dira), pisu txikiegia saiodi barruan galerak handiagoak suposatzen ditu (saiodiko paretetan eta iman irabiatzailean beti gelditu daitezke apurrak itsatsita).



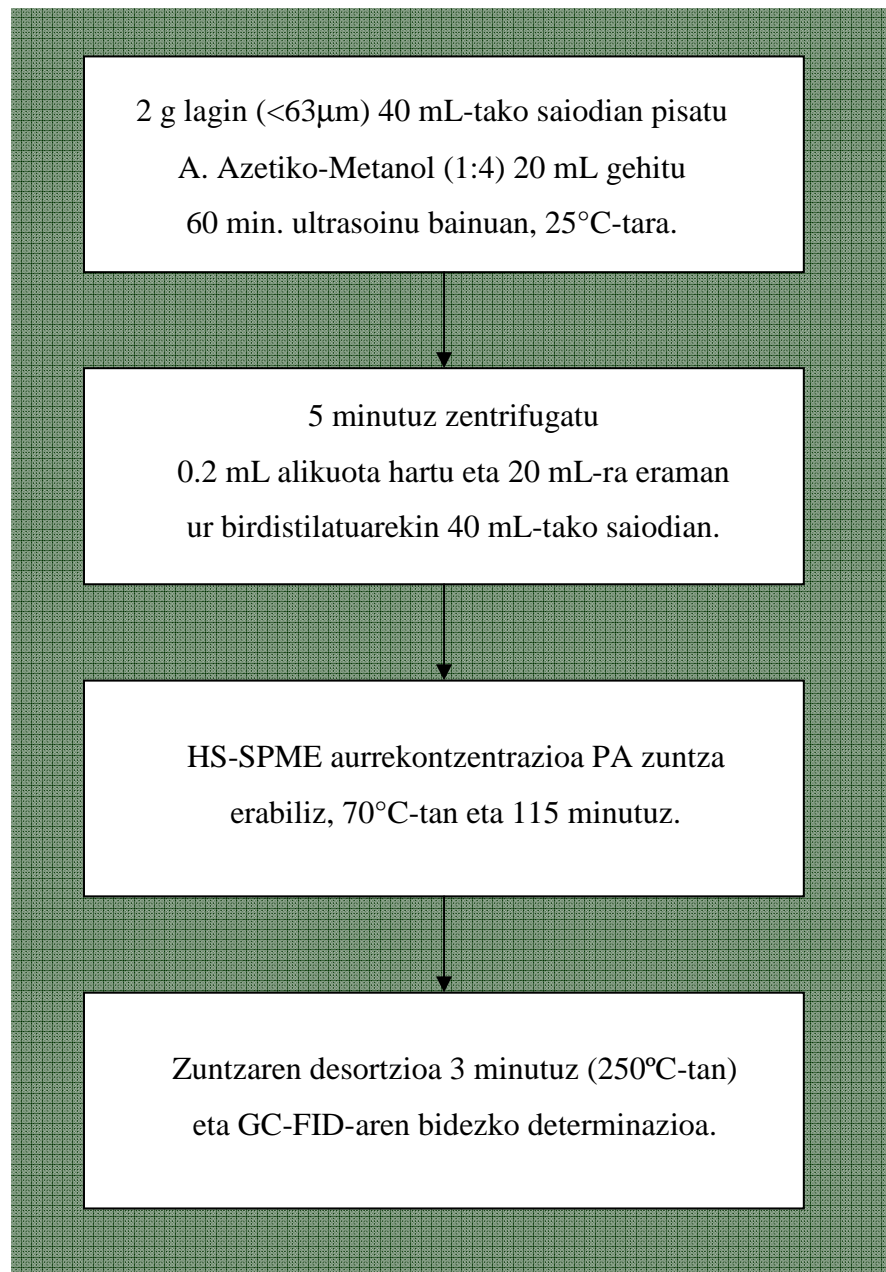
2.16.a. Irudia. CCD-aren emaitzetan oinarrituz aurrezandako balioen eta egokitasunaren soslaiak SOE-HS-SPME erauzketan, non, S: pisatutako lur kantitatea, t: erauzketa denbora, T: erauzketa temperatura eta A: hartutako alikuota diren.



2.16.b. Irudia. SOE-HS-SPME erauzketan, CCD-aren emaitzetan oinarrituz aurrezandako balioen eta egokitasunaren soslaiak SPME temperatura eta denborarentzako.



Aldibereko PAH ezberdinen erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko SOE-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra **2.17 Irudian** laburbiltzen da. Prozedura luze xamarra, eta disolbatzaile kantitate handia kontsumitzen duena, baina bestalde, emaitza onak ematen dituena.



2.17. Irudia. Lur laginetan aldibereko PAH ezberdinen erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko SOE-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra.

### 2.3.2 Ur beroaren bidezko erauzketa eta HS-SPME-aren bidezko aurre-kontzentrazio prozedura zuzena (HWD-HS-SPME)

Kasu honetan ere, baldintzarik onenak definitzearen, bi diseinu esperimental aurrera eramanez: hasteko, diseinu faktorial zatikatua erabili da erauzketaren gainean eragiten duten aldagai adierazgarrienak determinatzeko. Ondoren, optimizaziorako diseinua egin da, diseinu konposatu zentrala hain zuzen, aldagai esanguratsuenen erantzun hobereana bilatzeko erabili dena. Prozedura orokorraren adierazpen eskematikoa **2.14 (B) Irudian** azaltzen da. SOE-HS-SPME erauzketaren optimizazioan egin bezala, ikerketa honetarako  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  kontzentrazioko 3 PAH-ekin (NAF, ANT eta FLT) dopatutako lur garbia erabili da.

#### 2.3.2.1 Diseinu faktorial zatikatua

Atal honetan ur beroaren bidez erauzketa zuzena proposatzen da. Ura berez erauzle ona izan ez arren, tenperatura egokian, ikusiko dugunez, zubi bezala joka dezake fase solido (lur matrizea), fase likido (ura, erauzlea), gas fase (buru-gunea) eta zuntzaren artean. Esan bezala, erauzketa metodo optimizatua lortzeko prozesua, bi urrats ezberdinetan burutu da. Lehenengoan, diseinu faktorial zatikatua erabili ostean, aldagai esanguratsuenak lortu dira. Bigarrenean, diseinu zentral konposatu batekin, erantzun optimoa bilatu da.

Hasteko, aldagai nagusien eragina ebaluatzeko diseinu faktorial zatikatua erabili da. Laborategian hartutako esperientziarekin, eta beste ikerlari batzuen lan eskarmentuan oinarrituz [**Cam et al., 2001**] zuzenean aurretiaz ezagunak diren aldagai esanguratsuenak hautatu dira: Pisatutako lurra, Erauzketa denbora, Erauzketa tenperatura, Gatz kontzentrazioa (NaCl) fase likidoan, Buru-guneko bolumena eta Desortzio denbora. Kasu honetan erabilitako bahetutako zoru mota  $63\mu\text{m}$ -koa izan da. Aurreko azterketan aldagai ez esanguratsu lez jokatu du bahe neurria, ondorioz kasu honetan hasieratik bahe txikiena hautatu da, irabiatzeko orduan arazo gutxiago emango baititu.

Aldagai hauek, euren kodea, eta balio altu eta baxuak (aldagai kuantitatiboak) **2.8 Taulan** jasota datoz. Erabilitako diseinu faktorial zatikatua  $2^{6-2}$  izan da. Mota honetako diseinuak aldagai esanguratsuenak ezberdindu eta efektu nagusiak ebaluatzea baimentzen du saiakera gutxietan. Diseinu honek 4. mailako ebazpena dauka, efektu nagusiak 3. mailako interakzioekin elkarturik daude beraz, eta interakzioek beraien artean ere elkarturik daude.

Kasu honetan, alde batetik 16 saio daude, eta hauei 4 puntu zentral gehitzen zaizkio, guztira 20 saio daudelarik. Aurreko atalean aldagai ezberdinen garrantzia azaltzen da, baina diseinu honetan aldagai berri bi kontutan hartu dira:

- NaCl gatzaren adizioa fase urtsuan: Gatz geldoen presentzia fase urtsuan erauzketa etekina handitu dezake, NaCl-aren adizioak izan ere, analitoen likido-gas banaketa koefizientearen gainean eragina izan baitezake, fase urtsutik gas faserako jauzia erraztuz [Pawliszyn, 1997].
- Buru guneko bolumena: Lur-ur nahastea saioldi barruan iman irabiatzaileak eragiterakoan, zurrumbilo bat eratzen da (*vortex*). Gehitutako erauzle kantitatearen arabera zurrumbilo honen dimentsioak handiagoak edo txikiagoak izango dira. Zentzu honetan analitoek daukaten erraztasuna jauzia emateko, aldatzen joango da zurrumbilo honek fase likido eta solidoaren (zuntzaren) artean eratzen duen fase gaseosoaren (buru-gunea) bolumena aldatzen bada.

2.8. Taula. HWD-HS-SPME erauzketaren aldagai esperimentalak eta mailak.

Aldagaiak	Kodea	Maila	
		Baxua	Altua
<b>Pisatutako lurra (g)</b>	S	0.1	1.0
<b>Erauzketa tenperatura (°C)</b>	T	20	80
<b>Erauzketa denbora (min)</b>	t	20	60
<b>% Gatza (NaCl)</b>	NaCl	0	20
<b>Buru Gune bolumena (mL)</b>	HS	15	25
<b>Desortzio denbora (min)</b>	$t_{\text{desor}}$	1	5

Ikerketa honetan ere 3 PAHrekin (Naftaleno, Antrazeno eta Fluorantenoarekin) 500 ng·g<sup>-1</sup>-tan dopatutako lurra erabili da. **2.9 Taulan** aurkezten dira, saiakera bakoitzean erabilitako aldagai ezberdinen balioak matrize diseinuan. 20 saiakera ezberdin egin dira, horietatik lau erdiko puntuei dagozkie (puntu zentralak). Saiakerak ausazkoak izan dira, kanpoko errorearen gehipena saiezuz. Saiakera bakoitzean lorturiko emaitzak (nahierako azalera unitatean) 2.9 Taulan laburbilduta daude.

2.9. Taula. 2<sup>6-2</sup> diseinu faktorial zatikatuaren matrizea eta emaitzak HWD-HS-SPME erauzketan.

Saiakera	S	T	t	NaCl	HS	t <sub>desor</sub>	NAF	ANT	FLT
<b>3</b>	0.1	80	20	0	25	5	6998	67332	52817
<b>7</b>	0.1	80	60	0	15	5	5689	75603	883227
<b>5</b>	0.1	20	60	0	25	1	14573	12224	3362
<b>14</b>	1.0	20	60	20	15	1	7768	724	179
<b>1</b>	0.1	20	20	0	15	1	2560	1210	414
<b>13</b>	0.1	20	60	20	25	5	28410	5898	1649
<b>12</b>	1.0	80	20	20	15	5	15572	29345	14282
<b>6</b>	1.0	20	60	0	15	5	4660	750	159
<b>10</b>	1.0	20	20	20	25	1	3430	216	55
<b>2</b>	1.0	20	20	0	25	5	2576	196	59
<b>20(z)</b>	0.55	50	40	10	20	3	21318	15881	4534
<b>8</b>	1.0	80	60	0	25	1	6558	33400	22738
<b>9</b>	0.1	20	20	20	15	5	8688	1998	705
<b>4</b>	1.0	80	20	0	15	1	5203	21850	11357
<b>11</b>	0.1	80	20	20	25	1	15644	110399	75923
<b>15</b>	1.0	80	60	20	15	1	18840	168560	181789
<b>16</b>	1.0	80	60	20	25	5	14191	45259	36295
<b>18(z)</b>	0.55	50	40	10	20	3	19691	15141	4181
<b>17(z)</b>	0.55	50	40	10	20	3	21017	16275	4628
<b>19(z)</b>	0.55	50	40	10	20	3	21633	17276	4716

(z): Puntu zentrala

Lorturiko datuak bariantzaren analisiarekin ebaluatu dira (**2.10 Taula**), aldagai eta modeloaren esanahia determinatzeko.  $p < 0.05$  baino txikiago baldin bada (beltzez adieraziak), orduan aldagai horren aldakortasuna adierazgarria da (%95eko konfiantza mailan eragin esanguratsua du alegia). Bariantzaren analisisa egin ostean, ondoko aldagaiak esanguratsuenak direla aurkitu da: gatz kontzentrazioa (batez ere naftalenoaren erauzketa bideratzeko), erauzketa temperatura (pisu molekular altuko PAHetan) eta pisatutako lurra (zenbat eta lur gehiago pisatu geroz eta emaitza eskasagoak lortu dira, saiodi barruan imanak arazoak baitauzka lur-ur nahasketa egoki irabiatzeko). Arraroa suertatu da diseinuak, erauzketa denbora aldagai ez adierazgarri bezala determinatzea, izan ere aurrez suposatu baitzen denbora luzeek eragin positibo nabarmena izango luketela pisu molekular handiko PAHetan, ez da horrela suertatu. Arrazoi teknikoengatik pisatutako lurra 0.5 g-tan finkatu da, horrela optimizazio urratserako gatz kontzentrazioa eta erauzketa temperatura utziko dira bakarrik.

Helburu berdinarekin PARETO grafikoa irudikatu da (**2.18 Irudia**). Grafiko honetan aldagai bakoitzarentzat efektuen balioak (balio absolutuetan) erakusten dira. Irudia honetan %95-eko konfiantzari dagokion marra bertikal bat irudikatu da. Marra hau gurutzatzen duten balioak adierazgarritzat hartzen dira %95-ean. Efektuen sinua, erantzunean igoera (+) edo beherakada (-) ematen den adierazten digu, aldagai bakoitzaren balio txikitik handira pasatzerakoan. 2.18 Irudiko hiru grafikoak behatuz, aldagai esanguratsuenak lehenago aipatutakoak direla argi ebazten da.

2.10. Taula.  $2^{6-2}$  diseinu faktorial zatikatuaren HWD-HS-SPME erauzketarentzako ANOVAren datuak naftaleno, antrazenoa eta fluorantenoarentzako.

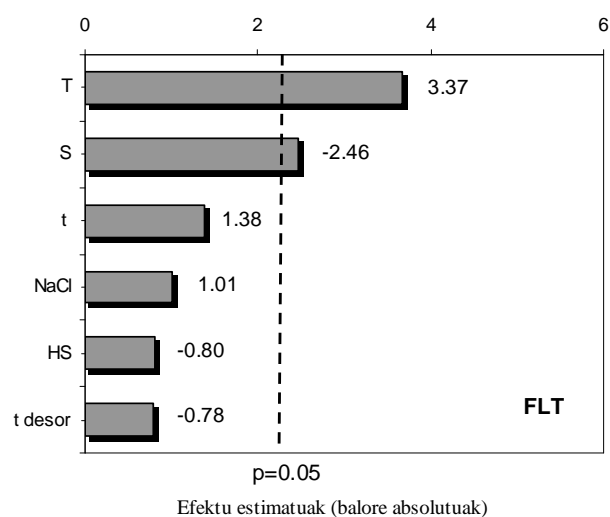
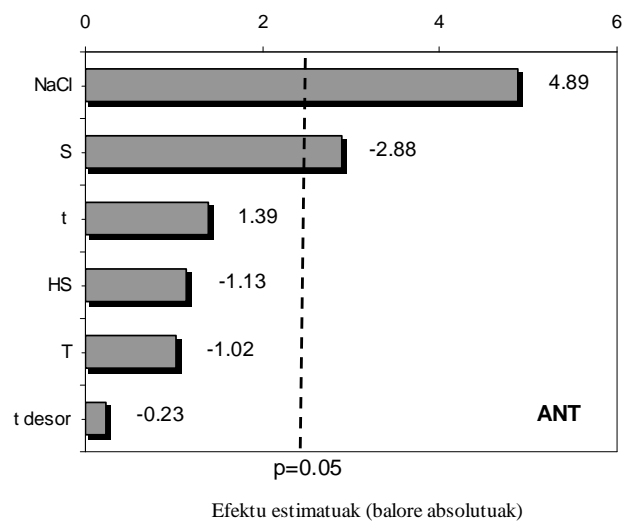
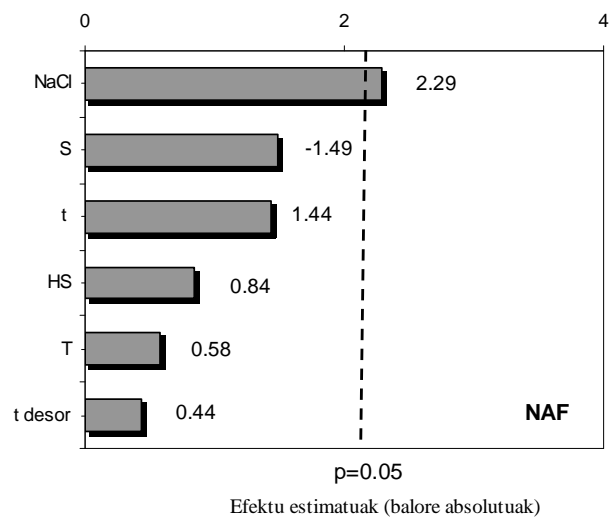
Naftalenoa					
$R^2 = 0.8563$ ; Adj:0.6725					
Aldagaiak	SS	df	MS	F	p
(1) S	1.073507E+08	1	107350672	2.228327	0.159368
(2) T	1.605976E+07	1	16059756	0.333360	0.573551
(3) t	1.000972E+08	1	100097232	2.077764	0.173112
(4) NaCl	2.538141E+08	1	253814074	5.268535	<b>0.038995</b>
(5) HS	3.422477E+07	1	34224765	0.710419	0.414544
(6) $t_{desor}$	9.313818E+06	1	9313818	0.193331	0.667379
<b>Error</b>	6.262810E+08	13	48175460		
<b>Total SS</b>	1.147141E+09	19			

## 2.10. Taula. Jarraipena.

<b>Antrazenoa</b>					
R <sup>2</sup> = 0.9842; Adj:0.7719					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>(1) S</b>	6.063891E+09	1	6.063891E+09	8.31182	<b>0.012819</b>
<b>(2) T</b>	1.745925E+10	1	1.745925E+10	23.93151	<b>0.000294</b>
<b>(3) t</b>	7.544920E+08	1	7.544920E+08	1.03419	0.327731
<b>(4) NaCl</b>	1.403163E+09	1	1.403163E+09	1.92332	0.188812
<b>(5) HS</b>	3.942681E+07	1	3.942681E+07	0.05404	0.819792
<b>(6) t<sub>desor</sub></b>	9.333583E+08	1	9.333583E+08	1.27936	0.278453
<b>Error</b>	9.484159E+09	13	7.295507E+08		
<b>Total SS</b>	3.613774E+10	19			

<b>Fluorantenoa</b>					
R <sup>2</sup> = 0.8882; Adj:0.6349					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>(1) S</b>	6.394308E+09	1	6.394308E+09	6.05199	<b>0.028665</b>
<b>(2) T</b>	1.421721E+10	1	1.421721E+10	13.45610	<b>0.002837</b>
<b>(3) t</b>	1.999880E+09	1	1.999880E+09	1.89282	0.192126
<b>(4) NaCl</b>	1.083174E+09	1	1.083174E+09	1.02519	0.329767
<b>(5) HS</b>	6.800450E+08	1	6.800450E+08	0.64364	0.436817
<b>(6) t<sub>desor</sub></b>	6.442458E+08	1	6.442458E+08	0.60976	0.448866
<b>Error</b>	1.373531E+10	13	1.056563E+09		
<b>Total SS</b>	3.875418E+10	19			

Beste aldagaien ekarpena ez da hain adierazgarria, izan ere, ikerketaren hasieran ongi definitu baitira aldagai hauen balioak bibliografian oinarrituz, hortaz analito bakoitzarentzako lorturiko emaitzen aldaera aldagai hauek diseinuan hartzen duten balioen arabera ez da asko aldatzen. Beste lau aldagai hauek hortaz horrela finkatu dira: Pisatutako lurra, 0.5 g; Desortzio denbora, 3 min; Buru guneko bolumena, 20 mL; Erauzketa denbora, 60 min.

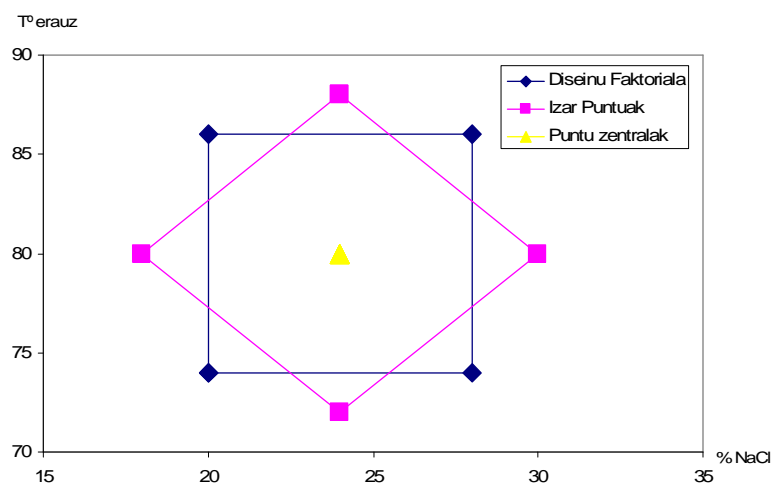


2.18. Irudia. HWD-HS-SPME erauzketan, diseinu faktorial zatikatuaren bidez lorturiko efektu nagusien Pareto grafikoa, naftaleno, antrazeno eta fluorantenoarentzako.

## 2.3.2.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD)

Bigarren urratsean, bi aldagai adierazgarrienak optimizatzeko asmoarekin, diseinu konposatu zentral (CCD) bat eraiki da,  $2^2$  diseinu faktorialean oinarrituz, ikerketa eremutik rotabilitatearen  $\alpha \pm 1.414$ -ra kokatutako lau izar puntuekin eta puntu zentral bat gehitu delarik. Azkenik, diseinua puntu zentraleko beste saiakuntza batekin osatu da ere. Hau dena **2.19 Irudian** ikus daiteke. Horrela, diseinu matrizea ausaz egindako 10 saiakuntza ezberdinetan oinarritu da, kanpo aldagai kutsatzaileen efektua ekiditeko asmoz.

Diseinu honen bidez, aldagai esanguratsuen neurri hoberenak topatu dira. **2.11 Taulan** adierazten dira lehenengo fasean ezberdindutako aldagai adierazgarriak, eta bigarren fase honetarako egokitutako balio baxu, ertain eta altuak. Temperaturaren kasuan, adierazgarria suertatu da aurreko diseinuan, eta Paretoak esan digu zeinu positiboarekin izan dela, hau da, temperatura handiek erauzketa prozesu orokorraren erantzuna hobetzen dutela, horregatik optimizazio tartea  $74-86^\circ\text{C}$  bitartean finkatu da. Gatza ere, aldakortasun adierazgarria erakutsi du, batez ere naftalenoaren kasuan, positiboa gainera, honek esan gura du NaCl-aren adizioa erantzunaren hobekuntza nabarmena dakarrela, horregatik optimizazio tartea %20 %28 bitartean finkatu da. Esan bezala pisatutako lurra 0.5 g-tan finkatu da arrazoi teknikoak direla eta. **2.11 Taulan** ere aldagai bakoitzari egokitutako balioen diseinu matrizea aurkezten da. Saiakera ezberdin bakoitzetik lortutako erantzunen emaitzak ere bertan emanak datoz, nahierako azalera unitateetan.



2.19. Irudia. CCD-ren saiakuntzak HWD-HS-SPME erauzketarentzako.



Egokitasunaren soslaiei atzeman ezkerro (**2.20.a eta 2.20.b Irudiak**), errez ondoriozta daiteke optimizaturiko bi aldagaien balio hoberenak hauek izango lirakeela: 80°C erauzketa temperatura (PAHen hegazkortasuna handitu egiten da temperaturarekin, baina oreka bat bilatu behar da, pisu molekular ezberdineko PAHen arteko lehia) eta %30eko NaCl kontzentrazioa (asea alegia, izan ere gatz geldoek konposatu hegazkorren partizio koefizienteak handiagotzen baitute, eta gas fasera salto egiteko erraztasun handiagoa dute [**Pawliszyn, 1997; Alpendurada, 2000; King et al., 2003**]).

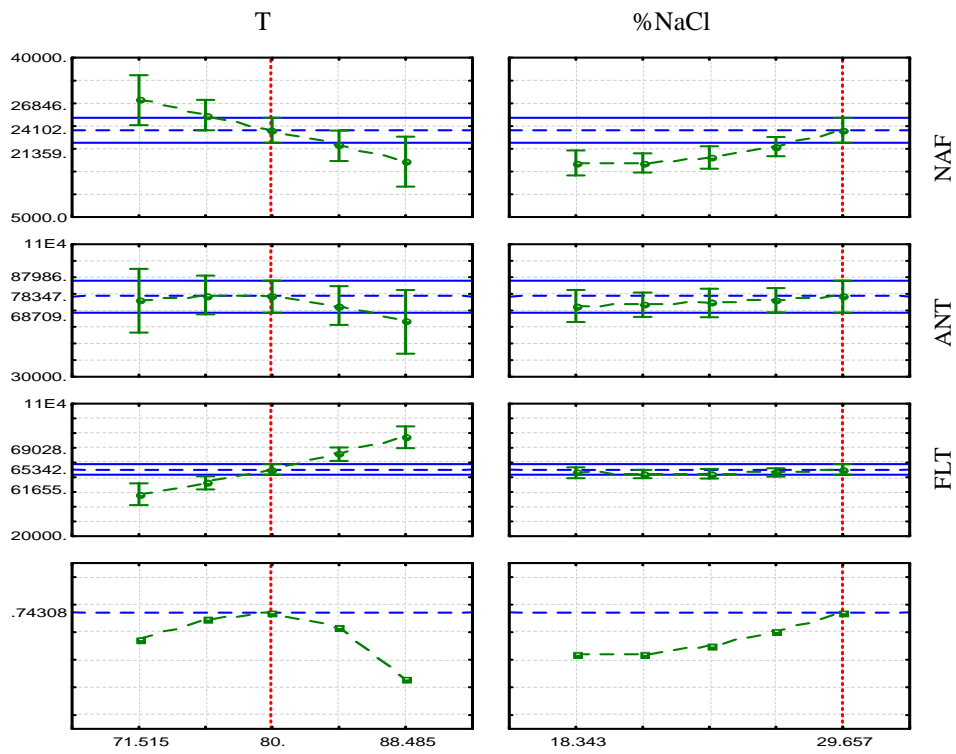
2.11. Taula. Aldagai esperimentalak, mailak eta diseinu matrizea diseinu konposatu zentralerako (CCD), naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren determinaziorako HWD-HS-SPME erauzketaren bitartez.

Aldagaiak	Kodea	Mailak		
		Baxua	Ertaina	Altua
% NaCl	NaCl	20	24	28
Erauzketa temperatura (°C)	T	74	80	86

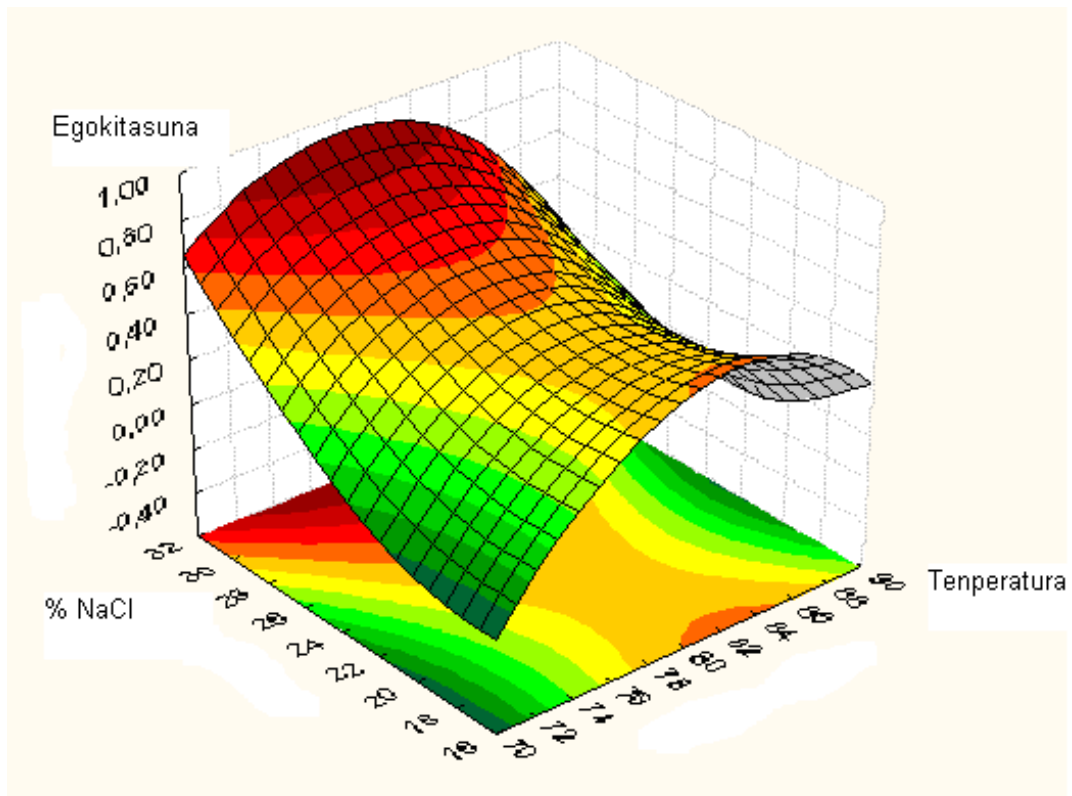
  

Saiakuntzak	T	NaCl	NAF	ANT	FLT
<b>7</b>	80	18	17158	74744	63692
<b>3</b>	86	20	13027	67804	83843
<b>5</b>	72	24	22497	62168	37330
<b>1</b>	74	20	19730	66333	42566
<b>8</b>	80	30	24558	77646	64489
<b>4</b>	86	28	16314	67005	79990
<b>10(z)</b>	80	24	19151	75697	61670
<b>9(z)</b>	80	24	17053	73495	62956
<b>6</b>	88	24	14101	70765	92070
<b>2</b>	74	28	26366	78922	51878

(z): Puntu Zentrala

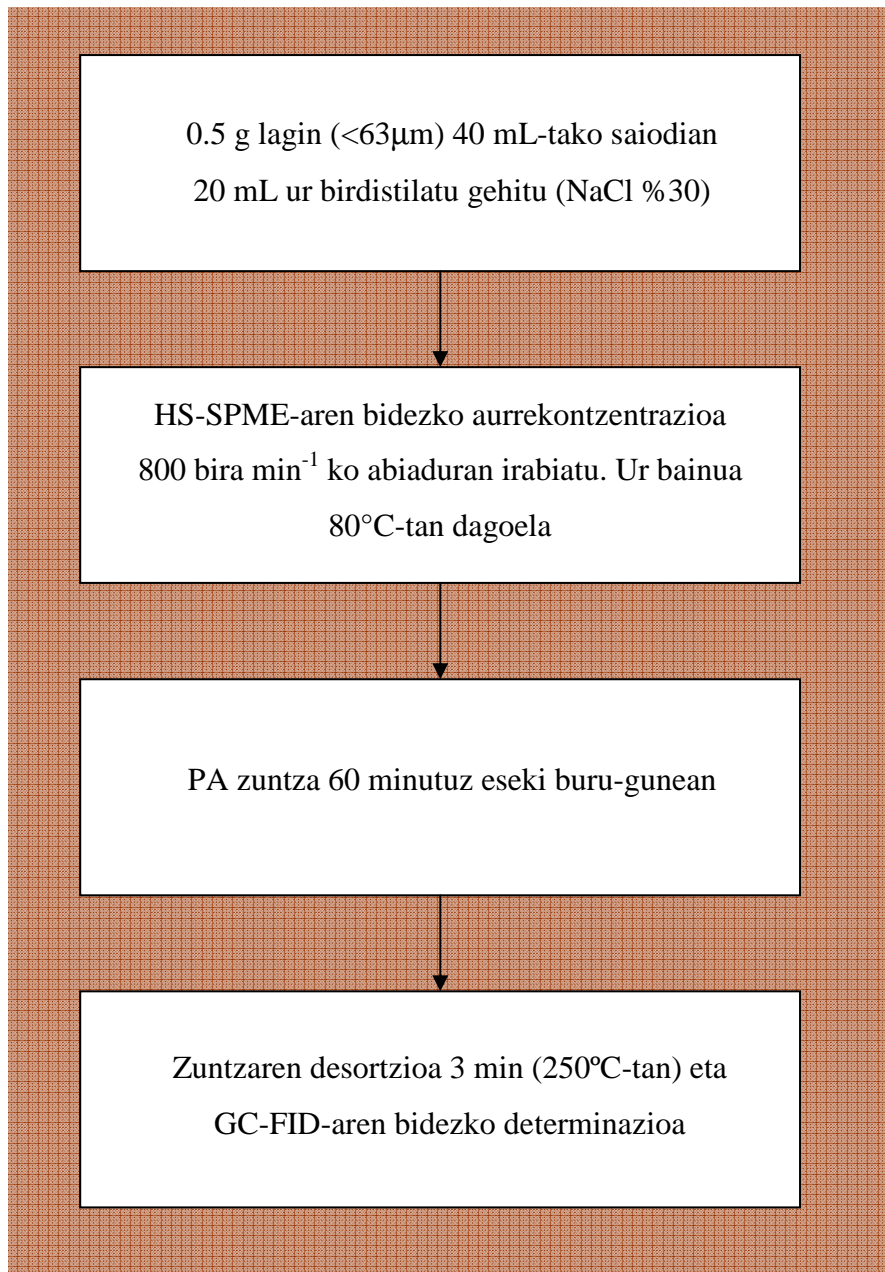


2.20.a. Irudia. CCD-aren emaitzetan oinarrituz auresandako balioen eta egokitasunaren soslaiak naftaleno, antrazeno eta fluorantenoaren HWD-HS-SPME metodoaren bidezko determinazioan.



2.20.b. Irudia. CCD-aren emaitzetan oinarrituz auresandako balioen eta egokitasunaren soslaiak SPME temperatura eta gatz adiziorako HWD-HS-SPME metodoaren bidezko determinazioan.

Aldibereko PAH ezberdinen erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko Ur-Beroko-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra **2.21 Irudian** laburbiltzen da. Aurreko prozedurarekin alderatuz, denbora laburragoa behar du eta disolbatzaile kopuru txikiagoa (ingurumenarekin adeitsuagoa).



2.21. Irudia. Lur laginetako aldibereko PAH ezberdinen erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko HWD-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra.

### 2.3.3 Bi metodoen arteko erkaketa

Proposatutako bi metodoen arteko erkaketa egiteko, 3 PAHekin (naftaleno, antrazeno eta fluorantenoa) dopatutako lurraren analisiaren hiru errepikapen independenteen batez bestekoa

konparatuz egin da. SOE-HS-SPME erauzketan eta HWD-HS-SPME erauzketan erabilitako lur kopurua ezberdina denez (2 eta 0.5 hurrenez hurren), lorturiko emaitzak (gailur azalera) normalizatu egin dira pisatutako lur masarekiko.

Bi prozedurak optimizatu ostean, HWD-HS-SPME erauzketa zuzena hautatu da, ur-beroko erauzketa alegia, lagin errealak aztertzeko; bide hau da izan ere, azkarrena eta garbiena (ur birdistilatua erauzlea izanik). Erauzle ez-polarren erabilera ultrasoinuekin arazoak eman ditu, SPME zuntza asetzen baititu kasu askotan, kromatograman gailur asko estaltzen dituelarik. Ultrasoinuen bidezko erauzketan ematen den berreskurapena, erauzketa zuzenean ematen dena baino handiagoa da, baina azkenengo honetan lortzen diren gailurrak azalera handiagoa dute, bolumen txikiagoko alikuota erabiltzeko beharrik ez baitago. Gainera, ultrasoinuen bidezko erauzketa bide neketsua da, luzea eta garestiagoa. Bestalde, bi prozeduren emaitzak alderatzen baditugu erauzketa denbora berdina izanda (60 min), HWD-HS-SPME metodoarekin lortzen diren emaitzak SOE-HS-SPME metodoarekin lortutakoak baino hobetoak dira.

Ikerketa honen helburuetako bat miaketa, baheketa edo *screening* metodo erabilgarri bat lortzea da, modu erraz eta azkar batetan lagin batetan xedetzat jarritako analitoak dauden edo ez jakitea alegia, ahalik eta azkar, errez eta merkeen. Arrazoi guztiak kontutan hartuz, lagin errealak aztertzeko aukeratutako metodoa HWD-HS-SPME izan da. Metodo honek errepikakortasun ona dauka, denbora gutxi behar du, eta disolbatzaile bakoa da. Ezaugarri guzti hauek bihurtzen dute baheketa metodo sinple eta aplikagarria.

Behin metodo optimizatua aukeratua izan dela, ondoko beste hiru eta lau eratzuneko PAHetara zabaldu eta aplikatu da lagin errealen analisisian: naftalenoa, antrazenoa, azenaftilenoa, azenaftenoa, fluorenoa, fluorantenoa, fenantrenoa, pirenoa, krisenoa eta bentzo(a)antrazenoa.

#### **2.3.4 Ezaugarri analitikoak**

Behin metodoa aukeratuta (HWD-HS-SPME), bere kalitatea balioztatu behar da, kalibrazio kurbak, errepikakortasuna, detekzio mugak eta zehaztasuna aztertuz.

## 2.3.4.1 Linealtasuna

Linealtasuna aztertzerako orduan, kontutan hartu behar da matrizeak eragin ditzakeen efektu negatiboak kalibrazio kurben sentikortasun gainean. Goi eta behe kalibratu bi egin dira, 1-10  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  eta 10-50  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  bitartean. Linealtasuna aztertzeko erabili den lur kutsatua, aurreko atalean optimizazioak egiteko erabili den lurra kutsatzeko metodo berdinarekin egin da [Sawada *et al.*, 2004]. Kasu honetan, optimizazioan bezala, soilik hiru analito aztertu egin dira, lurrak bitarte ezberdinetan PAH guztiakin kutsatzeak suposatzen duen lan eskerga dela eta. Lortutako kalibrazio-kurben ekuazioak **2.12 Taulan** bildu dira. Kontzentrazioen neurketa adizio estandarren bidez egin da. Metodoak linealtasun altua erakusten du azterturiko analitoekin.

2.12. Taula. Goi eta behe kalibrazio kurbak HWD-HS-SPME metodoaren bitartez lurretan PAH-en determinazioa egiteko.

Analitoak	Behe-kalibratua 1-10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$		Goi-kalibratua 10-50 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	
	Kalibrazio-kurba	$R^2$	Kalibrazio-kurba	$R^2$
Naftalenoa	$S = 0.1811 \cdot C + 8.4822$	0.9949	$S = 231.74 \cdot C - 30.128$	0.9990
Antrazenoa	$S = 0.4197 \cdot C + 57.012$	0.9876	$S = 561.56 \cdot C + 643.34$	0.9754
Fluorantenoa	$S = 0.2833 \cdot C + 205.29$	0.9339	$S = 421.55 \cdot C + 568.15$	0.9907

*S*: Analitoaren seinalearen azalera; *C*: Analitoaren kontzentrazioa;  $R^2$ : Determinazio-koefizientea.

## 2.3.4.2 Detekzio mugak

Edozein prozedura analitikoan, zuriaren balioak ezagutzea ezinbestekoa da, jarraitutako prozesuan, matrize zein errektibo ezberdinen efektuak ebaluatu nahi ezker. Ebaluaketa honek ere, erabilitako prozeduran, analito bakoitzarentzako detekzio-mugak kalkulatzeko ahalbideratzen digu. Detekzio-mugak kalkulatzeko zuri baten determinazioa hiru aldiz egin dira eta  $S_{\text{tot}} = S + 3s$  irizpidea jarraituz;  $S_{\text{tot}}$  kontzentrazioa kalkulatzeko erabilitako seinalea,

S seinalearen batz bestekoa eta s seinale guztien desbideratze estandarra izanik, gailur kromatografikoa detektatu denean analitoaren erretentzio denboran [Miller and Miller, 2002]. Detekzio mugak **2.13 Taulan** adierazi dira.

2.13. Taula. HWD-HS-SPME erauzketa zuzenaren bitartez lurtean determinatutako PAHentzako detekzio mugak.

	D.M. ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )
Naftalenoa	0.97
Azenaftenoa	4.00
Azenaftilenoa	2.63
Fluorenoa	2.26
Fenantrenoa	3.96
Antrazenoa	3.26
Fluorantenoa	2.64
Pirenoa	4.63
Bentzo(a)antrazenoa	21.21
Krisenoa	42.50

Datuetatik ondorioztatu daiteke metodoa sentikorrakoa dela pisu molekular baxuko PAHentzako. Pisu molekular handiagoko PAHentzako, krisenoa bezala, sentikortasun baxuagoa erakusten du metodoak, PAH hauen hegazkortasun txikiak seinalean duten desbideratze handiagoa dela eta. Detekzio mugak, beste lan batzuekin alderatuz, txikiagoak edo antzekoak diren balioak topa daitezke FID detektorea erabiltzen den kasuetan [Xing *et al.*, 2006], MS bezalako detektore sentikorrak erabiltzen direnean aldiz, detekzio muga baxuagoak lortu daitezkeela ikusten da [Criado *et al.*, 2004; Fu *et al.*, 2009]. Dena den, lorturiko detekzio mugak onak dira, eta kontzentrazio ertaineko lagin kutsatuetan analitoak konfiantzarekin determinatu eta kuantifikatzea baimenduko lukete.

#### 2.3.4.3 Errepikakortasuna egun eta egunetan

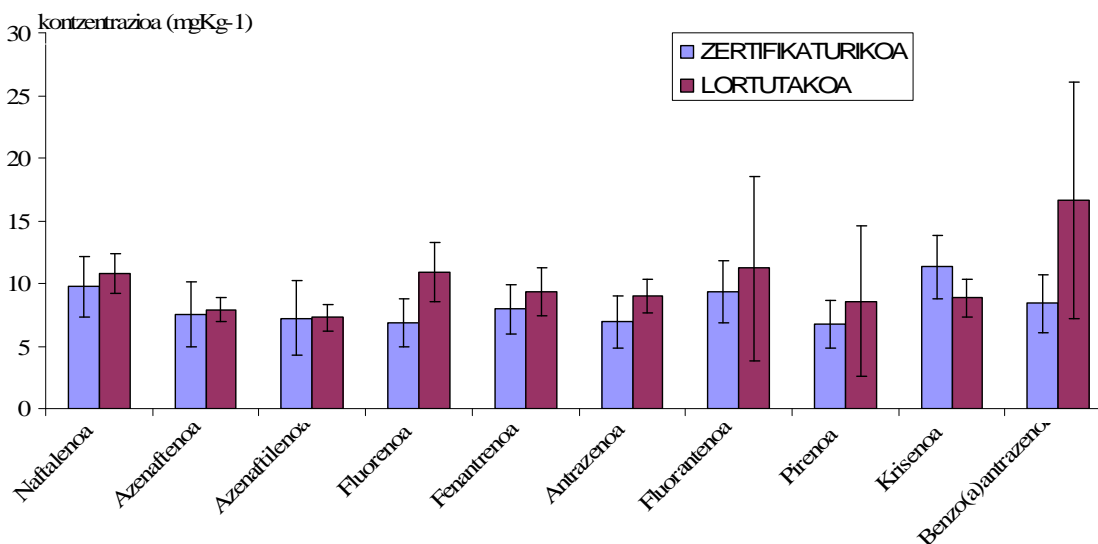
Errepikakortasuna egunean, desbideratze estandar erlatiboa bezala adierazia (DEE), egun berean modu jarraian egindako sei lagin independenteen analisien emaitzetatik lortu da. Analito bakoitzaren kontzentrazioa  $10 \text{ mg Kg}^{-1}$ -ekoa izan da. Lortutako emaitza guztiak, 10 PAHentzako %7.2 eta %9.3 bitartean egon dira. Errepikakortasuna egunetan, desbideratze estandar erlatiboa bezala adierazia (DEE), egun desberdinetan modu jarraian egindako sei

lagin independenteen analisisen emaitzetatik lortu da, analito bakoitzaren kontzentrazioa 10 mg Kg<sup>-1</sup>-ekoa izanik ere. Lortutako emaitza guztiak, 10 PAHentzako %2.4 eta %9.8 bitartean egon dira. Kasu guztietan faktore bakarreko bariantza analisia egiterakoan (ANOVA) lortutako F balioak F kritikoa baino txikiagoa izan da beti. Honen arabera, ez dago ezberdintasun esanguratsurik egun berean zein egun ezberdinetan egindako neurketen artean %95ko konfiantza mailan.

#### 2.3.4.4 Zehaztasuna

Metodoaren zehaztasuna estimatzeko, eta bide berean metodoaren balidazioa egiteko, erreferentziako material bat erabili da. Lurrean PAHen determinazioa egiteko proposaturiko metodoa (HWD-HS-SPME) balidatzeko hortaz, LGC Promochem etxe komertzialaren bitartez erositako (LGC Promochem Barcelona, Espainia) RTC (*Resource Technology Corporation*) etxe komertzialeko, RTC-CRM-123-100, “BNAs in soil” izena duen erreferentziako materiala erabili da, lurrean zenbait konposatu organiko hegazkorren nahasketa izanik (PAHak eta pestizidak batez ere).

Analizaturiko 10 PAHen kuantifikaziorako adizio estandarren metodoa erabili da. Metodo honek matrizearen efektua saihesten laguntzen du. Bost gehikuntza egin dira, 5, 10, 25, 40 eta 50 mg kg<sup>-1</sup>-koak hain zuzen. CRM-aren PAHen determinazio eta kuantifikazioak emaitza onak erakusten ditu pisu molekular baxuko PAHentzako. Benzo(a)antrazenoaren kasuan aldiz, emaitzak eskasagoak dira, analito honek erakutsi baitu ezegonkortasun analitiko handiena, hegazkortasun txikiena baitaukalako, krisenoarekin batera. PAHen kontzentrazioak eta balio teorikoen arteko diferentziak ez dira estatistikoki adierazgarriak (%95ko konfiantza mailan). PAHen balioak konfiantza tarte barruan egonik, balio esperimentalen eta teorikoen ziurgabetasunak gainezartzen direnez (**2.22 Irudia**), metodoa zehatza dela esan daiteke. Balio teorikoaren desbiderazio estandarra errorearen propagazioaren bidez kalkulatu da.



2.22. Irudia. Lurrean HWD-HS-SPME metodoaren bidezko CRM 123-100 erreferentziako materialaren analisisan PAHen analisisirako zehaztasunaren azterketan lortutako emaitzak.

### 2.3.5 Lagin errealen analisia

Garatutako HWD-HS-SPME metodoa Gipuzkoako zenbait lagin kutsatuetan aplikatu da PAHen analisi kuantitatiborako. PAHen kuantifikazioa adizio estandarra metodoaren bidez egin da. Egindako gehipenak kasuan kasu, 0.1 eta 10 mg kg<sup>-1</sup> bitartean egon dira. Emaitzak 2.14 Taulan laburbilduta daude.

Lehenik eta behin, 20 mL ur birdistilatu (NaCl %30) gehitu dira 0.5g lur laginera (partikula tamaina ≤63µm). Nahasketa 40 mL-tako saioldi batetan egin da zuzenean. Tefloiez estalitako 20 mm luzerako irabiagailu magnetiko bat erabili da soluzioa 800 rpm-ko abiaduran irabiarazteko. PAHen erauzketa buru-gunean egin da, 85 µm PA zuntza irabiatutako soluzioan sortzen den konoaren erdian esekiz. Erauzketak 60 minutuz eta 80°C-ko baldintzapean luzatu ostean, zuntza atzeraka gorde da zuntz-zorroaren orratzean, segidan GC-aren injekzio portuan sartuz, analisia burutzearren. GC-aren injekzio portuko beirazko *linerran* zuntza termikoki desorbatu da 250°C-tan 3 minutuz, analitoak erabat askatuz. Polartasunaren arabera, zutabe kromatografikoak analitoak banatu ditu (euren determinazioa erretentzio denborari esker egin da), eta azkenik FID detektore batek seinalea sortu eta gailurra kuantifikatuko du, ordenagailu bati esker. Honez gain, zuriak ere aldizka analizatu dira, kutsatzailerik ez dagoela baieztatuz. Konposatu hauek neurtu dira lur lagin bakoitzean: Naftalenoa, Azenaftenoa, Azenaftilenoa, Fluorenoa, Antrazenoa, Fenantrenoa, Fluorantenoa, Pirenoa, Krisenoa eta Bentzo(a)antrazenoa.



2.14. Taula. Adizio estandarraren bidez kalkulatoriko hamar PAHen kontzentrazioak ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) analizaturiko hamar laginetan.

Laginak	NAF	AZI	AZE	FLU	FEN	ANT	FLT	PIR	BaA	KRI	$\Sigma$ PAH
<b>1. Oriamendi 1</b>	0.050	0.054	0.003	0.006	0.033	0.007	0.192	0.222	0.129	0.150	0.85
<b>2. Oriamendi 2</b>	0.110	0.890	< DM	1.010	4.960	1.850	4.990	7.110	2.710	6.380	30.01
<b>3. Arrasate</b>	< DM	0.121	< DM	0.004	< DM	0.017	0.025	0.026	0.050	< DM	0.27
<b>4. Bergara</b>	0.015	0.110	0.004	0.015	0.003	< DM	0.004	0.003	< DM	0.107	0.27
<b>5. Zumaia</b>	< DM	0.461	0.020	< DM	0.251	0.011	0.385	0.329	0.840	0.315	2.61
<b>6. Tolosa</b>	0.028	0.025	0.003	0.003	0.016	< DM	0.213	0.096	0.023	0.281	0.69
<b>7. Zarautz</b>	0.085	0.177	0.031	0.093	0.033	0.037	0.076	0.077	0.160	0.261	1.03
<b>8. Maltzaga</b>	< DM	0.096	< DM	< DM	0.005	< DM	0.009	0.025	0.027	0.042	0.20
<b>9. Amara 1</b>	0.040	0.138	0.040	0.130	1.754	0.640	3.366	2.387	0.922	2.971	12.36
<b>10. Amara 2</b>	3.584	4.800	0.644	7.133	21.640	15.884	20.600	20.790	20.019	21.162	136.30

<DM: Detekzio mugaren azpitik

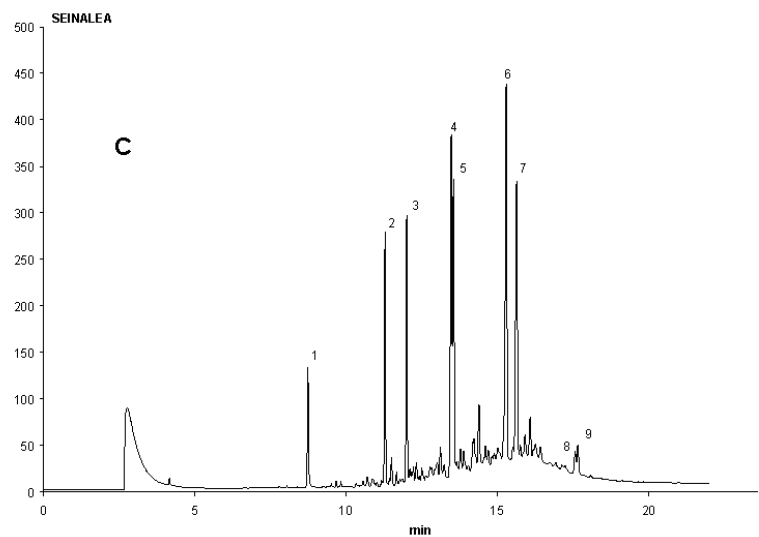
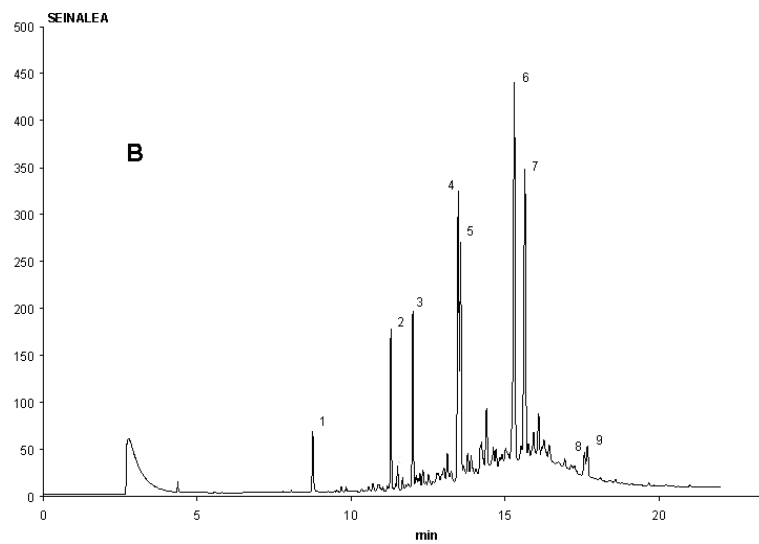
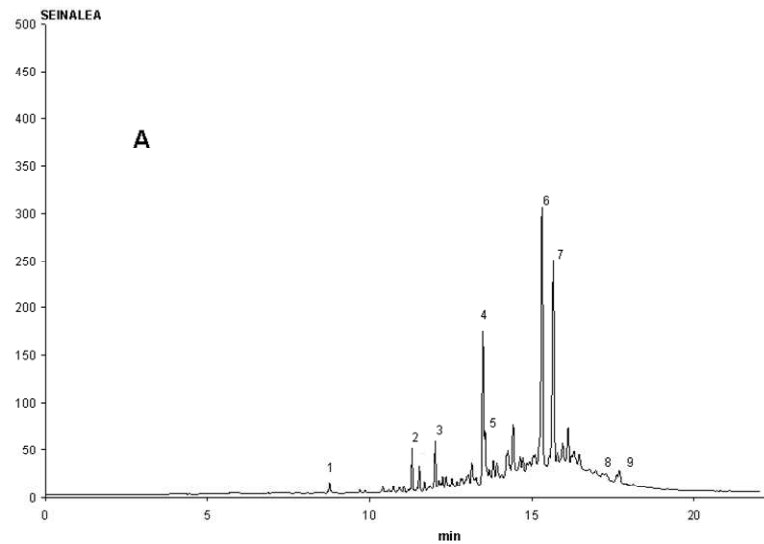
Matrize efektua saihesteko adizio estandarren metodoa erabili da lur laginetan PAHen kuantifikazioa egiteko. Egindako analisi guztien artean, aurkitutako kontzentrazioarik altuenak 2 eta 10 kokalekuetan eman dira hain zuzen (**2.23** eta **2.24 Irudietan** ikus daitezke laginketa puntu hauei dagozkien kromatogramak eta adizioak). 2. kokalekurako, Oriamendi2, 2.23 Irudian, kreosotaz trataturiko egur biltegiko lur kutsatuen analisiaren kromatograma bat gehitu da, inongo adiziorik gabe (A) eta 10 (B) eta 20 (C) mg Kg<sup>-1</sup>-eko adizio estandarrekin.

Analizaturiko zoruetan, fenantrenoa, fluorantenoa, pirenoa eta krisenoa nagusi izan dira. Honek esan gura du kutsadurak jatorri pirolitiko eta petrogeniko nahasketa bat duela [Budzinski *et al.*, 1997; Yunker *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2005; Cortazar *et al.*, 2008], aurrerago lurren karakterizazioan ikusiko dugunez. Egur biltegitik hartutako laginetan, pirenoa eta krisenoa aurkitu da. Honek baieztatzen du egur hauek kreosotaz tratatuak izan direnaren proposaturiko aukera [Eriksson *et al.*, 2001]; eta horrela da, izan ere trenbideetan eta argindar-zutoin lez erabili zirelako aspaldian, gaur egun lorategi pribatu zein publikotan apaingarri bezala erabiltzen diren bitartean. 2. kokalekuko laginentzako erabilitako kalibrazio kurbak **2.15 Taulan** jaso dira.

2.15. Taula. 2. kokalekuko laginentzako erabilitako kalibrazio kurbak.

Analitoak	Kalibrazio kurba	R <sup>2</sup>
Naftalenoa	$S = 331.32 \cdot C + 92.45$	0.9991
Azenaftenoa	$S = 740.09 \cdot C + 639.33$	0.9949
Azenaftilenoa	$S = 614.59 \cdot C + 167.71$	0.9930
Fluorenoa	$S = 805.48 \cdot C + 911.85$	0.9907
Fenantrenoa	$S = 1200.4 \cdot C + 5698.2$	0.9850
Antrazenoa	$S = 959.22 \cdot C + 2040.7$	0.9917
Fluorantenoa	$S = 2339.7 \cdot C + 141.50$	0.9935
Pirenoa	$S = 1183.3 \cdot C + 129.26$	0.9613
Bentzo(a)antrazenoa	$S = 461.93 \cdot C + 622.21$	0.9972
Krisenoa	$S = 561.92 \cdot C + 1362.2$	0.9926

*S*: Analitoaren seinalearen azalera; *C*: Analitoaren kontzentrazioa;  
*R*<sup>2</sup>: Determinazio-koefizientea.



2.23 Irudia. 2. kokalekua, kreosotaz trataturiko egur biltegiko lur kutsatuen analisiaren kromatograma, inongo adizioirik gabe (A) eta 10 (B) eta 15 (C) mg Kg<sup>-1</sup>-eko adizio estandarrekin. Gailurren esleipena: (1) Naftalenoa, (2) Azenaftenoa, (3) Fluorenoa, (4) Fenantrenoa, (5) Antrazenoa, (6) Fluorantenoa, (7) Pirenoa, (8) Bentzo(a)antrazenoa eta (9) Krisenoa.

**2.24 Irudian**, 10 kokalekuaren (Donostiako Amarako Gasifikadora zaharra hain zuzen) lur kutsatuen analisiaren kromatograma bat ikus daiteke. Inongo adiziorik gabe (A) eta 10 (B) eta 20 (C) mg Kg<sup>-1</sup>-eko adizio estandarrekin, soilik kriseno eta bentzo(a)antrazeno analitoen erretentzio denborarako. Analizaturiko zorueta, fenantrenoa, fluorantenoa, pirenoa eta krisenoa nagusi izan dira. 10. kokalekuko laginentzako erabilitako kalibrazio kurbak **2.16 Taulan** adierazten dira.

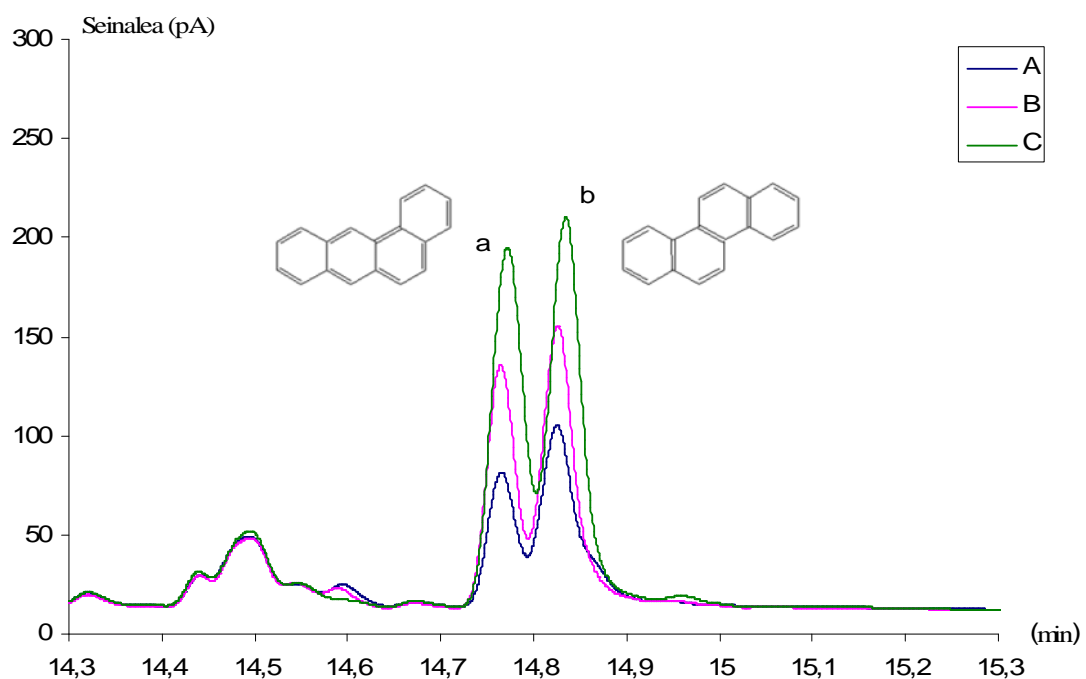
2.16. Taula. 10. Kokalekuko laginentzako erabilitako kalibrazio kurbak.

Analitoak	Kalibrazio kurba	R <sup>2</sup>
Naftalenoa	$S = 379.9 \cdot C - 26.9$	0.9915
Azenaftenoa	$S = 1454.5 \cdot C + 5.5$	0.9974
Azenaftilenoa	$S = 1276.6 \cdot C + 12.54$	0.9915
Fluorenoa	$S = 1858 \cdot C + 20.8$	0.9970
Fenantrenoa	$S = 2587 \cdot C + 6217$	0.9942
Antrazenoa	$S = 2088 \cdot C + 2241$	0.9961
Fluorantenoa	$S = 1623 \cdot C + 6277$	0.9570
Pirenoa	$S = 1375 \cdot C + 4744$	0.9420
Bentzo(a)antrazenoa	$S = 332.1 \cdot C + 108$	0.9808
Krisenoa	$S = 172.56 \cdot C + 163$	0.9449

*S: Analitoaren seinalearen azalera; C: Analitoaren kontzentrazioa; R<sup>2</sup>: Determinazio-koefizientea.*

Indarrean dagoen “lurzoria ez kutsatzeko eta kutsatutakoa garbitzeko” Euskadiko 1/2005 legean, PAHen kontzentrazioei zenbait muga jartzen zaizkio, lurretan, industri, hiri, aisia, parke eta bestelako erabilerak dauzkaten lurren artean besteak beste [Legea 1/2005]. PAH ezberdinen kontrola eramatea iradokitzen da lege honetan, horrela, antrazeno, bentzo(a)pireno, fluoranteno, naftaleno, azenafteno, bentzo(a)antrazeno eta fluorenoa bezalako konposatu organikoei mugak jartzen zaizkie lur motaren arabera, **2.17 Taulan** azaltzen den bezala. Esan beharra dago, ikerketa honetan, Gipuzkoako lurren PAHen analisisan alegia, zenbait tokitan hamar aldiz gainditzen direla PAH ezberdinei jarritako muga zehatzak. Horrela, kreosotaz trataturiko Oriamendiko egur biltegietako lurrak adibidez, bentzo(a)antrazenoaren eta hirigintzarako lurren kasurako mugak gainditzen ditu, baita bestelako erabileratako lurretan, pirenoaren kasuan. Zumaiako trenbide parean hartutako laginetan bentzo(a)antrazenoaren kasuan muga minimoa ere gainditzen da. Beste muga

gaindipen guztiak Amarako Gasifikadora zaharrea ematen dira. Larrienak naftaleno, fluoranteno eta bentzo(a)antrazenoaren kasuetan ematen dira, hiru kasu hauetan, haurrentzako jolas eremu bezala ezarritako PAH kontzentrazio mugak gainditzen baitira, eta kasu batetan, B(a)A-arentzako, industri eremu batek jasan dezakeen kontzentrazio mailarik altuena ere gainditzen da. Lur hauen analisia egin aurretik, zonaldea berez garbiketa prozesu bat jasan zuen. Begi bistakoa da garbiketa hau ez dela izan oso sakona, oraindik pisu molekular txikiko hainbat PAH-en kontzentrazio altuak topatu baitira, eta honek beste pisu molekular handiko PAH-en presentzia salatzen baitu. Gaur egun Amarako lur eremu hau etxebizitzak eraikitzeko erabili da, horrek dakarren arriskuarekin.



2.24. Irudia. 10 kokalekuaren (Amarako Gasifikadora zaharra) lur kutsatuen analisiaren kromatograma, inongo adiziorik gabe (A) eta 10 (B) eta 20 (C) mg Kg<sup>-1</sup>-eko adizio estandarrekin, soilik bentzo(a)antrazenoa (a) eta kriseno (b) analitoen erretentzio denboran.

2.17. Taula. Euskadiko 1/2005 legeak ezartzen dituen tokian tokiko PAH ezberdinen kontzentrazio mugak ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) aztertutako hamar PAHentzako.

Analitoak	Industria	Parke Publikoa	Hirigintza	Haurren jolas-eremua	Bestelako erabilerak
Naftalenoa	10	10	8	3	1
Azenaptileno	-	-	-	-	-
Azenaptenoa	100	-	60	-	6
Fluorenoa	100	-	50	-	5
Fenantrenoa	-	-	-	-	-
Antrazenoa	700	500	100	70	45
Fluorantenoa	80	60	50	8	8
Pirenoa	100	-	60	-	6
B(a)A	20	-	2	-	0.2
Krisenoa	100	-	100	-	20

Maliszewska-Kordybach [Maliszewska-Kordybach, 1996] lur kutsatuen sailkapena kontutan hartuz, lursail batetan PAHen kontzentrazioak  $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$  baino handiagoak direnean, lur hau kutsatutzat jo daiteke (ikus **2.18 Taula**). Ikerketa honetan, balio maximoa egur biltegian topatu da:  $136 \text{ mg Kg}^{-1}$  (oso kutsatua). Beste laginketa puntu guztiak  $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$  baino handiagoak dira. Ondorioz, analizaturiko puntu guztiak gutxi kutsatuak, kutsatuak edo oso kutsatuak bezala kontsidera daitezke. Bestalde, Holandarren “The Dutch soil Clean up act”-ean lur kutsatuen beste sailkapen bat adierazten da. **2.19 Taulan** agertzen dira lurrarekiko “indicative contamination levels” (kutsadura adierazgarrien maila) sailkapena [Fifield and Haynes, 2000 ].

2.18. Taula. Lur kutsatuen sailkapena, Maliszewska-Kordybach-en arabera.

$\Sigma 15 \text{ PAH}$ $\mu\text{g kg}^{-1}$	Lurrak	Gipuzkoako lurrak
< 200	Kutsatu gabea	--
200-600	Gutxi kutsatua	3, 4, 8
600-1000	Kutsatua	1, 6
>1000	Erabat kutsatua	2, 5, 7, 9,10

2.19 Taula. Holandarren araberako lur kutsatuen sailkapen irizpideak eta Gipuzkoako lurren kutsadura sailkapena. A; Lur garbiak, ikerketarik ez du merezi egiteak, B; Lur kutsatuak, ikerketa egitea aholkatzen da, C; Kutsadura handiko lurrak, ikerketa eta lurren garbiketa sakona bultzatu.

Analitoak	Lurra ( mg kg <sup>-1</sup> lurra lehorra)			Gipuzkoako lurrak	
	A	B	C	A-B	B-C
Naftalenoa	0.1	5	50	2,10	
Antrazenoa	0.1	10	100	2,9	10
Fenantrenoa	0.1	10	100	2,5,9	10
Fluorantenoa	0.1	10	100	1,2,5,6,9	10
Pirenoa	0.1	10	100	1,2,5,9	10
PAH totalak	1.0	20	200	5,7,9	2,10

Beste herrialde edo hiritako PAH kontzentrazio batzuekin alderatuz, zenbait kokalekuetan antzeko emaitzak lortu dira. Adierazgarria da adibidez Gipuzkoako 6, 7 edo 8 kokalekuetan lortutako emaitzen eta Belgradoko aisialdirako zein hiri lurretan topatutako 7 PAHen batukariaren arteko antzekotasuna (2.20 Taula).

2.20. Taula. Lurralde edo Hiri desberdinetan lorturiko PAHen batez besteko kontzentrazioak ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Lurraldeak edo Hiriak	$\Sigma$ 7 PAH	$\Sigma$ 15 PAH	$\Sigma$ 16 PAH	Erreferentzia
Lublijana		989		Morillo et al., 2007
Torino		857		Morillo et al., 2007
Glasgow		11930		Morillo et al., 2007
Koreako lurrak			236	Nam et al., 2003
Tarragona (zonalde industrial)			58	Nadal et al., 2004
Tarragona (egoitzaldea)			179	Nadal et al., 2004
Tarragona (ez-kutsatua)			28	Nadal et al., 2004
Belgrado (hiri lurrak)	245.9			Crnković et al., 2007
Belgrado (aisia lurrak)	116.5			Crnković et al., 2007
Tianjin lurrak (1)			1083	Tao et al., 2004
Tianjin lurrak (2)			6248	Zhang et al., 2006
Hong Kong (basoa)			34.4	Zhang et al., 2006
Hong Kong (zelaia)			35.4	Zhang et al., 2006
Hong Kong (hiri belarguneak)			169	Zhang et al., 2006
New Orleans (Hiri erdialdea)			2927	Mielke et al., 2004

## **2.4 Ondorioak**

1.- Bi erauzketa prozesu ezberdin proposatu, optimizatu eta erkatu dira, lurtean hamar PAH ezberdinen aldibereko determinazioa egiteko. Emaitzek erakusten dute HWD-HS-SPME prozedura, lur laginetan PAHen miazte azkar bat egiteko metodo ona dela. Garatutako miazte metodo hau 60 minutu behar ditu soilik, 80°C-tan dagoen ur bainu baten 0.5 g lurretik PAHak erauzteko. Erabilitako materiala eta tresneria arrunta izan da, edozein laborategi analitiko eskura dezakeena. Erauzketa bera buru-gune moduan egin da (HS-SPME), eta banaketa zein determinazio kromatografikoa gas kromatografo eta garraren bidezko ionizazio detektagailu (GC-FID) batekin egin dira.

2.- SOE-HS-SPME metodoa berriz, kuantitatiboki emaitza hobekoak eman ditu, baina kualitatiboki eskasagoak. Disolbatzaile organikoen bolumen handien erabilera SPME zuntzaren baliagarritasuna txikitzen dute. Prozedura luze eta neketsua, ekonomikoki garestiagoa eta ingurumenarekiko ez oso adeitsua suertatu da azken hau.

3.- Diseinu esperimentalak erabili da metodo bietan aldagai ezberdinak optimizatzeko. Tresna estatistiko erabilgarria dela berriro baieztatu da ikerketa honekin, saiakuntza kopuru txikiekin informazio baliagarria lortzea posible dela baietsi da. Aurredefinituta dagoen konfiantza maila batetan, aldagai ezberdinen arteko kausa ondorioen arteko balizko erlazioa dagoen edo ez auresatea lortu da.

4.- Diseinu esperimentaletik ateratako ondorio azpimarragarriena zera da: PAHen pisu molekularren, gatz geldoen adizioaren, erauzketa tenperaturaren eta erauzketa denboraren arteko erlazio sendoa. Gatz geldoen adizioa eratzun bentzeniko gutxi dauzkaten PAHak lagunduko ditu fase urtsutik fase gaseosora jauzia egiten, ondorioz erauzketaren etekina handituz. Bestalde, erauzketa denbora eta tenperatura handiek, handiagoak diren PAHak erauzten lagunduko dute, azken hauen hegazkortasuna txikitzen baita eratzun bentzenikoak gehitzen dizkiogun heinean.

5.- Lan honetan ezarritako detekzio mugak, errepikakortasuna eta zehaztasuna, analizaturiko laginen emaitzei kalitate analitiko oso ona ematen die. Erreferentziako material zertifikatuaren azterketak emaitza onak eman ditu, optimizatutako prozeduraren fidagarritasunaren adierazle. Metodoa optimizatzeko erabilitako pisu molekular baxuko



erreferentziatzko 3 PAHez gain (naftalenoa, antrazenoa eta fluorantenoa), beste zazpi PAHen presentzia ere aztertu da (azenaftenoa, azenaftilenoa, fluorenoa, fenantrenoa, pirenoa, krisenoa, eta bentzo(a)antrazenoa) Gipuzkoako lurzoru lagin errealetan. Pisu molekular baxuko PAH hauek (fluorantenoa kasu), pisu molekular handiagoko beste batzuen adierazle dira. Analizaturiko PAHak indikatzaile gisa jokatzen dute euren artean, eta inguruan beste PAH arriskutsuago batzuen (bentzo(a)pirenoa adibidez) presentzia ia segurtasun osoz baieztatu daiteke.

**6.-** PAHak ez dira errez degradatzen, eta ingurumenean denbora luzez iraun dezakete lur zein sedimentuetan kontzentratuz. Analizaturiko 10 lagin errealetatik, konkretuki bi kokapenetan oso kontzentrazio altuak aurkitu dira, Donostia inguruko bi puntuetan hain zuzen: Amarako Gasifikadora zaharra kokatzen zen zonaldea, eta bestalde, Oriamendin, kreosotaz trataturiko egur biltegi batetan. Bi puntu hauetan azterturiko laginak Europar eta Euskal legediak ezarritako kontzentrazio mugak gainditzen dituzte PAH askotarako. Beste puntuetan aztertutako lurrak, kutsadura maila baxua edota kutsadura eza aurkeztu dute, lurrak kutsatzeko irizpidearen arabera.

## **2.5 Erreferentziak**

- Agarwal T. (2009). Concentration level, pattern and toxic potential of PAHs in traffic soil of Delhi, India. *Journal of Hazardous Materials*, 171: 894-900.
- Alpendurada M. F. (2000). Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 889: 3-14.
- Arambarri I., Lasa M., Garcia R., Millán E. (2004). Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 1033: 193-203
- Bakker M.I., Casado B., Koerselman J.W., Tolls J., Kollöffel C. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and plant samples from the vicinity of an oil refinery. *Science of Total Environment*, 263: 91-100.
- Belkssam L., Lecomte P., Milon V., Laboudigue A. (2005). Influence of pre-treatment step on PAHs analyses in contaminated soils. *Chemosphere*, 58: 321-328.
- Beltran J., López F.J., Hernández F. (2000). Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 885: 389-404.
- Berset J.D., Ejem M., Holzer R., Lisher P. (1999). Comparison of different drying, extraction and detection techniques for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in background contaminated soil samples. *Analytica Chimica Acta*, 383: 263-275.
- Bouaid A., Ramos L., González M.J., Fernández P. Cámara C. (2001). Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 939: 13-21.
- Brereton R.G. (2003). *Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, pp.15-117.
- Bu Q.W., Zhang Z.H., Lu S., He F.P. (2009). Vertical distribution and environmental significance of PAHs in soil profiles in Beijing, China. *Environmental Geochemistry Health*, 31: 119-131.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Piérard C. Garrigues P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58: 85-97.
- Budzinski H., Letellier M., Garrigues P. and Le Menach K. (1999). Optimisation of the microwave-assisted extraction in open cell of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils and sediments. Study of moisture effect. *Journal of Chromatography A*, 837:187-200.
- Cam D., Gagni S., Meldolesi L., Galletti G. (2000). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 38: 55-60.

- Cam D., Gagni S., Lombardi N., Punin M.O. (2001). Determination of petroleum hydrocarbons in contaminated soils using solid-phase microextraction with gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatographic Science*, 37: 214–217.
- Cam D., Gagni S., Lombardi N., Punin M.O. (2004). Solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental solid matrices. *Journal of Chromatographic Science*, 42: 329–335.
- Chen B., Xuan X., Zhu L., Wang J., Gao Y., Yang K., Shen X. Lou B. (2004). Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments and soils of Hangzhou City, China. *Water Research*, 38: 3558–3564.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxeberria N. Fernández L.A. (2002). Multisimplex optimization of the solid-phase microextraction–gas chromatographic–mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples *Journal of Chromatography A*, 978: 165–175.
- Cortazar E., Bartolomé L., Arrasate S., Usobiaga A., Raposo J.C., Zuloaga O., Etxeberria N. (2008). Distribution and bioaccumulation of PAHs in the Unesco protected natural reserve of Urdaibai, Bay of Biscay. *Chemosphere*, 72:1467-1474.
- Criado A., Cárdenas S., Gallego M. Valcárcel M. (2004). Direct automatic screening of soils for polycyclic aromatic hydrocarbons based on microwave-assisted extraction/fluorescence detection and on-line liquid chromatographic confirmation. *Journal of Chromatography A*, 1050: 111-118.
- Crnković D., Ristić M., Jovanović A., Antonović D. (2007). Levels of PAHs in soils of Belgrade and its environs. *Environmental Monitoring Assessment*, 125: 75-83.
- Diputación Foral de Gipuzkoa. Gipuzkoako errepideetako zirkulazio neurketan informazioa. 2006. urtea bitarteko bilketa. Bide Azpiegiretako Departamentua.
- Directiva 2001/90/CE de la Comisión Europea del 26 de octubre de 2001. Consejo relativo sobre la comercialización y uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (Creosota).D.O. L 283 del 27.10.2001, pag.41.43.
- Doong R.A., Chang S.M., Sun Y.C. (2000). Solid-phase microextraction and headspace solid phase microextraction for the determination of high molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water and soil samples. *Journal of Chromatography Science* 38: 528–534.
- Doong R.A., Liao P.L. (2001). Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil samples using headspace solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 918: 177–188.
- Dron J., Garcia R., Millán E. (2002). Optimization of headspace solid phase microextraction by means of an experimental design to determine methyl *tert*-butyl ether in water by gas chromatography– flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 963: 259–264.

- ECH, European Commission Health. Consumer protection directorate-general. Scientific Committee on Food. SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final. 4 December 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food, pg 15-23. [http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/out153\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/out153_en.pdf).
- EPA. Environmental Protection Agency. Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments. <http://www.epa.gov/esd/cmb/research/papers/bs116.pdf>
- Eriksson M., Fäldt J., Dalhammar G., Borg-Karlson A.K. (2001). Determination of hydrocarbons in old creosote contaminated soil using headspace solid phase microextraction and GC-MS. *Chemosphere*, 44: 1641-1648.
- Ezquerro O., Ortiz G., Pons B., Tena M.T. (2004). Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1035:17-22.
- Fifield F.W., Haynes P.J. (2000). *Environmental analytical chemistry*. Blackwell Science Ltd., London.
- Fu S., Chen H.X., Liu Y.H., Xia X.J., Xu X.B. (2009). Composition, distribution and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil in Linfen, China. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 82:167-171.
- Fuster S., Beltran J., López F.J. Hernández F. (2005). Application of solid phase microextraction for the determination of soil fumigants in water and soil samples. *Journal Separation Science*, 28: 98-103.
- He F., Zhang Z., Wan Y., Lu S., Wang L., Bu Q. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of Beijing and Tianjun region: Vertical distribution, correlation with TOC and transport mechanism. *Journal of Environmental Science*, 21: 675-685.
- Hedges J.I., Stern J. (1984). Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology Oceanography*, 29: 657-63.
- Ke L., Yu K.S.H., Wong Y.S., Tam N.F.Y. (2004). Spatial and vertical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments. *Science of Total Environment*, 340: 177-187.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2003). The application of solid-phase micro-extraction (SPME) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environmental Geochemistry Health*, 25: 69-75.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2004). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction- gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chimica Acta*, 523: 259-267.
- Legea 1/2005, otsailaren 4koa, lurzorua ez kutsatzeko eta kutsatutakoa garbitzekoa. EHAA - 2005eko otsailak 16, 32. ZK. 2113 eta 2125 orrialdeak.

- Lin Y., Chen L., Zhao J., Wei Y., Pan Z., Meng X.Z., Huang Q. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soil of Shanghai China. *Organic Chemistry*, 41: 355-362.
- Llompart M., Li K., Fingas M. (1999). Headspace solid phase microextraction (HSSPME) for the determination of volatile and semivolatile pollutants in soils. *Talanta*, 48: 451-459.
- Llompart M., Lourido M., Landin P., García-Jares C., Cela R. (2002). Optimization of a derivatization-solid-phase microextraction method for the analysis of thirty phenolic pollutants in water analysis. *Journal of Chromatography A*, 963: 137-148.
- Ma L.L., Chu S.G., Wang X.T., Cheng H.X., Liu X.F., Xu X.B. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soils from outskirts of Beijing, China. *Chemosphere*, 58: 1355-1363.
- Maliszewska-Kordybach B. (1996). Polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in Poland: preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination. *Applied Geochemistry*, 11: 121-127.
- Martínez Vidal J.L., Garrido Frenich A., Barco Bonilla M<sup>a</sup>.N., Romero-González R. Padilla Sánchez J.A. (2009). Simultaneous extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in agricultural soils by pressurized liquid extraction and determination by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 395: 1551-1562.
- Mielke H.W., Wang G., Gonzales C.R. Powell E.T., Le B., Quach N. (2004). PAHs and metals in the soils of inner-city and suburban New Orleans, Louisiana, USA. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 18:243-247.
- Miller N.J., Miller J.C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson Educación S.A., Madrid.
- Morillo E., Romero A.S., Madrid L., Villaverde J., Maqueda C. (2008). Characterization and sources of PAHs and potentially toxic metals in urban environments of Sevilla (Southern Spain). *Water, Air Soil Pollution*, 187: 41-51.
- Morillo E., Romero A.S., Maqueda C., Madrid L., Ajmone-Marsan A.F., Grcman H., Davidson M.C., Hursthouse A.S., Villaverde J. (2007). Soil pollution by PAHs in urban soils: a comparison of three cities. *Journal Environmental Monitoring*, 9: 1001-1008.
- Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environmental Pollution* 132: 1-11.
- Nam J.J., Song B.H., Eom K.C., Lee S.H., Smith A. (2003). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in South Korea. *Chemosphere* 50: 1281-1289.
- Ouyang G., Pawliszyn J. (2008). A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 627:184-197.

- Patrimonio y Arqueología Industrial. (2007). Divulgación Tecnológica, <http://www.arqueologiaypatrimonioindustrial.com/2007/02/ver-historico-de-articulos-de-monsacro>.
- Pawliszyn J. (1997). *Solid Phase-Microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH, New York.
- Polo M., Llompart M., García-Jares C., Cela R. (2005). Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, 1072: 63–72.
- Salafranca J., Domeño C., Fernández C., Nerín C. (2003). Experimental design applied to the determination of several contaminants in Duero River by solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 477: 257–267.
- Sawada A., Kanal K., Fukushima M. (2004). Preparation of artificially spiked soil with polycyclic aromatic hydrocarbons for soil pollution analysis. *Analytical Science*, 20: 239–241.
- Song Y.P. Jing X., Fleischmann S., Wilke B.M. (2002). Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments. *Chemosphere*, 48: 993-1001
- Sun L. Lee H.K. (2003). Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology. *Journal of Chromatography A*, 1014: 165–177.
- Tao S., Cui Y.H., Xu F.L., Li B.G., Cao J., Liu W.X., Schmitt G., Wang X.J., Shen W.R., Qing B.P., Sun R. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin. *Science of Total Environment*, 320: 11-24.
- USEPA. Environmental Protection Agency: <http://www.epa.gov/iris/subst/index.html>.
- Vane C.H., Harrison, I., Kim, A.W. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments from the Mersey Estuary, U.K. *Science of Total Environment*, 374, 112-126.
- Viguri J., Verde J., Irabien A. (2002). Environmental assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Santander Bay, Northern Spain. *Chemosphere*, 48, 157-165.
- Wackley A., Black I.A. (1934). An examination of Degtjareff method for determining organic carbon in soils effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science*, 63: 251-263.
- Wang J., Zhang J., Ding Y., Zhou J., Ni L., Sun C. (2009). Quantitative determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in soil samples using solid-phase microextraction. *Journal Separation Science*, 32: 3951-3957.
- Wang W., Meng B., Lu X., Liu Y., Tao S. (2007). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between

- Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Analytica Chimica Acta*, 602: 211-222.
- Wang X.C., Sun S., Ma H.Q., Liu Y. (2006). Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments of Jiaozhou Bay, Qingdao, China. *Marine Pollution Bulletin*, 52: 129–138.
- Xing W., Luo Y., Wu L., Song J., Qian W., Christie P. (2006). Spatial distribution of PAHs in a contaminated valley in Southeast China. *Environmental Geochemistry Health*, 28: 89-96.
- Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. (2002). PAH in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33: 489–515.
- Zhang H.B., Luo Y.M., Wong M.H., Zhao Q.G., Zhang G.L. (2006). Distributions and concentrations of PAHs in Hong Kong soils. *Environmental Pollution*, 141:107-114.





## **3.KAPITULUA**

**HIDROKARBURO AROMATIKO POLIZIKLOEN  
DETERMINAZIOA BIZKAIKO GOLKOKO IBAI,  
ITSASADAR ETA KOSTAKO SEDIMENTUETAN**



### **3.1 Sarrera**

Sedimentuak ekosistema barruan ezinbesteko osagai bat dira, funtzio garrantzitsua betetzen dute ingurune urtsuetan kutsatzaileen banaketan. Begi-bistakoa da itsas eta ibai eremu ezberdinen kalitatea jeisten dela giza jarduerak ingurumenari egindako kutsatzaile ezberdinen ekarpenak direla medio. Hidrokarbuo Aromatiko Polizikloak mota honetako kutsatzaile organikoak dira hain zuzen ere. PAHak oso zabalduta daude ingurumenean, ur gainazalean, sedimentuetan, lurretan, landareetan, eta mendi zein hiriko airean topa ditzakegu [Cortazar *et al.*, 2002; De Luca *et al.*, 2004; Motelay *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2005; Luo *et al.*, 2006; Morales *et al.*, 2007]. PAHen izaera hidrofoboaren ondorio bezala, joera handia daukate materia organikoarekin bat egiteko, eta urazpiko sedimentuetan materia organikoarekin batera metatzeko [Viguri *et al.*, 2002; Liang *et al.*, 2007]. PAHen iturriak anitzak dira: motorretan erregaien erreketan, kokearen ekoizpenean, egur erreketan, olio eta fuel ezberdinen isurketetan, eta baita etxeko zaramen errausketan ere aurki ditzakegu. PAHak giza minbiziarekin erlazionatu dira. PAHen eraginpean, ikerketa ezberdinek minbizia eta ingurumenaren arteko lotura erabat baldintzatuta dagoela ikusi da [Chen and Liao., 2006]. Berriki, PAHak eta DNAREN aduktoeen aktibazio metabolikoaren gainean dauden efektu biologikoak erlazionatu dira, mutazioak eta eraldaketak bideratuz. Haietako asko fotomutagenikoak direla baieztatu da [Toyooka and Ibuki., 2007].

Azken urte hauetan sedimentuetan PAHak determinatzeko metodoak likido-likido, Soxhlet eta mikrouhinen bidezko erauzketetan oinarritu dira gehienbat [Bartolome *et al.*, 2005; Bangkedphol *et al.*, 2006; Cortazar *et al.*, 2008]. Baina teknika hauek hobetu nahian

aurrerapausu ugari eman dira, horrela laginaren aurretratamendurako, erauzketa denbora laburtzeko, analitoaren berreskuratzea eta zehaztasuna hobetzeko, eta disolbatzaile organikoen erabilera murrizteko, teknika berriak garatzen ari dira. Zentzu honetan, fase solidoko mikroerauzketak (SPME) onurazko hainbat bereizgarri dauzka beste metodo batzuekin alderatu ezkeror. Erauzketa egiteko bi modu orokor daude, bata, zuzenean likido fasean (DI) eta bestea, lagin likidoaren buru-gunean (HS).

Lurrarekin hartutako esperientzia izpide, metodo berri bat garatu nahi izan da, sedimentuan PAHak determinatu ahal izateko. Horretarako, lurrarekin optimizatu den prozedura eredu gisa hartu da. Kasu honetan Ur-bero-HS-SPME prozedura erabiliko da, urrats guztietan parte hartzen duten aldagai oro optimizatu ostean. Lur eta sedimentuen matrizea zentzu askotan antzekoak badira, optimizazio prozedura beharrezkoa izan da, bakoitzaren ezaugarriak ezberdinak baitira eta honek erauzketa prozeduraren gainean eragiten duten aldagaien balioak arinki aldatuko baititu. Sedimentuetan SPMEaren kalibrazioa burutzeko adizio estandarra erabiltzen da normalean. Hala ere, sedimentuen antzeko lagin matrize konplexuetan, ezaugarri antzekoak dituen lagina topatzea zaila da eta horregatik normalean matrize efektua kontutan hartu behar da. Arrazoi honegatik dopatutako sedimentu bat erabili da diseinu esperimental eta optimizazio urratsa burutzeko, PAHentzako erauzketa aldagai egokienak topatzearen. Ikuspuntu analitikotik, ingurumen laginetan konposatu organikoen erauzketa eta determinazioa burutzeko gai diren metodo berrien garapena ezinbestekoa da.

PAHen jokabidea dela eta, sedimentuetan kontzentrazio azterketa ugari egin dira, kutsatzaileen presentzia matrize hauetan eta bertako ingurumenak jasandako poluzioa zuzenki lotuta baitaute. Gai honi dagokionean, Gipuzkoa mailan zenbait azterketa topa daitezke [Cantón and Grimalt 1992; Cantón *et al.*, 1992; Borja and Collins 2004], baita Bizkaian ere, azken urte hauetan ikerkuntza zein lan esperimental ugari topa daitezkelarik ibai zein ibai bokaletan [Borja and Collins 2004; Bartolomé *et al.*, 2005; Bartolomé *et al.*, 2006; Cortazar *et al.*, 2008; Prieto *et al.*, 2008]. Nahiz eta laginaketa gehienak Gipuzkoako lurraldean egin diren, Bizkaian ere, zenbait puntu analizatu egin dira. Aztertutako zonalde osoa, industrializazioaren eragin zuzena izan du, artean bi merkatal portu topa daitezke, bata Pasaian (Pasaiako badia) eta bestea Bilbon (Nerbioi ibaiaren itsasadarra). Gainera Gipuzkoako ibai bazterren gehiengoan industrigune astunak topa daitezke.

## **3.2 Atal Esperimentala**

### **3.2.1 Ekipamendua**

Neurketa guztiak garraren bidezko ionizazio detektagailu bati lotuta (FID) eta banaketa injektore (*split-splitless*) batekin ekipatua dagoen HP 6890 gas kromatografo (Agilent Technologies, Wilmington, DW, AEB) batekin aurrera eraman dira. Injekzio portua 0.75 mm-ko barne-diametroa duen injekzio estalki batekin (*liner*) ekipatuta dago (Supelco, Bellefonte, PA, AEB), eta splitless moduan lan egiten du split-splitless balbula 3 minutuz zabalik mantenduz injekzioaren ostean. Injektorearen temperatura 250°C-koa izan da, eta bestetik, helio gas garraiatzailearen fluxua 2.0 mL min<sup>-1</sup>-koa izan da. Banaketa kromatografikoa kapilar zutabe batetan eman da (Supelco etxe komertzialeko EQUITY-5, 30m × 0.25mm × 0.25µm, %5 difenil- %95 dimetil polisiloxanoa). Detektorearen temperatura 300°C-koa, eta banaketarako erabilitako temperatura-programa honako hau da: 40°C-tan minutu batez mantendu, 20°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduraz 220°C-tara eraman eta minutu batez mantendu, azkenik 40°C min<sup>-1</sup>-ko abiaduraz 300°C-raino eraman eta 9 minutuz mantendu. Datuen eskuratzea eta prozesatzea egiteko kromatografoari lotutako Agilent Technologies-eko Chemstation softwarea daukan PC ordenagailu bat erabili da.

Erauzketak burutzeko irabiagailu magnetiko bat erabili da (Heidolph MR 3003, Elektro, Kelheim, Alemania), eta estaldura termostatikoa duen erreakzio ontzia LAUDA Ecoline RE 104 termostatora lotu da (GmbH & Co. KG, Lauda, Alemania). Erreakzio ontzi hauetan 40 mL-ko anbar saiodiak ipini dira, erauzketa burutzearren, Supelcon eskuratutako PTFE-silikonazko septa tapoiekin estaliz. Saiodi barruan, irabiaketa laguntzeko, tefloiez estalitako 25 mm-ko barra magnetiko irabiagailuak sartu dira. Sedimentuetan PAHen nahasketa egokirako HS-250 (IKA Laboratory Technology, Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen, Alemania) joan-etorriko irabiagailu horizontala erabili da, baita Heidolph VV 2000 (Elektro, Kelheim, Alemania) errotabaporea. LECO CHNS-932 (LECO Corporation, St. Joseph, MI, AEB) mikroanalizadorea erabili da karbono organiko totala determinatzeko sedimentuetan, baita nitrogeno eta sufrea neurtzeko ere. Laginketa egin ostean, sedimentua zuzenean izoztu eta liofilizatu egin da, Cryodos modelo den Telstar liofilizadorea erabiliz (Telstar SA, Tarrasa, Espainia).

STATISTICA<sup>®</sup> (StatSoft, Tulsa, AEB) ordenagailu programa erabili da matrize esperimentalen diseinua egiteko, baita emaitzen ebaluaketa eta datuen tratamendu estatistikoa egiteko ere.

### **3.2.2 Erreaktiboak eta materialak**

Erabilitako naftalenoa (%99), antrazenoa (%96), azenaftenoa (%95), azenaftilenoa (%75), fluorenoa (%90), fenantrenoa (%98), fluorantenoa (%98.5), pirenoa (%98), eta krisenoa (%98) Fluka (Sigma-Aldrich Química, Madril, Espainia) etxe komertzialekoak dira. Bentzo(a)antrazenoa (%98), fase solidoko mikroerauzketa egiteko euskarriak (SPME), lagin saiodiak (40mL, anbar beira), PTFE-silikonazko septak eta 85 µm-ko lodiera duten poliakrilatozko (PA) zuntz estaldurak Supelco etxe komertzialekoak (Bellefonte, PA, AEB) erabili dira. Zuntzak etxe komertzialaren arabeko argibideei jarriki egokitu egin dira gas kromatografoaren injektorean. Hidrogeno peroxidoa, azido sulfurikoa (%96, PA kalitatea) eta azetona (PA kalitatea) Panreac (Bartzelona, Espainia) etxe komertzialekoak izan dira. HPLC kalitateko metanola Chromasolv (Sigma-Aldrich Química, Madril, Espainia) etxe komertzialekoa izan da. Sodio kloruroa Merck (%98, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) etxe komertzialekoa da.

Laborategian erabilitako ura birdistilatua da. PAH ezberdinen disoluzio estandarrak (1000 mg L<sup>-1</sup>) azetonan prestatu dira, eta 4°C-tan hozkailuan, iluntasunean gorde dira, analito ezberdinen degradazioa edo galera saihestearren. Kontzentrazio baxuagoko disoluzioak behar izan direnean, aurreko estandar disoluzioetatik abiatuta prestatu dira. Sedimentuetan PAHen analisisan kalitate kontrola egiteko Kanadako Ikerkuntza Nazionaleko kontseiluak (NRC-CNRC, Itsas Biozientzia Institutua, Halifax, Nova Scotia, Kanada) ekoiztutako HS-3B zertifikaturiko erreferentziazko materiala erabili da. Erreferentziazko materiala LGC Promochem (Bartzelona, Espainia) etxe komertzialaren bidez eskuratu da.

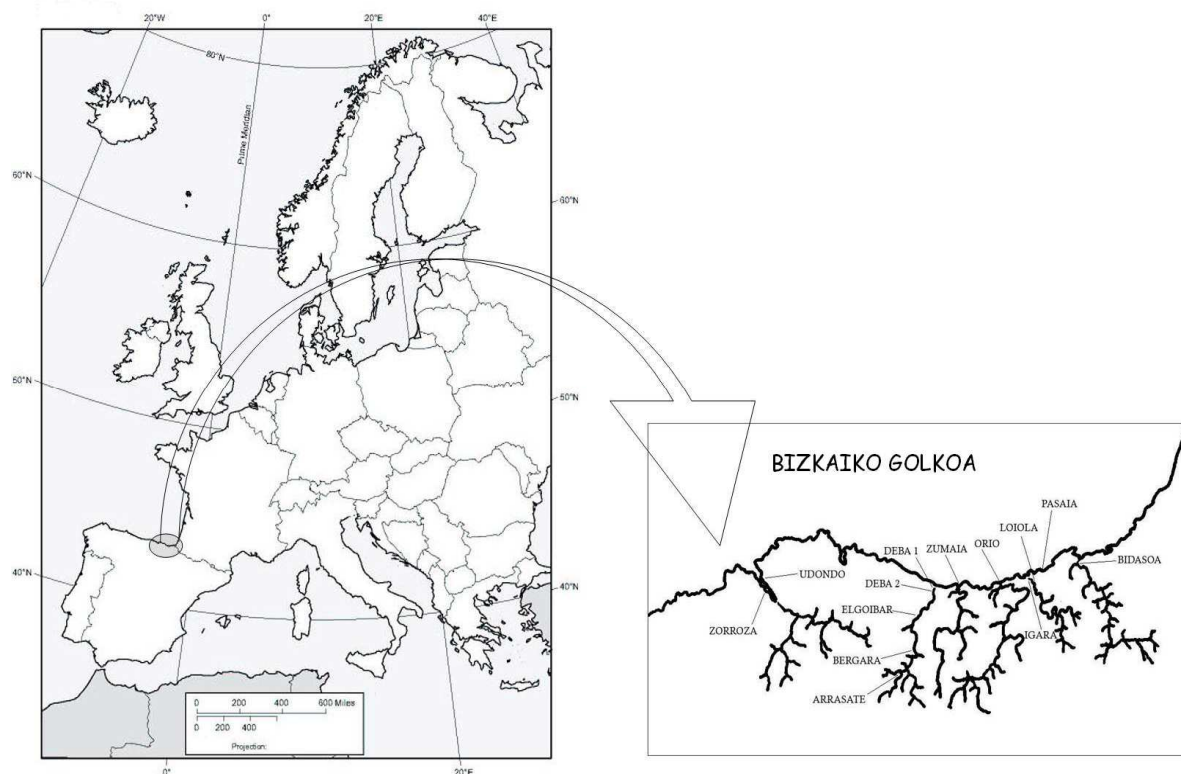
### **3.2.3 Materialaren garbiketa**

Sedimentu laginak aztertzeke erabilitako materiala egoki garbitu behar izan da, kutsadura arrasto guztiak baztertzeke. 40 mL-ko anbar saiodiak eta tapoiak xaboi eta iturriko urarekin garbitu eta ondo lauskitu dira hasteko, ondoren 24 orduz disoluzio alkalino batetan (%5) utzi dira, gero iturriko ur azpitik pasa berriro eta 12 orduz azido nitriko (%5) disoluzioan

laga dira, xaboi arrastoak kentzeko. Tapoiak 50°C-tan lehortu dira labean eta saiodiak aldiz, 4 orduz 350°C-tan muflan erabat sikatu dira (PAH erdi-hegazkor guztien desagertzea ziurtatuz). Imanei dagokionez, lehenengo eta behin ur eta xaboiarekin ondo garbitu eta lauskitu dira. Iturriko urarekin garbitu ondoren, hauspeakin ontzi batetan sartu dira eta ur oxigenatuarekin estali, ostean azido sulfurikoa apurka gehitu da, etengabe irabiatuz, eta erreazioaren indarra galdu arte eragin gabe laga da (ordu bat gutxi gora bera). Ondoren, ur birdistilatuarekin garbitu eta 50°C-tan lehortu dira labean. Imanen erabilera bizitza ez da asko luzatu, lau edo bost erauzketa asko jota. Azkenik, material guztia azetonarekin garbitu eta berriro sikatu da labean 50°C-tan. Material guztia giro tenperaturara hozten utzi eta, erabiltzeko prest egon da.

### 3.2.4 Laginketa-guneak

Laginketa egin aurretik PAHekin kutsatuta egon daitezkeen zonaldeak non topatu ikertu da: hala nola, industriguneak, errauskailuak, merkatal portuak, etab. Guztira sedimentuen hamahiru lagin ezberdin hartu dira Bizkaiko Golkoko kostan, itsasadar eta ibaietan (**3.1 Irudia**).



3.1. Irudia. Bizkaiko Golkoko eta ur kontinentaletako sedimentuen laginketa guneak.

Hartutako hamahiru sedimentu laginak kokalekuaren arabera honela sailkatu daitezke:

### A. Ibai bazterretan

**1.- Loiola (3.2 Irudia).** Urumea ibaian, Donostiako Loiolako auzoan, Loiolako urbazterrak bezala ezagutzen den zonaldea. Urumea Goizuetan jaio eta Donostian itsasoratzen den ibaia da. 46 km luze da eta bere ibaiadar nagusienak Elama, Añarbe eta Landarbaso dira. Urumearen arroak 192 km<sup>2</sup> ditu (gutxi-gorabehera 200.000 biztanle) eta batez besteko emaria 10 m<sup>3</sup>/s da. Goizueta, Hernani, Astigarraga eta Donostia zeharkatzen ditu [Wikipedia, Lur Hiztegia]. Lagina Donostia zeharkatu baino lehen hartu da. Ibaiak zeharkatzen duen orografiak industriguneen kokapena baldintzatu egin ditu historian zehar, izan ere lautadak eskasak baitira ibai honen ibilbidean. Hala ere zenbait industri ezartzea lortu eta ibai honek kutsadura altuko aroak ezagutu ditu.



3.2. Irudia. Urumea ibaia, Loiolako urbazterrak, Donostia.

**2.- Igara (3.3 Irudia).** Artikula errekaetako erreka txikia da, Mendizorrotz magalean (Igeldo). Industrigune eta autopista handietatik alderatua. Zonalde hau desagertzeko arriskuan dagoen hegoaldeko igelaren (*Hyla Meridionalis*) bizilekua da, kontrolik gabeko eraikitze eta espekulazio prozesuen erruagatik mehatxatua. Kokapen hau kutsadura gabeko lagintzat hartu da, analisiaren kontrola eramateko.





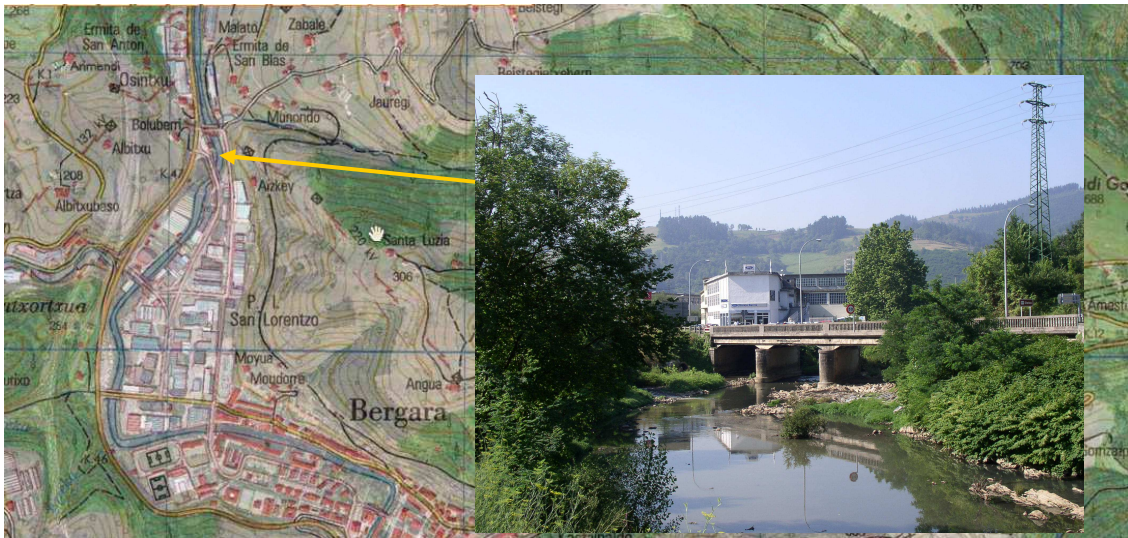
3.3. Irudia. Artikula erreka, Igara, Donostia.

**3.- Elgoibar (3.4 Irudia), 4.- Bergara (3.5 Irudia) eta 5.- Arrasate (3.6 Irudia).** Deba ibaia garrantzi handia dauka Gipuzkoan. Bertan sortu ziren lehengo industriguneak, ehungintzan eta burdinaren manufakturan oinarrituak. Hauekin batera biztanleria hazi zen XX. mendean, ibaienganako kontrolik gabeko gorotz isurkinak handituz. Aktibitate hauek ibaiaren kalitatea asko jaitsi dute, oso kutsadura maila altuak neurtu direlarik hemen. Isurkide nagusia Ego ibaia da, Mallabi, Ermua eta Eibarretik datorrena, eta Deba ibai beraren egoera okertzen duena. Europar Erkidegoak ur-hondakinen tratamendurako arautegian lau araztegi ezberdinen eraikuntza behartu eta bideratu ditu. Deba-behean Itziarreko eta Elgoibarreko araztegiak, eta Deba-goienan Bergara eta Arrasatekoa [Wikipedia, Lur Hiztegia].



3.4. Irudia. Deba ibaia, Elgoibar.





3.5. Irudia. Deba ibaia, Bergara.



3.6. Irudia. Deba ibaia, Arrasate.

## B. Ibai bokaletan

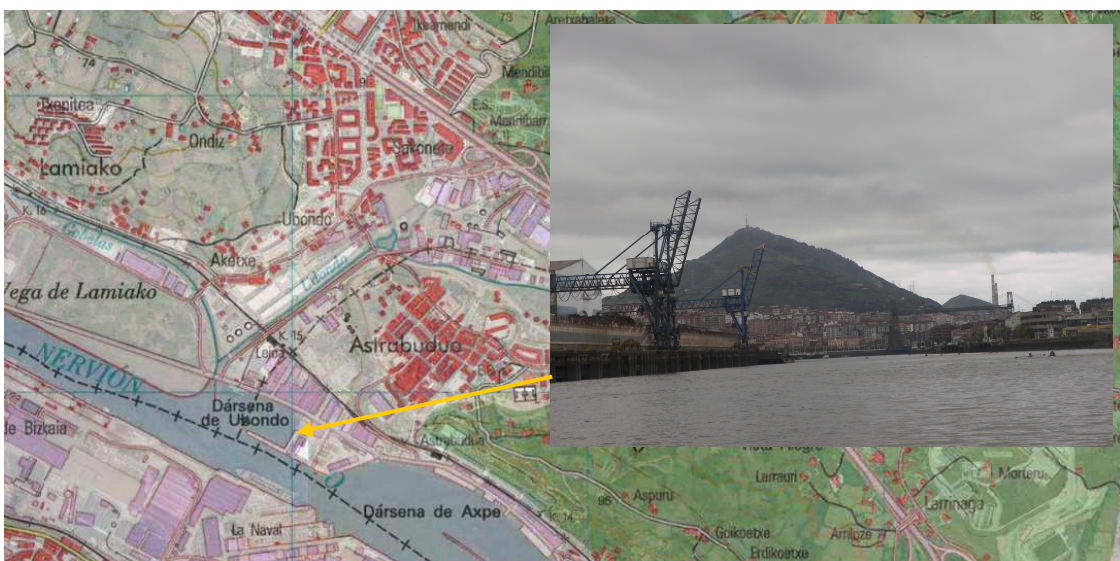
6.- Zorroza (3.7 Irudia) eta 7.- Udondo (3.8 Irudia). Bilboko itsasadarra Bilboaldeko ardatz naturala da, Ibaizabal eta Nerbioi ibaiek bat egiten dutenetik, Basauritik, Bilbotik pasatuz eta Abra izena duen itsasoratze eremuraino. Zehazki, Nerbioik itsasadarra izena hartzen du Abusu auzoan, guztira 16 bat kilometroko luzera daukalarik. Jarduera industrial masiboa jasan zuen XIX eta XX. mendeetan zehar, Bartzelona atzetik bigarren hiri industrializatuen izanik Estatu Espainiarrean. Honek eragin latza izan zuen ingurugiroan. Ur zikin guztiak itsasadarrera botatzearekin batera, bertan bizi ziren arrain eta animalia guztiak hil egin ziren. 1950eko hamarkadan egoera okertuz joan zen eta itsasadarrak ondorengo hamarkadetan ageria izango zen kolore horia hartu zuen. Ur zikinez gain, mota askotako gai



kimiko eta metal astunak ere isuri ziren Ibaizabalera. Gai kutsagarri hauek ibaiaren hondoan eta itsasadarraren kanpoaldeko hondoan daude. 1970eko hamarkadaren amaieran argi zegoen neurriak hartzea beharrezkoa zela. Horrela, Bilbo Handiko Uren Partzuegoaren bitartez, inbertsio handiak egin ziren osasunbide sarea berritu eta araztegiak eraikitzeko. Araztegiarik garrantzitsuenak, Galindon dago, Sestaoko udalerrian. 1990eko hamarkadatik aurrera kanpoaldeko portua handitzeko proiektua garatzen joan da. Portu berri horren eraikitzeak, itsasadar barruko gune asko berreskuratzea posible egin du. Gaur egun itsasadarraren inguruan bizi diren biztanleen ur zikinen % 100 jasotzen da [Wikipedia, Lur Hiztegia].

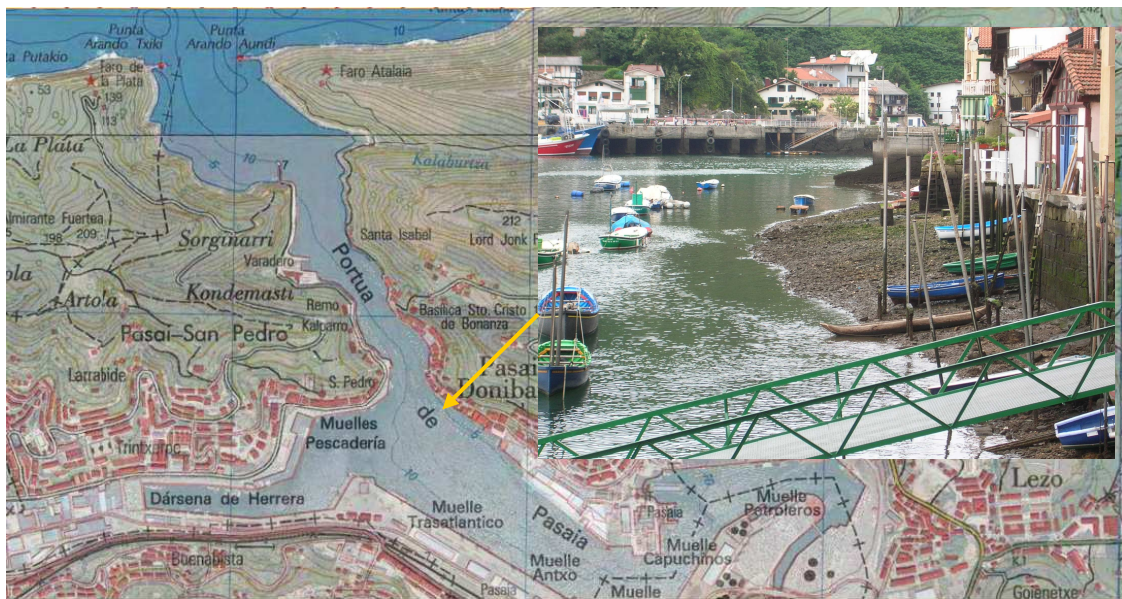


3.7. Irudia. Nerbioi ibaia, Zorroza, Bilbo.



3.8. Irudia. Nerbioi ibaia, Udondo, Bilbo.

**8.- Pasaia (3.9 Irudia).** Pasaia portua. Pasaia (Gipuzkoa) badian kokatzen da, Oiartzun ibaiaren bokalean, Pasaia udalerrian eta Oarsoaldea eskualdean. Euskal Herriko hirugarren porturik garrantzitsua da, Bilbo eta Baionakoaren ondoren, eta espainiar estatuko 16.a, urtero izandako kontenedore eta merkantzia trafikoa. 2005. urtean 4 milioi tona mugitu ziren portuan. Pasaia portuak beste portuk ez dituen ezaugarri bereziak ditu. Sarrerako kanalak 10 metroko sakonera dauka itsasbehera denean. Sakonera hori, etengabe mantentzen da eta ez da beharrezkoa izaten ondo dragatzea. Portuko kaiek 5200 m luzera dute, euretatik 1500 m arrantzarako erabiltzen dira eta 3250 m jardura komertzialetarako. Gainerako kaiak ontziak konpondu eta bestelako jardueratarako erabiltzen dira. Portuak 600000 metro kuadroko azalera dauka lehorrean eta 940000 metro kuadroko flotazio azalera. Herrerako auzoan, portuaren industrigunea kokatzen da. Pasaia Donibanen dagoen portu zatian bien bitartean, ontziola bat dago. Gipuzkoan dagoen zentral termiko bakarra Pasaia portuaren lurretan dago, Iberdrolaren zentral termikoa alegia. Zentralak sortzen duen kutsadura dela eta, hurrengo urteetan itxiko dela uste da [Wikipedia, Lur Hiztegia].



3.9. Irudia. Pasaia badia, Donibane.

**9.- Deba 1 (3.10 Irudia) eta 10.- Deba 2 (3.10 Irudia).** Atzerago aipatu bezala, Deba ibaia Euskal Herrian kutsadura gehien jaso duen ibaietariko bat da. Ibai honen urak, amaieran errebuelta handiak egiten dituzte malda ahula dela eta. Malda portzentaje txiki honek esekiduran dauden materialei hauspeatzeko beta ematen die. Zentzu honetan zenbait kutsatzaile topa daitezkeela espero da ibai honen itsasadarraren sedimentuetan.





3.10. Irudia. Deba bokalea, Deba 1 (Portu zaharra) eta Deba 2 (Lazaro auzunea), Deba.

**11.- Orio (3.11 Irudia).** Oria Gipuzkoako ibai garrantzitsuenak da, bai luzera baita emariagatik ere. 75 kilometroko luzera du eta bere ibaiadar nagusiak Agauntza, Amezketa, Araxes, Zelai, Urtsuaran, Asteasu eta Leitzarain dira. Gipuzkoako arro handieneko ibaia dugu, halaber; 54 udalerriri hartzen ditu barne —Zarautz eta Getaria ere kontuan hartuz—, guztira 158000 biztanle ingururekin (2008). Kutsadura handia jasan duen ibaia da, bere inguruan dagoen industria ugariaren erruz, bereziki papergintzako industria. Azken urteetan berreskuratzen ari da, pixkanaka bada ere. Estuarioko padura-lurzoruak —Usurbiletik Oriora— balio ekologiko handikoak dira. Aizkorri mendiko magalean jaio, Zegamako mugan, eta Segura, Olaberria, Beasain, Ordizia, Itsasondo, Legorreta, Ikaztegieta, Alegia, Tolosa, Anoeta, Irura, Billabona, Zizurkil, Aduna, Andoain, Lasarte-Oria eta Usurbildik igarotzen da eta Orio eta Aiaren artean itsasoratzen da [**Lur Hiztegia**].



3.11. Irudia. Oria itsasadarra, Orio.

**12.- Bidasoa (3.12 Irudia).** Bidasoa ibaia (Baztango eskualdean Baztan ibaia deitua), Nafarroa, Gipuzkoa eta Lapurdi zeharkatzen dituen ibaia. Erratzuko herrian jaio eta Txingudiko badian, Kantauri Itsasoan itsasoratzen da. Erratzutik (Baztan) ekialderuntz abiatzen da "Baztan ibaia" izenarekin, Oronoz-Mugairera ailegatuz. Bertan, "Bidasoa" izena hartzen du, eta hortik Berara iristen da. Gipuzkoa eta Lapurdi artean sartzen da aurrerago eta azkenik Hondarribia eta Hendaia artean itsasoratzen da, Txingudi Badian, bertan 1998 urtean Plaiandi Parke ekologikoa eratu zelarik. Deba ibaia Gipuzkoa aldeko ibairik kutsatuena bada, Bidasoa dugu garbiena, bertakoak diren amuarrain eta izokin ugari oraindik ikus daitezkelarik [Lur Hiztegia].

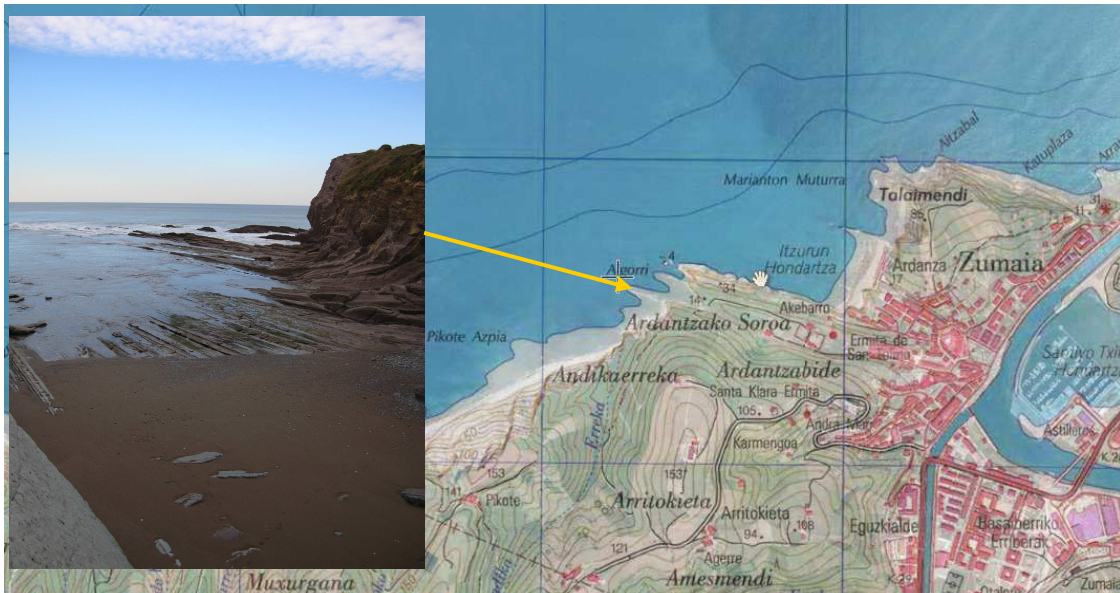


3.12. Irudia. Txingudiko badia, Hondarribia.



**C. Kostaldean:**

**13.- Zumaia (3.13 Irudia).** Azkeneko lagin hau kosta-lerroan hartu da. 2002. urtean Prestige petrolio ontziak 77000 Tn petrolio isuri zituen Galiziako kostaldeetan, marea beltza deiturikoa sortu eta Euskal bazterretara ere heldu zen. Hau bezalako isurketa txikiagoak denboran zehar kutsatzaile kopuru handia itsasoratu dute, eta asko kostaldeko harri, haitz eta sedimentuetan metatu dira. Lagina Zumaiaiko Flysh-ean jaso da, lur historiarako erreferentzia mundiala den tolestutako harri geruza hauen artean ain zuzen. Zumaiaiko lagin honen matrizea ezberdina da, areatsuagoa, hondarrez osatua, metodoa mota honetako matrizeekin ze erantzuna duen aztertuko da horrela [**Lur Hiztegia**].



3.13. Irudia. Zumaiaiko kostaldea.

### 3.2.5 Laginketa eta laginaren aurretratatamendua

Aurretiaz izandako lan esperientzian oinarrituta, PAHak non metatu daitezkeen aztertu da lehenengo, eta gero puntu hauek Bizkaiko Golkoko zein lekuetan topa daitezken pentsatu da. Sedimentu laginak, orokorrean, 0-10 cm-ko sakontasunean hartu dira. Ikerketa honetan paleta baten bidez egin dira, 10 cm sakontasuneko V itxurako zulo txiki bat eginez, eta albo-pareta baten xerrak ebakiz, erdiko alea (gehipena) beirazko ontzi batera eramán da, ertzak baztertuz. Eragiketa hau 20 bat aldiz errepikatu da, gehipen guztiak aurrez garbitutako beirazko ontzietan gordez, beharrezko sedimentu kantitatea eduki arte. Laginketa bera, eta laginaren garraioan, lagin eta plastikoaren arteko ukipena ekidin dira, estalkietan aluminio

papera erabiliz, kutsadura gerta ez dadin. Laginketa gune bakoitzeko kilogramo bat sedimentu jaso da, PAHen kontzentrazioak, pH-a, karbono organiko totala (TOC), nitrogeno totala (TN) eta karbono totala (TC) kalkulatzeko. Behin laborategian, sedimentu laginak izoztu eta liofilizatu egin dira, azken hau presio eta tenperatura baxuetan Telstar liofilizagailuan. Behin sedimentua siku dagoela, mortairuan ehotu eta zetabean (<63µm-ko sare begia) bahetu dira, azkenik iluntasunean eta 4°C-ko tenperaturan analisisia egin arte hozkailuan gorde dira anbar beirazko ontzietan.

### **3.2.6 Sedimentuaren ezaugarriak**

Karbono totala (TC), karbono organiko totala (TOC) eta nitrogeno totalaren (TN) neurriak aztertu dira LECO CHNS-932 mikroanalizadorea (**2.11 Irudia**) erabiliz. Sedimentu lagin bakoitza birritan analizatu egin da, emaitza ziurtatzeko. Liofilizatutako eta ehotutako sedimentuak pisatu eta TC eta TN neurtzeko mikroanalizadorean sartu dira. Mota honetako mikroanalizadoreak karbonoa, hidrogenoa, nitrogenoa eta sufrea neurtzeko gai dira. Materiaren elementuen banaketa tenperatura altuko erreketa bitartez ematen da. Erreketa prozesuan, 1-2 mg bitarteko lagina eztainu kapsula batetan sartzen da. Kapsula hau kargalekuan kokatu eta bertan egongo da oxigeno dosia ziztatu arte. Lagina orduan 1000°C-tan dagoen labe barruan jausten uzten da, oxigenoa heltzen den momentu berean, erreketa emanez oxigenotan aberatsa den giro batetan. Erreketa produktuak CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> eta SO<sub>x</sub> izango dira. Gas hauek, sistemak daukan helio gas garraiatzaileak eramango ditu kobre txiri eta tungstenozko hodi batetan zehar, bertan SO<sub>2</sub>-rako konbertsio totala emango delarik. H<sub>2</sub>O infragorri ez barreiakor detekzio sistema batetik igaroko da neurtua izateko, eta gero anhidronaren bitartez baztertuko da, ondoren beste gasak, SO<sub>2</sub> eta CO<sub>2</sub> dagozkien infragorri detekzio zeluletatik pasako direlarik. SO<sub>2</sub> eta CO<sub>2</sub> Lecosorb-ak xurgatuko ditu, helioa eta N<sub>2</sub>-a bakarrik utziz. N<sub>2</sub>-a eroankortasun termikoaren bidez neurtuko da. Zuria, kalibrazioa eta pisuaren doiketa amaierako seinale integratuan aplikatzen dira, eta emaitzak karbono, hidrogeno, nitrogeno eta sufreako pisuaren %-tan bezala adierazten dira. Aparatuaren egonkortasuna egiaztatzeko, eta kalibrazioa egiteko erabilitako patroia sulfametazina izan da: %C: 51.78; %H: 5.07; %N: 20.13; %S: 11.52.

Karbono organikoa (TOC) neurtzeko bestalde, lehenik eta behin sedimentuak HCl-arekin (%10) azidifikatu dira, nahasketa 5 minutuz irabiatu da bainu ultrasonikoan, karbonato



guztiak desagertu arte, ondoren gau osoa 50°C-tan sikatzen utzi da [Hedges and Stern 1984]. TC, TOC, TN eta C/N-ren balioak sedimentuentzako **3.1 Taulan** laburbildu dira.

3.1. Taula. Karbono totala (TC), karbono organiko totala (TOC), nitrogeno totala (TN) eta C/N-ren balioak gainazal sedimentuentzako.

Lagina	TC (%)	TN (%)	C/N	TOC (%)
<b>1. Loiola</b>	4.17	0.29	14.38	2.47
<b>2. Igara</b>	2.41	0.17	14.18	1.00
<b>3. Elgoibar</b>	4.83	0.42	11.60	2.78
<b>4. Bergara</b>	10.96	0.48	22.83	5.10
<b>5. Arrasate</b>	4.01	0.30	13.40	1.54
<b>6. Zorroza</b>	3.83	0.21	18.38	0.94
<b>7. Udondo</b>	4.01	0.27	14.85	2.30
<b>8. Pasaia</b>	1.96	0.06	32.70	0.34
<b>9. Deba1</b>	3.45	0.25	1.38	2.16
<b>10. Deba2</b>	2.19	0.19	11.63	1.33
<b>11. Orio</b>	5.02	0.30	16.73	2.32
<b>12. Bidasoa</b>	4.29	0.27	15.90	1.99
<b>13. Zumaia</b>	4.32	0.06	72.00	0.22

%4.26 batez bestekoarekin, TC-ren balioak %1.96 eta %10.96 bitartean daude. TOC-aren balioak aldiz, askoz baxuagoak, %0.22 eta %5.10 artean aurkitu dira, Yalujiang Bokaleko (Txina) [Wu *et al.*, 2003] eta Omaneko Golkoko [Tolosa *et al.*, 2005] neurrien antzekoak. TOC-aren baliorik altuena Bergaran eman da, PAHen kontzentrazio altuenak dauden puntua hain zuzen. Sedimentuentzako TN balioak oraindik baxuagoak dira, eta %0.06 – 0.48 bitartean neurtu dira. TC eta TN-ren arteko erlazioa sedimentuetan korrelazio ahula erakusten du ( $r^2=0.54$ ) beste ikerketa batzuen antzera [Liu *et al.*, 2006]. TN eta TOC-aren artekoa aldiz altuagoa da ( $r^2=0.85$ ). TC eta TOC-aren arteko korrelazioa baxua izan da ( $r^2=0.26$ ), kasu honetan beste ikerketa batzuek korrelazio altuagoa erakutsi dute [Viguri *et al.*, 2002]. Kalkulaturiko C/N ratioak aldakuntza handia erakusten dute laginketa puntuetan zehar, 1.37 eta 72.0 bitartean egonik. C/N balio handiak TN-ren balio txikiei zor zaie analizaturiko sedimentuetan, batez ere Zumaia eta Pasaiaiko sedimentuetan, sedimentua hondarra delako batez ere. C/N-ren balio altuak giza isurketek eragindako kutsadura maila altuak adierazten dute [Liu *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006]. Antzeko balioak topatu dira Jiaozhou Badian,

Txinan [Wang *et al.*, 2006]. Analizaturiko laginetan korrelazio positibo bat dago karbono organiko totala eta aztertutako PAHen artean. Hala ere korrelazio balio ( $r^2$ ) altuagoak topatu dira beste ikerketa batzuetan [Yang *et al.*, 2000; Vane *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2007]. Aldagai ezberdinen arteko korrelazio-eza aurkitzearen arrazoia, sedimentuek orokorrean aurkezten dituzten TOCen eduki homogeneoak izan daiteke.

### **3.3 Emaitzak eta Eztabaida**

Lan ikerketa honetan, PAHak sedimentuetan determinatzeko erauzketa metodo bat garatu da. Horretarako kutsatu gabeko sedimentu bat dopatu egin da PAHekin ondoren azaltzen den bezala: Lagin lehorraren 100 g eta 2 mg L<sup>-1</sup>-ko kontzentrazioa azetonan duen 10 PAH adierazgarrien nahasketa bat 500 mL-ko disoluzioan batu dira 1000 mL-ko errotabapore ontzi biribil batetan. PAH-ak hauek izan dira: Naftalenoa, NAF; Azenaftilenoa, AZI; Azenaftenoa, AZE; Antrazenoa, ANT; Fenantrenoa, FEN; Fluorantenoa, FLT, Fluorenoa, FLU; Pirenoa, PIR, Krisenoa, KRI; eta Benzo(a)Antrazenoa, BaA. Azetona errotabaporean lurrundu da 30-35°C-tan, PAHak matrizean harrapatuz [Sawada *et al.*, 2004]. Kutsatutako sedimentu hau 40 mL-ko beirazko ontzietan gorde da hozkailuan, iluntasunean, 4°C-tara, metodo ezberdinen optimizazioa egiteko momentua heldu den arte. Lagin errealetan PAHen determinazioa adizio estandarren bitartez egin da beti. Laborategiko tresneria ahal izan den neurrian egokitu da proposaturiko metodoa garatzeko. Miaketa edo “Screening” metodo bat proposatu da, ondoren optimizatu delarik. Erantzun azkar eta zehatz bat bilatzen da metodo mota honekin, ekonomikoki errentagarria (disolbatzaile kantitate gutxi) eta denbora luzez lan egin gabe emaitza adierazgarriak eskaintzen dituen.

#### **3.3.1 Ur-Beroko HS-SPME metodoaren optimizazioa**

Aurreko kapituluko lan eskarmentuan oinarrituz, ur-beroko HS-SPME erauzketa zuzena erabiltzea proposatu da sedimentuekin. Teknika honek emaitza onak eman ditu lurrekin, eta litekeena da sedimentuak bezalako matrize berriarekin antzeko emaitzak lortzea. Sedimentuen kasuan ere, emaitza hoberenak lortzeko diseinu esperimental bat proposatu da, baldintza esperimental egokienak lortzearen. Optimizatutako prozedura lortzeko prozesua bi alditan burutu da: lehenengoan, diseinu faktorial osoa erabili ostean aldagai esanguratsuenak lortu dira; bigarrean aldiz, erantzunik hoberena bilatu da diseinu konposatu zentralarekin.

## 3.3.1.1 Diseinu faktorial osoa

Diseinu esperimentala burutzeko aurreko kapituluaren lurretan dauden PAHen analisia egitean hartutako esperientzia kontutan hartu da [Zuazagoitia *et al.*, 2009], horregatik sedimentuentzako 4 aldagai esanguratsuenak hautatu dira, matrizeak antzekoak izango direla uste baita. Lurra eta sedimentua lehortu, txikitu eta bahetu ostean antza handia hartzen dute. Aldagai osoko diseinua aplikatu da, ondoko lau eragile hauek aztertu direlarik: Sedimentu kantitatea: 0.2-0.5g; Erauzketa tenperatura: 40-80°C; Erauzketa denbora: 40-100 min; NaCl kontzentrazioa: %10-30. Aldagai hauek, euren kodea, balio altu eta baxua (aldagai kuantitatiboak) **3.2 Taulan** jasotzen dira. Diseinu zatikatua erabili ordez aldagai osoko diseinua erabili da, izan ere sistema gainean eragiten duten faktore kopurua ez baita oso handia. Mota honetako diseinuen saiakera kopuru gutxirekin aldagai nagusienak determinatzea ahalbideratzen dute. **3.3 Taulan** matrize diseinua ikus daiteke, saiakera bakoitzean aldagai bakoitzak hartutako balioak adierazi direlarik. Matrize diseinuak guztira 16 saiakeraz osatu da beraz. Saiakerak zorizko moduan egin dira, akats sistematikoen gehipena saihestearren. Saiakera bakoitzean lortutako erantzunak (hautazko azalera unitateetan) taula berean ikus daitezke.

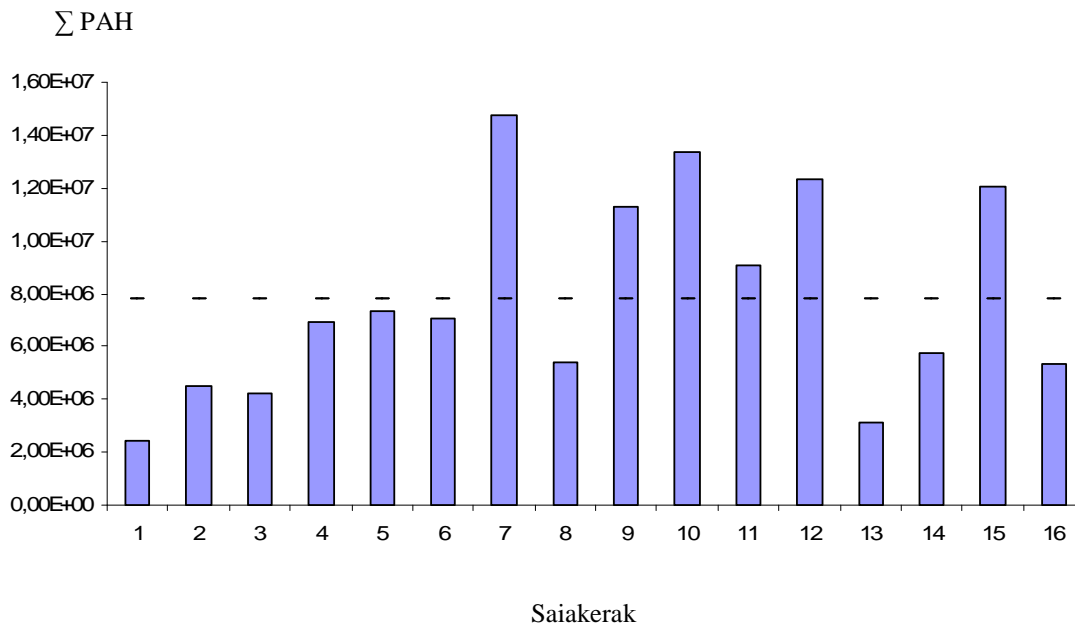
3.2. Taula. Sedimentuetan PAHen ur-beroko HS-SPME erauzketaren optimizaziorako aldagai esperimentalak eta mailak.

Aldagaiak	Kodea	Maila	
		Baxua	Altua
Erauzketa tenperatura (°C)	T	40	80
% NaCl	NaCl	10	30
Erauzketa denbora (min)	t	40	100
Pisatutako sedimentua (g)	Pisua	0.2	0.5

3.3. Taula. Sedimentuetan PAHen Ur-Beroko HS-SPME erauzketarentzako 2<sup>4</sup> aldagai osoko diseinuaren matrizea eta erantzuna (gailur azaleran).

Saiakuntzak	T	NaCl	t	Pisua	NAF	AZE	AZI	FLU	FEN	ANT	FLT	PIR	KRI	B(a)A
9	40	10	40	0.5	429660	646030	785971	352260	100100	97807	9627	7939	-	-
15	40	30	100	0.5	804023	14618660	1020594	705040	232355	227034	15566	13624	-	-
13	40	10	100	0.5	485001	1118022	1197922	773516	303064	296123	33677	27407	366	227
16	80	30	100	0.5	313621	724762	833896	812907	1584685	1548395	551625	500858	18464	22612
14	80	10	100	0.5	210583	509912	811135	776195	1772096	1731513	782961	683643	31092	31359
3	40	30	40	0.2	1548748	1885929	2164621	914971	231190	255209	20939	18097	315	-
8	80	30	100	0.2	450549	1194139	1737213	1573973	321806	3144311	1678281	1536630	86923	100485
12	80	30	40	0.5	332640	753830	941682	863458	1079204	1054489	20264	180950	6419	10362
2	80	10	40	0.2	285044	864896	1492761	1602278	2835501	2770566	788723	632565	20506	18706
4	80	30	40	0.2	771847	1867010	2429543	2206989	2600370	450671	450354	-	14577	19121
5	40	10	100	0.2	680414	1924982	2661234	1851655	876873	856793	104808	80944	1396	871
7	40	30	100	0.2	1691065	3650060	3271823	2023035	784799	766826	77381	64516	861	794
11	40	30	40	0.5	865717	828721	862155	362000	105208	102799	9139	8146	115	-
10	80	10	40	0.5	248163	648523	960219	952338	1264010	1235063	243268	207677	6312	6551
6	80	10	100	0.2	241240	744416	1245478	1219417	289991	2833501	1469378	1322274	58831	47421
1	40	10	40	0.2	656142	1196495	1895523	936483	309677	302585	34225	26843	418	-

Saiakuntza bakoitzean lorturiko PAH guztien batuketa egin ezker, begi bistakoa da zazpigarren saiakuntzak PAH kantitate gehien erauztea lortu duela (**3.14 Irudia**). Pentsa daiteke beraz, saiakuntza honetan erabilitako aldagai ezberdinen neurriak gertu egongo direla sedimentuetan PAHen analisia egiteko erabiliko diren baldintzetatik. Baina horretarako lehenago lorturiko datuen tratamendu estatistikoa egin da.



*3.14. Irudia. Aldagai osoko  $2^4$  diseinuan egindako 16 saiakuntzen PAHen batuketan neurrien adierazpen grafikoa.*

Lorturiko emaitzekin bariantzaren analisia egin da (ANOVA). Bariantzaren analisia, %95 konfiantza mailarekin, aldagai bat adierazgarria den edo ez adieraziko digu (**3.4 Taula**). Kontutan hartu behar da hasieratik aukeratutako lau aldagaiak berez adierazgarriak direla beste batzuekin alderatuz, baina urrats hori gaineratik kendu dugu lurrekin egindako ikerketan aldagai baztergarriak identifikatu direlako. Lorturiko datuak ANOVA bariantza analisiarekin ebaluatu dira aldagai eta modeloaren esanahia determinatzeko. Aldagai kualitatiboak erazketarako baldintzarik egokienetan finkatu dira.  $p < 0.05$  baino txikiago izan ezker (beltzez), aldagai horren aldakortasuna adierazgarria dela esango da. ANOVAk auresandako aldagaiak eta Pareto grafikak (**3.15 Irudia**) adierazitako aldagai adierazgarrienekin bat datoz.

3.4. Taula. Diseinu faktorial osoaren bariantza analisiaren (ANOVA) datuak PAH guztientzat.

<b>NAF</b>					
R.sqr =0.8053    Adj: 0.7274					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	1.07 10 <sup>12</sup>	1	1.07 10 <sup>12</sup>	18.79	<b>0.0015</b>
(2) NaCl	7.11 10 <sup>11</sup>	1	7.11 10 <sup>11</sup>	12.47	<b>0.0054</b>
(3) t	3.38 10 <sup>09</sup>	1	3.38 10 <sup>09</sup>	0.06	0.8126
(4) Pisua	3.93 10 <sup>11</sup>	1	3.93 10 <sup>11</sup>	6.88	<b>0.0254</b>
Error	5.70 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	2.92 10 <sup>12</sup>	14			

<b>AZI</b>					
R.sqr =0.6905    Adj: 0.5661					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	2.06 10 <sup>12</sup>	1	2.06 10 <sup>12</sup>	7.35	<b>0.0218</b>
(2) NaCl	9.71 10 <sup>11</sup>	1	9.71 10 <sup>11</sup>	3.46	<b>0.0922</b>
(3) t	5.98 10 <sup>11</sup>	1	5.98 10 <sup>11</sup>	2.13	0.1747
(4) Pisua	2.09 10 <sup>12</sup>	1	2.09 10 <sup>12</sup>	7.46	<b>0.0211</b>
Error	2.80 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	9.04 10 <sup>12</sup>	14			

<b>AZE</b>					
R.sqr =0.7794    Adj: 0.6911					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	9.59 10 <sup>11</sup>	1	9.59 10 <sup>11</sup>	5.47	<b>0.0413</b>
(2) NaCl	1.34 10 <sup>11</sup>	1	1.34 10 <sup>11</sup>	0.76	0.4028
(3) t	2.14 10 <sup>11</sup>	1	2.14 10 <sup>11</sup>	1.22	0.2954
(4) Pisua	4.44 10 <sup>12</sup>	1	4.44 10 <sup>12</sup>	25.33	<b>0.0005</b>
Error	1.75 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	7.94 10 <sup>12</sup>	14			

## 3.4. Taula. ANOVaren datuak PAH guztientzat, jarraipena.

**ANT**

R.sqr =0.9186 Adj: 0.8860

<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	1.07 10 <sup>13</sup>	1	1.07 10 <sup>13</sup>	84.69	<b>0.0000</b>
(2) NaCl	3.51 10 <sup>10</sup>	1	3.51 10 <sup>10</sup>	0.28	0.6092
(3) t	6.41 10 <sup>11</sup>	1	6.41 10 <sup>11</sup>	5.08	<b>0.0479</b>
(4) Pisua	2.71 10 <sup>12</sup>	1	2.71 10 <sup>12</sup>	21.49	<b>0.0009</b>
Error	1.26 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	1.55 10 <sup>13</sup>	14			

**FLT**

R.sqr =0.7783 Adj: 0.6897

<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	2.20 10 <sup>12</sup>	1	2.20 10 <sup>12</sup>	23.81	<b>0.0006</b>
(2) NaCl	1.46 10 <sup>7</sup>	1	1.46 10 <sup>7</sup>	0.00	0.9903
(3) t	3.9110 <sup>11</sup>	1	3.9110 <sup>11</sup>	4.21	0.0673
(4) Pisua	5.58 10 <sup>11</sup>	1	5.58 10 <sup>11</sup>	6.02	<b>0.0341</b>
Error	9.27 10 <sup>11</sup>	10			
Total SS	4.18 10 <sup>12</sup>	14			

**FEN**

R.sqr =0.9186 Adj: 0.8860

<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	1.12 10 <sup>13</sup>	1	1.12 10 <sup>13</sup>	84.69	<b>0.000</b>
(2) NaCl	3.68 10 <sup>10</sup>	1	3.68 10 <sup>10</sup>	0.28	0.6092
(3) t	6.7110 <sup>11</sup>	1	6.7110 <sup>11</sup>	5.08	<b>0.0479</b>
(4) Pisua	2.84 10 <sup>12</sup>	1	2.84 10 <sup>12</sup>	21.49	<b>0.0009</b>
Error	1.32 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	1.62 10 <sup>13</sup>	14			

**FLU**

R.sqr =0.7102 Adj: 0.5943

<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	9.10 10 <sup>10</sup>	1	9.10 10 <sup>10</sup>	0.88	0.3698
(2) NaCl	1.65 10 <sup>9</sup>	1	1.65 10 <sup>9</sup>	0.02	0.9018
(3) t	3.2310 <sup>11</sup>	1	3.2310 <sup>11</sup>	3.13	0.1074
(4) Pisua	2.00 10 <sup>12</sup>	1	2.00 10 <sup>12</sup>	19.35	<b>0.0013</b>
Error	1.03 10 <sup>12</sup>	10			
Total SS	3.56 10 <sup>12</sup>	14			

3.4 Taula. ANOVAREN datuak PAH guztientzat, jarraipena.

<b>PIR</b>					
R.sqr =0.7686    Adj: 0.6760					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	1.78 10 <sup>12</sup>	1	1.78 10 <sup>12</sup>	22.42	<b>0.0067</b>
(2) NaCl	5.08 10 <sup>8</sup>	1	5.08 10 <sup>8</sup>	0.00	0.9379
(3) t	3.2610 <sup>11</sup>	1	3.2610 <sup>11</sup>	4.11	0.0702
(4) Pisua	4.55 10 <sup>11</sup>	1	4.55 10 <sup>11</sup>	5.70	<b>0.0381</b>
Error	7.95 10 <sup>11</sup>	10			
Total SS	3.44 10 <sup>12</sup>	14			

<b>KRI</b>					
R.sqr =0.6723    Adj: 0.5412					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	3.90 10 <sup>9</sup>	1	3.90 10 <sup>9</sup>	12.88	<b>0.0049</b>
(2) NaCl	5.15 10 <sup>7</sup>	1	5.15 10 <sup>7</sup>	0.17	0.6887
(3) t	9.40 10 <sup>8</sup>	1	9.40 10 <sup>8</sup>	3.10	0.1087
(4) Pisua	1.16 10 <sup>9</sup>	1	1.16 10 <sup>9</sup>	3.83	0.0788
Error	3.03 10 <sup>9</sup>	10			
Total SS	9.24 10 <sup>9</sup>	14			

<b>BaA</b>					
R.sqr =0.6374    Adj: 0.4924					
<b>Aldagaiak</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
(1) T	4.33 10 <sup>9</sup>	1	4.33 10 <sup>9</sup>	11.35	<b>0.0071</b>
(2) NaCl	2.69 10 <sup>8</sup>	1	2.69 10 <sup>8</sup>	0.70	0.4209
(3) t	9.51 10 <sup>8</sup>	1	9.51 10 <sup>8</sup>	2.49	0.1456
(4) Pisua	1.07 10 <sup>9</sup>	1	1.07 10 <sup>9</sup>	2.80	0.125
Error	3.82 10 <sup>9</sup>	10			
Total SS	1.05 10 <sup>10</sup>	14			

Pareto grafikoetatik abiatuz (**3.15 Irudia**), aldagai bakoitzarentzat efektuen balioak (balio absolutuetan) aztertuko dira. Irudian %95-eko konfiantzari dagokion marra bertikal bat irudikatu da. Marra hau gurutzatzen duten balioak adierazgarritzat hartzen dira %95-ean. Efektuen sinua, erantzunean igoera (+) edo beherakada (-) ematen den adierazten digu, aldagai bakoitzaren balio baxutik handira pasatzerakoan. ANOVAtik lorturiko datuak beraz PARETO grafikoetan adierazi dira, hemendik zenbait gauza ondoriozta daitezke:

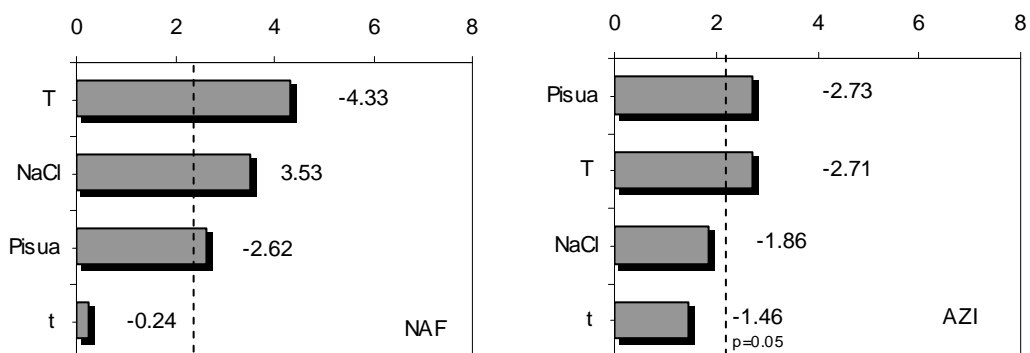


NaCl gatzaren adizioa adierazgarria da soilik naftalenoarentzako, horregatik gatzaren adizioa egitea erabaki da sedimentuen kasuan (gatza %30ean uretan): beste PAHekin gehitu edo ez gehitzearen arteko diferentzia adierazgarririk ez da igarri.

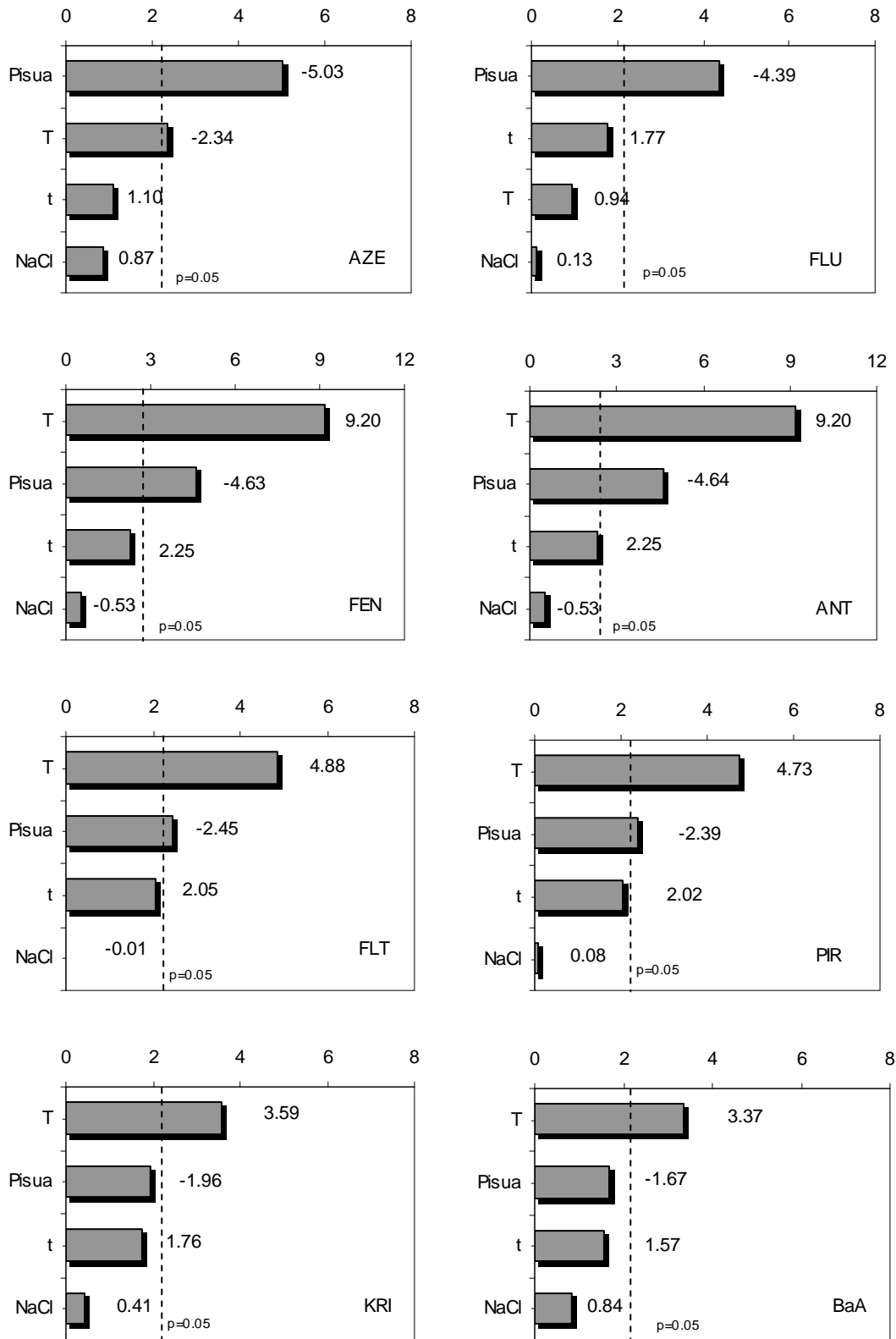
Pisatutako sedimentu kantitatea aldiz adierazgarria da ia analito guztientzako, eta gainera pisu txikietara jotzeko joera saritzen da. Zentzu honetan 0.2 g baino gutxiago pisatzea komenigarria ez litzatekeela pentsatu da, arrazoi teknikoak direla eta errore bidea zabaltzea izango baitzen. Ondorioz pisatutako sedimentu kantitatea analisi bakoitzeko 0.2 gramotan finkatu da, optimizazio urratsetik beste aldagai bat kenduz.

Erauzketa denbora fenantrenoa eta antrazenoa ez ezik, beste PAHentzako ez adierazgarria suertatu da, nahiz eta zeinua beti positiboa izan. Honek ez du esan nahi erauzketa denbora adierazgarria ez denik, baizik eta hasieratik jarritako mugak ondo baino hobeto definitu direla (lurrekin izandako eskarmetua dela eta), eta beraz apur bat gorago edo beherago izatea aldaketa esanguratsurik ez duela adierazten. Erauzketa denbora, nahiz eta PAH bakar batzuentzako adierazgarria ez izan, optimizazio urratsera eramango da ere, aldagai hau ahalik eta gehien zehaztearren.

Azkenik, erauzketa tenperaturari dagokionez, aldagai hau aztertutako pisu molekular ertaineko PAHentzako ez adierazgarria suertatu da, aldiz, PAH arin eta astunenentzako esanguratsua da, tenperatura altua eta baxua nahiago dutelarik hurrenez hurren. Guzti hau kontutan hartuz, erauzketa tenperatura eta denbora, bi aldagai hauek bakarrik, optimizatuko dira prozedura diseinatzeko hurrengo urratsean.



3.15. Irudia. Aldagai osoko diseinuaren bidez lorturiko efektu nagusien Pareto grafikoa.



3.15. Irudia. Aldagai osoko diseinuaren bidez lorturiko efektu nagusien Pareto grafikoa, jarraipena.

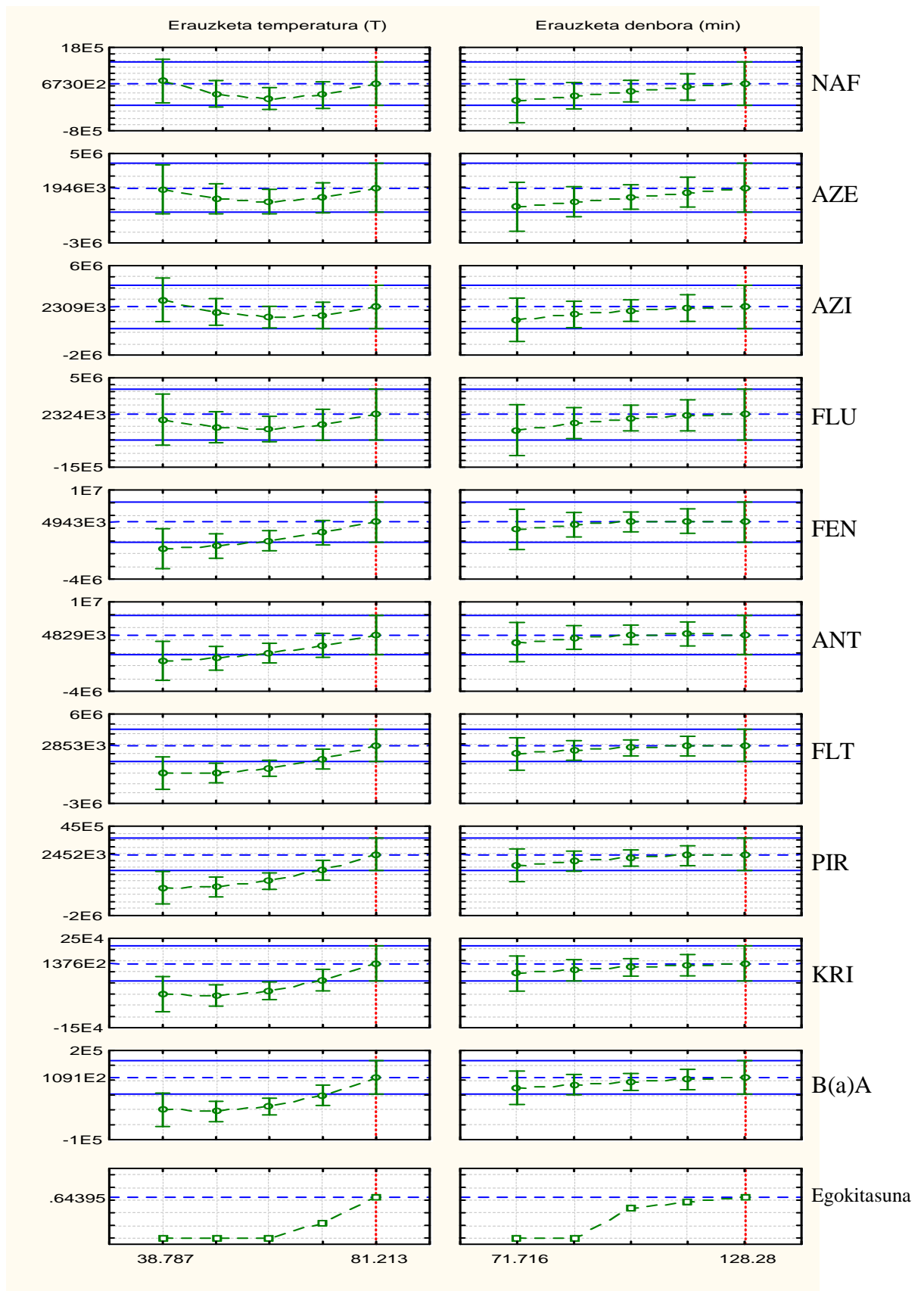
### 3.3.1.2 Diseinu konposatu zentrala (CCD)

Diseinu konposatu zentralarekin (CCD) aurreko urratsean adierazgarritzat hartutako aldagai guztiak optimizatu dira. Bigarren urrats honetan, aldagai adierazgarrienak optimizatzeko asmoz, CCD bat eraiki da,  $2^2$  diseinu faktorialean oinarrituz. Diseinu mota honek denera ditu:  $2^2 + [(2 \times 2) + 1]$  izar puntuaren saiakuntzak, ikerketa eremuaren rotabilitatea  $\alpha \pm 1.414$  izanik. Guztira, bost izar puntu ditu hortaz, non horietako bat zentrala den. Diseinua erdiko puntuko beste saiakuntza batekin osatu da azkenik. Horrela, diseinu matrizea ausaz egindako 10 saiakuntza ezberdinetan oinarritu da, ikerketaz kanpoko aldagai kutsatzaile ezberdinen akats efektu sistematikoak ekiditearren. **3.5 Taulan** adierazten dira lehenengo urratsean ezberdindutako aldagai esanguratsuak (erauzketa tenperatura eta denbora), baita bigarren urrats honetarako egokitutako balio baxu, ertain eta altuak ere. **3.5 Taulan** ere aldagai bakoitzari egokitutako balioen diseinu matrizea azaltzen da. Saiakuntza ezberdin bakoitza bi aldiz errepikatu da, eta lortutako erantzunen emaitzak ere bertan datoz, hautazko azalera unitateetan.

3.5. Taula. Diseinu konposatu zentralerako (CCD) aldagai esperimentalak, mailak, diseinu matrizea, eta Ur-Bero-HS-SPME erauzketaren bitartez 10 PAHen analisiaren emaitzak (hautazko gailur azaleran).

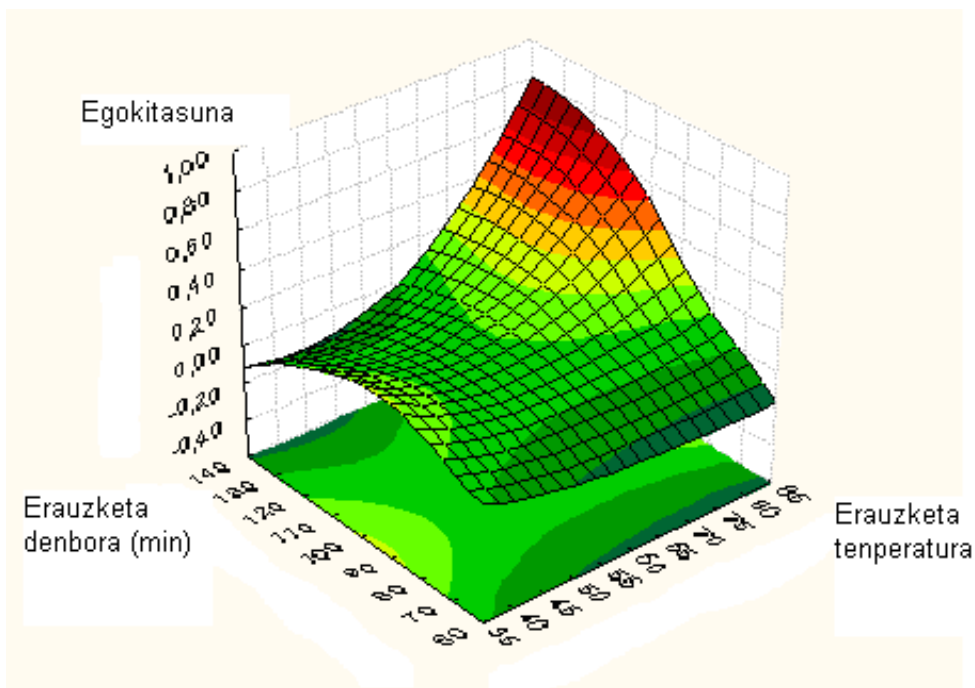
Aldagaiak	Kodea	Mailak												
		Baxua	Ertaina	Altua										
Erauzketa temperatura (T)	T	45	60	75										
Erauzketa denbora (min)	t	80	100	120										
Saiakuntzak	T	t	NAF	AZE	AZI	FLU	FEN	ANT	FLT	PIR	KRI	B(a)A	ΣPAH	
1	45	80	1231872	3904503	3783204	3488392	1722778	1683325	223493	168809	3739	2245	16212360	
10 (z)	60	100	337048	1072328	1759792	1780175	2461339	2404972	558303	505822	13249	9595	10902623	
7	60	72	351784	1019644	1788208	1614837	1734701	1694975	351159	302913	8009	5962	8872192	
3	75	80	242938	755246	1321315	1360259	2907773	2842600	1095701	962255	42935	35419	11566441	
6	81.2	100	480502	1277970	2235224	2440361	5817619	5684391	3039054	2513641	141129	109223	23739114	
8	60	128	393120	1160870	1920403	1661887	2504247	2446898	664967	573131	18340	13301	11357164	
5	38.8	100	1346656	3291871	4420235	3195164	1298789	1269046	145572	109119	2230	1143	15079825	
4	75	120	266944	780250	1357714	1406048	3274952	3199953	1616788	1452043	72551	58188	13485431	
9 (z)	60	100	395595	1200978	2017623	1925059	2456828	2400565	534594	450031	10941	6315	11398529	
2	45	120	478759	1427065	2192486	1876562	1317358	1287189	206978	169437	3436	2019	8961289	

(z) Puntu Zentrala



3.16. Irudia. CCD-aren emaitzetan oinarrituz auresandako balioak eta egokitasunaren soslaiak.

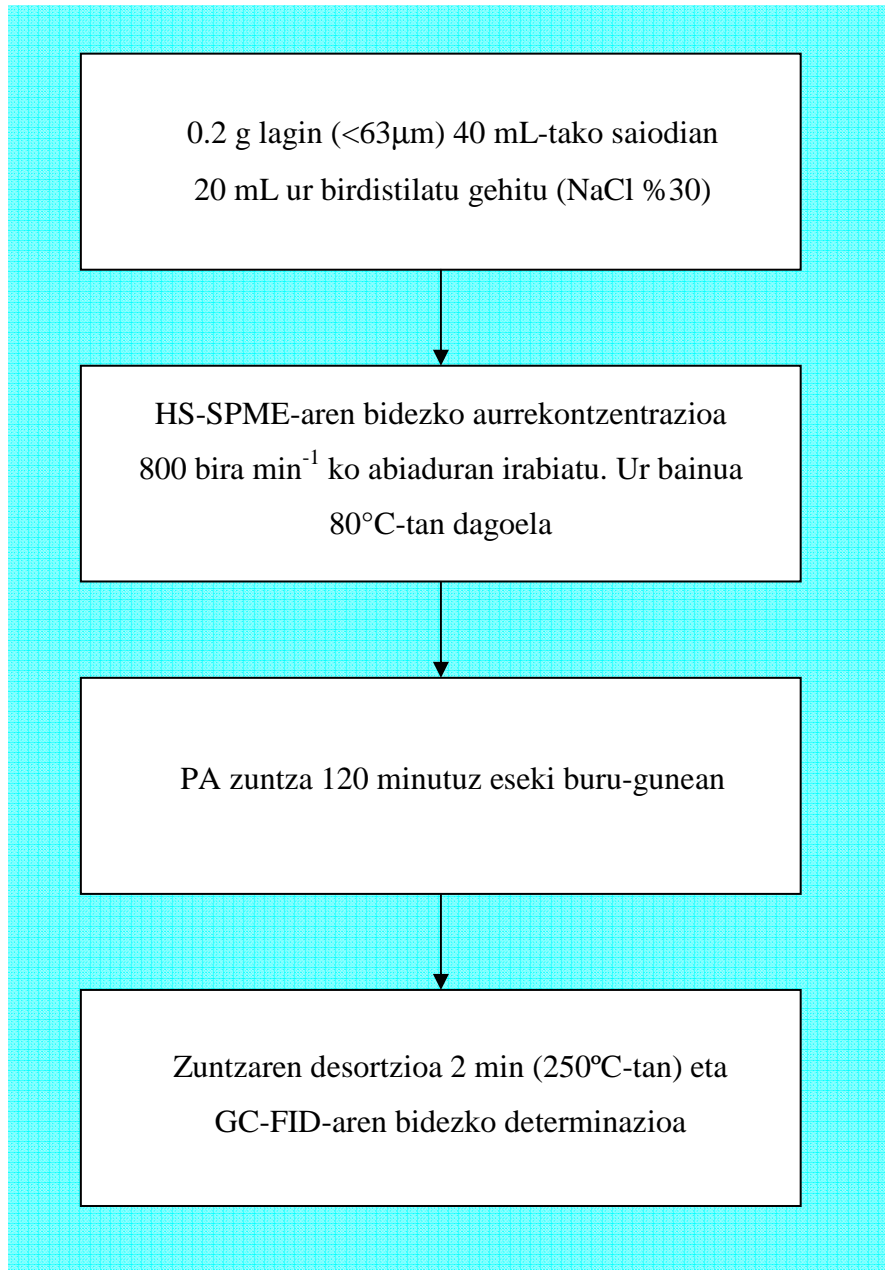
STATISTICA® programak eraikitako auresandako balioen eta egokitasunaren profiletatik (**3.16 Irudia**), optimizaturiko balioak modu honetan finkatu dira: 120 minutu erauzketa denbora eta 80°C erauzketa temperatura. Temperatura eta denbora balio optimoak aukeratzeko auresandako balioen eta egokitasunaren grafikoen soslaiak ikertu dira (STATISTICA® programak emandako aukera, PAH guztien batuketarako egokitasun gainazala, **3.17 Irudian**), kasu bakoitzeko, erantzunik onena zein baldintzetan ematen den adieraziko digutelarik. Bi joera ezberdin ikusi dira orokorrean, eta pisu molekular handiko eta txikiko PAHen artean ezberdindu dezakegu. Emaitzarik onenak pisu molekular txikiko PAHentzako (naftalenoa, azenaftilenoa, azenaftenoa eta fluorenoa) 35-40°C-ko temperatura bitartean eta 60-70 min-ko erauzketa denbora bitartean igarri dira. Pisu molekular handiagoko PAHentzako (fenantreno, antrazeno, fluoranteno, pireno, kriseno eta bentzo(a)antrazeno) berriz, baldintzarik onenak erauzketa temperatura eta denbora handietan igarri dira (75-85°C eta 100-120 min hurrenez hurren).



3.17. Irudia. Egokitasun gainazal erantzuna ikertutako 10 PAHen osotasunerako.

PAH guztientzako egokitasun erantzun gainazala aztertu ezker (**3.17 Irudia**), argi ikus daiteke nola sistemak erauzketa temperatura eta denbora altuak saritzen dituen. Nahiz eta pisu molekular baxuko PAHak denbora eta temperatura txikiagoak behar, diseinuaren emaitzek pisu altuko PAHen alde egiten du, izan ere hauen azalera kromatograman txikiagoa baita, eta ondorioz aldagai esanguratsuen balioak (temperatura eta denbora) altuak izateko joera hartuko

dute emaitzak optimizatzearen. Esan beharra dago pisu molekular handiko PAHentzako (Kriseno eta B(a)A) erauzketa denbora froga bereziak egin direla, tenperatura altuetan eta denbora luzez HS-SPME moduan erauzten utzi da PAH nahaste soluzioa bat. Pisu molekular altuko konposatu hauen hegazkortasuna txikiagoa da eta bero gehiago behar dute fase likidotik solidora jauzi egiteko. Ikerketa ezberdinek adierazten dute [Cam *et al.*, 2000; Boonyatumenond *et al.*, 2006] erauzketa denbora zehatz batetik aurrera (120 min inguru) erauzketaren etekina ez dela handitzen, eta PAHen pisu molekularren handitzearekin alderantziz proportzionala dela. Hau da, pisu molekular handiko PAHek pisu molekular txikiko PAHak baino erauzketa etekin baxuagoa agertuko dute denbora erauzketa berdinerako. Esan beharra dago aldagai osoko diseinuan erauzketa denbora ez adierazgarria azaldu dela, baina PARETO grafikoetan ondo aztertuz ikusi daiteke PAH gehienak %95 marratik hurbil daudela, eta gainera euren zeinua positiboa dela, hau da erauzketa denbora altuak faboratzen dutela. Aldagai osoko diseinua eta diseinu konposatu zentrala kontutan hartuz, lagin errealen analisia burutzeko hautaturiko aldagaien balioak ondoko hauek izango dira: NaCl %30; 0.2 g sedimentu; 80°C erauzketa tenperatura; 120 min erauzketa denbora. Prozeduraren eskema orokorra **3.18 Irudian** laburbiltzen da.



3.18. Irudia. Sedimentuetan aldibereko PAH ezberdinen erauzketa eta determinaziorako optimizaturiko Ur-Bero-HS-SPME prozeduraren eskema orokorra.



### 3.3.2 Ezaugarri analitikoak eta metodoaren balidazioa

Sedimentuetan PAHen Ur-Bero-HS-SPME metodo optimizatuaren bidezko analisiaren kalitatea bermatzeko; linealtasuna, detekzio mugak, errepikakortasuna eta zehaztasuna aztertu dira.

#### 3.3.2.1 Linealtasuna

Lurraren kapitulan egin bezala, goi eta behe kalibratu bi egin dira  $1-10 \mu\text{g Kg}^{-1}$  eta  $10-50 \mu\text{g Kg}^{-1}$  bitartean sedimentsu dopatuekin. Kontzentrazioen neurketa adizio estandarren bidez egin da. Metodoak linealtasun altua erakusten du aztertutako 3 PAH (NAF, ANT, FLT) adierazgarriekin,  $R^2$  0.991, 0.989, 0.998 izanik hurrenez hurren.

#### 3.3.2.2 Detekzio mugak

Edozein prozedura analitikoan, zuriaren balioak ezagutzea ezinbestekoa da, jarraitutako prozesuan, matrize zein erreaktibo ezberdinen efektuak ebaluatu nahi ezker. Ebaluazio honek ere, erabilitako prozeduran, analito bakoitzarentzako detekzio-mugak kalkulatzeko ahalbideratzen digu. Detekzio-mugak (D.M.) kalkulatzeko hiru zuri ezberdinen determinazioak egin dira eta  $S_{\text{tot}}=S+3s$  irizpidea jarraituz [Miller and Miller, 2002];  $S_{\text{tot}}$  kontzentrazioa kalkulatzeko erabilitako seinalea izanik gailur kromatografikoa detektatu denean analitoaren erretentzio denboran, S seinalearen batz bestekoa eta s seinale guztien desbideratze estandarra. Erauzketa zuzenaren bitartez sedimentuetan determinatutako PAHentzako detekzio mugak **3.6 Taulan** adierazi dira.

Datuetatik antzeman daiteke metodoa sentikorrakoa dela pisu molekular baxuko PAHentzako. Pisu molekular handiagoko PAHentzako, krisenoa bezala, sentikortasun baxuagoa erakusten du metodoak, PAH hauen hegazkortasun maila baxuagoak dela eta. Detekzio mugak zenbait artikuloetan ere metodoen detekzio muga bezala azaltzen dira, hemen beste lan batzuekin alderatuz antzeko balioak topa daitezke FID detektorea erabiltzen den kasuetan [Maskaoui *et al.*, 2002], aldiz MS bezalako detektore sentikorrak erabiltzen direnean detekzio muga baxuagoak lortu daitezkeela ikusten da [Cam *et al.*, 2000; De Luca *et al.*, 2004; Bartolomé *et al.*, 2006]. Beste metodo batzuekin, likido erauzketa eta HPLC adibidez, antzeko detekzio mugak lortzen dira:  $1.31 \mu\text{g Kg}^{-1}$  NAFentzat eta  $0.71 \text{ FLTentzat}$  [Ornellas *et al.*, 2008], eta Soxhlet eta HPLC erabiltzen bada, baxuagoak lortu izan dira, 0.02

- 4.00  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  bitartekoak [Zhang *et al.*, 2008]. Dena den, lorturiko detekzio mugak onak dira, eta kontzentrazio ertaineko lagin kutsatuetan analitoak konfiantzarekin determinatu eta kuantifikatzea baimenduko lukete. Aurreko kapituluaren lurretan egindako azterketan lorturiko detekzio mugak apur bat handiagoak dira (**2.13 Taula**), hori matrize-efektuari egotzi dakioke, lurren kasuan sendoagoa izango litzatekeelarik.

3.6. Taula. Erauzketa zuzenaren bitartez sedimentuetan determinatutako PAHentzako detekzio mugak.

	D.M. ( $\mu\text{g Kg}^{-1}$ )
Naftalenoa	1.98
Azenaftenoa	0.92
Azenaftilenoa	0.67
Fluorenoa	0.65
Fenantrenoa	0.64
Antrazenoa	1.28
Fluorantenoa	0.78
Pirenoa	0.87
Bentzo(a)antrazenoa	3.96
Krisenoa	7.95

### 3.3.2.3 Errepikakortasuna

Metodoaren errepikakortasuna egunean eta egunetan aztertu da. Eguneko errepikakortasuna desbideratze estandar erlatiboa bezala adierazia (DEE), egun berean modu jarraian egindako sei lagin independenteen analisisien emaitzetatik lortu da. Analito bakoitzaren kontzentrazioa 20  $\text{mg Kg}^{-1}$ -ekoa izan da. Lortutako emaitza guztiak, 10 PAHentzako %3.6 eta %7.0 bitartean egon dira (**3.7 Taula**).

Errepikakortasuna egunetan, desbideratze estandar erlatiboa bezala adierazia (DEE), egun desberdinetan modu jarraian egindako sei lagin independenteen analisisien emaitzetatik lortu da, analito bakoitzaren kontzentrazioa 20  $\text{mg Kg}^{-1}$ -ekoa izanik ere. Lortutako emaitza guztiak, 10 PAHentzako %2.4 eta %9.8 bitartean egon dira (**3.7 Taula**). Kasu guztietan faktore bakarreko bariantza analisisia egiterakoan (ANOVA) lortutako F balioak F kritikoa baino txikiagoa izan dira beti. Honen arabera, ez daude ezberdintasun esanguratsurik egun

berean zein egun ezberdinetan egindako neurketen artean %95ko konfiantza mailan. Metodoa egun berean eta desberdinetan errepikakorra izanik.

3.7. Taula. Egunean eta egunetan ur-beroko-HS-SPME metodoaren bidez sedimentuetan analizaturiko hamar PAHen errepikakortasuna.

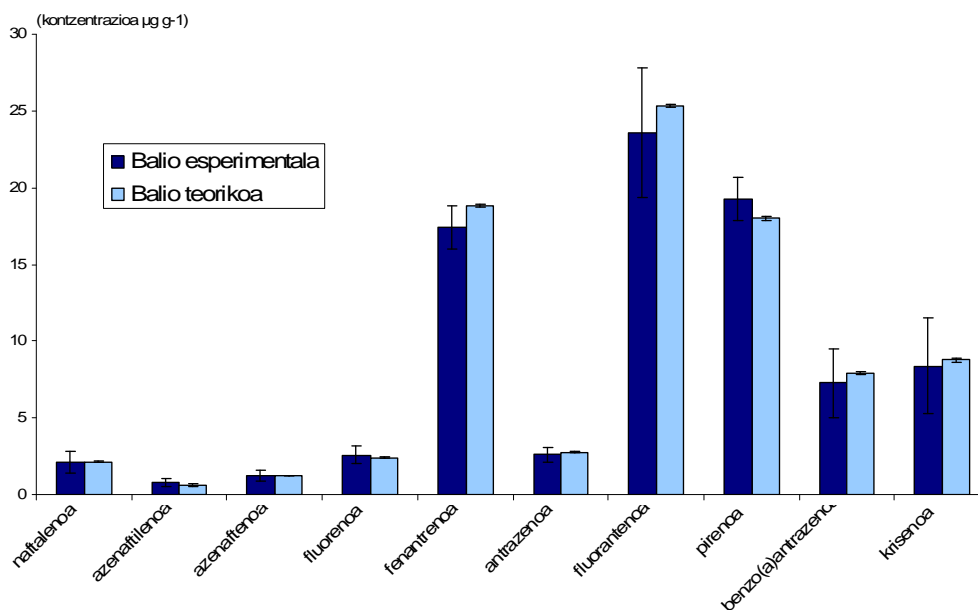
Analitoak	Egunean (%DEE)	Egunetan (%DEE)
Naftalenoa	7.0	5.2
Azenaftenoa	5.3	6.7
Azenaftilenoa	6.1	6.8
Fluorenoa	4.7	3.5
Fenantrenoa	5.4	6.4
Antrazenoa	5.4	2.4
Fluorantenoa	6.3	3.4
Pirenoa	5.7	5.4
Bentzo(a)antrazenoa	5.1	9.8
Krisenoa	3.6	7.2

#### 3.3.2.4 Zehaztasuna

Metodoaren zehaztasuna aztertzeko, erreferentziako material zertifikatua erabili da. Sedimentuetan PAHen determinaziorako proposaturiko metodoa (Ur-Bero-HS-SPME) balidatzeko, erreferentziako material bat erabili da: kalitate kontrola egiteko Kanadako Ikerkuntza Nazionalen kontseiluak (NRC-CNRC, Itsas Biozientzia institutua, Halifax, Nova Scotia, Kanada) ekoiztutako HS-3B zertifikaturiko erreferentziako materiala erabili da. LGC Promochem etxe komertzialaren bitartez erosia (LGC Promochem Barcelona, Espainia). Zertifikaturiko material honen argibideen arabera, sedimentuaren laginketa Eskozia Berriko itsas portuetan egin da. Portu hauetan industri eta merkatal aktibitatea handia izan da urteetan. Material hau bestalde, liofilizatu, bahetu (<63µm), eta homogeneizatu da, gero azpilaginetan banatzeko. Zertifikaturiko material honen tratamendua eta gure ikerketan egindako laginaren aurretratamendua oso antzekoak dira. Material egokia da beraz ikerketa hau burutzeko.

HS-3B zertifikaturiko erreferentziako materiala, sedimentuan aurkituriko zenbait konposatu organiko hegazkorren nahasketa bat da zehazki. PAHen neurketak emaitza onak erakusten ditu pisu molekular baxuko PAHentzako. PAHen balioak konfiantza tarte barruan

daude, horrela metodoaren zehaztasuna frogatzen da, laginen errearen determinazioari bidea zabalduz. Zehaztasunaren ikerketaren datuak **3.19 Irudiko** grafikoan ikusi daitezke; bertan balioak (zertifikatua eta esperimentalak) gainezartzen direla argi ikus daiteke. Berreskurapenak %92 eta %132 bitartean egon dira, batazbestekoa %101.4koa izanik. Beste ikerketa batzuetan berreskurapen hobeagoak lortu izan dira, Ornellas-Meire eta al [Ornellas *et al.*, 2008]. Balio teorikoaren desbiderazio estandarra errorearen propagazioaren bidez kalkulatu da. PAHen kontzentrazioak eta balio teorikoen arteko diferentziak ez dira estatistikoki adierazgarriak (%95ko konfiantza mailan). Zentzu honetan optimizaturiko HS-SPME prozedura PAHak sedimentuetan determinatzeko, metodoa zehatza dela esan daiteke.



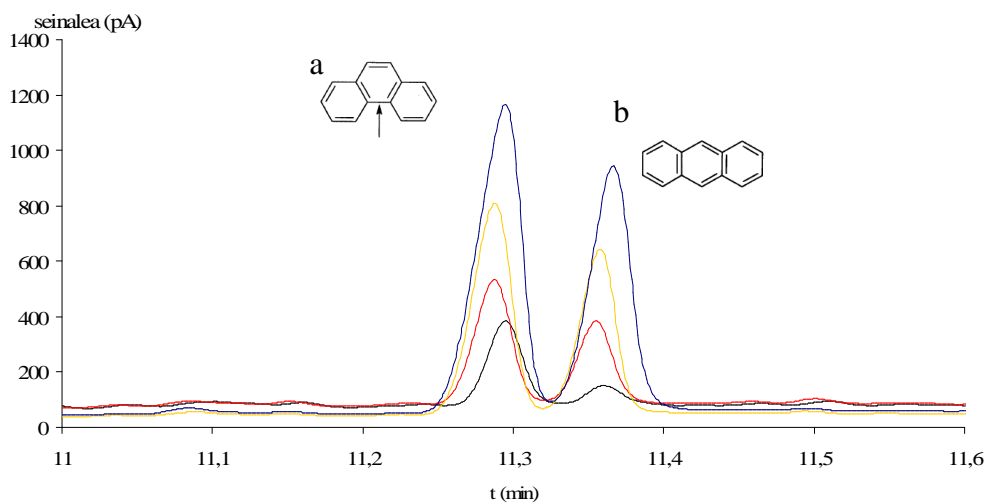
3.19. Irudia. Sedimentuetan PAHen erauzketa metodoa erabiliz NRC-CNRC- HS-3B erreferentziako materialaren azterketatik lortutako emaitzak.

### 3.3.3 Lagin errearen analisisa

Sedimentuetan PAHen analisisa egiteko optimizaturiko ur-beroko-buru-guneko fase solidoko mikroerauzketa metodoa erabili da, disolbatzailerik gabeko teknika analitiko berria [Cam *et al.*, 2000]. Ikerketa honetan 85 µm PAzko zuntz bat irabiatutako sedimentu laginaren buru gunean eseki da. Hasteko, 20 mL ur birdistilatu 0.2 g sedimentu gainean gehitu dira (≤63µm partikula tamainakoak). Nahasketa 2 cm oinarri diametro eta 40 mL-ko topaziozko saioidi batetan egin da. Behin nahasketa eginda, 20 mm-ko tefloiez babestutako iman irabiatzailea sartu eta saiodia itxi egin da. Erauzketak 120 minutu iraundu dute 80°C-tara,

irabiagailu magnetikoa 800 bira minutuko abiadura birarazi duelarik nahasketa. Segidan, zuntza GC-aren injekzio portuan sartu da, analisia burutzearen. Gas kromatografoaren injekzio portuko beirazko *linerran* zuntza termikoki desorbatu da 250°C-tan 3 minutuz. Honez gain, zuriak ere aldizka analizatu dira, kutsatzailerik ez dagoela baieztatuz. Konposatu hauek neurtu dira sedimentu lagin bakoitzean: Naftalenoa, Azenaftenoa, Azenaftilenoa, Fluorenoa, Antrazenoa, Fenantrenoa, Fluorantenoa, Pirenoa, Krisenoa eta Bentzo(a)antrazenoa.

Matrizearen efektua ekiditeko, PAHen kuantifikazioa adizio estandar metodoaren bidez egin da, sedimentuaren hasierako kontzentrazioa kontutan hartuz adizio egokienak kalkulatu direlarik. Adibide bezala Pasaiako Badian egindako analisisien kuantifikazioaren lehenengo hiru adizioak ikusi ditzakegu **3.20 Irudian**, fenantreno eta antrazeno PAHentzako hurrenez hurren. Identifikazioa erretentzio denborei esker egin da, kromatogramaren hasieran PAH hegazkorrenak ageri dira (naftalenoa) eta azkenean hegazkortasun txikiena dutenak (bentzo(a)antrazenoa eta krisenoa).

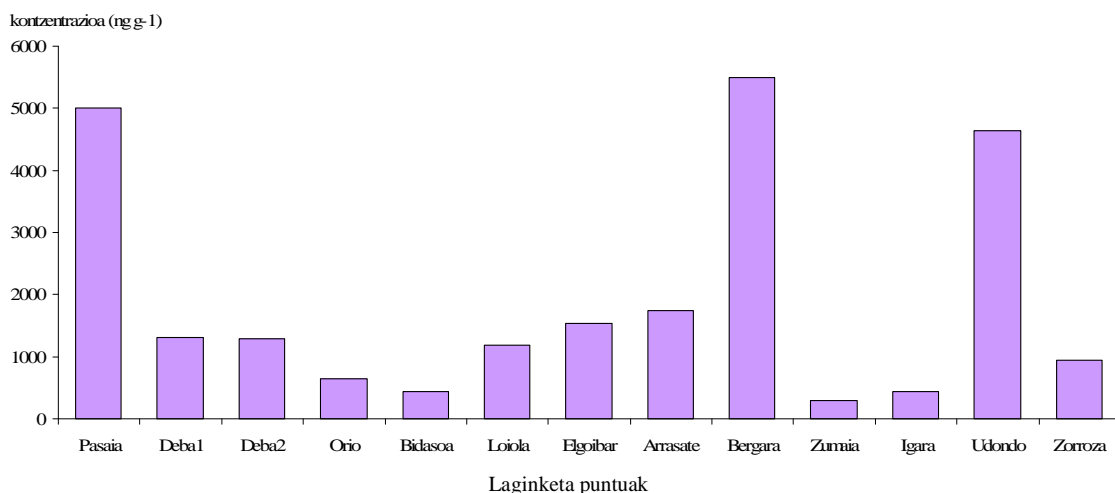


3.20. Irudia. Pasaiako lagin puntuan sedimentu kutsatuen analisiaren kromatograma, inongo adiziorik gabe (beltz), 2 (gorri), 6 (hori), eta 10 mg Kg<sup>-1</sup>-eko (urdin) adizio estandarrekin, soilik fenantreno (a) eta antrazeno (b) analitoen erretentzio denboran.

### 3.3.3.1 PAHen kontzentrazioak gainazaleko sedimentuetan

Zonalde ezberdinetan eginiko laginketen analisia egin da sedimentuetan 10 PAH ezberdinen kontzentrazioak determinatzeko. PAH bakoitzaren kontzentrazioa lagin bakoitzeko, eta laginaren 10 PAHen kontzentrazioen batuketa **3.8 Taulan** bilduta daude. 10 PAH-en batuketa osoak 290 eta 5487 µg·Kg<sup>-1</sup> bitartean egon dira, eta batez bestekoa 1919

$\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  -koa izan da orokorrean, kontzentrazio baxu-ertaina PAH kutsadura maila globalak kontutan hartuz. Beste ikerketa batzuk antzeko kontzentrazioak topatu dituzte Tailandian [Boonyatumenond *et al.*, 2006] edota Taiwanen [Fang *et al.*, 2003]. Analito bakoitzaren kontzentrazioa lagin ezberdinetan aztertu da ere. Zentzu honetan, antrazeno eta naftalenoaren kontzentrazioak orokorrean nahiko baxuak izan dira lagin puntu guztietan. Lau eraztun bentzenikoko PAHak gehiengo dira sedimentu guztietan, eta hiru-eraztun PAHak bi-eraztun PAHen gainera daude. Lau-eraztun PAHak %90-50 bitartean nagusi dira puntu guztietan, Elgoibar eta Zumaian ez ezik, non %37 eta %30 kontzentrazioak azaltzen dituzten. Pisu molekular handiko PAHak garrantzi handia izan ohi dute itsas zein ibai sedimentuetan. Adibide bezala, lau-eraztun bentzenikoko PAHak Yangtze ibaiaren deltan [Chen *et al.*, 2004], Suezeko golkoan [Ibrahim, 2004], eta Santanderreko badian [Viguri *et al.*, 2002] ere nagusitzen direla ikusi da. Egindako analisisien PAHen batuketa osoa **3.21 Irudian** ikusi dezakegu.



3.21. Irudia. Laginketa guztien analisisien PAHen kontzentrazio osoen batuketa.

Kontzentrazioarik altuenak Bergarako ibai sedimentuetan topatu dira. Lagin hau Bergaran Deba ibaian beheara, herria eta industrigunea pasata, bertan jasotzen den ur zikinen iturri baten ondoan hartu da. Kontutan hartuz Deba ibaiaren saneamendurako programa osoa 2010rako martxan jarri dela, ibai honek urteetan jasan duen kutsadura maila ikaragarria da. Bergaran etxeko ur zikinez aparte, burdinolek sortutako hondakinak ere isuri dira urtetan zehar. Orain dela gutxi martxan hasi den Mekolaldeko araztegia ibai honen egoera hobetuko duela esan beharrik ez dago, baina sedimentuetan kontzentratutako hondakin kutsatzaileak bertan jarraituko dute urtetan. Antzeko kontzentrazioak, apur bat baxuagoak, topatu dira

Udondo eta Pasaian. Bi puntu hauek industri gune garrantzitsuak izan dira urtetan zehar, nahiz eta gutxika aktibitatea jaisten joan den. Pasaiaiko badia merkatal portua da ere, eta hori gutxi balitz ikatz zentral termiko bat dauka Pasai Donibanen. Aldagai guzti hauen arteko sinergia, kutsadura handia bideratu du bertako sedimentuetan. Nerbioi ibaiaren bokalea ere industrigune zabal bat da, merkatal portua eta ibaian goiko berezko kutsadura dakar, guzti honek bideratu du horren kutsadura puntu altuak zonalde honetan. Prieto eta kideen ikerketan ere PAHen maila altuak ikus daitezke Udondoko sedimentuetan [Prieto *et al.*, 2008], Zorrozako kontzentrazioak aldiz 5 aldiz txikiagoak dira, gure kasuan bezala. Antzeko kontzentrazioak lortu dira beste industri portu batzuetan [Fang *et al.*, 2003; Sprovieri *et al.*, 2007].

### 3.3.3.2 Sedimentuen kalitatearen ebaluazioa

Sedimentuen kalitatea edo kutsadura maila adierazteko, irizpide internazionalak garatzea garrantzitsua da, zentzu honetan hainbat ikertzaile eta gobernuen arteko elkarlanak interesgarriak suertatu dira azken urteetan [Chapman *et al.*, 1999]. Kontzentrazio mugak ezartzea eztabaida juridikoak bidera ditzake, zentzu honetan egindako azterketek hortaz, hurbilketak egiteko ezinbesteko laguntza dira. Gaur egun, muga hauek finkatzeko, alegia, sedimentuen kalitatea definitzeko, analito kutsagarrien kontzentrazioa kontutan hartzen da, kutsagarri hauen efektu biologikoak ere, eta azkenik analitoen banaketa koefizienteak ere bai. PAHen kasuan adibidez, PAH bakoitzari muga bat esleitzen zaio, izan ere, PAH bakoitzak kasuan kasu toxikotasun espezifiko bat baitauka. Bestalde, honen kontzentrazioak ere eragina izango du noski. Azkenik, PAH bakoitzak ere, banaketa koefiziente ezberdina izango du, kate trofikatora jauzi egiteko erreztasun handiago edo txikiagoa alegia, eta efektu biologikoak eragiteko ahalmen indartsu edo ahulagoa hortaz. Bibliografian sedimentuen kalitate gidallerro zenbakitua ezartzeko saiakera ezberdinak topa daitezke. Hauek dauzkaten mugapenen ginetik, sedimentuen kutsaduraren egoera ulertzeko tresna erabilgarriak direla esan daiteke. Long and Morgan eta Chapman-en lanetan [Long *et al.*, 1999; Chapman *et al.*, 1999] biodibertsitatearen gainean eragina izan dezaketen kontzentrazioen hurbilpen bat ematen da. Lan hauetan efektu baxuko maila (*Effects Range Low, ERL*) eta efektu ertaineko mailak (*Effects Range Medium, ERM*) definitzen dira, sedimentuek xurgatutako PAH eta beste kutsagarri batzuen kontzentrazioentzako. Zenbait herrialdeetako araketa metodoen gidallerroetan muga hauek kontutan hartzen dira, hala nola, Zelanda Berriko, Australiako, Hong Kong, edota AEB-ko ingurumen sailetan.

Ikerketa honen sedimentuen kalitate eta toxikotasunaren definizioa egiteko, Estatu Batuetako *National Oceanic and Atmospheric Administration*, US-NOAA-ak ezarritako ERL (*Effects Range Low*) eta ERM (*Effects Range Medium*) [Long et al., 1999] parametroekin alderatu egin dira lan honetan lortutako kontzentrazioak. **3.8 Taulan** eta **3.22 Irudian** ikus daitezke sedimentuen kontzentrazioak ERL eta ERM mugekin alderaturik. Datuetatik errez ondorioztatu daiteke Bergara, Udondo eta Pasaia laginketa guneak kutsatuenak direla. Hiru puntu hauek, pisu molekular altuko PAHentzako, ERL balio mugak gainditzen dituzte, ondorioz, puntu hauetan, bioaniztasuna garatu edo mantentzeko aukera eskasak daudela esan daiteke. Pisu molekular baxuko PAHen artean aldiz, soilik Elgoibar eta Pasaiako puntuetan gainditzen dira ERL balioak. PAH guztien batuketarako azkenik, Bergara, Udondo eta Pasaia-ko zonaldeetan neurtutako PAHen kontzentrazioak ERL balioak arinki gainditzen dituzte. ERM balioak ez dira kasu bakar batean ere gainditu, honek adierazten du kutsadura egon bai, baina orokorrean maila baxuan dagoela, PAHek eragin dezaketen efektu biologikoei erreparatuz, hautatutako muga balioen arabera beti noski.

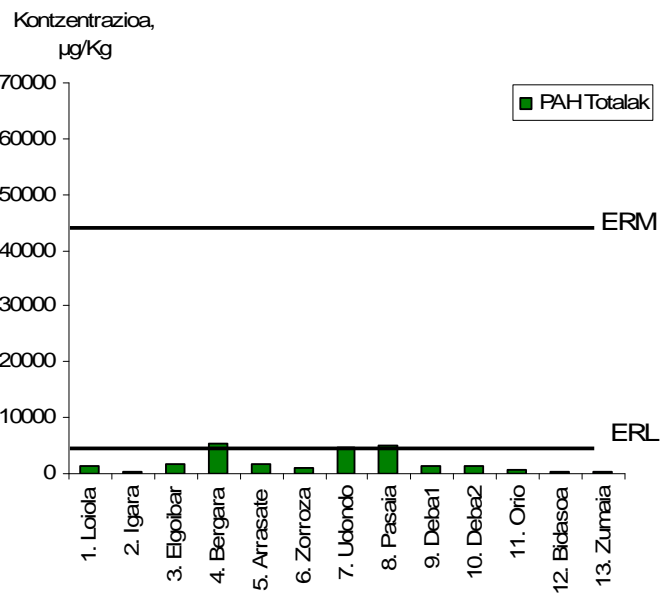
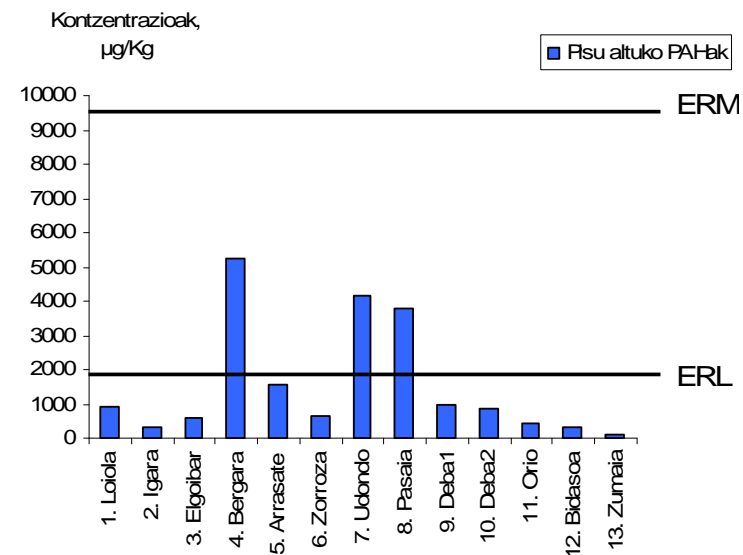
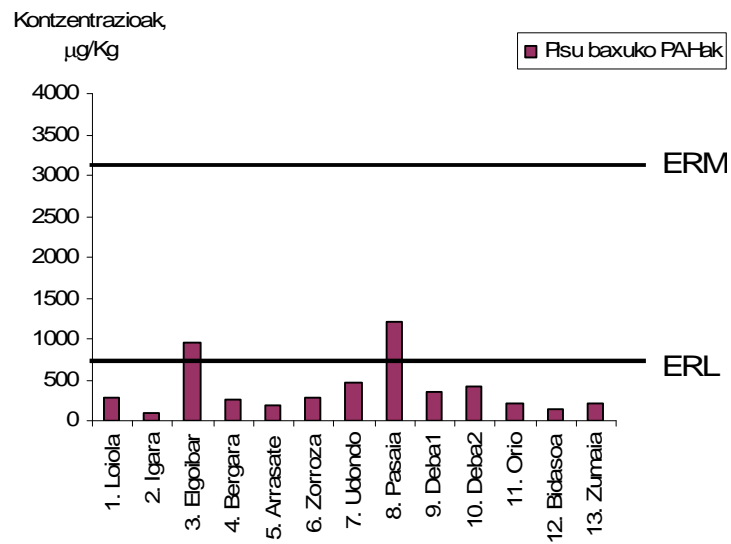
Belgika, Danimarka, Finlandia, Frantzia, Alemania, Islandia, Irlanda, Luxemburgo, Herberreak, Norbogia, Portugal, Espainia, Suedia, Suitza eta Erresuma Batua osatzen dute OSPAR erakundea. Erakunde honen helburua Atlantiko ipar-ekialdeko itsas ingurumena babestea da [OSPAR]. Zentzu honetan behin behineko balorazio ekotoxikologikorako irizpide batzuk zehaztu ditu (ECA, *ecotoxicological assessment criteria*). Irizpide hauek, potentzialki kezkarriak diren zonaldeak identifikatzeko erabili behar dira, eta lehentasunezko substantziak definitzeko, ez liratezke enpresa arau edota beste edozein neurri zuzentzaile bezala erabili behar. OSPAR erakundeak ezarritako mugak kontutan hartuz (**3.8 Taula**), orokorrean berriro ere Udondo, Bergara, Elgoibar eta Pasaiako puntuetan ia PAH bakoitzak mugak gainditzen ditu. Adierazgarria da bestalde, nola pireno eta krisenoaren kontzentrazioentzako, ia kasu guztietan mugak gainditzen diren, bi hidrokarburo hauen presentzia eta zenbatekoa besteekiko handiagoa izanik.



3.8. Taula. Adizio estandarraren bidez kalkulaturiko hamar PAHen kontzentrazioak ( $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ) analizaturiko hamar laginetan.

	NAF	AZE	AZI	FLU	FEN	ANT	$\Sigma$ Pisu baxuko PAHak	FLT	PIR	BaA	KRI	$\Sigma$ Pisu altuko PAHak	$\Sigma$ PAH	
<b>1. Loiola</b>	19.1	181.6	3.5	47.8	24.2	<D.M	276.2	170.1	73.0	87.7	571.4	901.8	1178	
<b>2. Igara</b>	24.4	36.2	6.0	9.9	10.0	<D.M	86.5	90.4	71.4	19.8	164.5	345.5	432	
<b>3. Elgoibar</b>	55.4	392.0	108.1	205.5	131.9	70.2	963.1	210.0	102.1	52.5	212.6	576.9	1540	
<b>4. Bergara</b>	<D.M	729.5	881.3	308.0	470.7	75.5	246.5	462.7	1117.0	82.7	1359.6	5240.5	5487	
<b>5. Arrasate</b>	5.4	<D.M	76.7	52.3	55.4	<D.M	189.8	384.2	331.4	169.9	668.5	1553.2	1743	
<b>6. Zorroza</b>	5.0	174.0	15.1	6.0	59.0	19.2	278.3	316.3	235.3	67.9	51.5	670.7	949	
<b>7. Udondo</b>	86.1	129.8	16.1	4.3	130.4	94.1	460.8	1704.5	1521.5	659.9	297.3	4183.2	4644	
<b>8. Pasaia</b>	35.0	185.1	57.5	153.2	513.6	262.2	1206.6	732.9	944.8	1245.2	868.4	3791.4	4998	
<b>9. Deba1</b>	58.2	150.1	49.2	<D.M	94.4	<D.M	351.9	306.2	212.2	234.8	204.5	957.1	1309	
<b>10. Deba2</b>	<D.M	244.8	52.5	55.3	33.7	33.8	420.1	90.4	453.4	<D.M	322.1	865.9	1286	
<b>11. Orio</b>	39.1	36.3	30.0	35.0	63.3	<D.M	203.7	89.2	43.6	123.6	190.1	446.3	650	
<b>12. Bidasoa</b>	<D.M	71.8	7.3	17.3	32.1	4.0	132.5	118.6	99.2	<D.M	88.4	308.5	441	
<b>13. Zumaia</b>	37.6	60.3	14.3	68.1	20.6	2.0	202.3	20.4	11.0	13.8	42.1	87.7	290	
<b>US</b>	<b>ERL</b>	160	16	44	19	240	85.3	552	600	665	261	384	1700	4022
<b>NOAA</b>	<b>ERM</b>	2100	500	640	540	1500	1100	3160	5100	2600	1600	2800	9600	44792
<b>OSPAR</b>	<b>EAC</b>	50-500				100-1000	50-500		500-5000	50-500	100-1000	100-1000		

<D.M. Detekzio muga azpitik



3.22. Irudia. Neurtutako a) Pisu baxuko PAHak, b) Pisu altuko PAHak eta c) PAH guztiak, ERL eta ERM parametroekin erkatuta.

Beste ikerlan batzuetan ezarritako kutsadura mailak kontutan harturik [Notar *et al.*, 2001] (3.9 Taula), 22 PAH ezberdinen kontzentrazio totalaren arabera hiru kutsadura maila ezartzen dira, arinki kutsatua, nahiko kutsatua eta erabat kutsatua. Muga hauen arabera ikerketa honetan analizaturiko laginen artean arinki kutsatua dauden punturik ez dago, bai ordea nahiko kutsatuak daudenak, hala nola, Igara, Bidasoa eta Zumaia. Analizaturiko beste lagin puntu guztiak  $500 \mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ -ko baino kontzentrazio altuagoak daukate, erabat kutsatuak egongo lirateke sailkapen honen arabera hortaz, ikerketa honetan soilik 10 PAHen batuketa dela kontutan hartuz (Notar-en sailkapenean 22 PAHen kontzentrazioen batuketa erabiltzen da).

3.9. Taula. Kutsadura mailak PAHen kontzentrazioarekiko [Notar *et al.*, 2001].

Kutsaduraren mailak	$\Sigma$ 22 PAH ( $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ )
Arinki	< 250
Nahiko	250-500
Erabat	> 500

Ikerketa honetan lorturiko PAHen kontzentrazioak eta beste zonalde batzuetan sedimentuetan lorturiko emaitzak nahiko parekoak dira. 3.10 Taulan ikus daitekeen bezala adibidez, ikerketa honetan lorturiko datuak Ipar Txinan [Liu *et al.*, 2007] lorturikoak baino 2-10 aldiz altuagoak dira 10 PAHen batuketarako; edota 3-5 bider handiagoak Australiako zenbait daturekin alderatuz [Mosisch and Arthington, 2001]. Kontzentrazioarik altuenak itsas portu handietan [Viguri *et al.*, 2002], eta Itsaso Beltza bezalako ingurune estresatuetan [Readman *et al.*, 2002] topatzen dira. Orokorrean PAHak munduan zehar leku anitzetan topa daitezke maila altuetan kontzentratuak.

3.10. Taula. Lurralde desberdinetan sedimentuetan lorturiko PAHen batez besteko kontzentrazioak ( $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ ).

Lurraldeak	Laginketa gunea	$\Sigma 10$ PAH	$\Sigma 16$ PAH $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$	$\Sigma 22$ PAH $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$	Erref.
Euskal Herria	Bizkaiko Golokoa	290-5487			Zuazagoitia <i>et al.</i> , 2008
Ipar Txina	Bohai itsasoa	25-2019			Liu <i>et al.</i> , 2007
Hego Txina	Pearl River Estuary		189-637		Luo <i>et al.</i> , 2006
Italia, Marsala	Stagnone lakua			72-18381	Culotta <i>et al.</i> , 2006
Tunisia	Bizerte Lakua		83-447		Trabelsi and Driss, 2005
Hego Txina	Pearl Ibaia, Delta, itsas sedimentuak		13-270		He <i>et al.</i> , 2008
Hego Txina	Pearl Ibaia, Delta, ibai sedimentuak		22-2792		He <i>et al.</i> , 2008
Tailandia	Bangkok kanala		263-2290		Boonyatumanond <i>et al.</i> , 2006
Korea	Koreako kosta		9-18500		Yim <i>et al.</i> , 2007
Nigeria	Niger delta		0.1-28		Anyakora <i>et al.</i> , 2005
Frantzia	Girondine bokalea		841-1904		Budzinski <i>et al.</i> , 1997
Euskal Herria	Urdaibai bokalea		1600- 14200		Bartolomé <i>et al.</i> , 2005
Erresuma Batua	Brighton itsasaldea		24-4710		King <i>et al.</i> , 2004
Australia	Brown lakua	830-1070			Thorsten <i>et al.</i> , 2001
Japonia	Ariake itsasaldea		260	340	Nakata <i>et al.</i> , 2003
Finlandia	Baltiko itsasoa		64-5161		Pikkarainen 2004
Errumania, Errusia, Ukrainia, Bulgaria	Itsaso Beltza			2000- 300.000	Readman <i>et al.</i> , 2002
Brasil	Todos os santos badia			8-4163	Venturini <i>et al.</i> , 2004
Espainia	Santanderreko badia		20-344000		Viguri <i>et al.</i> , 2002
Txina	Yalujiang bokalea		68-1500		Wu <i>et al.</i> , 2003

### **3.4 Ondorioak**

1.- Ur-Beroko-HS-SPME metodoaren bitartez Bizkaiko Golkoko ibai eta itsasadarretako sedimentuetan dauden hidrokarburo aromatiko polizikloen determinazioa eta kuantifikazioa egitea posible izan da. Metodo hau sinplea, garbia eta kalitatezkoa da. Laborategi analitiko arrunt batek eduki dezakeen instrumentazioarekin aurrera eramatea posible da. Ez du disolbatzaile organikoen beharra, hortaz ingurumenarekin adeitsuagoa da. Optimizaturiko metodo hau araketa metodo (*screening method*) bezala erabiltzea badago, analisi azkar batetan PAH kontzentrazio handien presentzia dagoen edo ez auresateko.

2.- Diseinu esperimentalak erabili da erauzketa prozesuaren gainean eragiten duten aldagai ezberdinak optimizatzeko. Tresna estatistiko erabilgarria dela berriro baieztatu da ikerketa honekin, saiakuntza kopuru txikiekin informazio baliogarria lortzea posible dela baietsi da. Aurredefinituta dagoen konfiantza maila baten, aldagai ezberdinen arteko kausa ondorioen arteko balizko erlazioa dagoen edo ez auresatea lortu da.

3.- Diseinu esperimentalak emandako daturik esanguratsuenak erauzketa denbora eta tenperaturari buruzkoak dira. Bi aldagai hauek, euren balio altuetan, pisu molekular handiko PAHen erauzketa erreztuko dute, beste edozein aldagai baino gehiago, eta ondorioz erauzketa osoaren etekina, maila handian hobetu. Kapitulu honetan analizaturiko matrizea, sedimentua, eta aurreko kapituloan analizaturikoa, lurra, ez dira berdinak, eta azkeneko kasuan honetan, PAHen erauzketa burutzeko erauzketa denbora eta tenperaturak apur bat handiagoak izan dira.

4.- Lan honetan ezarritako detekzio mugak, errepikakortasuna eta zehaztasuna, analizaturiko laginen emaitzei kalitate analitiko oso ona ematen die. Erreferentziazko material zertifikatua erabili da zentzu honetan, lorturiko emaitzak fidagarritasun handia ematen diotelarik prozedura guztiari. 10 PAH (naftalenoa, antrazenoa, fluorantenoa azenaftenoa, azenaftilenoa, fluorenoa, fenantrenoa, pirenoa, krisenoa, eta bentzo(a)antrazenoa) ezberdinen determinazio eta kuantifikazioa burutu da Euskal Kosta eta barnealdeko ibai eta erreketan.

5.- Analizaturiko zonalde guztietan PAHen presentzia baieztatu da. Ikerturiko zonalde hauek kutsadura iturripean egon dira urteetan zehar, ondorioz, aurreikus zitekenez, PAHen

kontzentrazio maila detekzio mugen gainetik egon da ia kasu guztietan. Kutsadura puntu altuenak Bergara, Udondo eta Pasaia izan dira hurrenez hurren. Biodibertsitatearen gainean eragina izan dezaketen kontzentrazioen hurbilpenen arabera, US-NOAA-ak ezarritako ERL (*Effects Range Low*) edo efektu baxuko mailen arabera alegia, hiru puntu hauek kutsadura maila adierazgarriak izango lituzkete. Beste guztien kutsadura maila baxua kontsidera daiteke irizpide honen arabera. Lehenego puntua, Bergara, Deba bailaran kokatua dago, urteetan industri aktibitate eta isurketa kutsakor altuak jasan dituen arroa. Udondo industri gune astuna jasandako zonaldea da, baita itsasontzi handien joan etorria ere. Azkenik, Pasaiko puntua, egun industri zonalde garrantzitsua, zama itsasontzien joan etorria eta zentral termikoak bezalako azpiegiturak jasaten dituen eremua da. Lortutako kontzentrazioak baxu-ertainak izan dira beste ikerketa leku batzuekin alderatuz.

### **3.5 Erreferentziak**

- Anyakora C., Ogbeche A., Palmer P., Coker H., Ukpo G., Ogah C. (2005). GC/MS analysis of polynuclear aromatic hydrocarbons in sediment samples from the Niger Delta region. *Chemosphere* 60: 990-997.
- Bangedphol S., Sakultantimetha A., Keenan H.E., Songasen A. (2006). Optimization of Microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments. *Journal of Environment Science and Health Part A*. 41:1105-1116.
- Bartolomé L., Cortazar E., Raposo J.C., Usobiaga A., Zuloaga O., Etxebarria N., Fernández L.A., Madariaga J.M. (2005). Simultaneous microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, phtalate esters and nonylphenols in sediments. *Journal of Chromatographia*. A. 1068: 229-236.
- Bartolomé L., Tueros I., Cortazar E., Raposo J.C., Sanz J., Zuloaga O., De Diego A., Etxebarria N., Fernández L.A., Madariaga J.M. (2006). Distribution of trace organic contaminants and total mercury in sediments from the Bilbao and Urdaibai Estuaries (Bay of Biscay). *Marine Pollution Bulletin* 52: 1090-1117.
- Boonyatumenond R., Wattayakorn G., Togo A., Takada H. (2006). Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine and marine sediments in Thailand. *Marine Pollution Bulletin* 52: 942-956.
- Borja A., Collins M. (2004). *Oceanography and marine environment of the Basque Country*. Elsevier Oceanography Series, Amsterdam.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., PiCrard C., Garrigues P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 58: 85-97.
- Cam D., Gagni S., Meldolesi L., Galleti G. (2000). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment using solid-phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Chromatographic Science* 38: 55.60.
- Cantón L., Grimalt J.O. (1992). Gas chromatographic-mass spectrometric characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in polluted coastal sediments. *Journal of Chromatographia*. 607: 279-286.
- Cantón L., Grimalt J.O., Alonso B. (1992). Spatial and Temporal variance of hydrocarbon pollution data in a a coastal river-influenced sedimentary system. *Environment Science & Technology* 26:2240-2251.
- Chapman P.M., Allard P.J., Vigers G.A. (1999). Development of Sediment Quality Values for Hong Kong Special Administrative Region: A Possible Model for Other Jurisdictions. *Marine Pollution Bulletin* 38: 161-169.

- Chen B., Xuan X., Zhu L., Wang J., Gao Y., Yang K., Shen X., Lou B. (2004). Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments and soils of Hangzhou City, China. *Water Research* 38: 3558-3568.
- Chen S.C., Liao C.M. (2006). Health risk assessment on human exposed to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons pollution sources. *Science of Total Environment* 366: 112-123.
- Cortazar E., Zuloaga O., Sanz J., Raposo J.C., Etxeberria N., Fernández L.A. (2002). Multisimplex optimization of the solid-phase microextraction-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and phthalates from water samples *Journal of Chromatography A*, 978: 165-175.
- Cortazar E., Bartolomé L., Arrasate S., Usobiaga A., Raposo J.C., Zuloaga O., Etxebarria N. (2008). Distribution and bioaccumulation of PAHs in the UNESCO protected natural reserve of Urdaibai, Bay of Biscay. *Chemosphere*. 72:1467-1474.
- Culotta L., Stefano C., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S. (2006). The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy) *Marine Chemistry* 99:117-127.
- De Luca G., Furesi A., Leardi R., Icera G., Panzanelli A., Piu C., Sanna G. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons assessments in the sediments of the Porto Torres Harbour (Northern Sardinia, Italy). *Marine Chemistry* 86:15-32.
- Fang M.D., Lee C.L., Yu C.S. (2003). Distribution and source recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Hsin-ta Harbour and adjacent coastal areas, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin* 46: 941-953.
- Guo W., He M., Yang Z., Lin C., Quan X., Wang H. (2007). Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Songhuajiang river (China) during different sampling seasons. *Journal of Environment Science & Health A*. 42: 119-127.
- He L., Song J., Peng P. (2008). Characterization of extractable and non-extractable polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and sediments from the Pearl River Delta, China. *Environmental Pollution* 156: 769-774.
- Hedges J.I., Stern J. (1984). Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. *Limnology Oceanography*. 29: 657-663.
- Ibrahim M.B.M. (2004). Levels and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Gulf of Suez. *Marine Pollution Bulletin* 49: 356-367.
- King A.J., Readman J.W., Zhou J.L. (2004). Dynamic behaviour of polycyclic aromatic hydrocarbons in Brighton marina, UK. *Marine Pollution Bulletin* 48: 229-239.



- Liang Y., Tse M.F., Young L., Wong M.H. (2007). Distribution patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments and fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong. *Water Research* 41: 1303-1311.
- Liu M., Hou L.J., Xu S.Y., Ou D.N., Yang Y., Yu J., Wang Q. (2006) Organic carbon and nitrogen stable isotopes in the intertidal sediments from the Yangtze Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* 52: 1625-1633.
- Liu W.X., Chen J.L., Lin X.M., Tao S. (2007). Spatial distribution and species composition of PAHs in surface sediments from the Bohai Sea. *Marine Pollution Bulletin* 54: 97-116.
- Long E.R., Macdonald D.D., Smith S.L., Calder F.D. (1999). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentration in marine and estuarine sediments. *Environment. Management* 19: 81-97.
- Luo X.J., Chen S.J., Mai B.X., Yang Q.S., Shenga G.Y., Fu J.M. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter and sediments from the Pearl River Estuary and adjacent coastal areas, China. *Environmental Pollution* 139: 9-20.
- Lur Hiztegi Entziklopedia. Lur Argitaletxea S.A. Bilbo.1991.
- Maskaoui K., Zhou J.L., Hong H.S., Zhang Z.L. (2002) Contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Jiulong River Estuary and Western Xiamen Sea, China. *Environmental Pollution* 118: 109-122.
- Miller N.J., Miller J.C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson Educación S.A., Madrid.
- Mosisch T.D., Angela Arthington H. (2001). Polycyclic aromatic hydrocarbon residues in the sediments of a dune lake as a result of power boating. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 2001 6: 21-32.
- Morales-Caselles C., Kalman J., Riba I., DelValls T.A. (2007). Comparing sediments quality in Spanish littoral areas affected by acute (Prestige, 2002) and chronic (Bay of Algecires) oils spills. *Environmental Pollution* 146: 233-240.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Teil M.J., Blanchard M., Chevreuil M. (2004). Distribution and spatial trend of PAHs and PCBs in soils in the Seine River basin, France. *Chemosphere* 55: 555-565.
- Nakata H., Sakai Y., Miyawaki T., Takemura A. (2003). Bioaccumulation and Toxic Potencies of Polychlorinated Biphenyls and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tidal Flat and Coastal Ecosystems of the Ariake Sea, Japan. *Environment Science & Technology* 37: 3513-3521.

- Notar M., Leskovšek H., Faganeli J. (2001). Composition, distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 42:36-44.
- Ornellas Meire R., Azeredo A., de Souza Pereira M., Machado Torres J.P., Malm O. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in sediment of national parks in southeast Brazil. *Chemosphere*. 73: 180-S185.
- OSPAR commision (2000). Quality Status Report 2000. Region IV-Bay of Biscay and Iberian Coast. OSPAR Commission. London, 134 + xiii pp.
- Pikkarainen A.-L. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Baltic sea sediments. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 24: 667–679.
- Prieto A., Zuloaga O., Usobiaga A., Bartolomé L., Fernández L.A., Etxebarria N., Ciprain E., Alonso A. (2008). Levels and spatial distribution of inorganic and organic contaminants in sediments along the Bilbao estuary. *Marine Pollution Bulletin* 56: 2094-2099.
- Readman J.W., Fillmann G., Tolosa I., Bartocci J., Villeneuve J.-P., Cattini C., Mee L.D. (2002). Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin* 44: 48–62.
- Sawada A., Kanal K., Fukushima M. (2004). Preparation of artificially spiked soil with polycyclic aromatic hydrocarbons for soil pollution analysis. *Analytical Sciences* 20: 239–41.
- Shi Z., Tao S., Pan B., Fan W., He X.C., Zuo Q., Wu SP., Li B.G., Cao J., Liu W.X., Xu F.L., Wang X.J., Shen W.R. Wong P.K. (2005). Contamination of rivers in Tianjin, China by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Pollution* 134: 97-111.
- Sprovieri M., Feo M.L, Prevedello L., Salvagio Manta D., Sammartino S., Tamburrino S. Marsella E. (2007). Heavy metal, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbour (Southern Italy). *Chemosphere* 67: 998-1009.
- Thorsten D., Arthington A., Polycyclic aromatic hydrocarbon residues in the sediments of a dune lake as a result of power boating. (2001). *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 6: 21-32.
- Tolosa I., de Mora S.J., Fowler S.W., Villeneuve J.P., Bartocci J. and Cattini C. (2005). Aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine biota and coastal sediments from the Gulf and the Gulf of Oman. *Marine Pollution Bulletin* 50:1619-1633.
- Toyooka T., Ibuki Y. (2007). DNA damage by coexposure to PAHs and light. *Environmental Toxicology & Pharmacology*. 23: 256-263.

- Trabelsi S., Driss M.R. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in superficial coastal sediments from Bizerte Lagoon, Tunisia. *Marine Pollution Bulletin* 50:344-359.
- Vane C.H., Harison I., Kim A.W. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments from the Mersey Estuary, U.K. *Science of Total Environment*; 374:112-126.
- Venturini N., Tommasi L.R. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychaete assemblages in sediments of Todos os Santos Bay, Northeastern, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 48: 97–107.
- Viguri J., Verdea J., Irabien A. (2002). Environmental assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Santander Bay, Northern Spain. *Chemosphere* 48:157-165.
- Wang X.C., Sun S., Ma H.Q., Liu Y. (2006). Sources and distributions of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments of Jiazhou Bay, Qingdao, China. *Marine Pollution Bulletin* 52:129-138.
- Wikipedia: <http://eu.wikipedia.org>
- Wu Y., Zhang J., Zhu Z. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Yalujiang Estuary, North China. *Marine Pollution Bulletin* 46:619-625.
- Yang G.P. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the South China Sea. *Environmental Pollution* 108: 163-171.
- Yim U.H., Hong S.H., Shim W.J. (2007). Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the marine environment of Korea. *Chemosphere* 68: 85–92.
- Zhang J.X., Ni Y.W., Yang M., Zhang H.J., Zhang Q., Chen J.P. (2008). Characterization and distribution of PAH in surface sediments of Dalioa River, China. *Journal of Environment Science and Health A*. 43: 375-381.
- Zuazagoitia D., Millán E., Garcia-Arrona R. (2008). A Screening Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Determination in Sediments by Headspace SPME with GC–FID. *Chromatographia*: 175-178.
- Zuazagoitia D., Millán E., Garcia-Arrona R. (2009) Comparison of two extraction methods for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface soils using headspace SPME with GC-FID. *Journal of Chromatographic Science* 47: 1-6.



## **4.KAPITULUA**

### **LUR ETA SEDIMENTUEN EBALUAZIOA**



## **4.1 Sarrera**

Euren iraunkortasuna eta izaera hidrofoboa dela eta, PAHak lur eta sedimentuetan metatu daitezke denbora luzez, aipatu matrizeak konposatu hauen biltegi handiak bihurtu daitezkeelarik, ingurumen arrisku eta kutsaduraren indikatzailerik onak izanik [**Motelay-Massei et al., 2004**]. PAHen kontzentrazioak eta hauen banaketa lur eta sedimentuetan, denboran zehar konposatu hauek jasaten duten eraldaketa prozesu anitzengatik baldintzatuta dago. PAHen jatorria pirolitikoa eta petrogenikoa izan daiteke, isomeroen arteko eta beste espezieen arteko erlazioen bidez aztertu eta ebaluatu daitekeelarik [**Budzinski et al., 1997; Soclo et al., 2000; Yunker et al., 2002**]. Ikerketa estatistikoetan teknika ezberdinak erabiltzen dira laginak banaketa normal edota normal-logaritmikoa jarraitzen duten edo ez jakiteko adibidez, edota cluster bezalako aldagai anitzeko teknikak, osagai nagusietako analisiak eta faktore-analisiaren erabilpena oso zabaldua dago [**Hanrahan, 2009**].

Atal honen helburua PAH ezberdinen banaketa eta erlazioak ezagutzeko izan da, eta jatorri pirolitiko edota petrogenikoa neurtu, Gipuzkoako lurraldean jasotako lur eta sedimentu laginetan.

## **4.2 Erlazio isomerikoak**

PAHen jatorriak aztertu nahi direnean, hau da, ea jatorri pirolitikoa (erregai fosilen errekontzatik eratorrikoak) edo petrogenikoa den (petrolioarekin erlazonaturiko materialetatik eratorriak) jakin nahi denean, erlazio isomerikoen analisia asko erabilitako

metodoa da. **4.1 Taulan** PAHen zenbait erlazio isomeriko adierazten dira eta jatorri pirolitiko zein petrogenikoari esleitutako balioak.

Petroliotik eratorritako hondakinak bi eta hiru eraztun aromatikoko PAH konposatuen kontzentrazio altuak izaten dituzte, pisu molekular handiagoko PAHak temperatura altuetan ematen diren errekontza prozesuetan eratzen diren bitartean, kotxeetako motorretan ematen direnak kasu. Adibide bezala, fluorantenoa, materia organikoaren errekontzatik eratortzen den produktua da, eta erregai fosilen produktuetan aurki daiteke. Fenantrenoa, petrolioaren errekontzan sortzen den konposatu da, baina baita antrazenoaren degradazioan ere. FEN/ANT eta FLT/PIR erlazioak gorago aipatu bi jatorrien artean ezberdintzeko erabiltzen dira. FEN/ANT bikotea temperaturaren menpekoa da, eta eratutako PAHak jatorri pirolitikoa dute; autoetatik jaulkitako gasolina adibidez FEN/ANT bikote zatidura baxua du bereizgarri, baita PIR gainerako FLT kontzentrazio altuak, guzti hauek jatorri pirolitikoa adierazten dute [Morillo *et al.*, 2008]. KRI/BaA zatidurak temperatura altuetan ematen diren materia organikoaren errekontza prozesuekin erlazionatuta dago, bat baino txikiagoak diren erlazioak hortaz jatorri pirolitikoaren adierazgarri dira. Bestalde, materia organikoaren heltze baxua, bentzo(a)antrazenoaren gainerako krisenoaren kontzentrazio altuak bidera ditzake, zatidura bera 1 baino handiagoa izanik, eta hortaz jatorri petrogenikoa aurreuposatu beharko litzateke [Soclo *et al.*, 2000].

4.1. Taula. PAHen jatorri pirolitiko edo petrogenikoa neurtzeko erlazio isomerikoen balio bereizgarriak.

Erlazioak	Jatorri Petrogenikoa	Jatorri Pirolitikoa	Erreferentziak
FEN/ANT	> 15	< 10	Baumard <i>et al.</i> , 1998
KRI/BaA	> 1	< 1	Soclo <i>et al.</i> , 2000
BaA/(BaA+KRI)	< 0.20	> 0.35	Yunker <i>et al.</i> , 2002
FLT/PIR	< 1	> 1	Baumard <i>et al.</i> , 1998
FLT/(FLT+PIR)	< 0.50 < 0.40	> 0.50 > 0.50	Budzinski <i>et al.</i> , 1997 Yunker <i>et al.</i> , 2002



## **4.3 Analisi estatistikoak**

### **4.3.1 Normalitate-testa**

Analisi estatistikoak, datuen poblazio banaketa normala ematen denean soilik erabili ahalko dira. Horretarako, datuen banaketa normala edo gausiarra den egiaztatu beharko da. Froga ezberdin asko topa daitezke bibliografian. Askotan, lan ikerketan datu gutxi eskura ezker, Kolmogorov–Smirnov edota Shapiro-Wilk testak erabiliko dira [Miller and Miller, 2002].

#### 4.3.1.1 Kolmogorov-Smirnov froga

Metodo hau egokia da doiketaren onezia frogatzeko, jarraiak eta isolatutako datuetatik abiatuz. Hurbilketaren oinarria xamurra da, hipotesi lez iradokitutako banaketaren kurba-maiztasuna eta metatutako maiztasunen kurbak alderatzen dira. Auresandako hipotesi nulua laginak banaketa funtzio zehatz batera egokitu behar dela esaten du. Kasu honetan kalkulatu den estatistikoa diferentzia maximoa da, **D**. Hipotesi nulua bete ezker bien arteko diferentzia txikia da eta datuak banaketa normal bat jarraitzen dutela esaten da. Kontrako kasuan, emandako diferentzia heinetik at dago, ondorioz hipotesia ukatu egiten da eta datuak ez dira hortaz banaketa normaltzat hartzen.

#### 4.3.1.2 Shapiro-Wilk froga

Shapiro-Wilk frogaren aplikazioa normalitaterako **W** balio estatistikoa lortzea du helburu, gero **p** balioarekin alderatzeko. **W** estatistikoa adierazgarria bada ( $p < 0.05$  balioak) datuen banaketa normalerako auresandako hipotesia baztertu behar da. **p**-ren balioak  $> 0.05$  direnean aldiz, banaketa normala onartu beharko da.

### **4.3.2 Korrelazio linealak**

Bi aldagaien artean erlazio zehatza izateko joera korrelazio lineala bezala ulertzen da, non korrelazio koefizientea erlazio maila bezala neurtzen duen. Elementu bikoteka osatutako datuen multzoaren adierazpen grafikoa egin ezker, banaketa diagrama bat lortzen da.

Erregresio linealaren ekuazioa aplikatzerakoan korrelazio koefizientearen  $r$  balioa lortuko da, eta modu honetan adierazten da:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[ \sum_i (x_i - \bar{x}) \right] \left[ \sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

$\bar{x}$  eta  $\bar{y}$  balioen batez bestekoak izanik.

$r$  balio hau **Pearson-en korrelazio koefizientea** bezala ere ezagutzen da,  $r$ -ren balioak 1 eta -1 balio bitartean egongo direlarik. Balio honetan oinarrituko da irizpidea, korrelazioa txikia bada erlazio eza adierazkiko du, eta 1 inguruko korrelazioak kausa-efektu erlazioa adierazko du. Lortutako  $r$  balioa,  $n-2$  askatasun mailak erabiliz taulatutako balioekin alderatuko da,  $n$  behaketa bikote kopurua izanik. Taulatutako  $r$  balioa lortutakoa baino txikiagoa bada erlazio lineala dagoela adierazten du, taulatutako  $r$  balioa aldiz handiagoa bada erlazio falta dagoela adieraziko du [Miller and Miller, 2002].

### 4.3.3 Aldagai anitzeko analisia

Mota honetako ingurumen ikerketetan sistema bat karakterizatzeko aldagai asko neurtzen dira, haietarik asko euren artean independenteak izan barik gainera. Hortaz, oso komenigarria da teknika matematikoren bat erabiltzea, aldagai anitzen arteko interrelazioak aldi berean ikertzen lagunduko duena. Maiz erabiltzen diren teknika batzuk **cluster analisiak** dira (*CA, Cluster Analysis*), **faktore-analisiak** (*FA, Factor Analysis*) eta **osagai nagusien analisia** (*PCA, Principal Component Analysis*).

#### 4.3.3.1 Cluster analisia

Cluster analisia (edo konglomeratuena) aldagai anitzeko teknika multzo bat da, eta bere helburua banakako objektuak euren ezaugarrietan oinarrituz taldekatzean datza. Cluster analisiak objektuak sailkatuko ditu, ondorioz objektu bakoitza bere taldekoen antz handia izango du. Lorturiko taldeak antzekotasun handia erakutsi beharko dute talde bereko elementuen artean eta heterogeneitate handia taldeen artean. Elkartze neurria distantzia edo antzekotasun bat izan daiteke. Elkartze neurri bezala distantzia bat aukeratzen denean

(euklidear distantzia lez) eraturako taldeak antzeko gaiak izango dituzte, euren arteko distantzia txikia izan beharko da hortaz. Antzekotasun neurria hartzen denean aldiz (korrelazio koefizientea lez), eraturako taldeek euren artean antzekotasun handia daukaten gaiak edukiko dituzte [Miller and Miller, 2002, Brereton, 2003].

Metodo arrunt eta errazena metaketa hierarkikoa da, objektu bakoitza cluster bat bezala kontsideratzen du hasieran, hau da, tamaina “bat” izango du objektu horrek, eta euren arteko distantziak alderatuko dira. Elkarren arten hurbilen dauden bi puntuak batu eta puntu berri bat eraturako dute. Distantziak alderatzen dira berriro ere eta elkarren artean hurbilen daudenak konbinatzen dira. Prozedura hau errepikatuko da eta horrela jarraituko da objektu guztiak taldekatuta dauden arte. Banaketa hierarkikoan bestalde, gai guztiak dauzkan talde bakarretik abiatuz, banakako taldeak osatzeraino banatzen joango da. Ondo ondoko metaketa urrats guztiak oso adierazgarria den irudi batetan islatu daitezke, zuhaitz itxura duen dendograma grafikoa hain zuzen.

Behin elkartzeko neurria hautatu dela, hurrengo urratsa konglomeratuak eratzeko lotura metodoa erabakitzea da. Zentzu honetan metodoak anitzak dira, baina lan honetan lotura bakuna erabiliko da (*single linkage*), baita Ward metodoa ere. Lehenengoan, taldeak batzeko irizpidea, gertuen dauden atal ezberdinen arteko distantzia txikiena izango da, bigarrenean aldiz, gai ezberdinak hierarkikoki taldekatuko dira taldeen arteko bariantza txikiena lortu nahian.

#### 4.3.3.2 Osagai nagusien analisisa (PCA)

Osagai anitzeko analisisian PCA ohiko teknika bat da, ondo ikasitako propietateekin eta eremu ezberdinetan aplikatua izan dena helburu ezberdinekin. Helburu hauen artean sailkapena ezberdindu dezakegu, lagin ezberdinen arteko erlazioak agerian utziz, eta datuen murrizpena ere.

Aldagai anitzeko teknika honetan, gutxi gora behera koerlazonaturiko aldagai kopuru jakin bat, koerlazonatu gabeko beste aldagai kopuru txikiago batetan eraldatzen da. Kolinealitate hau X datuen matrizeak informazio nagusia daraman aldakortasun gainartzaile bat daukala esan nahi du. Datu matrize honetan lerro bakoitza objektu bezala izendatzen da, gure kasuan lagin bakoitzari dagokiona, eta zutabe bakoitza aldiz, aldagai bati, lagin bakoitzari dagokion neurria izango dena alegia.

M lagin izatekotan, beste horrenbeste puntuko irudikapena egin daiteke K dimentsiotako espazioan. Bata besteen artean zerikusirik ez izatekotan, M puntuak espazioan barreiatuta daude, baina M puntuak euren artean erlazonaturik badaude hauek taldekatuta agertuko dira. PCA-aren helburua K aldagaietan taldekatuta dauden espazioko objektuen M puntuen norabideak topatzean datza, eta hasierako K dimentsioetako sistema, informazio garrantzitsua gordez  $A < K$  dimentsio gabeko sistema txikiago batera eraldatu. Geometrikoki ardatz aldaketa bat da, lagin horiek hasieran baino ardatz kopuru txikiagoa duen koordenada sistema berri batetan irudikatuz.

PCA-ak laginen aldakortasun handiena azaltzen dituen norabideak bilatzen ditu, laginak kokatzen diren bolumenaren ardatz berrien definizioa emanez. Ardatz berri hauek osagai nagusiak dira. Lehenengo osagai nagusia laginen aldakortasun maximoa azaltzen duen norabidea da, eta bigarrena, lehenengoarekiko elkarzuta dena, behin lehenengo osagaiak azaldutako aldakortasuna kenduta, laginen aldakortasun maximoa azaltzen duena [Brereton, 2009].

Guzti honekin objektuak deskribatzeko ardatz ortogonaleko sistema berri bat lortzen da. Aldagai berriak osagai nagusiak deitzen dira (PC). Puntuazioak (*scores*), koordenatu berrien balioak dira (osagai nagusiek deskribaturiko ardatz sisteman) eta objektua definitzen dute. Modu honetan, hasieran koerlazonaturiko aldagaien bidez deskribatutako X datuen multzoa, azkenean koerlazonatu gabeko osagai nagusien bidez deskribatzea lortzen da.

Maiz, teknika mota hauetan arazo bat azaltzen da, beharrezkoak diren osagai nagusien kopuruaren aukeraketa. Aukera ezberdinak daude osagai kopurua ondorioztatzeko. Arruntena sedimentazioko metodo grafikoa aplikatzea da, aldagai bakoitzari tartekatutako berezko balioak *vs.* osagai nagusien kopuruaren irudikapenean oinarritzen dena. Maldan aldaketa bortitza bistaratzen denean, beherapena azaldutako bariantzaren beherapenarekin erlazonatuta dago, hortaz, maldaren aldaketa puntua osagai nagusien kopuru bezala hautatzen da.

### 4.3.3.3 Faktore-analisia

Faktore-analisia aldagai anitzeko metodo bat da, eta eredu lineal baten arabera, faktore bezala izendatutako aldagai hipotetiko batzuen bitartez, aldagai esperimental (ikus daitezkeenak) multzo baten korrelazioen konfigurazioa azaldu gura du.

Faktore-analisia, PCA bezala, espazioaren dimentsionalitatea murrizteko askotan erabili ohi da. Nahiz eta datu berdinak erabiltzen dituzten, eredu matematikoak ezberdinak dira. PCAren helburua aldagaien kopurua murriztea da, atxikitutako osagaiak datuen bariantza maximoa azaldu dezaten. Faktore-analisian aldiz, aldagaien arteko korrelazio zatirik handiena azaltzen duten faktore estariak identifikatzen ditu, azpiko faktoreak azaldu eta topatzeko teknika egokia da beraz [Mongay, 2005].

PCA-an bezala, faktore-analisian ere, gordetako faktore kopuruaren erabakia garrantzitsua da; askotan, sedimentazioko grafikora jotzen delarik. Faktore-analisian errotazio faktoriala aplikatzen da faktore beraren gainean asetasun altuko aldagaien kopurua murriztu nahian. Hortaz, gogorki koerlazonaturiko aldagaiak faktore zehatz baten gaineko asetasun balio altuak erakusten dute, eta baxuak, gainerakoan. Faktore batzuk sama altuak duten aldagaien jokabidea bereganatu egiten dute, eta hauen isla bezala azalduko da. Errotazioan aldagai bakoitzean faktore bakoitzak elkar banatutako bariantzaren ehuneko partziala aldatzen da, baina ez amankomuntasuna; faktoreen auto-balioak ere aldatzen dira, baina ez osotasunak elkar banatutako bariantzaren ehuneko osoa. Errotazio metodorik onartuena, eta ikerlan honetan aplikatzen dena, Varimax delako da. Metodo honen bidez faktore bakoitzari loturiko sama faktorialaren aldakortasuna maximizatzen duen errotazioa lortzen da.

## **4.4 Lurraren ebaluazioa**

### **4.4.1 Erlazio isomerikoak**

Lur laginetan erlazio isomerikoen azterketa egiteko 2. kapituluko batez besteko kontzentrazioen datuak hartu dira (**ikus 2.14 Taula**) eta espezie ezberdinen arteko erlazioak kalkulatu dira. Detekzio muga azpitik dauden kasuetan (LOD), balioa detekzio mugaren balioaren erdiagatik ordezkatu da. Aukera hau beste ikerlari batzuek erabili izan dute erlazioen kalkulua eta datuen tratamendu estatistikorako [Liu *et al.*, 2010]. Lur laginetatik

lorturiko emaitzen datuak **4.2 Taulan** laburbiltzen dira. 4.1 Taulan aipatu erlazio isomerikoen arabera, jatorri ezberdinak gorriz edo urdinez markatu dira kasuan kasu. Esleitu gabeko jatorriak beltzez markatu dira.

4.2. Taula. Erlazio isomerikoen balioak aztertutako lur laginetan.

Laginak	FEN/ANT	KRI/BaA	FLT/PIR	BaA/ (BaA+KRI)	FLT/ (FLT + PIR)
1. Oriamendi 1	4.7	1.2	0.9	0.46	0.46
2. Oriamendi 2	2.7	2.4	0.7	0.30	0.41
3. Arrasate	0.1	0.5	1.0	0.70	0.49
4. Bergara	1.2*	10.1**	1.3	0.09**	0.57
5. Zumaia	22.8	0.4	1.2	0.73	0.54
6. Tolosa	9.4*	12.2	2.2	0.08	0.69
7. Zarautz	0.9	1.6	1.0	0.38	0.50
8. Maltzaga	2.9*	1.6	0.4	0.39	0.26
9. Amara 1	2.7	3.2	1.4	0.24	0.58
10. Amara 2	1.4	1.0	1.0	0.49	0.50

(\*) ANT =  $\frac{1}{2}$  LOD bezala kalkulatua

(\*\*)BaA =  $\frac{1}{2}$  LOD bezala kalkulatua

Gorria= jatorri petrogenikoa

Urdina= jatorri pirolitikoa

Emaitzek erakusten dute FEN/ANT ratioa 0.1 a 22.8 bitartean aldatzen dela. Kasu gehienetan bikotearen balioa txikia da, hamar baino txikiagoa, 5. laginketa gunean ez ezik, non balio maximoa hartzen duen, 22.8 alegia, puntu honen kutsadura jatorri petrogenikoan duela adieraziz. Puntu hau, kreosotaz trataturiko egur biltegi bat da, fenantrenoaren kontzentrazio altuen iturburua [Moret *et al.*, 2007]. Ia beste laginketa puntu guztiak errepide nagusietatik gertu aurkitzen dira, euren dagokien FEN/ANT balio txikiekin bat eginez. Nganje eta kideek 0.4 eta 27.7 bitarteko balioak topatu dituzte Kalabar-eko (Nigeria) gainazal lurretan [Nganje *et al.*, 2007].

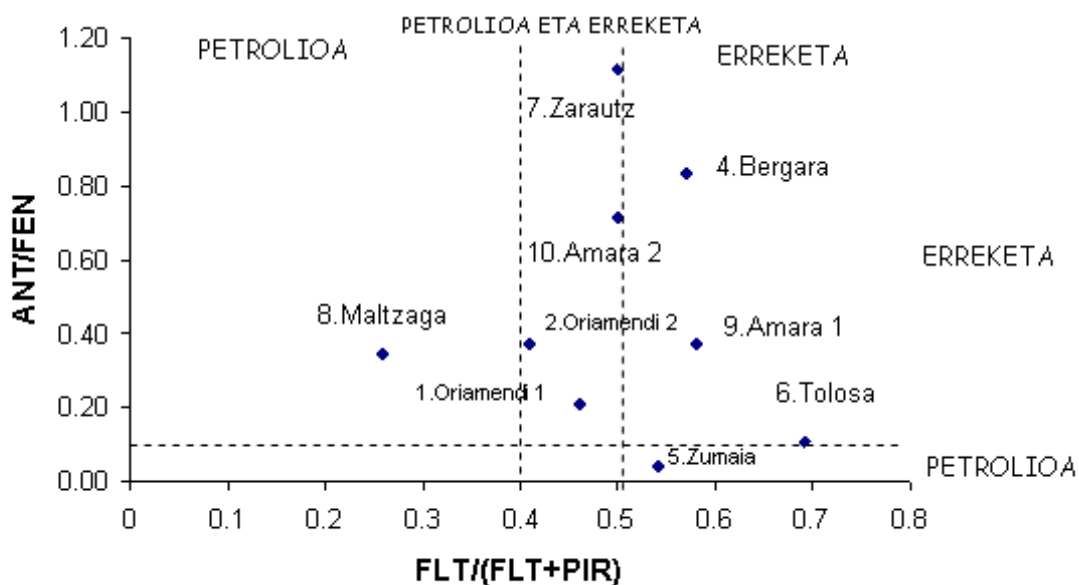
FLT/PIR zatidura 1 baino txikiagoa da aztertutako 1, 2 eta 8 laginketa puntuetan, eta 1 baino handiagoa 4, 5, 6 eta 9 puntuetan. Puntu hauek trafiko jatorriko igorpenetatik ekarpen handia jasaten dute, kreosotaturiko egurretik eta industri aktibitatek ere. Antzeko balioak lortu dira Kalabarreko (Nigeria) gainazaleko lurretan [Nganje *et al.*, 2007]. FLT eta PIR

kontzentrazio altuak topatu dira kreosotaz trataturiko trenbide trabesak gordetzeko lurretan [Moret *et al.*, 2007].

KRI/BaA heina 0.4-12.2 bitartean aldatzen da. Laginketa gune gehienetan 1 baino altuagoko erlazioak ikusten dira, honek adierazten du bertan aurkitzen diren PAHen jatorria petrogenikoa dela. 3 eta 5. guneak bakarrik 1 baino balio baxuagoak erakusten dute. Azpimarratzekoa da hiru erlazioen erabilpena lagin batzuetan jatorri ezberdineko esleipenak suposatzen duela. Antzeko zeozer antzeman daiteke aurkezturiko beste bi erlazio isomerikoetan. FEN/ANT erlazioa beste erlazioen jokamoldetik gehien aldentzen dena dela ematen du, amankomunean zenbait puntu horrela erakusten duten bezala. Segur aski, lan egiteko lagin kopuru txikia, eta haietariko batzuen kutsadura maila erraldoiak besteekin alderatuz, ondorio orokor zehatzagoetara heltzea galarazten du, banakako erlazio isomerikoen analisiekin bat datozenak.

Sarritan erlazio isomerikoak aztertzen dituzten ikerlanak hauetako bi kontutan hartu eta balioak irudi bidimentsionaletan adierazten dituzte. Aukerak anitzak dira, beste irudikapenen artean ANT/FEN (edo alderantziz), FLT/FLT + PIR (edo FLT/PIR) erlazioaren aurrean irudikatzen da, baita BaA/BaA + KRI, FLT/FLT + PIR erlazioen aurrean ere [Yunker *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2007; Pies *et al.* 2008; Jiang *et al.*, 2009]. Lan honetan 178 eta 202 pisu molekular ezberdineko PAH isomeroen (FEN, ANT eta FLT, PIR, hurrenez hurren) irudikapenez baliatzea hautatu da. X ardatzean FLT/FLT + PIR erlazioa irudikatu eta, Y ardatzean berriz ANT/FEN erlazioa irudikatuko da (**4.1 Irudia**).

**4.1 Irudian** ikus daitekeen bezala, azterturiko gune gehienak errekontza jatorri bezala definitzen den eremuan kokatzen dira, bai petrolioa zein beste motako erregaiak abiapuntu edukiz (9 eta 4 lagin guneak batez ere). Bestalde, 5 eta 8 guneetan kutsaduraren jatorria mistoa dela esan daiteke, petrogeniko eta errekontzakoa. Lur laginen erlazio isomerikoetatik lorturiko datuak zera adierazten dute: ikasitako lurretan topaturiko PAHak jokamolde misto bati erantzuten diola, laginak jatorri pirolitiko zein petrogenikoko jatorriak aurkezten dituzte. Mota honetako jokamoldeak beste ikerlan batzuetan jaso dira ere [Guo *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2007].



4.1. Irudia. ANTI/FEN vs. FLT/FLT+PIR erlazio isomerikoen irudikapena aztertutako lur laginetan.

#### 4.4.2 Normalitate testa

Oinarrizko eta aurreratutako estatistika metodo asko, datuen banaketa normala dela aurre suposatzen dute. Ingurugiroko geokimikan, nagusi diren elementuen datuak (O eta Si adibidez) banaketa normal bat jarraitzen dute orokorrean, hau ez da gertatzen aldiz trazako elementu edo konposatuen datuak ikertzerakoan. Kasu hauetan, datuen eraldaketa egitea beharrezkoa izaten da banaketa normal bat ager dezaten, eta modu honetan metodo kimimetroko parametrikoren erabilpena bideragarria izan dadin. Datuen eraldaketa ez egiteak, metodo estatistiko ez parametrikoren erabilera suposatzen du.

Kolmogorov-Smirnov eta Shapiro-Wilk testak aplikatu dira analizaturiko lur laginen PAHen datuak ze banaketa mota jarraitzen duten aztertzeko. D eta W estatistikoen emaitzak eta p-ren balioak bestalde, datuentzako eta datuen logaritmoentzako, **4.3 Taulan** laburbildu dira. Kolmogorov-Smirnov frogan D baino beragoko balioak lortu dira, eta p baino hobekoak datuen logaritmoekin. Shapiro-Wilk frogan bestalde, W eta p estatistikoen balioak lortzen dira. Froga honetan, W estatistikoa adierazgarria bada ( $p < 0.05$ ), banaketa normalaren hipotesia ukatu behar da. Datuen logaritmoen balioak ikusita, AZE ez ezik, beste guztiak  $p > 0.05$  balioak ematen dutela ikus daiteke (**4.3 Taulan** beltzez), ondorioz ezin da ukatu datuen logaritmoen banaketa normalaren hipotesia. Datuen logaritmoetatik lorturiko banaketa



normalak beste ikerlan batzuetan ere beha daitezke, hala nola Liu eta kideen lanean adibidez [Liu *et al.*, 2010].

Normalitate testak emandako emaitzak kontutan hartuz, hurrengo frogetan, korrelazioak, cluster, PCA eta FA-an, datuen logaritmoak erabiliko dira beti. Baina irudi eta tauletan izenburuen sinplifikazioa lortzearren PAHen izen laburtuak besterik ez dira idatziko, datuen logaritmoa ordezkatzan dutela kontutan izanda beti.

4.3. Taula. Normalitate testa, Kolmogorov-Smirnov eta Shapiro-Wilk frogak aplikatzerakoan.

		Kolmogorov-Smirnov		Shapiro-Wilk	
		D	p	W	p
NAF	Data	0.4990	<0.01	0.3945	0.000
	Log Data	0.1940	>0.20	0.8915	<b>0.1764</b>
AZI	Data	0.3595	<0.15	0.4922	0.0000
	Log Data	0.2807	>0.20	0.8992	<b>0.2149</b>
AZE	Data	0.4693	<0.05	0.4192	0.0000
	Log Data	0.2603	>0.20	0.8000	0.0145
FLU	Data	0.4247	<0.05	0.4437	0.0000
	Log Data	0.1896	>0.20	0.9039	<b>0.2415</b>
FEN	Data	0.3654	<0.15	0.5046	0.0000
	Log Data	0.2105	>0.20	0.9173	<b>0.3352</b>
ANT	Data	0.3996	<0.10	0.4378	0.0000
	Log Data	0.1991	>0.20	0.8738	<b>0.1108</b>
FLT	Data	0.3572	<0.15	0.5433	0.0000
	Log Data	0.1468	>0.20	0.9661	<b>0.8522</b>
PIR	Data	0.3630	<0.15	0.5585	0.0000
	Log Data	0.2097	>0.20	0.8981	<b>0.2087</b>
BaA	Data	0.3995	<0.10	0.4604	0.0000
	Log Data	0.1540	>0.20	0.9487	<b>0.6532</b>
KRI	Data	0.3663	<0.15	0.5550	0.0000
	Log Data	0.2122	>0.20	0.9325	<b>0.4727</b>
ΣPAH	Data	0.3567	<0.15	0.5071	0.0000
	Log Data	0.2122	>0.20	0.8942	<b>0.1892</b>

### 4.4.3 Korrelazio linealak

PAHen arteko korrelazio linealak aztertzeko PAHen kontzentrazio logaritmoen matrizeari Pearson-en korrelazio koefizientea ( $r$ ) aplikatu zaio. Banakako PAHen, PAH guztien batukariaren ( $\Sigma$ PAH) eta pisu molekular txikiko (LMW) eta erdiko arteko korrelazioak ere aztertu dira. Lortutako  $r$ -ren balioak **4.4 Taulan** jaso dira. 0.7080 ( $p < 0.01$ ) eta 0.8223 ( $p < 0.001$ ) arteko datuak letra etzanaz markatu dira, eta 0.8223 baino altuagoko datuak letra larriz markatu dira.

Lorturiko datuak erakusten dute nola pisu molekular altuko PAHen artean (FEN, ANT, FLT, PIR, BaA eta KRI) korrelazio lineal positibo altua dagoen. PAHen batukariak kontutan hartuz, LMW eta batuz bestekoa, linealitate erlazio altua topatu da batukari eta pisu molekular ertain eta altuko PAHekin. Pisu molekular baxuko PAHen korrelazioa ematen bada ere, ez da pisu molekular ertain eta altuko PAHen adierazpen mailara ailegatzen. Antzeko emaitzak lortu dira Beijing-en (Txina) [Ma *et al.*, 2005], Europako mendebaldean [Atanassova and Brümmer, 2004] eta Indian [Agarwal T., 2009].

### 4.4.4 Aldagai anitzeko analisisa

Aldagai anitzeko analisisa STATISTICA<sup>®</sup> programarekin burutu da (StafSoft, Tulsa, AEB), eta horretarako laginketa ezberdinetan lortutako PAH ezberdinen kontzentrazioen emaitzen datuen logaritmoak erabili dira.

#### 4.4.4.1 Cluster analisisa

Aztertutako PAH eta laginketa guneen arteko jokamoldeei buruzko informazioa lortu nahian Cluster analisisa burutu da datuen logaritmoetatik abiatuz. Elkartze neurri bezala distantzi Euklidearra erabili da eta lotura metodo lez, lotura bakuna eta Ward delako metodoak erabili dira. Lorturiko dendogramak **4.2 eta 4.3 Irudietan** adierazita datoz hurrenez hurren.

4.4. Taula. Azterturiko lurretan PAH-ekin lortutako Pearsonen korrelazio koefizienteak.

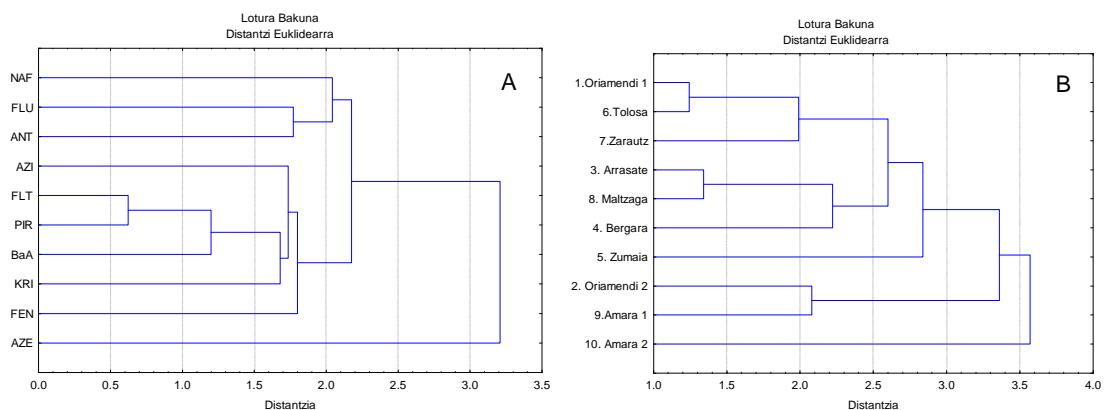
	<i>NAF</i>	<i>AZI</i>	<i>AZE</i>	<i>FLU</i>	<i>FEN</i>	<i>ANT</i>	<i>LMW</i>	<i>FLT</i>	<i>PIR</i>	<i>BaA</i>	<i>KRI</i>	<i>ΣPAH</i>
<b>NAF</b>	1.0000											
<b>AZI</b>	0.4718	1.0000										
<b>AZE</b>	0.6002	0.6751	1.0000									
<b>FLU</b>	<b>0.8643</b>	<i>0.7476</i>	0.6304	1.0000								
<b>FEN</b>	0.6688	<i>0.7771</i>	0.6688	<i>0.7951</i>	1.0000							
<b>ANT</b>	0.6861	<b>0.8277</b>	0.6679	<b>0.9140</b>	<b>0.9050</b>	1.0000						
<b>LMW</b>	0.6720	<b>0.9088</b>	<i>0.7197</i>	<b>0.8902</b>	<b>0.9462</b>	<b>0.9666</b>	1.0000					
<b>FLT</b>	0.6655	0.6547	0.6154	<i>0.7345</i>	<b>0.9588</b>	<b>0.8766</b>	<b>0.8708</b>	1.0000				
<b>PIR</b>	0.6342	0.7029	0.5874	<i>0.7423</i>	<b>0.9660</b>	<b>0.8973</b>	<b>0.8926</b>	<b>0.9853</b>	1.0000			
<b>BaA</b>	0.5828	<b>0.8686</b>	<i>0.7122</i>	<i>0.7654</i>	<b>0.9562</b>	<b>0.9260</b>	<b>0.9533</b>	<b>0.9208</b>	<b>0.9454</b>	1.0000		
<b>KRI</b>	<i>0.7947</i>	<i>0.7267</i>	0.6701	<b>0.8682</b>	<b>0.9668</b>	<b>0.8854</b>	<b>0.9268</b>	<b>0.9236</b>	<b>0.9098</b>	<b>0.8768</b>	1.0000	
<b>ΣPAH</b>	<i>0.7237</i>	<i>0.8041</i>	0.6948	<b>0.8500</b>	<b>0.9913</b>	<b>0.9350</b>	<b>0.9667</b>	<b>0.9579</b>	<b>0.9583</b>	<b>0.9545</b>	<b>0.9784</b>	1.0000

$p < 0.01$   $r = 0.7080$ ;

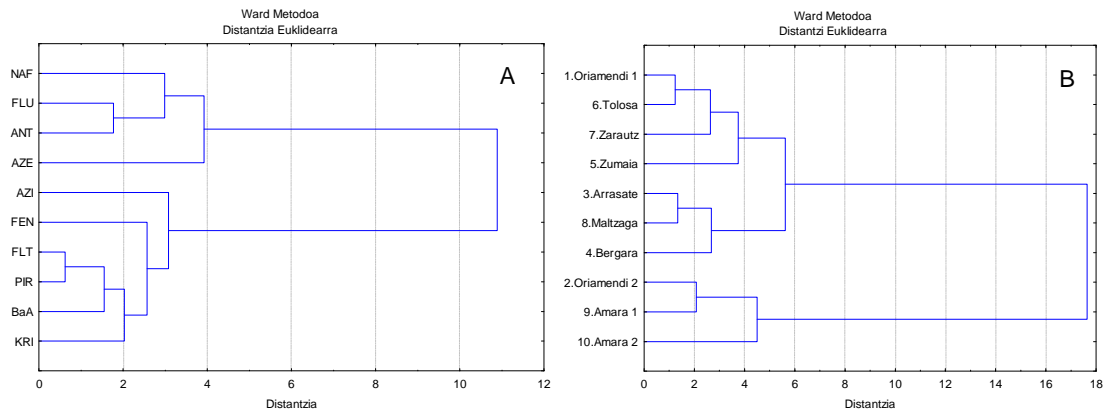
$p < 0.001$   $r = 0.8223$

**4.2-A Irudiko** dendograman bi talde argi bereiz daitezke. Lehenengo clusterrean NAF, FLU eta ANT agertzen dira, bigarrenean aldiz AZI, FLT, PIR, BaA, KRI eta FEN. Soilik AZE baztertuta gelditzen da bi cluster hauetatik. Ward metodoaren arabera egindako **4.3-A Irudiko** dendograma aztertuz, aurreko bi cluster berdinak agertzen direla ikus daiteke, baina kasu honetan AZE lehenengo clusterraren baitan dago atxikia. Lehenengo clusterrean pisu molekular baxuko PAHak eta bi hiru eraztun aromatikoko PAHak (NAF, FLU eta ANT) barnean sartzen dira, bigarrenean aldiz, pisu molekular altuko PAHekin (hiru eta lau eraztun aromatikoko, FEN, FLT, PIR, BaA eta KRI) AZI ere biltzen du.

**4.2-B Irudian**, laginketa puntuen arabera egindako analisisian, interpretazioa egitea zailagoa da, izan ere puntuak era progresiboan taldekatzen baitoaz. Soilik 3 baino altuagoak diren distantzi balioak lortzen direnean, bi cluster ezberdinu daitezke eta banakako kokaleku bat, laginketa gune kutsatuenari dagokiona hain zuzen (10-Amara 2). Cluster txikian, beste bi kokaleku antzeman daitezke, gehien kutsaturiko bigarren guneak alegia (9-Amara 1 eta 2-Oriamendi 2). Beste clusterra gainerako kokaleku guztiak biltzen ditu. **4.3-B Irudian** antzeman daitekeen bezala, hiru cluster hauek hobe ebatzita eta ia bi clusterrera laburbilduak agertzen dira Ward-en metodoa erabili ezker. Modu honetan, 2, 9 eta 10 lurak dauzkan clusterrak, FEN, FLT, PIR, BaA eta KRI kantitate handiak izateagatik adierazgarriak diren kokalekuei dagokio.



4.2. Irudia. Cluster analisia A) PAH eta B) lurren laginketa guneentzako, distantzi euklidearra eta lotura bakuna metodoa kontutan hartuz.

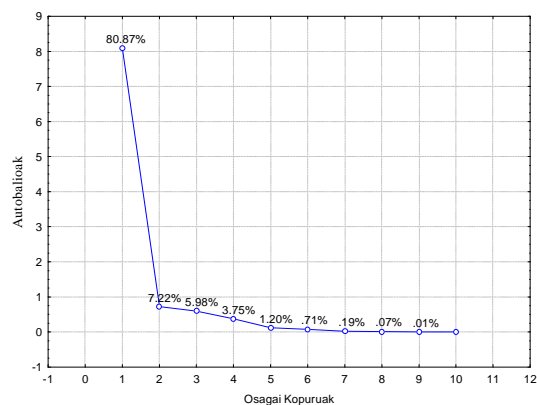


4.3. Irudia. Cluster analisia A) PAH eta B) lurren laginketa guneentzako, distantzi euklidearra eta Ward metodoa kontutan hartuz.

#### 4.4.4.2 Osagai nagusien analisia

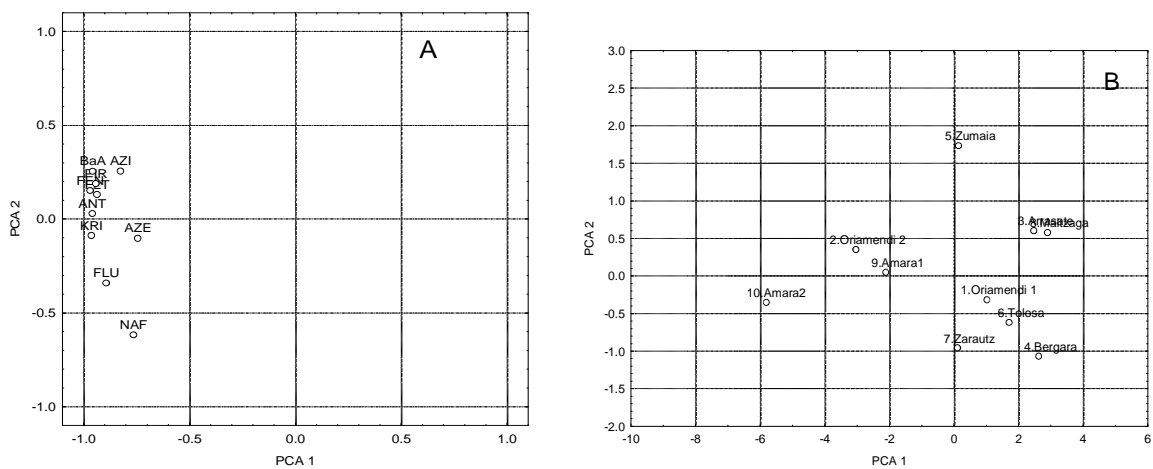
Hasierako aldagai kopurua murrizteko eta hauen jokamoldea orokortu ahal izateko PCA bat egin da. Metodo hau aplikatzerakoan puntuazio (*score*) matrize bat lortzen da, eta pisuen (*loadings*) beste bat. Analisia egiteko **2.14 Taulako** datuak erabili dira, eta kontzentrazioen logaritmoak kalkulatu dira.

Sedimentazioko metodo grafikoa zenbat osagai atxiki behar diren ezagutzeko erabili da. Osagai nagusien kopuruarekiko auto-balioen (*eigenvalues*) adierazpen grafikoa egin ostean (**4.4 Irudia**), ageriko lehenengo inflexioa aintzat hartu da. Bariantzaren %88 baino gehiago azaltzen duten bi osagaiak atxiki dira. Lehenengo osagaia bariantzaren %80.9 suposatzen du, eta bigarrenak bariantza osoaren %7.2.



4.4. Irudia. Auto-balioen irudikapena osagai nagusien kopuruarekiko.

**4.5 Irudian** bi osagai nagusiak kontutan hartuz (PC1 eta PC2) lortutako irudikapen grafikoak aurkezten dira, aldagai (PAHak, **4.5-A Irudia**) eta kasuentzako (Lurrak, **4.5-B Irudia**). Aldagaien irudikapena (**4.5-A Irudia**) irakurketa zaila dauka, izan ere NAF eta FLU aldagaiak besterik ez dira apur bat aldentzen, besteak oso gertu agertzen diren bitartean. Laginketa guneei dagokionez (**4.5-B Irudia**), beste puntuekiko 2, 9 eta 10 gehien kutsaturiko puntuen (Oriamendi 2, Amara 1 eta 2) banaketa igarri daiteke. Bereizketa hau, aurretik lorturiko bi clusterrekin bat dator, distantzi euklidea eta Ward metodoak erabiltzean hain zuzen.



4.5. Irudia. PC1 vs PC2 irudikapen grafikoa A) aldagaietarako (PAHak) eta B) kasuentzako (Lurrak).

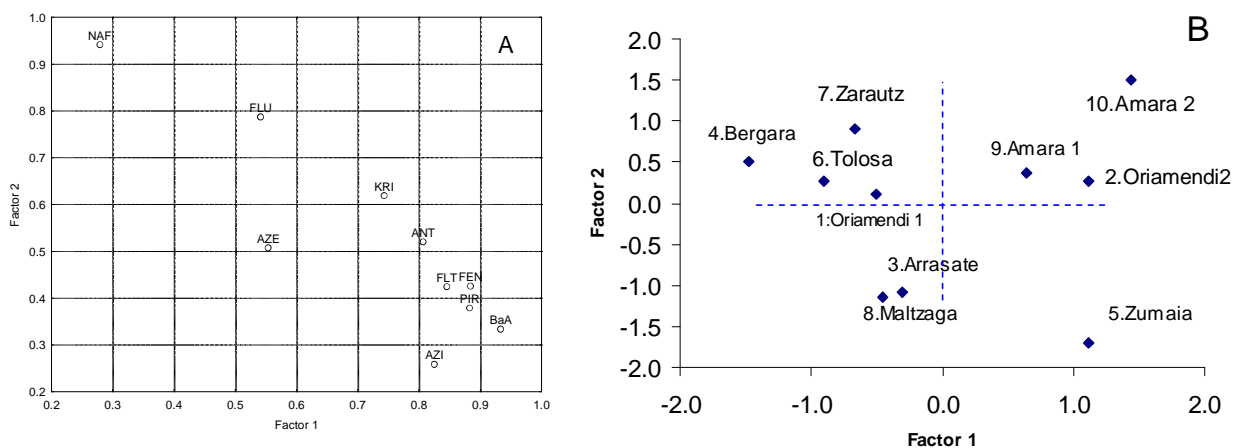
#### 4.4.4.3 Faktore-analisia

Faktore-analisia nonbait aurkitu gabeko egiturak topatzeko asmoarekin egin da. Analisi honetan osagai nagusietako erauzketa egin da eta Varimax errotazioa aplikatu egin da ere. Atxikitutako faktore kopurua bi izan dira, bariantzaren %88.1 ordezkaturaz. **4.6-A eta 4.6-B Irudietan**, bi faktoreekin aldagaietarako eta lurrentzako hurrenez hurren, lorturiko irudikapenak azaltzen dira.

**4.6-A Irudian** KRI, ANT, FLT, FEN, PIR, BaA eta AZI-ren 1 faktoreari (F1) egindako ekarpen handia ikusi daiteke, guztiak 0.740 baino zama handiagoekin. FLU eta NAF bigarren faktoreari (F2) egindako ekarpena handia da ere, 0.780 baino handiagoko zamekin. Azaldu gabeko jokamolde bakarra AZE-rena da, zein F1 eta F2-ri antzeko zama ekarpenak egiten dizkie. Desberdintze hau F1 gaineko ekarpen handia duten 3-4 eraztuneko PAHak (eta AZI),

F2 faktore gaineko ekarpen handia duten bi eraztun aromatikoko PAHengandik (NAF eta FLU) banatzera eramaten du.

Faktoreen puntuaketaren lurren irudikapenean (**4.6-B Irudia**), PCA-rekin lorturiko antzeko taldekapenak ikus daitezke (**4.5-B Irudia**). F1-en puntuazio altuak duten, gehien kutsaturiko lurrak diren 2, 9 eta 10 puntuak taldekatu daitezke, eta bereziki 10, F2 gaineko puntuazio altuekin ere. Egoera honek adierazten du gunea hauek AZI eta 3-4 eraztun aromatikoen kantitate handiak dituztela, F1-en zama handiak edukiz, eta partzialki F2-n. F2-n puntuazio ahul-ertainak dituzten 1, 4, 6 eta 7 lurrak osatzen duten beste talde bat ezberdindu daiteke, eta NAF eta FLU bi eraztun aromatikoko PAHen kontzentrazio aipagarria adierazten du. 3 eta 8 lurrak osatutako 3. taldea, analizaturiko PAHen artean kontzentrazio baxukoak adierazten ditu. Besteetatik banatuta 5. laginketa gunea topatzen dugu, F1-i ekarpen handia eginez, aurkituriko 3-4 eraztun aromatikoko PAHen eta AZI-ren maila erdi-altua adierazten.



4.6. Irudia. A) Aldagaiak (PAHak) eta B) kasuen (Lurrak) irudikapen grafikoa.

## 4.5 Sedimentuen ebaluazioa

### 4.5.1 Erlazio isomerikoak

Erlazio isomerikoen ikerketa burutzeko 3. kapituluko sedimentuen kontzentrazio osoen datuak hartu dira (ikus **3.8 Taula**), eta espezie ezberdinen arteko erlazioak kalkulatu dira. Detekzio muga azpitik dauden kontzentrazioak (LOD), kasuan kasu ezarritako detekzio

mugaren erdiagatik ordezkatu da. Aukera hau, esan bezala, beste ikertzaile batzuek erabili izan dute erlazioen kalkuluan eta baita tratamendu estatistikoetan ere [Liu *et al.*, 2010]. Lorturiko datuak **4.5 Taulan** laburbildu dira. **4.1 Taularen** arabera, erlazio isomerikoak adierazten duten jatorria gorritz edo urdinez markatu da. Beltzez markatuta, esleitu gabeko balioen jatorriak utzi dira.

4.5. Taula. Ikerturiko sedimentuen erlazio isomerikoen balioak.

Laginak	FEN/ANT	KRI/BaA	FLT/PIR	ANT/ (ANT+FEN)	BaA/ (BaA+KRI)	FLT/ (FLT+PIR)
1. Deba1	<b>157.3*</b>	<b>0.9</b>	<b>1.4</b>	<b>0.01*</b>	<b>0.53</b>	<b>0.59</b>
2. Deba2	<b>1.0</b>	<b>161.0**</b>	<b>0.2</b>	<b>0.50</b>	<b>0.01**</b>	<b>0.17</b>
3. Zorroza	<b>3.1</b>	<b>0.8</b>	<b>1.3</b>	<b>0.25</b>	<b>0.57</b>	<b>0.57</b>
4. Udondo	<b>1.4</b>	<b>0.4</b>	<b>1.1</b>	<b>0.42</b>	<b>0.69</b>	<b>0.53</b>
5. Orio	<b>105.5*</b>	<b>1.5</b>	<b>2.0</b>	<b>0.01*</b>	<b>0.39</b>	<b>0.67</b>
6. Arrasate	<b>92.3*</b>	<b>3.9</b>	<b>1.2</b>	<b>0.01*</b>	<b>0.20</b>	<b>0.54</b>
7. Loiola	<b>40.3*</b>	<b>6.5</b>	<b>2.3</b>	<b>0.02*</b>	<b>0.13</b>	<b>0.70</b>
8. Bergara	<b>6.2</b>	<b>16.4</b>	<b>0.4</b>	<b>0.14</b>	<b>0.06</b>	<b>0.29</b>
9. Elgoibar	<b>1.9</b>	<b>4.0</b>	<b>2.1</b>	<b>0.35</b>	<b>0.20</b>	<b>0.67</b>
10. Zumaia	<b>10.3</b>	<b>3.0</b>	<b>1.8</b>	<b>0.09</b>	<b>0.25</b>	<b>0.65</b>
11. Pasaia	<b>2.0</b>	<b>0.7</b>	<b>0.8</b>	<b>0.34</b>	<b>0.59</b>	<b>0.44</b>
12. Bidasoa	<b>8.0</b>	<b>44.2**</b>	<b>1.2</b>	<b>0.11</b>	<b>0.02**</b>	<b>0.54</b>
13. Igara	<b>16.7*</b>	<b>8.3</b>	<b>1.3</b>	<b>0.06*</b>	<b>0.11</b>	<b>0.56</b>

(\*) ANT =  $\frac{1}{2}$  LOD bezala kalkulatu

(\*\*) BaA =  $\frac{1}{2}$  LOD bezala kalkulatu

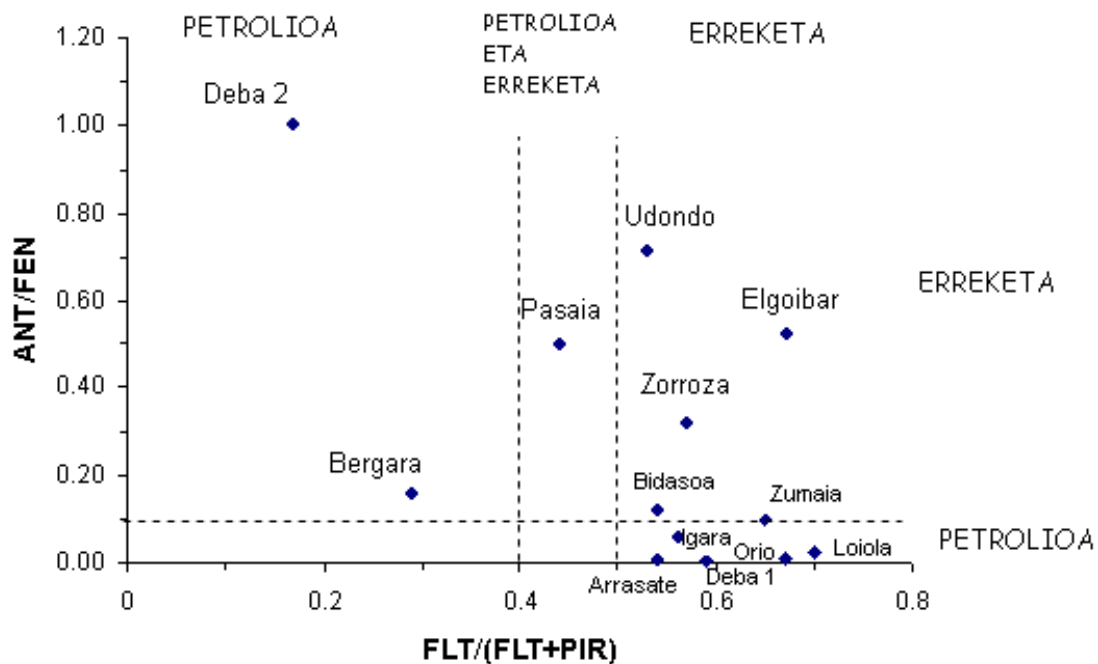
Gorria= jatorri petrogenikoa

Urdina= jatorri pirolitikoa

Emaitzek erakusten dute FEN/ANT ratioa <10 dela antrazenoa neurtu ahal izan den toki guztietan. Deba 2, Pasaia eta Bergara laginketa puntuetan ez ezik, beste guztietan FLT/PIR ratioa >1 izan da. Lorturiko ratioak PAHen kutsadura iturria erreketan prozesuetatik datorrela esateko joera adierazten dute [Soclo *et al.*, 2000; Zhou and Maskaoui, 2003; De Luca *et al.*, 2004; Yim *et al.*, 2007]. KRI/BaA ratioa 0.4-161 bitartean egon da. Hemen zenbait guneetan BaA balioak ezin izan ditugu neurtu eta horregatik detekzio mugaren balio erdiak hartu dira kalkuluak egiteko. Sedimentu lagin gehienetan, FLT/(FLT + PIR) ratioen kasuan, 0.5 baino balio handiagoak aurkitu daitezkeela ikus daiteke, Deba2 eta Bergara lagintze



puntuetan salbu. Jatorria beraz mistoa dela esan daiteke, bi iturrietako nahaste bat alegia, eta ideia orokorrik ezin da hemendik ondorioztatu hortaz. Laginketa gune bakoitzaren nondik norakoak definitzearen, lorturiko kontzentrazio emaitzekin kutsadura iturria zein den zehazten saiatu da, erreketaren prozesuetatik edota zuzenean hidrokarburo isurketetatik datorren auresaten. Yunker eta kideek eginiko ikerketetan oinarrituz  $ANT/(ANT+FEN)$ , eta  $FLT/(FLT + PIR)$  ratioen arteko erlazioa eta  $FEN/ANT$  eta  $FLT/PIR$  ratioen artekoa ikertu da [Yunker *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2007]. **4.7 Irudian** puntu hauen irudikapena ikus dezakegu ( $ANT/FEN$  vs  $FLT/FLT+PIR$ ).



4.7. Irudia.  $ANT/FEN$  vs.  $FLT/FLT+PIR$  erlazio isomerikoen irudikapena aztertutako sedimentu laginetan.

Jatorri pirolitiko garbia duten hainbat puntu antzeman daitezke **4.7 Irudian** (Pasaia, Udondo, Elgoibar, Zorroza). Beste sedimentu guztiak ez dute ongi definituriko jatorri bakarra erakusten, jatorri mistoa esleitu dakieke hortaz, petrogeniko-pirolitiko alegia.

#### 4.5.2 Normalitate testa

Lurraren atalean bezala, sedimentuekin ere lehenago deskribaturiko bi normalitate testak aplikatu dira, Kolmogorov-Smirnov eta Shapiro-Wilk frogak hain zuzen. **4.6 Taulan** frogak hauen aplikazioen emaitzak laburbiltzen dira. Kolmogorov-Smirnov-en frogan D balio baxuagoak lortzen dira datuen logaritmoekin, datu soilekin baino, NAF izan ezik. Antzeko

zeozer gertatzen da Shapiro-Wilk froga aplikatzerakoan, datuen logaritmoak emaitza hobekoak erakusten dute W estatistikoaren kasuan eta baita probabilitatean ( $p > 0.05$ ) ere, bi salbuespen izan ezik. Hauetako bat NAF da, zein datu soilekin emaitza hobekoak lortzen ditu, eta bigarrena AZE, zein banaketa normala lortzea ezinezkoa suertatu da, ez datu soilekin ezta datuen logaritmoekin ere ez. PAH gehienetan datuen logaritmoekin lan egiterakoan banaketa normala lortu da, ondorioz hemendik aurrera egindako kalkulu guztiak, bai korrelazioen kasuan, zein aldagai anitzeko analisisetan ere, datuen logaritmoak aintzat hartuko dira. Xalotasuna zaintzarren, irudi eta tauletan, PAHen laburdurak bakarrik idatzi dira, eta logaritmoa ez dator adierazita PAH bakoitzaren alboan.

4.6 Taula. Normalitate testa, Kolmogorov-Smirnov eta Shapiro-Wilk frogak aplikatzerakoan.

		Kolmogorov-Smirnov		Shapiro-Wilk	
		D	p	W	p
NAF	Data	0.1885	>0.20	0.8975	<b>0.1236</b>
	Log Data	0.2162	>0.20	0.8477	0.0266
AZI	Data	0.4117	<0.05	0.4255	0.0000
	Log Data	0.1282	>0.20	0.9501	<b>0.5992</b>
AZE	Data	0.2670	>0.20	0.7798	0.0040
	Log Data	0.2299	>0.20	0.78.16	0.0042
FLU	Data	0.2949	<0.20	0.7692	0.0030
	Log Data	0.1694	>0.20	0.9256	<b>0.2980</b>
FEN	Data	0.3323	<0.10	0.6562	0.0002
	Log Data	0.1294	>0.20	0.9555	<b>0.6832</b>
ANT	Data	0.2810	>0.20	0.6486	0.0002
	Log Data	0.2319	>0.20	0.8437	0.0237
FLT	Data	0.2566	>0.20	0.6847	0.0004
	Log Data	0.1416	>0.20	0.9744	<b>0.9404</b>
PIR	Data	0.2497	>0.20	0.7735	0.0034
	Log Data	0.1244	>0.20	0.9681	<b>0.8705</b>
BaA	Data	0.3211	<0.15	0.6221	0.0001
	Log Data	0.1669	>0.20	0.9442	<b>0.5142</b>
KRI	Data	0.2601	>0.20	0.8196	0.0118
	Log Data	0.1218	>0.20	0.9692	<b>0.8840</b>
ΣPAH	Data	0.3070	<0.15	0.7631	0.0026
	Log Data	0.1441	>0.20	0.9356	<b>0.4029</b>

### 4.5.3 Korrelazio linealak

PAHen arteko korrelazio linealak aztertzeko PAHen kontzentrazioen logaritmoen matrizeari Pearsonen korrelazio koefizientea ( $r$ ) aplikatu zaio. Banakako PAH eta PAH batukariaren arteko korrelazioa ere kalkulatu dira ( $\Sigma$ PAH). Lorturiko  $r$  balioak **4.7 Taulan** azaltzen dira. 0.5529 ( $p < 0.05$ ) eta 0.6835 ( $p < 0.01$ ) bitarteko datuak letra etzanarekin markatu dira, eta 0.6835 baino altuagoko datuak aldiz letra larriz markatu dira.

Ikus daitekeenez korrelazio altu eta adierazgarria erakusten duten PAHak pisu molekular ertain-altukoak dira (FEN, FLT, PIR, BaA eta KRI). Pisu molekular baxu-ertainak duten PAHak AZI-FEN eta AZE-ANT arteko bi korrelazio altu adierazgarri antzeman daitezke bestalde. PAHen batukaria kontutan hartuz, batukari honen eta pisu molekular altuko PAHen arteko erlazio altua topatu da. Antzeko emaitzak lortu dira Benin eta Frantzian itsas sedimentuetan egindako ikerlan batzuetan (**Soclo et al., 2000**), Turkian (**Karakas and Pekey, 2005**), baita ibai sedimentuetan ere, Txilen (**Barra et al., 2009**). Sedimentuetan lortutako emaitzak, korrelazio gutxiago eta esangura baxuagoa dute lurretan lorturiko korrelazioekin alderatu ezker.

4.7. Taula. Azterturiko sedimentuetan PAH-ekin lortutako Pearsonen korrelazio koefizienteak.

	<i>NAF</i>	<i>AZE</i>	<i>AZI</i>	<i>FLU</i>	<i>FEN</i>	<i>ANT</i>	<i>FLT</i>	<i>PIR</i>	<i>BaA</i>	<i>KRI</i>	<i>ΣPAH</i>
<b>NAF</b>	1.0000										
<b>AZE</b>	-0.0235	1.0000									
<b>AZI</b>	-0.2470	0.1678	1.0000								
<b>FLT</b>	-0.2879	0.0863	0.4026	1.0000							
<b>FEN</b>	0.0345	0.3583	<b>0.7510</b>	0.2690	1.0000						
<b>ANT</b>	-0.1114	<b>0.7293</b>	0.2996	0.2118	0.5251	1.0000					
<b>FLT</b>	0.1073	0.0939	0.3306	-0.1439	<b>0.7071</b>	0.3818	1.0000				
<b>PIR</b>	-0.2352	0.1888	0.5044	-0.0026	<b>0.6983</b>	0.5306	<b>0.8766</b>	1.0000			
<b>BaA</b>	<i>0.6107</i>	-0.0606	0.2332	-0.1146	<i>0.6237</i>	0.0317	<b>0.7144</b>	0.4347	1.0000		
<b>KRI</b>	-0.1345	0.0188	0.5414	0.3966	<i>0.5793</i>	0.0918	<i>0.5695</i>	<i>0.6512</i>	0.4571	1.0000	
<b>ΣPAH</b>	0.0022	0.2637	<i>0.6175</i>	0.2077	<b>0.8560</b>	0.5040	<b>0.8725</b>	<b>0.8973</b>	<i>0.6524</i>	<b>0.7895</b>	1.0000
	<i>p &lt; 0.05</i>	<i>r = 0.5529;</i>	<i>p &lt; 0.01</i>	<i>r = 0.6835</i>							

#### 4.5.4 Aldagai anitzeko analisisia

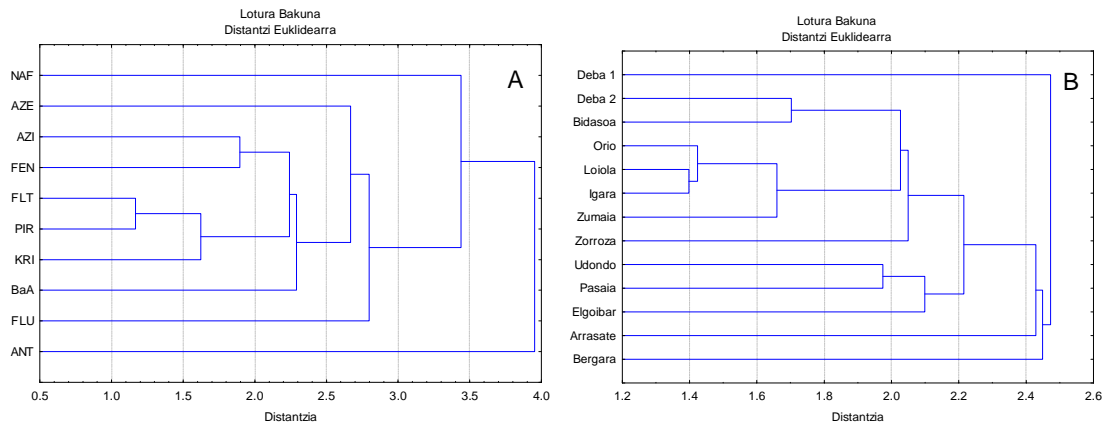
STATISTICA<sup>®</sup> programaren laguntzarekin hurrengo froga estatistikoak burutu dira, sedimentu laginketa puntu ezberdinetatik lorturiko emaitzen datuekin.

##### 4.5.4.1 Cluster analisisia

Azterturiko PAH eta laginketa puntuen arteko jokamoldeei buruzko informazioa lortu nahian Cluster analisisia burutu da datuen logaritmoekin. Elkartze neurri lez distantzi Euklidearra erabili da, eta lotura metodo lez, lotura bakuna eta Ward metodoa. Lorturiko dendogramak **4.8 eta 4.9 Irudietan** ikus daitezke.

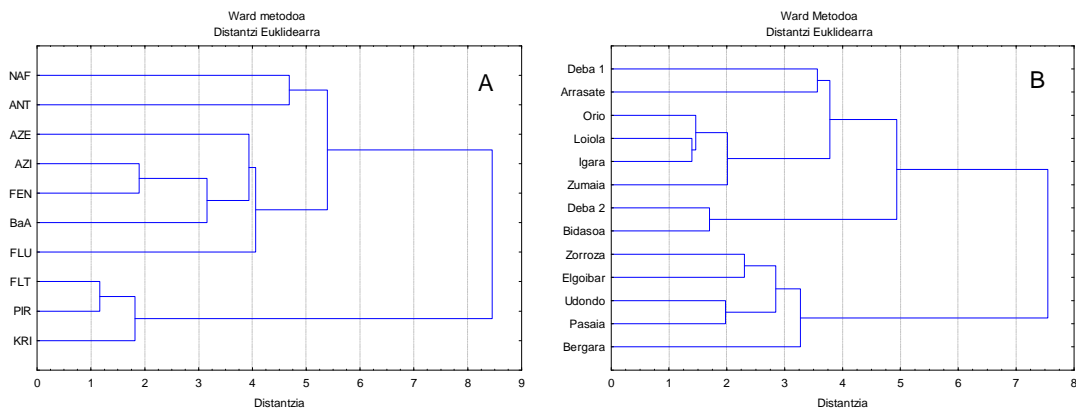
PAHen arteko erlazioa eta jatorriei buruzko informazio gehiago lortzeko tresna estatistiko hau PAH konposatu aldagaien gainean bideratu da. Normalean, eraikitako dendograma talde ezberdinak irudikatzen ditu, PAHak aldagaiekiko irudikatuz. Objektuen arteko distantzia, distantzia Euklidearra bezala neurtu da baina bi metodo aplikatu dira, bat distantzi minimoa eta bestea Ward metodoa kontutan hartzen. Kutsadura jatorri ezberdinen artean ezberdintzeko Cluster analisisia zenbait ikerketetan burutu da (**Fang *et al.*, 2003; Bihari *et al.*, 2006; Culotta *et al.*, 2006; Ko *et al.*, 2007**).

Distantzi Euklidearra eta lotura bakunaren bitartez lorturiko **4.8-A Irudiko** dendograman, isolaturik gelditzen diren bi PAH ez ezik (NAF eta ANT) beste PAH guztiak taldekatzen dituen clusterra ikus dezakegu. Ward-en metodoa erabiliz clusterra hobeto definituta lortzen dugu (**4.9-A Irudia**). Azken dendograma honetan hiru cluster ezberdintzen dira, lehenengoan NAF-ANT agertzen dira, bigarreanean FLT-PIR-KRI, eta hirugarrenean gainontzeko PAHak. Lotura bakunaren metodoa erabiltzerakoan azken bi clusterrak bat bakarrean taldekatuta agertzen dira.



4.8. Irudia. Cluster analisia A) PAH eta B) sedimentuen laginketa guneentzako, distantzi euklidearra eta lotura bakuna metodoa kontutan hartuz.

Lotura bakuna metodoaren bidez lorturiko **4.8-B Irudian** laginketa puntuen dendograma ageri da. Taldekatze definizio argirik ez da agertzen, soilik distantzia 2.3 baino handiagoa denean leku gehienak taldekatzen dituen cluster bat ageri da, eta bakarka dauden beste hiru puntu (Deba 1, Arrasate eta Bergara). Ward-en lotura metodoa kontutan hartuz (**4.9-B Irudia**) 5 baino distantzia handiagoko cluster bi agertzen dira. Haietariko lehenengoa Zorroza, Elgoibar, Udondo, Pasaia eta Bergara-ko kokalekuekin; eta bigarrenak gainontzekoak taldekatzen ditu. Lehenengoak FLT-PIR-BaA eta KRI kontzentrazio altuak erakusten ditu.



4.9. Irudia. Cluster analisia A) PAH eta B) sedimentuen laginketa guneentzako, distantzi euklidearra eta Ward metodoa kontutan hartuz.

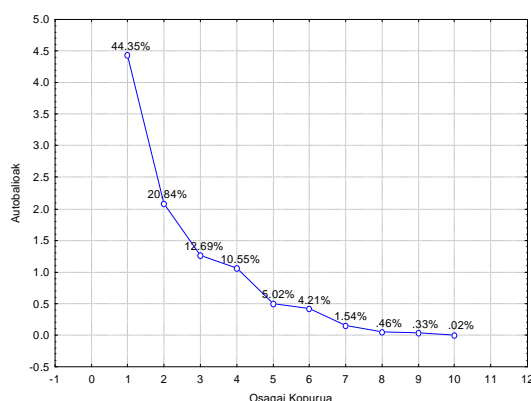
Lorturiko dendogramak kontutan hartuz, bai aldagai (PAH) zein objektuentzako (sedimentuak), clusterretan distantzi Euklidearra eta Ward-en lotura metodoa erabili denean definizio hobea lortu da.

Lur eta sedimentuen clusterra alderatu ezkerre, argi ikus daiteke sedimentuetan cluster bat gehiago lortzen dela aldagaien kasuan (PAHak), taldekatutako PAHetan, ezberdintasun txikiak salbu. Sedimentuen kasuan NAF-ANT eta AZI-FEN-BaA taldekatzeak mantentzen dira. AZE-FLU, lurretan NAF-ANT clusterrean agertzen zirenak, sedimentuetan AZI-FEN-BaA clusterrera gehitzen dira. FLT-PIR-KRI clusterra bestalde, lurretan pisu molekular erdi-altuko PAHen clusterrean taldekatuta agertzen zirenak, sedimentuetan sakabanatu eta hirugarren talde hau osatzen dute.

Objektuekin (lur eta sedimentuak) lorturiko dendogramei dagokionez, bi clusterren banaketa pisu molekular erdi-altuko PAHen kontzentrazioen arabera dela ematen du.

#### 4.5.4.2 Osagai nagusien analisia

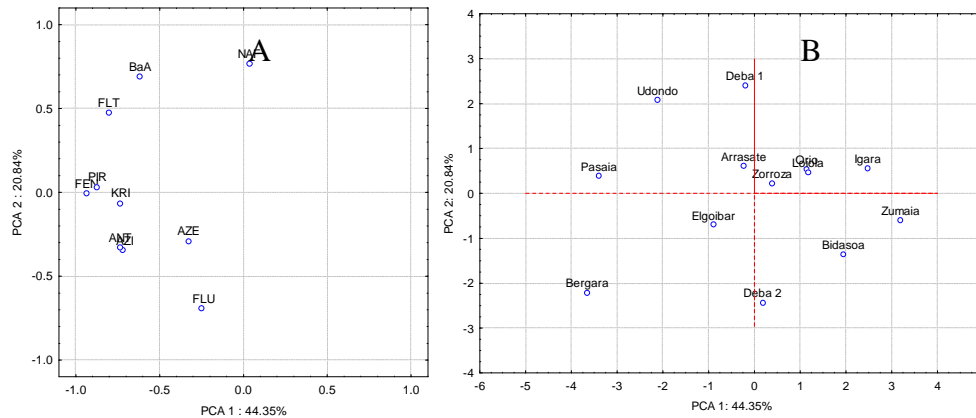
Hasierako aldagai kopurua murrizteko eta euren arteko jokabide amankomunak bilatzeko PCA burutu da. Analisia egiteko **3.8 Taulako** datuak hartu dira, eta kontzentrazioen logaritmoak kalkulatu dira. Ikerketa askok egiaztatu dute PCAren bidez PAH ezberdinen artean azaldutako konbinazio lineal egokiak suertatu daitezkeela jatorri ezberdinen artean ezberdintzeko (Fang *et al.*, 2003; Hartman *et al.*, 2004; Oros *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2007; Ko *et al.*, 2007). Sedimentaziotako metodo grafikoa erabili da zenbat osagai atxiki behar diren jakiteko. Osagai nagusien kopuruaren aurrean auto-balioen (eigenvalues) adierazpen grafikoa behin eginda (**4.10 Irudia**), hiru osagai %77.88 suposatzen dutela ikusi da.



4.10. Irudia. Auto-balioen irudikapena osagai nagusien kopuruarekiko.

**4.11 Irudian** bi osagai nagusiak (PC1 eta PC2) aintzat hartuz eraikitako adierazpen grafikoa ikusi daitezke, aldagaienezako, PAHak (**4.11-A Irudia**) eta kasuentzako,

sedimentuak (**4.11-B Irudia**). PC2-an BaA-FLT eta NAF pisua daukate batez ere. PC3-an (grafikoki adierazi gabe) AZE-k pisua dauka, eta neurri txikiagoan ANT ere bai. Pasaia, Udondo, Deba-1, Arrasate, Zorroza, Orio, Loiola eta Igara-ko sedimentuak, aipatu PAHetan kontzentrazio altuak edukitzeagatik karakteristikoak dira.



4.11. Irudia. PC1 vs PC2 irudikapen grafikoa A) aldagaienezako (PAHak) eta B) kasuentzako (sedimentuak).

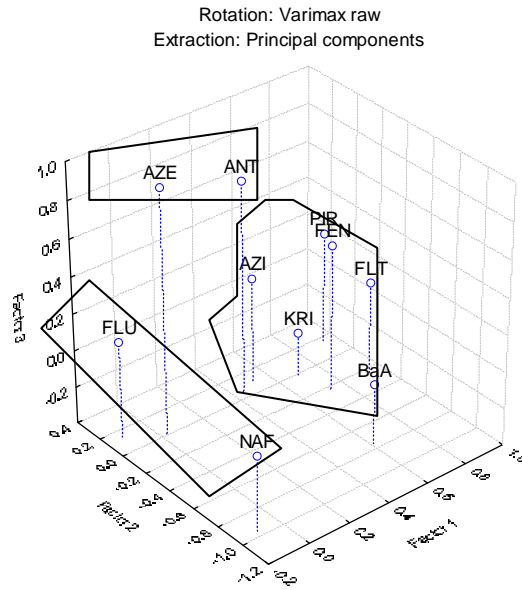
Lur eta sedimentuen Cluster zein PCA analisiak alderatuz, sedimentuetan lurretan ageriak diren jokabide antzekotasunak ez dira antzeman, PC-ekin bat datozen bi clusterrak alegia. Nonbait, sedimentuetan analizaturiko PAHen arteko korrelazio txikiagoak PC eta cluster kopuru altuagoa bideratzen du, eta ondorioz interpretazioa zaildu egiten du.

#### 4.5.4.3 Faktore-analisia

Faktore-analisia itxuraz aurkitu gabeko egiturak topatzeko askoarekin egin da. Analisi honetan osagai nagusietako erauzketa egin da eta Varimax errotazioa aplikatu egin da ere. Atxikitutako faktore kopurua hiru izan dira, bariantzaren %77.9 ordezkatuz.

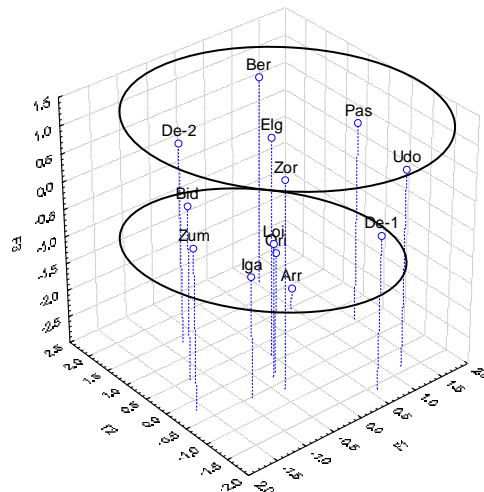
Aldagaienezako hiru faktoreekin lorturiko adierazpena **4.12 Irudian** ikus daiteke. FEN-FLT-PIR-BaA eta KRI 1 faktoreari (F1) egindako ekarpen adierazgarria antzeman daiteke; guztiak 0.750 baino zama handiagoekin. FLU eta NAF 2. faktoreari (F2) ekarpen handia egiten diote, 0.769 baino zama handiagoekin (NAF negatiboki). AZE eta ANT 3. faktoreari (F3) ekarpen handia egiten diote, 0.781 baino zama handiagoekin. Azkenik AZI definitu gabeko jokabidea aurkezten du, antzeko zama ekarpenak egiten baitizkie F1 eta F2-ri. F2 eta F3 bi eraztun aromatiko dauzkaten PAHei dagokie (NAF-FLU-AZE) eta hiru eraztuneko ANT; eta F1 hiru eraztuneko (FEN-FLT) eta lau eraztuneko (PIR-BaA-KRI) PAHei.





4.12. Irudia. Aldagaientzako (PAHak) F1-F2-F3-ren adierazpen grafikoa.

**4.13 Irudian** F1, F2 eta F3 faktoreen puntuazioekin sedimentuen kokalekuak adierazi dira. Sedimentuen talde bi ezberdinu daitezke, lehenengoa bi edo hiru faktoreetan puntuazio erdi-altuak dauzkan puntuak hartzen ditu (Bergara-Deba2-Elgoibar-Pasaia eta Udondo). Talde hau hiru-lau eraztun aromatiko eta FLU PAH-en kontzentrazio ertain-altuei duten kokalekuei dagozkie. Sedimentuen beste taldea aldiz, bi edo hiru faktoreetan puntuazio txiki-arinak duten puntuaz osatua egongo litzateke, PAH-en balio baxuagoak lortu diren lekuak hain zuzen.



4.13. Irudia. Sedimentuentzako F1-F2-F3-ren adierazpen grafikoa.

## **4.6 Ondorioak**

1.- PAHen erlazio isomerikoak kontutan hartuz, bai lur laginetan zein sedimentu laginetan ere, orokorrean kutsaduraren jatorri mistoa esleitu da, nahiz eta jatorri pirolitikoak duten laginak nagusitasun txiki bat aurkezten duten.

2.- Salbuespen gutxi batzuk ez ezik, eraldatu gabeko datuak baino, PAHen datuen logaritmoa, lur zein sedimentuetan, banaketa normal batera askoz hobeto egokitu dira.

3.- Adierazgarritasun altuko korrelazioak aurkitu dira hiru eta lau eraztun aromatikoko PAHetan. Korrelazio esanguratsuen kopurua eta garrantzi maila altuagoak izan dira lurren kasuan sedimentuetan baino.

4.- Cluster analisisian taldeak hobeto definitu dira distantzi Euklidearra eta Ward-en lotura metodoa erabili direnean (lutura bakuna baino gehiago). Hau PAHak eta laginketa puntuak aintzat hartzean eman da, bai lur laginetan zein sedimentu laginetan ere. PAHekin lur eta sedimentuen clusterra alderatu ezkerreko, argi ikus daiteke sedimentuetan cluster bat gehiago lortzen dela aldagaien kasuan (PAHak), taldekatutako PAHetan ezberdintasun txikiak daudelarik. Lur eta sedimentuetan laginketa puntuekin lorturiko dendogramei dagokionez, bi clusterren banaketa pisu molekular erdi-altuko PAHen kontzentrazioak baldintzatzen duela ematen du.

5.- Faktore analisiak, osagai nagusietan analisiari dagokionez egituren detekzio hobea baimendu du. Lurrean bi faktore nahikoak izan dira, bariantza osoaren %88.1-en erantzule izanik; sedimentuetan aldiz, kopurua hirura igotzen da, bariantzaren %77.9 batekin. Bai lurretan zein sedimentuetan, lehenengo faktorean ekarpen handia daukate hiru eta lau eraztun aromatikoko PAHak (FEN-FLT-PIR-BaA eta KRI). Bi eraztuneko PAHak modu ezberdinean banatzen dira, eta ANT F1-ra lotzen da lurretan, eta F3-ra sedimentuetan. Analizaturiko lur eta sedimentuen irudikapenak, finkatutako faktoreen arabera, kontzentrazio ertain-altuko hiru edo lau eraztun aromatikoko PAHen arabera laginketa puntuak ezberdintzea baimendu du.

Kontutan hartu behar da lortutako ondorioak PAH datu kopuru txiki batetik eskuratu direla, eta lagin kopuru mugatu batetik, hamar lur eta hamahiru sedimentu lagin. PAH kopuru

handiago bat eta lagin puntu ezberdin gehiagoren analisiak, ondorio orokor eta erabatekoak baimenduko lituzke.

## **4.7 Erreferentziak**

- Agarwal T. (2009). Concentration level, pattern and toxic potential of PAHs in traffic soil of Delhi, India. *Journal of Hazardous Materials*, 171: 894-900.
- Atanassova I., Brümmer, G.W. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons of anthropogenic and bio-pedogenic origin in a colluviated hydromorphic soil of Western Europe. *Geoderma*, 120:27-34.
- Barra R., Quiroz R., Saez K., Araneda A., Urrutia R., Popp P. (2009). Sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of the Biobio River in south central Chile. *Environmental Chemistry Letters*, 7: 133-139.
- Baumard P., Budzinski H., Michon Q., Garrigues P., Burgeot T., Bellocq J. (1998). Origin and Bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from Mussel and Sediment. *Estuarine Coastal Shelf Science*, 47: 77-90.
- Brereton R.G. (2003). *Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, pp.15–117.
- Brereton R. G. (2009). *Chemometrics for pattern recognition*. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom.
- Bihari N., Fafandel M., Hamer B., Kralj-Bilen B. (2006). PAH content and genotoxicity of coastal marine sediments from the Rovinj area, Northern Adriatic, Croatia. *Science of the Total Environment*, 366: 602-611.
- Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Piérard C. Garrigues P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58: 85–97.
- Culotta L., De Stefano C., Gianguzza A., Mannino M.R., Orecchio S. (2006). The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy). *Marine Chemistry*, 99:117-127.
- De Luca G., Furesi A., Leardi R., Micera G., Panzanelli A., Piu P.C., Sanna G. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the Porto Torres harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Chemistry*, 86: 15-32.

- Fang M.D., Lee C.L., Yu C.S. (2003). Distribution and source recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Hsin-ta Harbour and adjacent coastal areas, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin* 46:941-953.
- Guo W., He M., Yang Z., Lin C., Quan X., Wang H. (2007). Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Songhuajiang River (China) during different sampling seasons. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 42:119-127.
- Hartmann P.C., Quinn J.G., Cairns R.W., King J.W. (2004). The distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in Narragansett Bay surface sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 351-358.
- Hanrahan G. (2009). *Environmental Chemometrics: Principles and modern applications*. Analytical Chemistry Series, CRC Press. Taylor & Francis, Boca Raton, FL.
- Karakas D., Pekey B. (2005). Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Izmit Bay (Turkey). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 85: 433-442.
- Ko F.C, Baker J., Fang M.D., Lee C.L. (2007). Composition and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments from the Susquehanna River. *Chemosphere*, 66:277-285.
- Jiang J.J., Lee C.L., Fang M.D., Liu J.T. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal sediments of southwest Taiwan: An appraisal of diagnostic ratios in source recognition. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 752-760.
- Liu W.X., Chen J.L., Lin X.M., Tao S. (2007). Spatial distribution and species composition of PAHs in surface sediments from the Bohai Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 113-116.
- Liu Y., Chen L., Zhao J., Wei Y., Pan Z., Meng X.Z., Huang Q., Li W. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soil of Shanghai, China: Concentrations, distribution and sources. *Organic Geochemistry*, 41: 355-362.
- Luo X.J., Chen S.J., Mai B.X., Yang Q.S., Shenga G.Y., Fu J.M. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter and sediments from the Pearl River Estuary and adjacent coastal areas. *China Environmental Pollution*, 139: 9-20.
- Ma L.L., Chu S.G., Wnag X.T., Cheng H.X., Liu X.F., Xu X.B. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soils from outskirts of Beijing, China. *Chemosphere*, 58: 1355-1363.
- Miller N.J., Miller J.C. (2002). *Estadística y Quimiometría para química analítica*. Pearson educación S.A., Madrid.
- Mongay C. (2005). *Quimiometría*. Colección: Educació. Materials. Universitat de València.

- Moret S., Purcaro G., Conte L.S. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of soil and olives collected in areas contaminated with creosote released from of railways ties. *Science of the Total Environment*, 386:1-8.
- Morillo E., Romero A.S., Madrid L., Villaverde J., Maqueda C. (2008). Characterization and sources of PAHs and potentially toxic metals in urban environments of Sevilla (Southern Spain). *Water Air Soil Pollution*, 118: 41-51.
- Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Teil M.J., Blanchard M., Chevreuil M. (2004). Distribution and spatial trends of PAHs and PCBs in soils in the Seine River basin, France. *Chemosphere*, 55: 555-565.
- Nganje T.N., Edet A.E., Ekwere S.J. (2007). Distribution of PAHs in surface soils from petroleum handling facilities in Calabar. *Environmental Monitoring and Assessment*, 130: 27-34.
- Oros D.R., Ross J.R.M. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons in San Francisco Estuary sediments. *Marine Chemistry*, 86: 169-184.
- Pies C., Hoffmann B., Petrowsky J., Yang Y., Ternes T.A., Hofmann T. (2008). Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river bank soils. *Chemosphere*, 72: 1594-1601.
- Soclo H.H., Garrigues P., Ewald M. (2000). Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 387-396.
- Xu J., Yu Y., Wang P., Guo W., Dai S., Sun H. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface sediments from Yellow River, China. *Chemosphere*, 67: 1408-1414.
- Yim U.H., Hong S.H., Shim W.J. (2007). Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the marine environment of Korea. *Chemosphere*, 68: 85-92.
- Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell H.R., Goyette D., Sylvestre S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33: 489-515.
- Zhou J.L., Maskaoui K. (2003). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and surface sediments from Daya Bay, China. *Environmental Pollution*. 121: 269-281.



**ONDORIO OROKORRAK**





## Ondorio Orokorrak

Doktorego-tesi honen kapitulu ezberdinetan bildu diren ideia, ekarpen eta ondorio garrantzitsuenak honako hauek izan dira:

1. **Buru Guneko Fase Solidozko Mikroerauzketa (HS-SPME) teknika oinarritzat hartuz, ur, ur lixibatu, lur eta sedimentu bezalako matrize ezberdinetan, pisu molekular baxu eta ertaineko PAH ezberdinen aldibereko determinaziorako neurketa metodoen garapena egitea lortu da.** Matrizearen arabera erauzketa metodo bakoitzaren baldintzak erabatekoak edo bestekoak izan dira, sentikortasunaren gainean aldagai honek duen garrantzia agerian utziz. Baldintzarik leunenak uretan lortu dira (50°C, 60 min) eta bortitzenak aldiz sedimentuekin (80°C, 120 min). Matrize urtsuan lortutako detekzio mugak, matrize solidoekin lortutakoak baino hobeagoak dira. Lur eta sedimentuen analisisan, zuzenean Ur Beroko sistema aplikatzea (HW-HS-SPME) baliogarria dela frogatu da; zentzu honetan ikerketa gutxi topa daitezke, eta gaurkotasuna agerikoa da. Metodoak berresteko erreferentziazko materialak erabili dira (uretan izan ezik). Metodoen linealtasuna, errepikakortasuna, zehaztasuna eta detekzio mugak onak izan dira kasuan kasu, atal bakoitzeko ondorioetan azaldu den bezala.
2. **Diseinu esperimentalak aplikatu da ikerturiko hiru matrizeetan metodo ezberdinen garapenerako.** Garatutako erauzte-aurrekontzentrazio metodoen diseinuan oinarritako urrats bi dauzkate komunean: lehenengoa, selekzio metodoen bidez (faktorial zatikatua, Plackett-Burman) aldagai esanguratsuen eskuratzea, erauzketa eta desortzioa kontutan hartuz, eta bigarrena aldagai hauen optimizazioa diseinu konposatu zentralekin. Bi urratsetan Statistica<sup>®</sup> programa erabili da. Modu honetan informazio zehatz eta fidagarria lortu da saiakera kopuru txiki batekin, denbora eta kostua murriztuz, aldagai bakoitzaren banakako azterketaren aukeraren aurrean.
3. **Garatutako neurketa metodoak araketa edo miaketa metodo (*screening methods*) bezala onar daitezke.** Honelako metodo arin eta bakunak garatzea izan da hasierako helburu nagusi bat. Erabilitako tresneria eta aparatuak (GC-FID) eskuragarriak dira gaur egun edozein laborategi analitikoan. Honelako metodoek erantzun azkarra

bilatzen dute (positibo edo negatibo). Ez dute disolbatzaile organikoen beharra, hortaz ingurumenarekin adeitsuagoak dira. Optimizaturiko hiru prozedurak (ur, lur eta sedimentuentzako) ezaugarri hauekin bat datoz erabat.

4. **Garatutako metodoak Gipuzkoako ur, lur eta sedimentuen kutsadura azterketa egiteko erabili dira.** 10 PAH ezberdinen presentzia aztertu da: naftalenoa, antrazenoa, fluorantenoa, azenaftenoa, azenaftilenoa, fluorenoa, fenantrenoa, pirenoa, krisenoa, eta bentzo(a)antrazenoa. Gipuzkoako itsas zein ibai ur lagin errealen analisiek ez dute, orokorrean, PAHen kontzentrazio aipagarriak erakusten. Ur lixibatueta aldiz, kutsadura maila altuek argi adierazi dute jatorrizko lur horietan PAHen kontzentrazioa altua izan behar dela derrigorrez. Lurren azterketan, bi kokapen konkretuetan oso kontzentrazio altuak aurkitu dira, Donostia inguruko bi puntuetan hain zuzen: Amarako Gasifikadora zaharra kokatzen zen zonaldea, eta bestalde, Oriamendin, kreosotaz trataturiko egur biltegi batetan. Sedimentuen kasuan azkenik, analizaturiko zonalde guztietan PAHen presentzia baieztatu da. Kutsadura puntu altuenak Bergara, Udondo eta Pasaia izan dira hurrenez hurren. Biodibertsitatearen gainean eragina izan dezaketen kontzentrazioen hurbilpenen arabera, US-NOAA-ak ezarritako ERL (*Effects Range Low*) edo efektu baxuko mailen arabera alegia, hiru puntu hauek kutsadura maila adierazgarriak izango lituzkete.
5. **Lagin errealen azterketatik lorturiko datuen ebaluazioa egin da.** PAHen arteko erlazio isomerikoak kontutan hartuz, bai lur laginetan zein sedimentu laginetan ere, orokorrean kutsaduraren jatorri mistoa esleitu da, nahiz eta jatorri pirolitikoak duten laginak nagusitasun txiki bat aurkezten duten. Lur eta sedimentuetan laginketa puntuekin lorturiko dendogramei dagokionez, bi clusterren banaketa pisu molekular ertain-altuko PAHen kontzentrazioak baldintzatzen duela ematen du. Osagai nagusien analisiarekin alderatuz, faktore-analisiak egituren detekzio hobea baimendu du. Analizaturiko lur eta sedimentuen irudikapenak, finkatutako faktoreen arabera, kontzentrazio ertain-altuko hiru edo lau eraztun aromatikoko PAHen arabera laginketa puntuak ezberdintzea baimendu du. Kontutan hartu behar da lortutako ondorioak PAH datu kopuru txiki batetik abiatuz eskuratu direla, eta lagin kopuru mugatu batetik, hamar lur eta hamahiru sedimentu lagin hain zuzen ere. PAH kopuru handiago bat eta lagin puntu ezberdin gehiagoren analisiak, ondorio orokor eta erabatekoak baimenduko lituzke.

Memoria honetan jasotzen den lana honako publikazio eta komunikazio ezberdinak ahalbideratu ditu:

### **Publikazioak**

*“A Screening Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Determination in Water by Headspace SPME with GC-FID”*

Chromatographia 2007, 66, 773-777.

*“A Screening Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Determination in Sediments by Headspace SPME with GC-FID”*

Chromatographia 2009, 69, 175-178.

*“Comparison of Two Extraction Methods for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils Using Headspace SPME with GC-FID”*

Journal of Chromatographic Science 2009, 47, 97-102.

*“Evaluation of soil contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in Gipuzkoa (Northern Spain)”*

Soil & Sediment Contamination. Onartua.

### **Komunikazioak**

*“Experimental design applied to the determination of benzene, naphthalene, anthracene and fluoranthene in water using headspace solid-phase microextraction with GC-FID”*

JAI, Jornadas de Análisis Instrumental, Barcelona, 2005

*“Comparison of two extraction methods for the determination of indicative polycyclic aromatic hydrocarbons in soils using headspace solid-phase microextraction with GC-FID”*

12th Symposium on Sample Handling for Environmental and Biological Analysis, Zaragoza, 2006

*“Evaluation of surface sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in some rivers and estuaries of the Biscay Bay (Spain)”*

IX International Symposium on Analytical Methodology in the Environmental Field, Pollensa, Mallorca, 2007.



