

1 LAGINAREN AURRETRATAMENDUA

(II): ANALITO ORGANIKOAK

Helburuak

- Analisi organikoaren aurretratatamenduen berezitasunak eskeintzea.
- Analito organikoen erauzketan erabiltzen diren metodoak aurreikustea.
- Fase solidoko erauzketa erakustea.
- Metodo analitikoen aukera zabala ematea.

Bibliografia

- K.A. Robinson J. F. Robinson, *Análisis instrumental*, Pearson educación S.A. Prentice Hall, Madrid, 2001
 - J.R. Dean, *Extraction methods for environmental analysis*, Wiley, Chichester, 1998
 - Ll. R. Snyder, J.J. Kirkland, J.L. Glajch; *Practical HPLC method development*, 2. ed. John Wiley & Sons, New York, AEB, 1997
-

1.1 Sarrera

Aurreko atalean nabarmendu dugunez, lagainaren prestatze-lanak operazio-sorta asko biltzen ditu lagina egokitzeko asmoarekin. Analitoak organikoekin, beraz, bete nahi diren helburuak aipatutakoak dira, alegia, interferentzirik gabeko lagina prestatzea, separazio-teknikarekin bat datorren lagina bideratzea, eta galerarik gabe eta berreskurapen errepi-kakorra duen prozedura abiatzea. Adibidez, 1.1 taulan bildutako aukerak orokorrak dira, bai analito ez-organikoekin edo organikoekin.

Hala ere, analito organikoekin -determinazio-sisteman sartu baino lehen bereziki- erabiltzen diren determinazio teknikak **separazio kromatografikoa** erabiltzen dute, batez ere

Taula 1.1: Laginaren prestatzearen aukerak.

Aukera	Oharrak
Laginaren biltzea	Lagin adierazkorra lortzea
Laginaren gordetze eta babesa	Ontzi egokiak eta inerteak
Hasierako laginaren prestatzea	Ehoketa, lehorketa, etab...
Pisatzea eta diluzio bolumetrikoa	Beirazko tresna egokitua, kalibratua
Lagina tratatzeko beste metodoak	Liofilizazioa, disolb. aldaketa, lurrunketa...
Partikulen eliminazioa	Iragazketa, fase solidoko erauzketa...
Laginaren erauzketa	Lagin solidoko metodoak
Deribatizazioa	Separazio edo determinazio-baldintzak egokitu

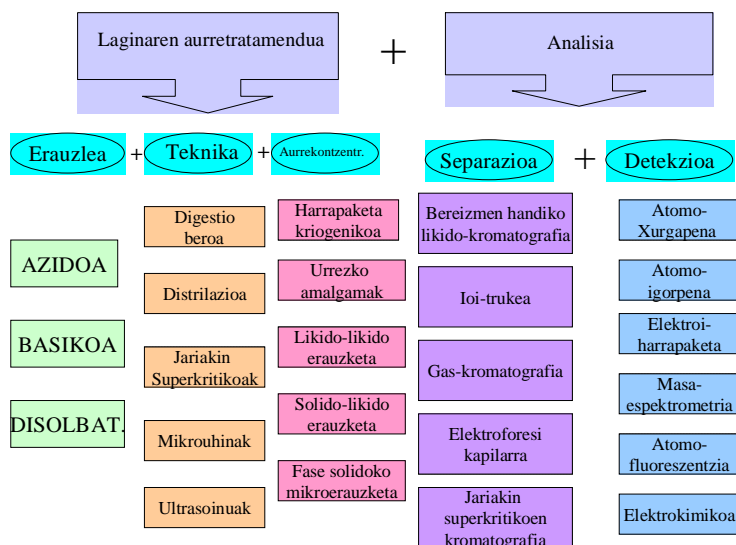
gas-kromatografia (GC), likido-kromatografia (LK)¹ edo elektroforesia. Hori dela eta, laginaren prestatetak zein den erabiliko den teknika kromatografikoa kontuan izan behar du. Adibide gisa, laginaren tratamendurako, separaziorako eta determinaziorako aukera erabilienak laburbildu dira 1.1 irudian.

Kromatografia-metodoak automatikoak badira ere, lagina prestatzeko metodoek eskulan handia behar dute. Hori dela eta, laginaren tratamenduak gainontzeko operazio analitikoak baino denbora eta ahalegin gehiago eskatzen du. Zentzu honetan, arreta berezia du doitasunaren eta zehaztasunaren beharrak, laginaren prestatzearen xehetasunak oso ondo planifikatu behar baitira.

Lagina prestatzeak haxe ziurtatu behar ditu: analitoen **berreskurapen kuantitatiboak** modu errepikarrokean ahalik eta urrats gutxienekin eta, ahal den neurrian, bide automatikoen bitartez. Berreskurapen kuantitatiboak bi ondorio ditu: prozeduraren detekzio-mugarena eta doitasunarena. Kuantitatibitasuna ez bada maila handikoa detekzio mugarekin arazoak izan daitezke, eta ez bada oso errepikakorra, orduan metodoaren doitasuna kolokan egon daiteke. Hori dela eta, lagina prestatzeko operazio gehienak automatikoak badira, errepikakortasunaren baldintza errezago beteko da.

Determinazio analitikoaren deskripzioa urrats eta operazio askoren segida dela aipatu dugu. Urrats bakoitza, bere baitan harturik, erraz ulertu eta kontrolatuko dugu, baina metodo analitikoa garatu edo emaitza analitikoa eman behar denean, segida hori ahalik eta egokien aukeratu behar da, emaitza kate horren azken ondorioa baita.

¹LK: Likido kromatografiaren laburdurari HPLCaren baliokidetza eman nahi diogu testean zehar, esan-gura zabalagoa badu ere



Irudia 1.1: Laginaren tratamendurako, separaziorako eta determinaziorako aukeren bilduma.

1.1.1 Lagin-mota

Analito organikoen erauzketarekin hasi baino lehen ezagutu behar dugu laginen ezaugarriak. Oro har, analito organikoak **matrize organikoetan** (biologikoak barne) eta **ez-organikoetan** aurkituz gain, egoera fisiko guztietan ager daitezke; hala nola, solidoak, semisolidoak (gelak, esekidurak, koloideak, etab.), likidoak eta gasak ditugu. Laginaren konposizioaren eta egoera fisikoaren arabera aukera daitezkeen prozedurak desberdinak dira. Adibidez, gas-laginak ia beti gas-kromatografiaren bidez analizatzen diren arren, oso ezegonkorak direnak, termikoki apurkorak edo gainazal metalikotan adsorbatzeko joera dituztenak, kromatografia likidoaren bidez analiza daitezke. Horretarako, analitoak harrapatzeko bide bereziak erabili behar dira, esaterako: i) euskarri solidoaren zehar pasarazi ondoren, bertan harrapatutako osagaiak disolbatzaile egokiarekin disolbatzea; ii) disolbatzaile baten zehar burbuilatuz gero, osagaiak bertan disolbatzeko edo harrapatzeko. Aipaturiko edozein bide giro-tenperaturatan egin daiteke edo, harrapatzea hobetzeko, temperatura baxuagotan egin daiteke. Azken baldintza horretan tranpa kriogenikoak erabiltzen ditugu, bai CO_2 likidotan ($-20\ ^\circ C$) edo N_2 likidotan ($-150\ ^\circ C$).

Solidoen edo likidoen prestatze-lanak errazagoak dira gasenak baino. Askotan, edozein kromatografia erabili baino lehen, lagina likidoa bada bereziki, diluzioa besterik ez da egin behar. Lagina solidoa bada, prozedurak astunagoak izan daitezke. Zenbaitetan, lagina erraz disolba daiteke eta, behin diluitu den, separaziori ekin dakioke. Bestetan, aldiz, analitoak matrize solidotik erauzi edo lixibiatu behar dira separazioa baino lehen. Analitoaren eta matrizearen arteko atxikidura nolakoa den arabera, erabili behar den prozedura

samurra edo zorrotza izan daiteke. Prozedura zorrotzen artean, teknika hauen bitartez ditugu erauzketa erabilienak: Soxhlet, mikrouhina, jariakin superkritikoa, eta presiopeko jariakina. Behin analitoak kuantitatiboki erauzi ondoren, lortutako fase likidoak prestatze-lan osagarria izan dezake edo zuzenean separazioari eta determinazioari ekin dakieke.

1.2 Lagin solidoaren lixibiazio- edo erauzketa-prozedurak

Lagin ez-organikoekin eta analisi elementalarekin ez bezala, analisi organikoan gutxitan aurreikusten dira lagin osoaren disoluzioa edo deskonposizioa. Are gehiago, matrizearen eragozpenak gutxiarazteko asmoarekin, erauzketa selektiboak aztertzen eta erabiltzen dira. Hori dela eta, lixibiazioari dagozkion xehetasunak aztertuko ditugu segidan.

Orokorrean, lixibiazio-prozedurak edo solido-likido erauzketak baldintza fisiko-kimiko jakinak ditu eta, bestek beste, behekoak funtsezkoenak direla onartuko ditugu:

- **Disolbakortasuna eta masa-transferentzia:**

- Disolbatzailearen gaitasuna analitoak disolbatzeko tenperaturarekin mendetasun zuzena du.
- Temperatura garaia-goetan difusio-abiadurak handiagoak dira.
- Disolbatzaile garbia -analitorik gabea, hain zuzen- sartzerakoan masa-transferentzia hobetuko da disolbatzailearen eta laginaren matrizearen gainazalaren arteko gradientea handiago baita.

- **Gainazal-orekaren apurketa:**

- Temperatura altuek solutuaren eta matrizearen arteko lotura sendoak apur ditzakete.
- Temperatura igotzerakoan disolbatzailearen likatasuna jeitsi eta ondorioz, disolbatzailea matrizean hobeto sar daiteke.
- Presio altuetan disolbatzailea likidoa izango da nahiz eta haren irakite-puntutik gorago egon.
- Presioa altua denean, matrizearen barneko zirrikituetan dauden analitoak hobeto erauziko dira, disolbatzailea barneago sartzen baita.

Baldintza guztiak kontuan izanez gero, garaturiko prozedurek eta teknikak bide bata edo bestea landuko dute ahalik eta erauzketa-maila handien izateko. Lagin solidoak lixibiatzeko erabiltzen diren metodoen artean, 1.2 taulan erabilienak bildu ditugu zenbait xehetasunekin batera.

Taula 1.2: Lagin solidoen erauzketarako teknika instrumentalak.

Erauzketa-teknika	Oinarrizko prozedura	Oharrak
Presiopeko disolbatzailearen bidezko erauzketa (ASE)	Erauzketa gertatuko da lagina ontzi itxian kokatu eta disolbatzailearen irakite-tenperatura baino gorago berotu eta presio pean izan ondoren.	Oso prozedura automatiztua da. Erauzketa etekin altukoa eta prozedura azkarra izaten da.
Jariakin gainkritikoaren bidezko erauzketa (SFE)	Erauzketa gertatuko da lagina fluxu-ontzi berezian kokatu eta horren zehar CO ₂ -a gehi beste disolbatzailea egoera gainkritikoan pasarazi ondoren.	Sistema automatiztua da eta GC sistemarekin elkar daiteke. Disolbatzailea (CO ₂) merke samarra eta ez da toxikoa.
Mikrouhinaren bidezko erauzketa (MAE)	Lagina eta disolbatzailea ontzi berezian kokatu eta mikrouhinaren bidez berotuko ondoren erauzketa gertatuko da.	Disolbatzaileak absorbatu behar ditu mikrouhinak, beraz arinki polarrak izan behar dira.

1.2.1 Soxhlet erauzketa

Lagin solidoetan dauden konposatu organikoak erauzteko Soxhlet-a da teknikarik sinpleena eta arruntena. Soxhlet erauzketa behin eta berriro errepikatzen den **distilazio-prozesuan** datza. Lagina erauzketarako kartutxoan sartu eta analitoak behin eta berriro berzirkulatzen ari den disolbatzaile garbiarekin erauzten dira.

Soxhlet erauzketak erakuts dezakeen abantailen artean, hauek dira aipagarrienak:

- Erauzketa metodo estandarra da.
- Laginaren kantitate handiak erabil daitezke.
- Iragazketa ez da beharrezkoa.
- Erauzketa-teknika ez da matrizearen mendeko.
- Teknika merkea da.

Hala ere, Soxhlet erauzketak baditu eragozpen batzuk ere. Erauzketa-denbora **luzea** da (24-48 h), disolbatzailearen **bolumen handiak** erabili behar dira (300-500 mL lagin bakoitzeko) eta, horren ondorioz, disolbatzailea eliminatzeko -analitoak kontzentratzeko- bolumen gehiena lurrundu behar da.

Soxhlet erauzketarako tresna askok arreta gabeko lana onartzen dute, hau da, erauzketak automatizazio maila garaia du. Automatizatutako Soxhlet erauzketan, lagina kartutxoan sartu eta lagina daraman kartutxoa 30-60 min-tan zehar irakiten ari den disolbatzailean sartzen da. Ondoren, lagina igo eta berzirkulatzen ari den disolbatzailearen bidezko Soxhlet erauzketa egiten da. Soxhlet automatiko horrek ohiko Soxhlet-ak baino erauzketa-denbora laburragoak behar ditu.

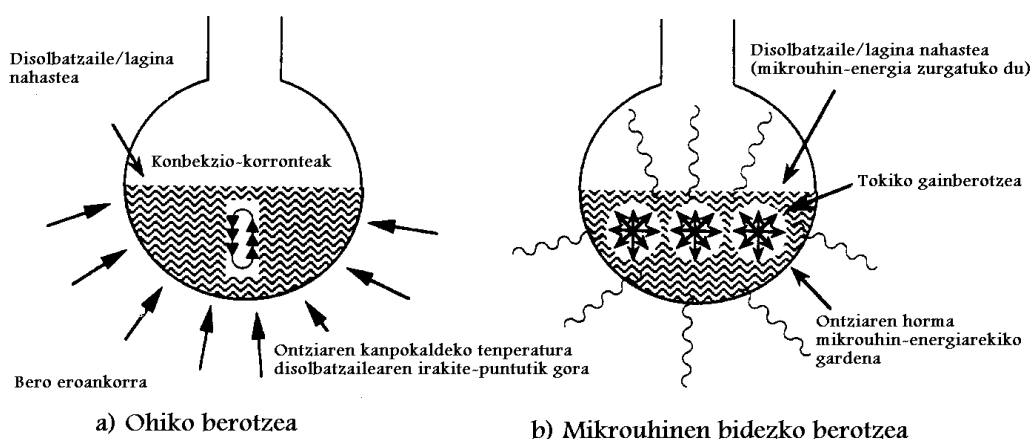
Sonikazioa ere ohiko erauzketa-teknika erabilia da. Soxhlet erauzketa baino azkarragoa da (30-60 min behar izaten dira lagin bakoitzeko). Soxhlet erauzketa berez merkea da, ez du matrizearen mendetasunik eta laginaren kantitate handiak (10-30 g) erabil daitezke kasu honetan ere. Soxhlet erauzketak disolbatzailearen bolumen handiak erabili behar ditugu (300-500 mL), lan gehiago dakar eta erauzketa ostean iragazketa beharrezkoa da.

EPAren 3540, 3541 eta 3550 metodoek Soxhlet erauzketa, automatizatutako Soxhlet erauzketa eta sonikazioa aurrera eramateko prozedurak zehaztu dituzte.

1.2.2 Mikrouhinen bidezko erauzketa (MAE²)

Mikrouhinak espektro elektromagnetikoaren irrati-frekuentzien eta infragorri-eremuaren artean kokatuta dauden maiztasun altuko (0.3-300 GHz) uhin elektromagnetikoak dira. Mikrouhin-energia **erradiazio ez-ionizagarria** da eta, ioien eta dipoloen errotazioaren bidez, energia elektromagnetikoa **bero-energia** bihur dezake. Eremu elektromagnetiko horretan, ioiek migratzeko joera dute, baina disoluzioak ioien fluxu horren aurka erresistentzia egiten du eta, horrela, marruzkaduraren ondorioz, disoluzioa berotzen da. Izan ere, dipoloen errotazioaren kasuan, 2450 MHz-tara dipoloak $4.9 \cdot 10^9$ aldiz segunduko ordena eta desordena daitezke.

Horrez gain, mikrouhinaren bidezko beroketa ez da ohiko bidearen bezalakoa, 1.2 irudian ikus daitekeen bezala. Ohiko bidean disoluzioa konbekzioz berotzen da eta, berriz, mikrouhinen bidez disoluzioa barnetik eta toki askotan aldi berean berotzen da.



Irudia 1.2: Berotze-mekanismoen adierazpena: a) ohiko berotzea eta b) mikrouhinaren bidezkoa

Azkenik, erauzketa hauetan hautatzen den disolbatzailea garrantzitsua da oso. Mikrouhin bidezko erauzketan (MAE delakoan) mikrouhin-energiak hexanoa edo toluenoa bezalako disolbatzaile ez-polarretan ez duela eraginik eta, beraz, **disolbatzaile polarra** (azetona, metanola, DCM, etab.) gehitzea beharrezkoa dela kontuan hartu behar dugu.

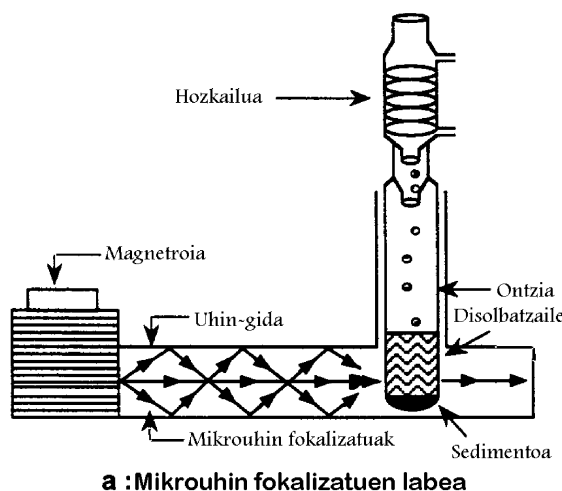
Labeei dagokionez, mikrouhinaren energiaren bidez, erauzketak presio garaietan edo giro-presiopean aurrera eramán daiteke; hots, erauzketa-ontzia itxia edo irekia izan daiteke, hurrenez hurren.

Horrez gain, erauzketarako **ontziak gardenak** izan behar dira mikrouhinaren aurrean. Hori

²MAE: microwave assisted extraction

dela eta, polieter imidazkoak edo tetrafluorometoxil polimerozkoak dira eta perfluoroalkoxizko edo Tefloizko estaldura daukate. Labe gehienetan, labean sartzen diren ontzietatik batean presioa edota temperatura kontrola daitezke. Horretarako, ontzi horren estalkia aldatua dago presioa neurtzeko hodia edo temperatura kontrolatzeko zuntz optikoa sartzeko. Baliabide hauei esker, lan egiteko presioa eta temperatura kontrola daitezke, hau da, magnetroiaren (mikrouhin-iturriaren) pizketa-maiztasuna aldatuz, presioa/temperatura aukeratu diren mailan mantenduko dira.

Izan ere, ontzi itxiko mikrouhinetan lor daitekeen temperatura disolbatzailearen irakite-puntuaren gainetik dago. Disolbatzaile eta disolbatzaile-nahaste gehien kasuan (azetona, azetona:hexano, diklorometano:azetona, etab.), ontziaren barruan lortutako tenperatura, disolbatzailearen irakite-tenperatura baino 2-3 aldiz garaiagoa da. Temperatura horiei esker, erauzketaren eraginkortasuna oso ona izaten da. Era berean, ontzi barruko presioa 20 bar-era edo gehiagora hel daiteke, ontzia zerezkoa den arabera.



Irudia 1.3: Ontzi irekeko mikrouhinaren errepresentazioa irudia

Ontzi irekiko mikrouhinei dagokienez, lagina hodi sakonaren hondoan kokatzen da eta zuzenean mikrouhin-izpiaren eraginpean dago, 1.3 irudian ikus daitekeen bezala. Nahi izanez gero, adibidez osagai lurrunkoren galerak saihesteko, erauzketa-ontziaren gainean hozkailua erabil daiteke. Beste baldintza batzuetan, hozkailua kenduz gero, disolbatzailearen lurrunketa lor daiteke eta, bide batez, erauziaren kontzentrazioa handitu.

Hasiera batean mikrouhin-energia metal-aztarnen analisirako aplikatu bazen ere, gaur egun konposatu organikoen erauzketarako ere aplikatu daiteke. Mikrouhin bidezko erauzketak dituen abantailen artean hauek aipa ditzakegu :

- Erauzketa azkarra (30-60 min).

- Disolbatzailearen bolumen txikia.
- Aldagai instrumentalen (denboraren, potentziaren, tenperaturaren) kontrol osoa.
- Lagina irabiatzeko aukera.
- Laginak ez dira lehortu behar (lagin hezeak erabili daitezke).
- 8-12 lagin aldi berean egin daitezke ontzi itxiko labeetan.

Mikrouhinen bidezko erauzketak baditu zenbait desabantaila ere. Ontzi itxiko MAEaren kasuan, adibidez, erauziak iragazi behar ditugu. Horrez gain, disolbatzaile polarrak erabili behar ditugunez, disolbatzaile hori aldatu behar da gas-kromatografiaren bidezko analisisa baino lehen, GC-an askoz egokiagoak baitira disolbatzaile apolarrak. Azkenik, mikrouhinen bidezko erauzketarako ekipoei kostu ertaina dute.

1.1 Adibidea. MAE-ren bidezko lurzoru kutsatuen PAH-ren erauzketa. Honelako baldintzetan egin daiteke erauzketa:

Laginaren masa : 2 g

Disolbatzailea: azetona:hexano (4:1) nahastearen 25 ml.

MAE-ren baldintzak: potentzia: %30 (950 W-ko sistemari dagokionez); tenperatura: 120°C; erauzketa-denbora: 20 min.

Behin erauzketa bukatu den, zain behar da ontziak hoztu arte. Geroago, gainean geratu den disolbatzailea iragazi behar da GF³. Azkenik, solidoa ongi garbitu ondoren, lurruntzeraino eraman daiteke erauzkina edo disolbatzailearen bolumen txikira (0.5 ml). Edozein kasutan, hondarren gainean barne estandarrak gehitzen dira eta, geroago, analizatzen da.

1.2.3 Presiopeko jariakinen bidezko erauzketa (PSE⁴)

Presiopeko jariakinen bidezko erauzketan (PSE delakoan), konposatu organikoak tenperatura (50-200°C) eta presio (1500-2000 psi) garaiei esker erauzten dira.

PSEak dituen abantailak hauexek dira :

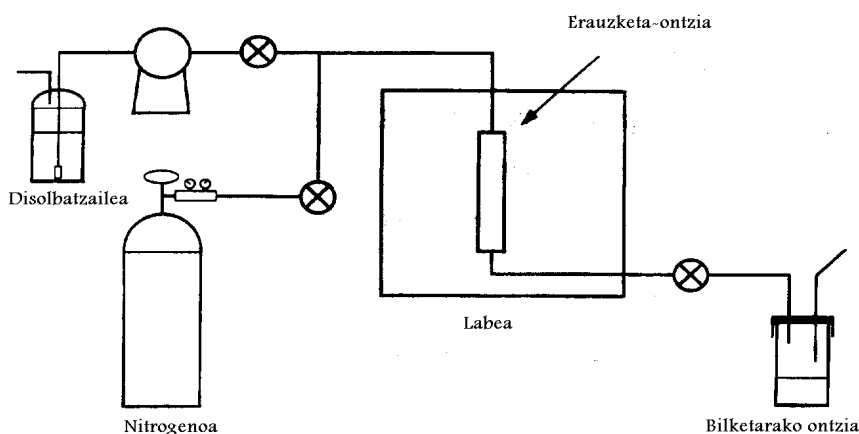
- Erauzketa azkarra (~15 min).
- Disolbatzailearen bolumen txikiak behar dira (15-40 mL).

³Glass fiber (beira-ehuna)

⁴PSE: Pressurized Fluid Extraction

- Iragazketa ez da beharrezkoa.
- Automatizatuta dago: 24 laginen erauzketa jarraia egin daiteke.
- Erraza erabiltzeko.

Hala ere, PSE teknika garestia eta matrizearen mendekoa da. ASE (*Accelerated Solvent Extraction*⁵) izeneko sistemaren eskema 1.4 irudian ikus daiteke.



Irudia 1.4: Dionex etxeko ASE sistemaren eskema

Egun Dionex-ek fabrikatzen duen PSErako ASE⁶ sistema eta Applied Separations-ek egiten duen PSE delakoa dira erabiltzen diren bakarrak.

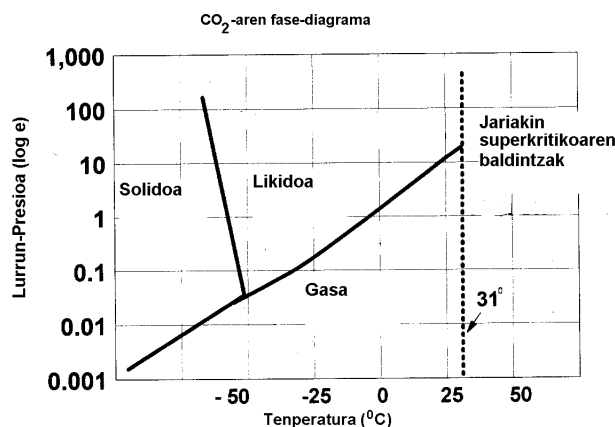
1.2.4 Jariakin gailkritikoen bidezko erauzketa

Jariakin gailkritikoen ezaugarriak paregabeak dira erauzketak egiteko, hau da, likidoen eta gasen bitarteko ezaugarriak dituzte. Alde batetik, haien likatasuna eta gainazal-tentsioa likidoena baino askoz txikiagoa da. Horrela, likidoak baino errazago sar daitezke solidoen poroetan. Bestaldekik, haien dentsitateak, aldiz, likidoen dentsitateetatik gertuago daude eta, beraz, likidoek bezala, material disolbatuak garraiatzeko ahalmena dute.

Jariakin gailkritiko desberdinak aztertu badira ere (N_2O , SF_6 , NH_3), karbono dioxidoarena (CO_2 -arena) da erabiliena. Jariakin gailkritiko moduan, karbono dioxidoaren abantailak hauexek dira:

⁵Dionex, AEB

⁶Accelerated Solvent Extraction



Irudia 1.5: CO₂-aren fase-diagrama eta jariakin gainkritiko gisa aurkitzeko baldintzak.

- Egoera gainkritikoa tenperatura (31.3⁰C-tan) eta presio (72.9 atm) baxu samarretan lor daiteke, 1.5 irudian dagoen fase-diagraman ikus daitekeen bezala.
- Ez da toxikoa, sukoia edo korrosiboa.
- Inertea da.
- Zenbait analito disolbatzeko ahalmen handia du.
- Ez da garestiegia.

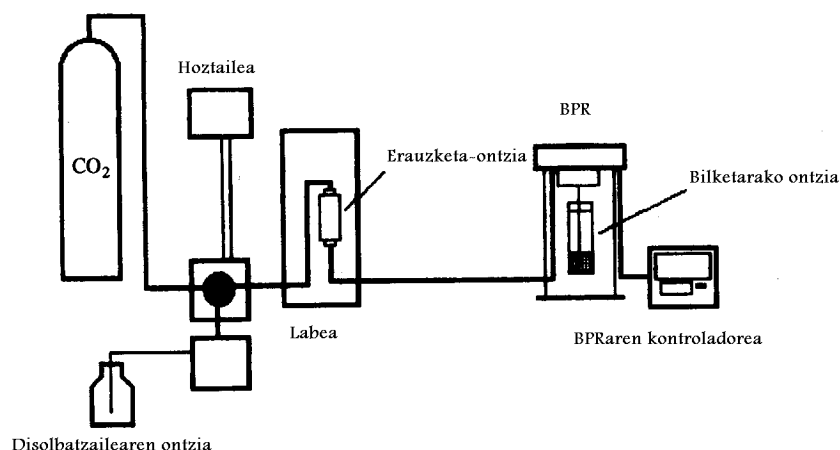
Hala ere, ez-polarra denez, analitoak disolbatzeko gaitasuna handitzeko azetona edo metanola bezalako disolbatzaileak gehitu behar ditugu.

Hori dela eta, lagina presio garaiko ganbaran sartu eta jariakin gainkritiko batekin (adibidez, karbono dioxidoarekin 150-450 atm-tan eta 40-150⁰C-tan) osagai organikoren erauzketa (SFE⁷ delakoan) lor daiteke. Azkenik, presioa askatu ondoren, analitoak disolbatzaile organiko batean edo tranpa batean bilduko dira.

Nahiz eta jariakin gainkritikoen bidezko erauzketa gehienak lerroz kanpokoak izan, SFE lerroan ere egin daiteke. Hau da, erauzketa bi urrats independente gisa erabil daitezke erauzketarena eta analisiarena, edo, SFE/GC (jariakin gainkritikoen bidezko erauzketa/gas-kromatografia) edo SFE/SFC (jariakin gainkritikoen bidezko erauzketa/jariakin gainkritikoen bidezko kromatografia) loturak prestatu dira. Alde batetik, lerroko SFE-arekin, erauzi guztia analiza dezakegu, hots, ez dugu transferentziaren arriskuak izaten. Horrela, lagin txikietan sentikortasun altua behar dugunean egokia da. Bestaldetik, lerroz kanpoko teknika errazagoa da eta lortutako erauzietan analisi bat baino gehiago egin daitezke.

⁷Supercritical Fluid Extraction

Jariakin gainkritikoen bidezko erauzketa lerroz kanpo egiten denean, erauzitako analitoak bildu behar dira. Horretarako, tranpa likidoa edo gainazal solidoa erabil daiteke. Tranpa likidoa analitoak ondo disolba ditzakeen disolbatzailea da. Kasu horietan, gainera, CO₂-aren burbuilaketak analitoen galerak ekar ditzake oso bortitza bada. Gainazal solidoen kasuan, analitoak jariakin gainkritiko baten bidez edo beste moduren batean (nitrogeno likidoaren bidez) hoztutako gainazal solido batean (beirazko ontzitzoetan, altzairu erdoilgaitzezko bolatxuetan eta beirazko bolatxuetan) bilduko dira. Ondoren, kriogenikoki eta kimikoki harrapatutako analitoak disolbatzaile batekin eluituko dira.



Irudia 1.6: SFE sistemaren eskema

Jariakin gainkritikoen bidez erauzketa azkarrak (30-60 min) egin daitezke. Presioaren, tenperaturaren eta polaritatea gehitzeko disolbatzailearen kantitatearen arabera selektibitatea lor daiteke. Disolbatzailearen bolumen txikiak (5-10 mL) erabil daitezke, ez dago iragazketarik eta automatizatu dago. Ohiko ekipoen 1.6 eskema irudian ikus daiteke.

Hala ere, erauzketa-teknika garestia eta matrizearen mendekoa izateaz gain, sar daitekeen laginaren kantitatea mugatua da (< 10 g). Askotan lagina ehotzeak etekina hobe dezake, baina laginaren partikulak lar txikiak direnean lagina trinkotu, presioa jeitsi eta fluxuaren jariokortasuna oztoka dezake.

Azkenik, lagin solidoen prestatzerako edo erauzketarako metodo erabilien xehetasunak erkatu ditugu 1.3 taulan.

1.2.5 Purga-eta-tranparen bidezko erauzketa

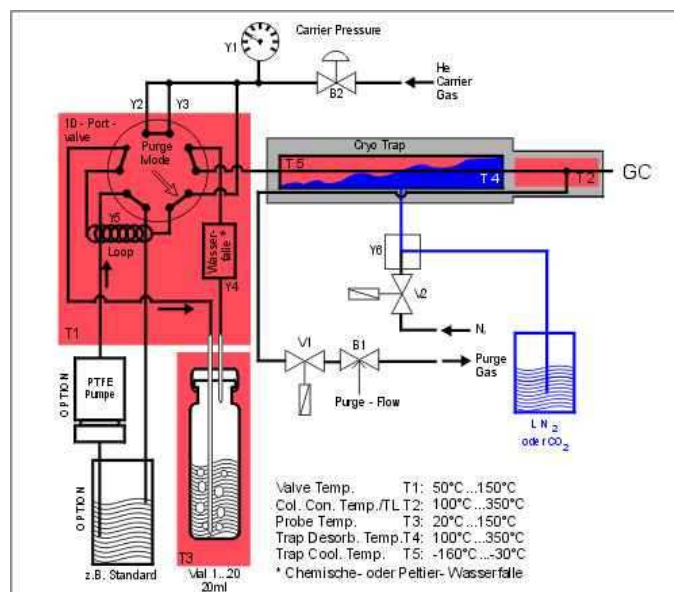
Purga-eta-tranpa (P-eta-T) konposatu lurrunkorren analisirako erabil daitekeen teknika da. Analito lurrunkorrek solidotan eta, batez ere, likidotan xurgaturik egon daitezkeenez atal

Taula 1.3: Lagin solidoen prestatzerako erauzketa metodoen konparazioa

Parametroa	Sonikazioa	Soxhlet	SFE	ASE	MAE	FMAE
Laginaren tamaina (g)	20-50	10-20	5-10	5-15	2-5	2-10
Disolbatzailearen bolumena (ml)	100-300	200-500	10-20	10-15	30	20-30
Tenperatura (⁰ C)	Giroa-40	40-100	50-150	50-200	100-200	<100
Presioa (psi)	Giroa	Giroa	2000-4000	1500-2000	1500-2000	Giroa
Denbora (h)	0.5-1	12-24	0.5-1	0.2-0.3	0.2-0.3	0.1-0.2
Automatizazio-maila (*)	0	0	+++	+++	++	++
Lagin kopurua	Altua	1	44	24	12	12
Balioa (**)	Baxua	Oso baxua	Altua	Altua	Ertaina	Ertaina

* O: ez da automatizagarria; + atinki automatizagarria; ++ nahiko automatizagarria; +++ oso automatizagarria

** Oso baxua: <1000 E; baxua: <10.000E; ertaina: 10.000-20.000 E; altua: >20.000E



Irudia 1.7: P&T instrumentoaren eskema orokorra.

honetan kokatu dugu deskripzio hau. Izan ere, aztertuko diren prozesuak gas-likido edo gas-solido erauzketak dira. 1.7 Irudian dagoen eskema orokorrean ikus daitekeen bezala, purga-eta-tranparen bidezko erauzketa- eta determinazio-prozesuak pauso hauek segitzen ditu:

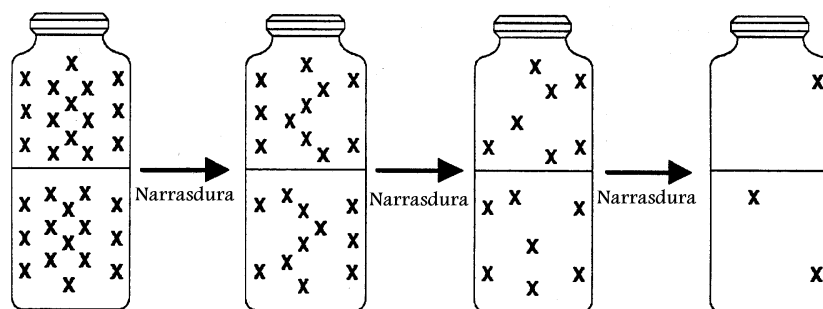
1. Laginaren kantitate ezaguna ontzi itxian sartuko dugu.
2. Gas inerteak laginean dauden konposatu lurrunkorrak narrastuko ditu.
3. Konposatu lurrunkorrak tranpa solidoan adsorbatuak geratuko dira.
4. Tranpa berotuz gero, konposatuak desorbatu eta gas-kromatografora bideratuko dira.
5. Gelditu izan diren hondakinak garbitzeko, analitoak harrapatuak izan diren tranpa adsorbentea berriro berotuko da.
6. Gas-kromatografoak konposatu lurrunkorrak banandu eta detektatu ondoren laginaren kromatograma lortuko dugu.

Instrumentazioaren erabilerak, bestalde, hiru egoerak bereizten ditu :

- Purga.
- Desortzioa.

- Labean gainberotu.

Purga-pausoa gas-erauzketa baino ez da, 1.8 irudian ikus daitekeen bezala. Hots, erabiltako gasek lagin solidoaren edo likidoaren analito lurrunkorrek harrapatuko ditu orain azalduko dugun bezala:



Irudia 1.8: Purga eta tranparen adierazpen grafikoa

Demagun ontzi itxi batean konposatu lurrunkorrek dituen lagina (solidoa zein likidoa) dugula eta lagainaren eta ontziaren arteko espazioa (buru-gunea) asetu gabe dagoela. Bi fase horien arteko konposatu lurrunkorren banaketa Henry-ren konstantearen menpe dago. Alde batetik, orekan dagoen gasa analizatuko bagenu, buru-gunea (*headspace*) deritzon erauzketa-teknika izango genuke. Bestaldetik, gas-fasea purgatuko balitz, hau da, ahalik eta analito gehien narrastuko bagenu -gas-fase garbia etengabe sarturik- eta askatutako analitoak tranpa batean harrapatuz gero, purga-eta-tranpa teknika edo buru-gune dinamikoa lortuko genuke.

Teknika honetan aldagairik eraginkorrena **denbora** da. Alde batetik, purga-denbora kontrolatu behar da bi ondorio baititu: lehendabiziz, lagina gehiegi purgatuz gero, tranpa aseturik gera daiteke eta galerak gerta baitaitezke; bigarrenez, purga gehiegi irauten bada, tranpan adsorbatutako analitoak narrastuko ditu eta betirako galduko dira.

Beste aldagai inportantea **temperatura** da. Sistema hauetan bi guneren temperatura kontrola daitezke: lagina purgatzeko ontzia eta tranpa. Lehendabiziko gunea berotuz gero, analito lurrunkorrek gas-fasera aiseago pasatuko dira. Aukera hori erabilia izaten da analitoaren eta matrizearen arteko ekintzak sendoak direnean (hondakin solidoetan, lurzoruetan, etab.-etan). Edonola ere, ez da gehiegi berotu behar, bestela analitoak tranpa zeharkatuko lukete eta galerak adierazgarriak izango lirateke. Bigarren gunea tranpa da. Alde batetik, analitoak tranpan harrapatzen dira eta harrapaketa hobesteko tranparen temperatura gutxi daiteke. Bestaldetik, tranpa bapatean berotu behar da analitoen desortzioa

lortzeko. Analitoak tranpan pilatzen ari garen bitartean, tranparen tenperatura baxua izan behar du, 30⁰C azpitik. Tenperatura oso baxuak lortu nahi baditugu tranpa CO₂ edo N₂ likidoa erabil daitezke. Tranparen materiala desberdina izan daiteke: tenax, silize gela, landare-ikatz etab., harrapatu nahi ditugun analitoen arabera.

Azkenik, desortzioa baino tenperatura garaiagotan berotzen da tranpa hurrengo analisia hasi baino lehen. Horrela, tranpan eta gainontzeko bideetan gera daitezkeen arrastoak ezabatuko dira.

Purga-eta-tranpak eta buru-guneko teknikak abantailak eta desabantailak dituzte. Purga-eta-tranparen bidez sentikortasun garaiagoak lor daitezke baina buru-gunearen kostua txikiagoa eta lagin asko analizatzea errazagoa da.

1.3 Lagin likidoak egokitze prozedurak.

1.3.1 Iragazketa

Aurreko edozein bidetik badator edo berez likidoa bada ere, lagina iragaztea komenigarria da oso, batez ere, beste separazio-sistema batera eraman baino lehen. Iragaztea nahitaezkoa da, adibidez, LK erabili nahi izanez gero. Iragazketaren helburu nagusia *materia partikuladuna ezabatzea* da eta horretarako zentrifugazioa edo sedimentazioa erabil daitezke ere, iragazketak eskeini ditzake aukerarik zabalena. Iragazketaren xehetasunak 1.4 taulan bildu ditugu garrantzitsuenak.

1.3.2 Fase solidoko erauzketa (SPE⁸)

Fase solidoko erauzketa **interferentziak eliminatzeko**⁹ teknikarik erabiliena da. Izan ere, likido-likido erauzketaren ordeko teknika dugula esan daiteke. Hori dela eta, likido-likido erauzketaren aurrean, SPE-k:

1. Erauzketarako eraginkortasun handiagoa eskeini dezake.
2. Analitoen eta interferenteen arteko separazio egokiak eman ditzake.
3. Disolbatzaile organikoen bolumen txikiagoak behar ditu.
4. Analitoak frakzioetan biltzeko erreztasunak ematen ditu.

⁸Solid Phase Extraction

⁹Askotan horri clean-up deitzen zaio, hau da lagina garbitzea

Taula 1.4: Lagin likidoen iragazketaren xehetasunak.

Iragazketa-bidea	Ohiko produktuak	Erabilgarritasuna	Oharrak
Iragazpapera	Zelulosa	Partikula handiak kentzeko ($> 40 \mu\text{m}$)	Arreta izan behar da aseturik gera daitezkeen mintzekin. Ziurtatu behar da disolbatzailekiko bateragarritasuna.
Iragaz-mintzak	Nylon, PTFE, polipropilenoa, poliesterra, polikarbonatoa...	Partikula txikiak kentzeko ($< 10 \mu\text{m}$)	Oso erraz oztopaturik geratzen dira lagin zikinak badira. Porositate erabilienak $0.2 \mu\text{m}$ - $2 \mu\text{m}$ bitartekoak dira.
Funtzioduneko mintzak	Ioi-trukearen mintzak, afinitate-mintzak	Partikulak eta matrizearen interferentziak kentzen dituzte	Oztopaturik gera daitezke, aurreiragazketa behar dute.
Erauzketa solidoa	Silika edo polimerozko kartutxoak	Partikulak eta matrizearen interferentziak kentzen dituzte	Euskarria disolbaturik gerta daiteke eta laginarekin nahastu egingo da.
Erauzketa solidoa	PTFE edo beira-zuntzazko diskoak	Partikulak eta matrizearen interferentziak kentzen dituzte	Iragazteko euskarria behar da. PTFE-zkoak arreta bereziarekin erabili behar da. Oztopa daitezke.

5. Partikulak kentzeko ere erabili daiteke.
6. Automatizaziorako erreztasunak ematen ditu.

Horrenbestez, SPE gero eta gehiago erabiltzen da aurreseparaziotan, garbiketetan eta analitoen banatzean. Beste modu batean esateko, *SPE-ak kuantitatibitasuna garaiagoa du eta interferentziak eliminatzeko selektiboagoa da* erauzketa likidoan baino. Ezaugarri paregabe horien erantzulea SPE-n erabiltzen diren fase geldikorrak dira. Izan ere, LK-an erabiltzen direnak agertzen dira hemen ere. Adibidez, alderantzizko faseko SPE-an, C₁₈ edo C₈-ko fase solidoak erabiltzen dira eta, berriz, fase normaleko SPE-an silika edo alumina delako fasea agertzen da.

SPE-an erabiltzen diren faseen deskripzioa LK-arena da. Alde batetik, fase lotuak dira gehien erabiltzen direnak, baina fase polimerikoak ere askotan erabiltzen dira. Bestalde, fase normalak ez dira soilik silika edo aluminatoak, aipatu dugun fluorisila (magnesio silikato aktibatua) oso erabilia da. Deskripzioaz gain, SPE-an jokatzeko diren mekanismoak ere LK-arenak dira. Hau da, besteak beste, adsortzioa, banaketa likidoa, ioi-trukea edo tamainaren arabeko mekanismoei esker lortzen dugu SPE-aren eraginkortasuna.

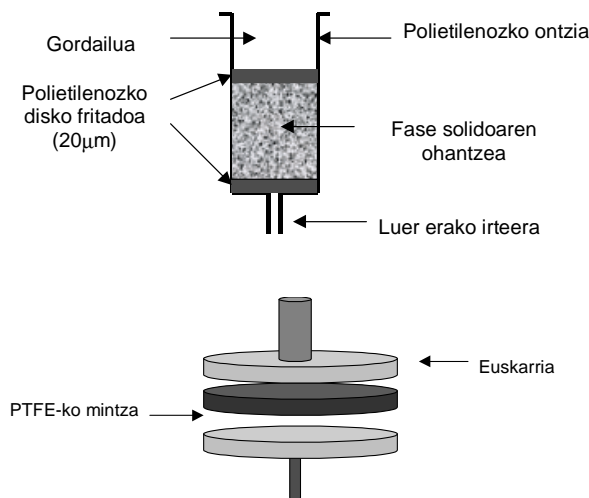
Fase solidoko erauzketaren bitartez, ez dugu faseen arteko separazioa egin behar eta, horri esker, erauzketa likidoaren oztopo handienetariko bat saihestuko da. Bide batez, lagina iragazteko balio dezake.

SPE-aren eragozpenei dagokienez, bi aipatuko ditugu: SPE-en kartutxoaren arteko aldagarritasuna eta zenbait analitoren adsortzio itzulezina fase solidoan. Egun erabiltzen diren fase solidoak eta kartutxoak oso xehetasun handikoak badira ere, ezin dira erkatu erauzketa likidoan erabiltzen diren disolbatzaileen purutasunekin. Izan ere, kartutxo mota bera erabili arren, C₁₈-koak esaterako, saiaketa batetik bestera egon daitekeen aldagarritasuna zabala izan daiteke, eta are zabalagoa etxe desberdinetako kartutxoak erkatuz gero.

SPE-aren zutabeen xehetasunak

Modurik sinpleenean, 1.9 irudian ikus daitekeen bezala, SPE-ko fase solidoa plastikozko hodi txikian edo kartutxoan dago eta bertan 0.1 g-1.0 g bitarteko fase solidoaren masa sartu da, masa handiagoko kartutxoak lor daitezkeen arren. Erabilitako fase solidoa alderantzizko faserako izaten da, C₁₈-ko silika esaterako, eta 40 µm-ko baino handiagoko itxura irregularreko materiala izaten da, hau da LK-ko zutabeena baino askoz zabalagoa. Hala ere, fase solidoaren paketatzea lortzeko eta ihesak edota galerak ez izateko bi fritadoreen artean babesten da erabilitako materiala. Horrela prestatutako kartutxoaren luzera laburra, partikula-tamaina handia eta paketea ez trinkoa dela eta, haren eraginkortasuna

oso baxua da ($N < 100$). Horrez gain, gehienetan erabilpen bakarreko kartutxoak dira, hau da, behin erabiliz gero botatzen dira.



Irudia 1.9: SPE-a bi modutan erabil daiteke: fase solidoko kartutxoan eta diskoan.

Kartutxoaren itxuraz gain, SPE-ko sistemak beste bi modutan aurki daitezke: diskoan eta estalitako zuntza moduan. Diskoaren itxurako sistemak biltzen ditu fase solidoaren eta mintzaren bidezko erauzketak. Hau da, diskoek mintza-iragazien itxura dute, lauak eta meheak baitira eta iragazien euskarrietan koka baitaitezke. SPE-aren diskoak, hala ere, ondoko xehetasunak ditu:

- PTFE-aren sare malguan tartekaturik agertuko dira silikon oinarritutako paketatzeak edo erretxinaren paketatzeak.
- Beira-zuntzazko disko zurrinak paketatze materialean egokitua.
- PVC-az estalitako paketatzea.
- Deribatizaturiko mintzak.

Estalitako zuntzak fase solidoaren bidezko mikroerauzketarako (SPME-rako) erabiltzen dira gehien bat (ikus 10.4.2 atala). Horrelako diseinuan, zuntza hari fina eta laburra da eta euskarri mugikorrean kokatzen da. Estalpena fase polimerikoa da, polidimetilsiloxanoa edo poliakrilatoa batez ere, eta euskarriak zuntza agerian uzten duenean disoluzioan murgil daiteke. Analitoen banaketa-koefizientearen arabera atxikirik geratuko dira zuntzan behar den denboran utziz gero. Behin analitoak zuntzan izan, euskarriak gorde egin dezake zuntza eta, berehala, kromatografia-sistemaren injekzio-gunera eraman dezakegu zuzeneko analisia egiteko.

Kartutxoaren erabilerari dagokionez, 1.10 irudiko eskeman laburbildu dira urrats garrantzitsuak. Lehendabiziko urratsa fasea egokitzea da. Horretarako fase solidoari dagokion disolbatzaile egokia pasaraziko da kartutxotik zehar. Bigarren urratsa laginarena da. Honako honetan, lagina gordailutik gehitzen da eta lortzen diren honadarrak ontzi batean biltzen dira. Hurrengo urratsa garbiketarena da. Urrats honetan bi aukera ditugu: alde batetik, erabiltzen den disolbatzailearekin zutabea garbituko da ($k' \gg 1$), hau da, analitoak izan ezik, gainontzeko konposatuak narraztuko ditu; bestaldetik, erabiltzen den disolbatzaileak analitoa eluituko du nagusiki ($k' = 0$). Lehendabiziko aukeran, analitoa eluitu nahi ez bada, interferenteak ahalik eta erretentzio gutxirekin eluitu behar dira eta horretarako disolbatzaile bat baino gehiago erabil daiteke. Kasu honetan, beste urrats bat behar da: analitoaren eluzioarena. Aurrekoak baino disolbatzaile sendoagoarekin analitoa aska daiteke. Edozein frakziotan lortu den disoluzioa kromatografia-sistemara eraman daiteke. Hala ere, frakzio horien bolumena txikitzen da disolbatzaile lurrunduz gero.

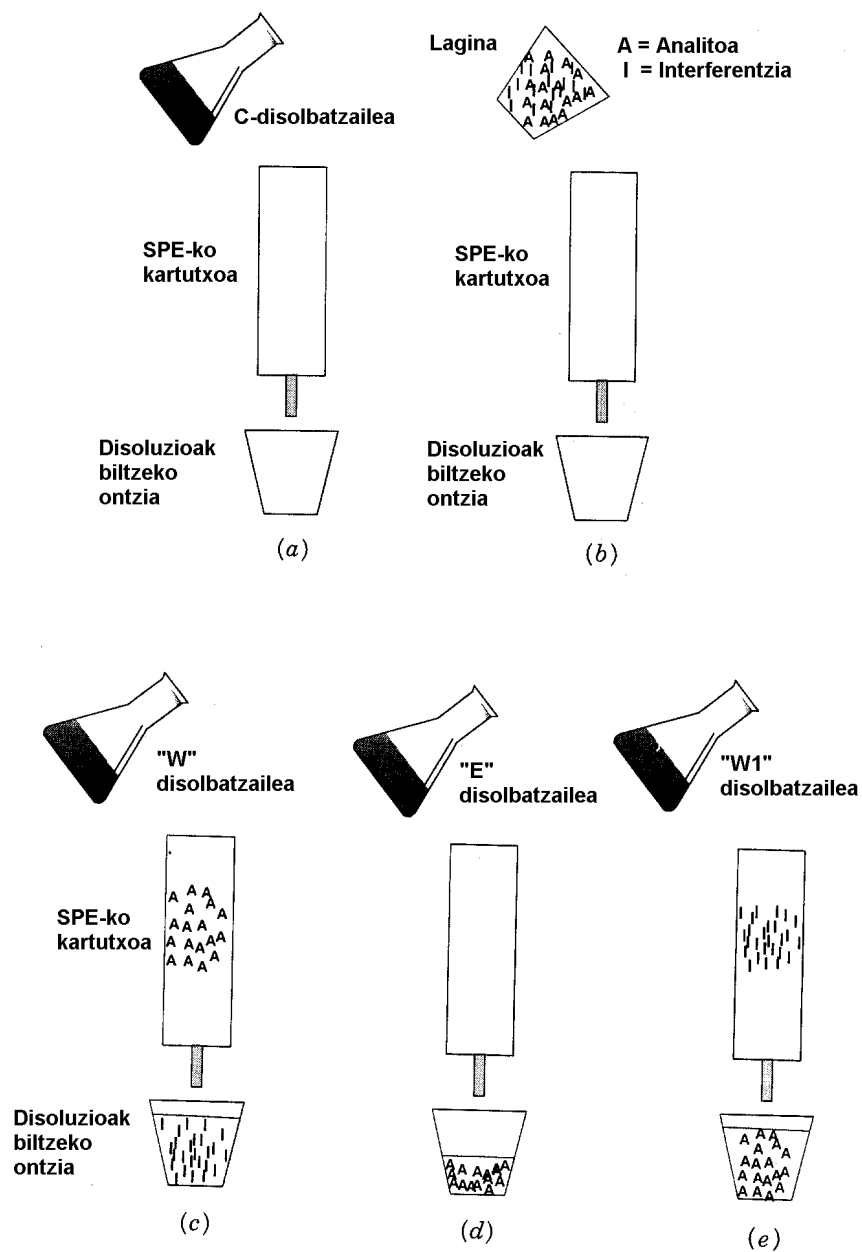
Horrenbestez, SPE-aren erabilerak ondokoak direla esan daiteke:

- Osagai interferenteen ezabapena.
- Analitoen aurrekontzentratzea.
- Gatzen ezabapena.
- Disolbatzailearen aldaketa.
- Bertako deribatizazioa.
- Lagina biltzeko eta garraiatzerako.

SPE-aren bidezko metodoaren garapena

Jadanik aipaturik dagoenez, SPE-aren bidezko aplikazioek ondoko lau urratsak biltzen dituzte:

- Fase solidoaren egokitzea.
- Lagina pasaraztea.
- Fase solidoa garbitzea.
- Analitoaren berreskuratzea.



Irudia 1.10: SPE-aren aukerak: (a) 1. urratsa: paketatzearen egokitzea; (b) 2. urratsa: zutabea laginarekin betetzea; (c) 3. urratsa: W disolbatzailearekin analitoa erretenitu eta interferentziak askatu dira; (d) 4. urratsa: W baino disolbatzaile sendoagorekin analitoak askatu dira; (e) 3. urratsaren beste aukera: W1 disolbatzailearekin interferentziak erretenitu eta analitoak askatu dira.

Besterik adierazi ezean, demagun RP-SPE sistema erabiltzen dela. Lehendabiziko urratsean paketatzearen egokitze lanak bete behar dira. Horretarako, MeOH, AzN pasaraziko da kartutxoaren zehar. Urratsa honen helburua bikoitza da: fase solidoak izan lituzkeen ezpurutasunen ezabaketa eta fase solidoaren solbatazioa. Azkena nagusia da, hain zuzen, C₁₈ edo C₈-ko paketatzeak lehorturik egongo baitira erabili aurretik eta horrek mugatzen baitu nabarmenki paketatzearen eraginkortasuna. Hori dela eta, disolbatzaile egokia pasarazi ondoren, paketatzeak baldintza fisiko egokienean egongo da. Urrats hori bukatuz gero, ezabatu behar da ahalik eta gehien erabilitako disolbatzailea. Horretarako airea pasaraziko da lehortzeraino utzi gabe.

Bigarren urratsean lagina pasaraziko da fase solidoaren zehar. Laginaren disolbatzailea ahula izango da (arinki polarra den %90 disoluzio indargetzailea + %10 disolbatzaile organikoa). Horrela, analitoak modu eraginkorragoan atxikiko dira zutabearen. Kontuan izan behar dira aldagai asko paketatzea ez asetzeko eta erretentzioa kuantitatiboa izateko, besteak beste, pasatu nahi den laginaren bolumenak, eskuzko gehiketak egiteko edo beste nolabait egiteko, erretentitu nahi den analitoen masa, eta erabilitako fluxua, gehienetan 2-4 ml/min-koa. Lagina pasatu denean airea pasatuko da disolbatzailerik gabe uzteko kartutxoa.

Hirugarren urratsean interferenteen ezabatze-lana da. Horretarako saiaketak egin behar dira jakiteko zein den disolbatzaile-nahaste egokiena ahalik eta interferente gehien baina analito gutxien eramateko. Gehienetan, disoluzio indargetzaileak eta disolbatzaile organikoen nahasteak dira, eta zenbaitetan horren indarra gero eta handiagoa izan behar da.

Azkenik, laugarren urratsean analitoen berreskurapena beteko da. Maiz, ahalik eta bolumen txikien erabiliko da, disoluzio kontzentratuagoak lortzeko. Geroago, zuzeneko injekzioa egin daiteke kromatografia-sisteman edo lehortzerainoko prozesua aukera daiteke dagokion disolbatzailetan disolbatzeko.

SPE-aren bidezko metodoen laburbilduma 1.5 taulan aurki daiteke. Bertan, separazio-mekanismoaren, ohiko fase solidoaren eta analitoaren arabera lagina disolbatzeko eta eluitzeko disolbatzaile egokiak proposatu dira. Taula horretan erabili den disolbatzaileen parametro ezaugarria P' izan da, hau da, disolbatzaile horren polaritatea. Gai horri buruz informazio gehiago 11.2.2 atalean aurki daiteke.

Taula 1.5: SPEko zenbait fase eta baldintza.

Separazio-mekanismoa	Ohiko faseak	Analito-mota	Betetzeko disolbatzailea	Eluitzeko disolbatzailea
Fase normala	Silika, alumina, florisila	Arinki edo nahiko polarrak	P' baxua (adib. hexanoa, CHCl ₃)	P' altua (adib, CH ₃ OH, CH ₃ CH ₂ OH)
* Adsortzioa				
* Fase polar lotua	Ziano, amino, diola	Nahiko edo oso polarrak	P' baxua (adib. hexanoa, CHCl ₃)	P' altua (adib, CH ₃ OH, CH ₃ CH ₂ OH)
Alderantzizko fasea	Oktadodezil siloxanoa (C ₁₈)	Hidrofobikoak (oso ez-polarrak)	P' altua (adib. H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ CN)	P' baxua (adib, hexanoa, CHCl ₃)
* Fase lotua ez-polarra, oso hidrofobikoa				
* Fase lotua ez-polarra, hidrofo-bizitate ertaina	Ziklohexiloa, feniloa, difeniloa	Nahiko ez-polarrak	P' altua (adib. H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ CN)	Tarteko P' (etilo azetatoa, CHCl ₃)
* Fase lotua ez-polarra, hidrofo-bizitate baxua	Butiloa, etiloa, metiloa	Arinki edo nahiko ez-polarrak	P' altua (adib. H ₂ O) edo nahiko P' altua (adib. Etilo azetatoa)	P' altua (adib, CH ₃ OH, CH ₃ CH ₂ OH)
Anioi-trukatzailea	1. eta 2. aminoak	Ioiak (ionizakorrak), azidoak	Ura edo dis. indargetzailea (pH=pK _a +2)	* Dis. indargetz. (pH=pK _a -2) * Analitoa neutroa den pH _a * Ioi-indar altuko indarg.
* Ahula				
* Sendoa	Amina koaternarioak	Ioiak (ionizakorrak), azidoak	Ura edo dis. indargetzailea (pH=pK _a +2)	Dis. indargetzaile (pH=pK _a -2)
Katioi-trukatzailea	Azido karboxilikoak	Ioiak (ionizakorrak), basikoak	Ura edo dis. indargetzailea (pH=pK _a -2)	Dis. indargetzaile (pH=pK _a +2)
* Ahula				
* Sendoa	Az. alkilsulfonikoak	Ioiak (ionizakorrak), basikoak	Ura edo dis. indargetzailea (pH=pK _a -2)	Dis. indargetzaile (pH=pK _a +2)

1.3.3 Mintzen bidezko separazioak

Mintzak polimero organiko sintetikoak (PTFE, nylon, PVC, etab.), zelulosa edo beira-zuntzak dira eta haien aplikazio zabalena iragazketa eta fase solidoko erauzketa dira. Horiez gain, analitoak mintzaren zehar mugitu ahal dira difusioaren bidez, gradiente kimiko edo elektrokimikoa ezarritik gero. Ultrairagazketa, osmosi inbertsua, dialisia, mikrodialisia eta elektrodialisia dira mintzen bidezko teknikak laginen aurretratamenduan.

Mintzak itxura askotan presta daitezke: xafletan, diskotan, kartutxotan, hodi hutsetan, etab, baina ezaugarritasun inportantea da iragazkortasunarena. Mintz erdi-iragazkorrek zenbait osagai pasatzen uzten dute eta beste batzuk ez dira pasatuko mikroporoen tamainaren arabera. Adibidez, jariakin biologikotan zenbait drogen analisisian separatu behar dira analitoak (txikiak) eta horiekin bat doazen proteinak (handiak). Tamaina nahikoa ez bada, poroak elektrikoki kargatua egon daiteke karga kontrako ioien pasabidea errazteko. Gainontzeko teknikekin erkaturik, mintzen bidezkoak geldoagoak dira eta ez dute emaitza oso eraginkorrak ematen.

1.3.4 Deribatizazioa

Deribatizazioak analitoaren eta errektibo kimiko osagarriaren arteko erreakzioa dakar. Separazio kromatografikoetan deribatizazioaren helburuen artean, hauexek azpimarratuko ditugu:

- Analitoa detektatzeko gaitasuna hobatu.
- Analitoaren molekula-egitura edo polaritatea aldatu separazio-baldintzak hobetzeko.
- Matrizaren aldaketa eragin separazio-baldintzak hobetzeko.
- Analitoaren egonkortasuna handitu.

Baldintza egokienetan deribatizazioaren **erreakzioa azkarra, kuantitatiboa eta azpi-produktorik gabea** izan behar da. Horrez gain, errektibo osagarriaren soberakinak ez du analisisan eraginik izan behar.

Gas-kromatografiaren kasuan, deribatizazioak osagai lurrunkorrako bihurtzeko erabiltzen badira, likido-kromatografian analitoaren detekzioa izaten da helburua. Azken kasuan, beraz, detekzio-sistema aldeztu aurretik ezagutu behar dugu eta horren arabera zutabe-aurreko edo zutabe-atzeko deribatizazioa egingo da. Mota askotariko analitoak deribatizatzen dira analizatzeko, besteak beste alkaloideak, antibiotikoak, esteroideak etab.

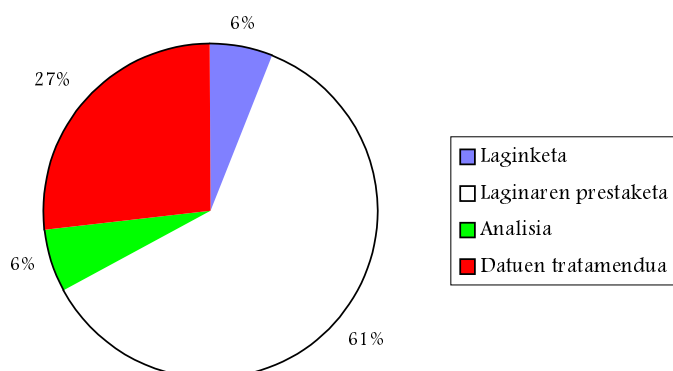
eta horretarako gehien erabiltzen diren erreaktiboek talde kromoforoak edo fluoroforoak gehitzen diote analitoari.

Talde kromoforoen eragileak: PNBDI (*p*-nitrobezil-N-N'-disopropilisourea), DNBA (3,5-dinitrobeziloxiaminaren hidrokloruroa); Dabysil-Cl (4-dimetilaminiazobenzeno-4-sulfinilo)

Talde fluoroforoen eragileak: NBD-Cl (7-kloro-4-nitrobenzo-2-oxa -1,3-diazola), OPA (*o*-ftaldehidoa); BrMaC (4-bromometil-7-azetoxikumarina)

1.4 Prestatze-metodoen eraginkortasunaren neurria

Hasieratik azpimarratu den bezala, prozedura analitikoaren zehar segituriko operazio bakoitzaren ekarpenak bildu eta kontuan izan behar ditugu emaitza eman ahal izateko. Besteak beste, urratsen etekinak eta ziurgabetasunak balioetsi behar ditugu, bestela nekez emango baita emaitzarik. Nolabait urratsa bakoitzaren ziurgabetasunaren gaineko ekarpena erakusteko, 1.11 irudia oso adierazgarria dela uste dugu. Hau da, ziurgabetasunaren erdia baino gehiagok laginaren prestaketan du sorrera eta inon ahaleginak egin behar badira ziurgabetasuna hobetzeko edo murrizteko jadanik badakigu zein den urrats-multzo sentikorrena: erabilitako prestatze-lanak.



Irudia 1.11: Prozedura analitiko desberdinetan sortutako ziurgabetasunaren banaketa

Demagun analitoak fase solidoan daudela, bai bertakoak direlako edo bertara heldu baitira. Edozein kasutan analitoen eta inguruko osagaiaren (matrizearen) arteko elkarrekintzak

denboraren mendetasuna du, hots, analitoak sortu edo agertu direnetik analisisa egiten dugunerako denbora-tarte horretan analitoaren eta matrizearen arteko zenbait elkarrekintza (fisikoak edo kimikoak) areagotuko dira edo analitoaren degradazioa gerta daiteke. Honela, lagina laborategira analizatzeko heldu zaigunean ez dugu lagineko analitoen kontzentrazioa jakiterik izango.

Erauzketaren eraginkortasuna balioestea ez da ustez bezain erreza. Laginaren digestioa edo lixibiazioa egingo bagenu, eta galerarik ez dagoela onartuz, laginean dagoen analitoa guztia disoluziora pasatu dela pentsa genezake. Baina erauzketan ez da hala beti gertatu behar. Galerak alde batera utziz, ez dago zertan pentsatu behar erauzketaren etekina % 100 izan dela. Ondorioz, eraginkortasunaren etekina determinatzeko moduren bat aurkitu behar dugu.

Erauzketaren eraginkortasunaren ebaluazioa egiteko hurbilketa desberdinak erabil ditzakegu:

- Erauzketa-prozedura desberdinen arteko erkaketa.
- Saiaturiko erauzketa-teknika **erreferentziazko material egiaztatuaren** (*Certified Reference Material* edo **CRM**) gainean aplikatu eta lortutako emaitzak egiaztaturiko balioekin erkatu.
- Erauzketa-prozesua behin eta berriro aplikatu erauziak detekzio-mugaren azpitik dagoen kontzentrazioa eman arte.
- Analitorik gabeko laginak kontzentrazio ezagunetan dopatu.

Hala ere, lau aukera horiek hurbilketak baino ez dira. Hots, orain aztertuko dugunez, guztiek eragozpenak dituzte.

Lehenengo aukeraren arabera, lagin beraren -bi azpilagin, beraz- erauzketa prozedura desberdinen bidez egin eta emaitz konparagarriak lortu baditugu, determinatutako analitoaren kontzentrazioa benetazkoa izango dela ondorioztatuko dugu. Prozedura hori, luzea izateaz gain, ez du zertan emaitza zuzena eman behar. Irtenbide bat, erreferentziazko material batekin bi prozedurak egiaztatzea litzateke, eta horrek bigarren aukerara garamatza.

Bigarren aukeraren arabera, CRM-ak erabiltzerakoan, gure laginean eta material egiaztatuan elkarrekintza berdinak gertatu direla onartzen ari gara eta, ondorioz, CRM-arekin lortu ditugun balioak, edozein laginetara heda ditzakegula uste dugu. Baina laginaren eta CRM-aren matrizeak ez dira berdinak izan behar -berdintasuna, kontu honetan bederen, aski gai lausoa baita-. Bestalde, CRM gehienak egiaztatzeko erabili diren erauzketa-teknika asko ohikoak dira, Soxhlet erauzketa adibidez, eta gerta liteke teknika horien

bidez ez dela analitoa guztiz erauzi. Azkenik, eta erreferentziazko materialei dagokionez, nahi ditugun matrizeen eta analitoen CRM-ak ezin ditugu beti aurkitu.

Aztertu nahi ditugun egoera eta kasuetarako ezin ditugunez erreferentziazko materialak lortu, beste aukera bat analitorik ez duen lagina, analitoen kontzentrazio jakinekin dopatzea da. Laginaren dopatze hori bi modutan egin daiteke: tokiko dopatzea eta esekiduraren bidezko dopatzea. Tokiko dopatzean kontzentrazio ezaguneko kutsagarriaren bolumen txikia laginaren kantitate nahiko handira gehitu eta jarraian laginaren erauzketa egiten da. Argi ikus daitekenez, honelako dopatzeak ez du bermatuko lurzorua matrizearen eta analitoaren arteko ekintzik (ez kimikorik ezta fisikorik ere) eta dopatze-modu hauek egiten direnean erauzketa-teknikaren eraginkortasunak oso altuak dira. Prozedura honen bidez determinazio-etapa aztertu eta lurzoruko analitoaren erauzketa alde batera utzi da. Esekiduraren bidezko dopatzean aldiz, analitoen kontzentrazio ezaguneko bolumen handia laginari gehitu eta luzaroan irabiatzen uzten dugu. Analitoa disolbatzaile organiko batean gehitu, ondoren disolbatzailea lurruntzen utzi eta, printzipioz, homogeneous den lagina lortuko dugu. Lagina gorde eta epe batera haren analisisa egingo dugu. Bigarren dopatze hau hobea bada ere, benetako laginekiko desberdintasunak daudela onartu behar dugu.

Azkenik, beste aukera bat laginaren erauzketa-segida egitean datza. Erauzketa behin eta berriro errepikatu eta azkenean analitoen aztarnarik ez badugu somatu, analitoak guztiz erauzi dugula pentsa dezakegu. Aukera hori, berriz, luzea izateaz gain, ez du zertan zuzena izan behar. Gerta liteke matrizearen eta analitoaren arteko elkarrekintza sendoegiak izatea eta erabilitako erauzketak etekin mugatua izatea.