



Universitat Autònoma de Barcelona

FACULTAT DE CIÈNCIES

Secció de Ciències Ambientals

**ANÀLISI DELS CONTAMINANTS
ORGÀNICS PERSISTENTS EN
CITHARUS LINGUATULA EN EL
LITORAL CATALÀ**

Memòria del Projecte Fi de Carrera de Ciències Ambientals

Autora: **Laura Burgos Rodríguez**

Director: **Dr. Antoni Rosell i Melé**

Bellaterra, 4 de Setembre de 2008

AGRAÏMENTS

M'agradaria dedicar aquestes línies a totes aquelles persones que m'han ajudat en tots els aspectes i que han fet possible que aquest treball tirés endavant.

Per començar, voldria donar les gràcies al Dr. Antoni Rosell i Melé, director d'aquest projecte, primerament per haver confiat en mi, i haver-ne permès aprendre tantes coses, així com pel seu exemple de professionalitat.

Agrair a la tècnica del laboratori de l'ICTA, Núria Moraleda per la seva gran ajuda, precisa i immediata contribució en els aspectes metodològics; així com en els ànims en els moments de decaiguda.

Voldria donar les gràcies també a Maite Carrassón, investigadora principal del projecte BIOMARE, que m'ha proporcionat les mostres a analitzar, així com informació complementària per l'estudi.

També voldria donar les gràcies als meus amics (especialment a l'Arti, a la Che, al Dani, al Javi, al Joan, al Marc, a la Mary, a la Tam, a la Sílvia i a la Vane) que m'han recolzat sempre, per les llargues xerrades que han patit sobre el projecte i pels ànims rebuts en els pitjors moments. També donar unes gràcies especials a Sandra Méndez, que hem treballat juntes en tot moment, i hem compartir els daltabaixos dels nostres treballs.

De forma molt especial, voldria donar les gràcies a la meva família, sobretot als meus pares i a la Esther, els quals han estat al meu costat donant-me tot el seu suport i ajudant-me des de que era petita. Gràcies per tot el suport i l'estima de tots aquests anys. I també a l'Àlex, que m'ha ajudat i he rebut un gran suport durant el desenvolupament d'aquest projecte.

I a l'Albert, que no em queden paraules per descriure l'ajut i el recolzament que m'ha proporcionat en aquests últims mesos. Sense la seva ajuda i les forces transmises, la finalització d'aquest projecte hagués estat molt més difícil. Gràcies per haver estat al meu costat en tot moment.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	5
1.1. Els compostos orgànics persistents i l'evolució humana.....	5
1.2. Contaminants Orgànics Persistents (COPs)	6
1.2.1. Compostos organoclorats.	6
1.2.2. Hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs)	15
1.2.3. Dinàmica dels COPs als sistemes marins.....	19
1.2.4. Marc legal dels COPs.....	22
1.3. Objectius.....	24
2. ÀMBIT D'ESTUDI	27
2.1. Ubicació	27
2.1.1. Port de Barcelona.....	27
2.1.2. Blanes	28
2.1. Els peixos bentònics com a bioindicadors: el cas de <i>Citharus linguatula</i>	28
2.1.1. <i>Citharus linguatula</i>	29
3. METODOLOGIA	33
3.1. Preparació de les mostres per a l'extracció	34
3.1.1. Liofilització	35
3.2. Determinació del contingut d'aigua de les mostres	35
3.3. Determinació del contingut de lípids de les mostres	36
3.4. L'extracció.....	37
3.4.1. En què consisteix una extracció.....	37
3.4.2. Mètode d'extracció utilitzat	37
3.4.3. Disseny del programa escollit de la MAE per l'estudi de <i>Citharus linguatula</i>	38
3.4.4. Metodologia emprada en l'extracció del peix	39
3.5. Fraccionament	41
3.5.1. En què consisteix el fraccionament.....	41
3.5.2. Justificació del fraccionament	42
3.5.3. Metodologia emprada en el fraccionament dels extractes del peix.....	42
3.6. Mètode de validació de les mostres	44
3.7. Anàlisi instrumental.....	44
3.7.1. Instrument analític	45
3.7.2. Mètode d'anàlisi	45
3.7.3. Identificació i integració dels pics	46
3.7.4. Quantificació de contaminants	47
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	51
4.1. Contingut d'aigua i de lípids.....	51
4.2. Anàlisi dels Contaminants Orgànics Persistents en <i>Citharus linguatula</i>	52
4.2.1. Anàlisi d'OCPs en la primera fracció	52

4.2.2. Anàlisi d'OCPs en la segona fracció	57
4.2.3. Comparativa de mostres de Blanes i el Port de Barcelona	63
4.3. Problemes associats a la metodologia i la quantificació.....	65
5. CONCLUSIONS	69
5. 1. Valoració d'objectius.....	69
5.2. Valoració del projecte	69
5.3. Línees de continuació.....	69
6. LLISTAT D'ACRÒNIMS	73
7. BIBLIOGRAFIA	77
8. PRESSUPOST	85
8.1. Materials i equips.....	85
8.1.1. Material d'oficina	85
8.1.2. Material de laboratori fungible	85
8.1.3. Material de laboratori amortitzable	86
8.2. Despesa personal.....	87
8.3. Desplaçaments	87
8.4. Dietes.....	87
8.5. Energia	88
8.6. Cost total.....	88
9. PLANIFICACIÓ	91
ÍNDIX DE FIGURES	95
ÍNDIX DE TAULES	96

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Els compostos orgànics persistents i l'evolució humana.

Una conseqüència inherent a l'evolució i el progrés al llarg de la història és la contaminació ambiental actualment. La industrialització, la millora tecnològica, l'ús energètic i de recursos han provocat la introducció de compostos antropogènics al medi, causant així grans impactes ambientals. Molts d'aquests contaminants, generen impactes no només en l'origen de l'emissió sinó que també es globalitzen provocant problemàtiques a escales globals.

Una gran part d'aquestes substàncies produïdes per les activitats antropogèniques esmentades tenen destí final el medi aquàtic. Dins d'aquesta gamma de substàncies, els Contaminants Persistents Orgànics (COPS o POPs, *persistent organic pollutants*) han cridat molt l'atenció en estudis de contaminació, ja que per les seves característiques físico-químiques els fan resistents a la degradació, i són altament persistents en l'ambient, pel que tendeixen a bioacumular-se i a biomagnificar-se al llarg de la cadena tròfica fins a nivells preocupants. Els COPS estan representats per dos importants subgrups de compostos: a) Hidrocarburs Halogenats, grup en què s'inclou els bifenils policlorats (PCBs) i els plaguicides organoclorats; i b) els Hidrocarburs Aromàtics Policíclics. Gràcies a les propietats físico-químiques dels COPS, l'efecte d'aquests sobre els ecosistemes no es dilueix, sinó que es transfereix d'un lloc a un altre mitjançant el transport atmosfèric, majoritàriament. Diversos estudis han demostrat el caràcter global dels COPS amb la seva presència en llocs remots com l'Àrtic, l'Antàrtida i regions d'alta muntanya (Iwata et al. 1993, Fernández et al. 2000, Grimalt et al. 2001, Vives et al. 2004). Un cop introduïts en el medi ambient poden provocar efectes nocius crònics perquè els sistemes enzimàtics dels organismes no són capaços de tractar-los.

La gran ús dels COPS va provocar la seva utilització massiva a mitjans del segle XX. Tot i que, les primeres evidències del dany que estaven provocant aquests compostos organoclorats va ser l'any 1962 amb la publicació del llibre "La Primavera Silenciosa" de Rachel Carson als EE.UU, on posava de manifest que el DDT era el causant d'un decreixent de la població en la fauna salvatge. A partir d'aquesta data, varen començar a relacionar alguns catàstrofes tòxiques amb aquests compostos, com per exemple l'anomenada "malaltia de Yusho" a Japó al 1968, causada per consum continu d'arròs contaminat de bifenils policlorats (PCB) i de Dibenzofurans policlorats (PCDFs), com a conseqüència de la bioacumulació d'aquests contaminants. Aquests incidents augmentà la consciència sobre la problemàtica que poden causar l'ús d'aquests compostos, i es va iniciar un període de restricció i prohibició dels COPS que continua fins a l'actualitat.

Un dels destins dels COPS és el medi marí, als oceans i mars d'arreu del món mitjançant la descàrrega dels rius, l'escorrentia superficial, els abocaments puntuals, les

descàrregues d'aigües o el transport atmosfèric (Kennish 1997). El 80% de les descàrregues deriven de les activitats desenvolupades a terra (UNEP/MAP 2001b). Els sediments del fons marí solen ser el destí final de molts d'aquests contaminants. El mar es troba molt impactat per l'espècie humana, sol ser el destí final de molts dels residus urbans i industrials. Les zones costaneres són les àrees més deteriorades, trobant zones altament modificades i amb una pèrdua important de qualitat de les aigües i els seus recursos; ja que és on es troben un major aprofitament energètic dels recursos naturals i també d'activitats lúdiques. En les zones litorals, tot i que només suposen el 10% de la superfície total, és on produeix el 99% de la pesca. D'altra banda, les zones de mar obert no estan exemptes de contaminació, però l'elevat efecte de dilució fa que les concentracions siguin més baixes, normalment insuficients per causar impactes significatius en aquests ecosistemes (McIntyre, 1992). Contràriament, les àrees costaneres són sistemes generalment caracteritzats per baixos intercanvis d'aigua i una baixa capacitat per assimilar la contaminació, de forma que les substàncies tòxiques poden perdurar llarg períodes de temps, afectant a la fauna i flora de l'ecosistema.

Molts aspectes com l'origen, el transport, l'acumulació i la toxicitat dels COPs a escala global són encara bona part desconeguts.

El present projecte es troba a dins de Programa de Biomare, on pretén identificar i analitzar aquests compostos en la complexa matriu dels peixos. L'espècie escollida és *Citharus linguatula*, capturades per aquest grup d'estudi l'any 2006, perquè està distribuïda a través de la costa Mediterrània i perquè viu amb contacte amb els sediments. Com a zona d'estudi s'escollí dues zones de la Mediterrània parellament de diferent contaminació antropogènica: la costa del port de Barcelona i a la de Blanes, zona menys impactada.

1.2. Contaminants Orgànics Persistents (COPs)

1.2.1. Compostos organoclorats.

Els Contaminants Orgànics Persistents són compostos químics tòxics que han esdevingut contaminants ubics; i són resistents a ser degradats químicament, biològicament o fotolíticament un cop alliberats al medi. No obstant, cada grup d'aquests compostos van ser sintetitzats amb diferents finalitats, usat en diverses localitats i s'ha distribuït arreu del planeta governat per les seves propietats físico-químiques, que són les que els fan força perillosos per la viabilitat de certs ecosistemes i per la salut humana. Els COPs comparteixen entre sí quatre característiques bàsiques (Conveni d'Estocolm, 2001; Vallack et al. 1998):

1) La **toxicitat** és elevada, és a dir, són substàncies amb propietats que poden danyar els organismes vius i que tenen com a reservori final el medi natural. La toxicitat poden variar

segons el número de clors de la molècula i de la posició on es trobin. Aquests sovint poden ser perjudicials per als éssers vius encara que es trobin en una quantitat molt més petites que les necessàries per a produir un enverinament agut, fet que es coneix com a toxicitat crònica. Aquests efectes normalment es deuen a una perturbació menor que en alguna de les funcions dels organismes; la qual pot arribar a ser tant greu amb el temps com per arribar a afectar a tot l'individu, sobretot si aquest és exposat a la substància tòxica durant un cert període de temps. Tot i que es poden donar efectes greus amb exposicions relativament curtes (tumors, trastorns que afectin als materials genètic de les cèl·lules, defectes de naixement, canvis metabòlics, de comportament, canvis hormonals, immunodepressió...), en general el risc augmenta amb l'exposició.

2) L'elevada persistència que tenen els COPs els fa molt resistent en el medi ambient un cop s'han introduït en les plantes i animals; per tant, assegura la seva presència durant un llarg interval de temps en un organisme o en l'entorn. La persistència depèn del número de clor que tingui la molècula i de la seva posició. Degut això, aquests contaminants presenten uns elevats temps de vida mitja ($t_{1/2}$). Resisteixen els processos de degradació fotolítica, química i biològica, de manera que són molt estables en el medi ambient. La persistència dels COPs no només depèn del compost en sí, sinó també de les característiques de l'ambient. D'aquesta manera, factors com la temperatura, el pH, la intensitat lumínica, la concentració de radicals OH^- i la degradació microbiana poden condicionar el temps de vida mitja. El Conveni d'Estocolm (veure apartat 1.2.4 del projecte) estableix el criteri de que seran persistents aquelles substàncies amb un $t_{1/2}$ (temps de vida mitja) en l'aigua major de 2 mesos i un $t_{1/2}$ en sòl major a 6 mesos. Les substàncies amb un $t_{1/2}$ en l'aire major a 2 dies es considera amb potencial per al transport de llarga distància.

En l'ambient,

3) La capacitat de biocumular-se en els teixits adiposos causa l'augment de la magnitud de la concentració del compost i la capacitat de **biomagnificar-se** a mesura que avança en la cadena tròfica, on les concentracions d'aquestes substàncies poden augmentar en factor de varis de milers o milions a mesura que es mouen cap a nivells superiors de les cadenes. Això és degut a la seva solubilitat en els lípids, que alhora ve determinada per la alta hidrofobicitat. Per mesurar-la, s'utilitza el coeficient de repartició octanol-aigua (K_{ow}), que reflecteix la tendència del compost a associar-se amb els lípids respecte a la d'associar-se amb l'aigua. Així, com més gran és aquest coeficient, més afí és el compost als lípids que a l'aigua. Els COPs acostumen a tenir un logaritme de K_{ow} superior a 5, aquests es consideren com a substàncies bioacumulables (Conveni d'Estocolm, 2001)

4) La capacitat per a ser dispersats atmosfèricament llargues distàncies des de l'àrea d'aplicació ve definit segons la seva semivolatilitat. Aquesta característica els hi permet ser transportats a llargues distàncies, condensar en les regions més fredes i passar fàcilment en l'atmosfera quan es troben exposats a l'ambient i, per tant, es troben per tot el planeta,

independentment del lloc originari. Com més fred és el clima, menor tendència d'evaporació dels COPs, acumulant-se en regions com l'Àrtic. Aquesta gran mobilitat dels COPs explica la seva ubiqüitat.

Encara que existeixen algunes fonts naturals d'aquests compostos, la major part d'aquestes substàncies s'originen de fonts antropogèniques associades a la fabricació, ús i eliminació de determinats productes químics. Alguns d'aquests han estat utilitzats extensament com a plaguicides durant molt temps (aldrín, clordà, DDT, dieldrín, endrín, heptaclor, etc.) o com a additius en una varietat d'aplicacions industrials (PCBs, hexaclorobenzens, etc). Altres COPs es generen com a subproductes no intencionals en qualsevol procés de combustió, els PCDDs i PCDFs. Això fa que sigui extremadament difícil avaluar els nivells alliberats al ambient.

A continuació es descriuran els contaminants organoclorats estudiats en el present projecte.

1.2.1.1. Hexaclorbenzè (HCB)

L'estructura molecular de l'HCB està formada per un anell de benzè amb sis substitucions de clor (Figura 1). És fàcil de preparar a partir de benzè i clor. Aquest compost és determinat per una alta solubilitat en lípids, persistència i toxicitat. La seva vida mitja ($t_{1/2}$) en l'aire ha estat determinada al voltant de 2 anys i en els sediments entre 2,7 i 22,9 anys, sotmesos a processos de degradació aeròbica i anaeròbica (Mackay *et al.*, 2006). Aquesta persistència, combinada amb un alt coeficient de partició (log Kow entre 3,03 i 6,42), doten d'aquesta substància una elevada capacitat de bioacumulació i, junt amb la seva semivolatilitat fan que pugui ser transportada llargues distàncies (Barber *et al.*, 2005).

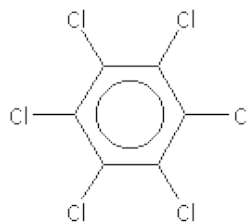


Figura 1. Estructura química de l'HCB

S'acumula en els sediments aquàtics i està subjectada a biomagnificació. Això suggereix que la biota bentònica, com és el cas del *Chitarus linguatula*; i aquells dels majors nivells tròfics són els més probables a estar exposats a majors concentracions de HCB i tenir major risc dels efectes adversos sobre la reproducció i càncer. Aquest contaminant pot degradar-se per reaccions fotoquímiques a l'atmosfera i al medi aquàtic i anaeròbicament mitjançants descloracions reductives (Chen, 2000).

Aquesta molècula no té lloc de forma natural. Va ser utilitzada en principi com a pesticida i com a fungicida pel tractament de llavors; i també es genera de forma no

intencionada industrialment a partir de la fabricació d'altres pesticides, de dissolvents orgànics o d'altres productes clorats; i en la combustió dels residus sòlids urbans. Actualment, és un compost prohibit com a producte directe a la majoria de països de la Unió Europea a partir del Conveni de Rotterdam. Actualment, encara es genera globalment unes 22,7 tones/any, tot i que només representen entre un 70% i un 95 % menys de les emissions de 1970 (Barber et al. 2005).

Quan l'HCB és metabolitzat en organismes vius, normalment es creen metabòlits tòxics durant el procés. Alguns efectes sobre la salut caracteritzats amb l'exposició a l'HCB són: lesions cutànies fotosensibles, hipermentació, còlics, porfíria, debilitat extrema, disrupció estrogènica, carcinogenicitat en animals, immunodepressió, etc. També s'ha relacionat amb càncer de tiroides i teixit conjuntiu (Grimalt et al. 1994). La L'Agència Internacional per la Investigació del Càncer (IARC) ha classificat a l'HCB com a possibles carcinògens en humans (grup 2B).

1.2.1.2. Hexaclorciclohexans (HCHs)

La fórmula empírica dels HCHs és de $C_6H_6Cl_6$. Dels vuit isòmers existents (α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ), només són químicament inerts els isòmers α , β , γ , δ , ϵ . Dins d'aquests, n'hi n'ha tres que es detecten al medi ambient i són força destacables pel seu ús com a insecticides (Figura 2,3 i 4): l' α -hexaclorciclohexà (α -HCH), el β -hexaclorciclohexà (β -HCH) i el γ -hexaclorciclohexà (γ -HCH), també anomenat lindà, que va ser el substitut del DDT quan fou prohibit.

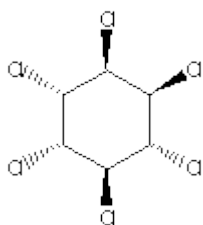


Figura 2. α -HCH

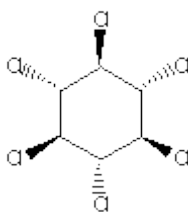


Figura 3. β -HCH

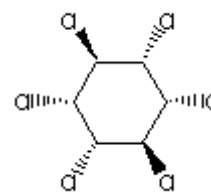


Figura 4. γ -HCH

Tots els isòmers del HCH, excepte γ -HCH, tenen una solubilitat elevada en l'aigua i una moderada pressió de vapor (Mackay et al. 1992). De manera que normalment els trobem en la fase gasosa o dissolts en la columna d'aigua (Bidleman, 1998). Gràcies a això, i que solen presentar una vida mitjana llarga poden persistir en l'aire durant llarg temps i poden mobilitzar-se llargues distàncies depenent de les condicions atmosfèriques. En el sòl, els sediments i l'aigua, el HCH és degradat a substàncies menys tòxiques per algues, fongs i bacteries, però aquest procés pot durar molt de temps. L'alta persistència és més accentuada en l'isòmer β -HCH (Mackay et al, 2006).

Els hexaclorciclohexans foren sintetitzats per primera vegada l'any 1825 per Faraday. Després de la 2a Guerra Mundial, es van utilitzar en les aplicacions agrícoles pel control dels mosquits. Però, a partir dels anys setanta va quedar restringit el seu ús a conseqüència d'uns

estudis on provaven la seva alta toxicitat i la seva tendència a bioacumular-se. Tot i això, en alguns països de Nord Amèrica i Europa el lindà segueix vigent (Walker *et al.*, 1999).

Tots els isòmers mostren toxicitat aguda en mamífers, i poden produir alteracions del fetge i el ronyó. L'isòmer β -HCH predomina als teixits i fluïts dels animals, inclosos els humans; mentre que els isòmers α -HCH i γ -HCH són majoritari a l'aire i l'aigua (Walker *et al.*, 1999). La IARC ha classificat a tots els isòmers de l'HCH dins del grup 2B. La EPA (Agència de Protecció del Medi Ambient en EE.UU.) ha determinat que hi ha evidències que suggereixen que el lindà és carcinogen, però l'evidència és insuficient per avaluar la possibilitat de que produeixi càncer en els éssers humans. L'EPA, també prediu que l'isòmer β -HCH presenta activitat estrogènica (Walker *et al.*, 1999).

1.2.1.3. Diclorodifeniltricloroetà (DDT) i els seus derivats

El diclorodifeniltricloroetà (DDT) és un insecticida de color blanc cristal·lí, insípid i pràcticament inodor, i no es té coneixement de cap font natural. Generalment el terme DDT es refereix a l'isòmer *pp'*-DDT (1,1,1-tricloro-2,2'-bis(*p*-clorofenil)età ($C_{14}H_9Cl_5$))(Figura 5). Normalment, es tractava de barreges comercials que contenien com a producte majoritari el *p,p'*-DDT (amb un 70% del total), amb l'isòmer *o,p'*-DDT d'un percentatge entre un 15 i 20%, juntament amb algunes impureses (Venkatesan *et al.*, 1996).

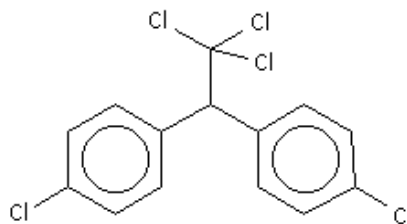


Figura 5. Estructura química del *p,p'*-DDT

El DDT fou sintetitzat per primera vegada a finals del segle XIX, però no va ser fins l'any 1939 que van ser descobertes les seves propietats com a biocida, descobrint per part de Pul Müller que li atorgaren el premi Nobel de medicina fisiologia, com a reconeixement a la gran quantitat de vides humanes que havia salvat el DDT després de la 2a Guerra Mundial. Va ser molt efectiu pel control d'insectes propagadors del tifus, la malària o la febre groga. En l'agricultura es començà a aplicar a finals dels anys 40 per acabar amb les plagues d'insectes dels cultius. La seva gran efectivitat provocà una utilització massiva i indiscriminada d'aquest insecticida; fet que provocà que algunes poblacions d'insectes es tornaren resistents al DDT. La producció acumulativa mundial del DDT es creu que es situa al voltant dels 4500 milions de tones, on la gran part (aproximadament un 78%) es van produir a l'època prèvia al 1975 (Li i McDonald, 2005). A inicis dels anys 70 van començar a aparèixer sospites i regulacions d'ús en països desenvolupats. En estudis s'hi havia observat una elevada persistència en el medi aquàtic, una capacitat de bioacumulació en els organismes, l'evidència mutagènica i la

resistència que mostraven alguns insectes amb el DDT (Carson, 1969) provocava la seva prohibició. Actualment, encara és present el seu ús en alguns països per controlar la malària com l'Índia, Mèxic o alguns del continent Africà.

El DDT té un temps de semivida d'un any a l'aigua, de 9 anys als sediments i de 16 en els sòls (Mackay et al. 2006), convertint-se així en una font d'exposició a llarg termini. Moltes espècies metabolitzen el p,p'-DDT eliminant un Cl i un H en forma d'àcid clorhídric (HCl), en un procés anomenat dehidroclorinació, resultant com a producte el p,p'-DDE (diclorodifenil dicloetilè) (Figura 6), que és la forma principal en què s'emmagatzema (Lund, 1998). També es pot crear per altres tipus de degradació no biològica. D'altra banda, el p,p'-DDT es transforma en p,p'-DDD (diclorodifenil dicloretà) (Figura 7) mitjançant una descloració reduïda, on es difereix només un àtom de clor del grup $-CCl_3$ substituint-lo per un àtom d'hidrogen (Aislabe *et al.*, 1997). Aquest compost té unes característiques molt semblant al p,p'-DDT, que dona possibilitat d'utilitzar-lo com a insecticida; mentre que el DDE això no és possible per l'existència del doble enllaç (C=C) i per ser pla.

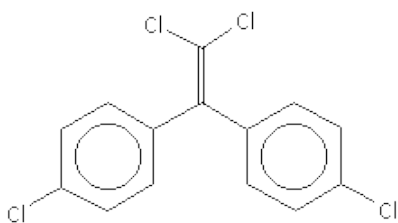


Figura 6. p,p'-DDE

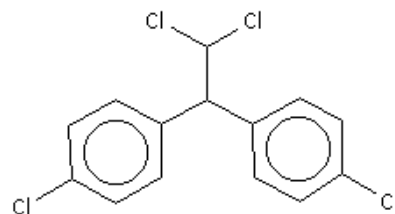


Figura 7. p,p'-DDD

Finalment, el metoxiclor (Figura 8) és una molècula ideada pels científics com a homòleg del p,p'-DDT, de forma i grandària similar, i que conseqüentment presenta unes propietats insecticides semblants, tot i que la capacitat de bioacumulació no és comparable. Els àtoms de clor en posició para del p,p'-DDT són substituïts per grups metoxi- ($-OCH_3$), els quals són, aproximadament, de la mateixa grandària que el clor. Aquests reaccionen i donen lloc a productes solubles en aigua, que no només es degraden en el medi ambient, sinó que els organismes els excreten enlloc d'acumular-los. El metoxiclor s'utilitza encara àmpliament en alguns països, tant pel control de mosques i mosquits tant a nivell domèstic com agrícola.

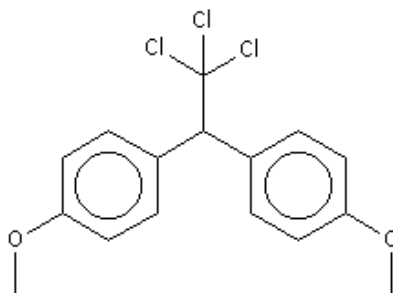


Figura 8. Estructura química del metoxiclor

El p,p'-DDT i els seus derivats són compostos molt solubles en lípids i altament hidrofòbics ($\log K_{ow} > 6$) (Mackay *et al.*, 2006), mostrant una elevada tendència a ésser bioacumulats en els organismes i ser biomagnificats en la xarxa tròfica. Els DDT presenten una elevada toxicitat en vertebrats i invertebrats (Walker, 2001).

Com a efectes sobre la salut s'ha observat un increment significatiu de mortalitat per malalties cerebrovasculares en treballadors involucrats en la producció de DDT, caràcter immunodepressor, efectes de disrupció estrogènica, i alta toxicitat en peixos i ocells. També s'ha observat efecte carcinogen del DDT i dels seus derivats, tot i que alguns estudis no són concloents (Turusov *et al.*, 2002). Tot això, ha portat a la IARC a classificar el DDT com a possible carcinogen pels humans (grup 2A).

1.2.1.4. Ciclodienos clorats

L'Aldrín, el Dieldrín, l'Endrina, l'Heptaclor, l'Heptaclor epòxid, l' α -endosulfà i el β -endosulfà són plaguicides que formen part del grup de ciclodienos clorats. La majoria d'aquests es van comercialitzar, però, actualment també es troben prohibits o limitats en molts països. Tot i això, encara estan disponibles en alguns llocs. No se'ls coneix cap font natural.

Van arribar al mercat al voltant de l'any 1950, amb l'Aldrín i el Dieldrín. Ambdós són emprats com a insecticides i són d'estructura molt semblant. De fet, el segon és es forma per qualsevol tipus de degradació del primer. Aquesta conversió, produeix un compost molt més persistent mediambientalment que el seu precursor. Es va utilitzar àmpliament en països tropicals per controlar la mosca tse-tse, i encara s'utilitza a molts països per matar termites.

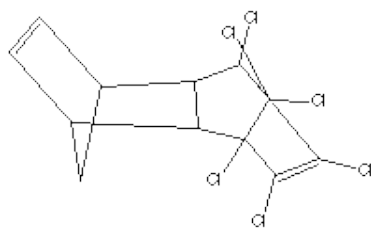


Figura 9. Aldrín

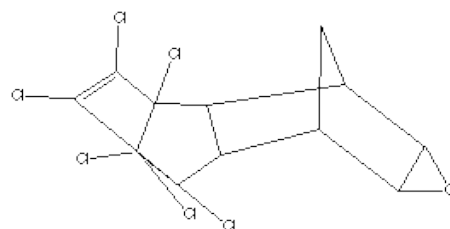


Figura 10. Dieldrín

L'Endrín és un rodenticida i insecticida per plantacions de cotó, arròs i blat de moro, de toxicitat més elevada que els dos anteriors. Tal és la seva toxicitat que fins i tot, també s'utilitza com a plaguicida per ocells.

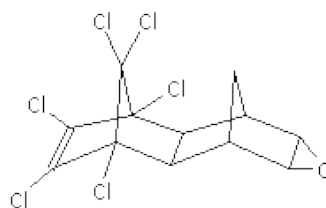
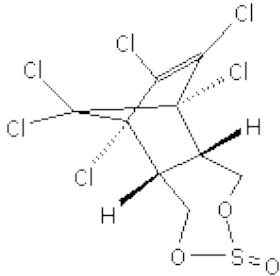
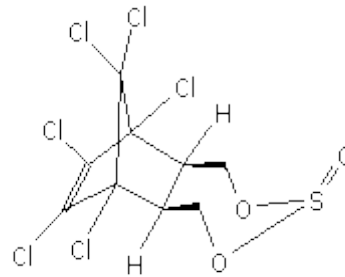


Figura 11. Endrín

L'Endosulfà s'utilitza extensivament encara com a insecticida a tot el món, tant per aplicacions domèstiques com agrícoles. També s'utilitza com per a la preservació de boscos. No obstant, la seva bioconcentració i persistència ambiental és molt menor que la dels altres ciclopentadiens. L' α -endosulfà i el β -endosulfà són els dos isòmers més importants.

Figura 12. α -endosulfàFigura 13. β -endosulfà

L'Heptaclor és un termicida i insecticida empleat en cultius, mentre que l'Heptaclor epòxid és el metabòlit o producte de degradació que es forma un cop s'allibera al medi ambient.

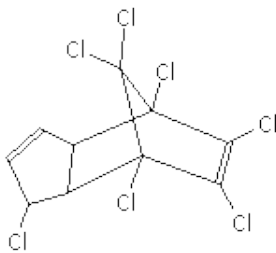


Figura 14. Heptaclor

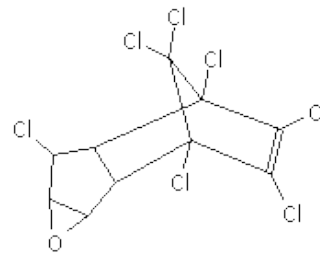


Figura 15. Heptaclor epòxid

1.2.1.5. Bifenils policlorats (PCBs)

Els PCBs són compostos clorats, derivats del bifenil. A partir d'aquesta estructura i substituint els hidrògens radicals per clors es poden aconseguir fins a 209 combinacions, que corresponen als 209 PCBs classificats per la IUPAC ("International Union of Pure and Applied Chemist"), segons el sistema proposat per Ballchmitter i Zell (1980) en la que s'assigna a cada isòmer un número sistemàtic de l'1 al 209 en funció del número de substitucions clorades i de la seva posició a l'anell bifenil. Els PCBs tenen com a fórmula general $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, on "n" varia entre 1 i 10 (Figura 16).

Algunes de les característiques dels PCBs que els hi ha fet interessant des de un punt de vista comercial és que químicament són inerts i fàcils de cremar, solen trobar-se en estat líquid, amb pressions de vapor baixes, tenen un cost molt baix de producció i són uns bons aïllants elèctrics.

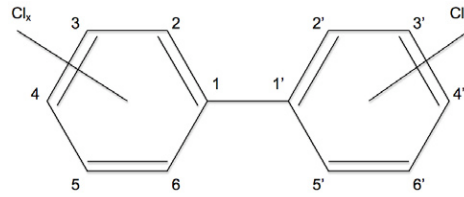


Figura 16. Estructura genèrica dels PCBs

Normalment, el grau de cloració (1-10 clors) és directament proporcional a la liposolubilitat (augment de la constant octanol-aigua) i a l'adsorció, mentre que és inversament proporcional a la solubilitat en aigua, a la volatilitat i la biodegradació. (Vallack *et al.*, 1998; Mackay *et al.*, 2006). La seva persistència i la capacitat de bioacumulació/biomagnificació augmenta, també, amb el grau de cloració i amb la posició d'aquests àtoms. Els compostos més persistents solen ser aquells que tenen almenys un o dos clors en la posició *orto*- (les quatre posicions 2,2' i 6,6', és a dir, les colindants amb l'enllaç que uneix els dos anells benzènics). En l'ambient, els PCBs es solen associar amb els components orgànics dels sòls, als sediments i als teixits biològics; o amb el carboni orgànic dissolt en sistemes aquàtics. L'alta persistència de molts dels PCBs, combinada amb els elevats factors de partició de nombrosos isòmers (log Kow entre 4,3 i 8,26) provoquen la facilitat de bioacumulació que tenen, i l'augment de l'estabilitat afavoreix el seu transport a llarga distància mitjançant el transport atmosfèric. Els PCBs poden degradar-se fotolíticament, provocant una deshalogenació del bifenil (Lores *et al.*, 2002), o ho poden fer biològicament mitjançant una descloració progressiva, hidroxilació, obertura del sistema bifenílic i finalment l'oxidació d'aquest CO₂ (Hardman, 1991).

Els bifenils policlorats foren sintetitzats per primera vegada per Schmidt i Schultz en 1881 i es començaren a comercialitzar en els anys 20, bàsicament com a mesclures complexes de congèneres i, de vegades, juntament amb altres compostos policlorats. S'utilitzaven massivament en varietat d'usos industrials, incloent la funció de dielèctrics en transformadors, com a líquids d'intercanvi de calor, com additius en pintures, en paper de còpia sense carboni i en plàstics. Els primers estudis alarmants de la seva presència foren a finals dels anys 60 (Jensen *et al.*, 1969); i actualment es troben en prohibició des de finals dels 70, malgrat que la substància perdura encara en ús en molts transformadors elèctrics que encara estan en servei. S'estima que la producció global s'ha produït al voltant de l'ordre de 1-2 milions de tones (de Voogt i Brikman, 1989); no obstant, no hi ha prou informació de la seva degradació per poder determinar les emissions produïdes (Jones i de Voogt, 1999).

El nombre i la posició dels àtoms de clor també determina el grau de toxicitat dels PCBs. Així, per exemple, en les compostos poc o gens clorades en la posició *orto*-, ambdós anells poden rotar lliurement i la molècula adquireix una estructura plana, com les dioxines o els furans, presentant una major toxicitat (de Voogt *et al.*, 1990). Aquestes, poden causar tumors i d'altres efectes carcinògens. Els diferents estudis de toxicitat dels PCBs han fet

evident els efectes de toxicitat aguda per exposició a dosis altes; donant lloc a desordres respiratoris, immunològics, lesions dèrmiques i oculars, etc. (Erickson, 1997), i una toxicitat d'efectes crònics o llarg termini amb símptomes d'atròfia tímica, erupcions cutànies o acné, alteració dels enzims hepàtics, carcinogènesis, desordres immunològics i reproductius, etc. (de Voogt et al. 1990). Dins de l'IARC es troben classificats en el grup 2A com a probables carcinògens pels humans.

Els congèneres tractats en el present estudi són: el PCB 28 (2,4,4'-triclor bifenil), el PCB 52 (2,2',5,5'-tetraclor bifenil), el PCB 101 (2,2',4,5,5'-pentaclor bifenil), el PCB 138 (2,2',3,4,4',5-hexaclor bifenil), el PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-hexaclor bifenil) i el PCB 180 ((2,2',3,4,4',5,5'-heptaclor bifenil) (Figura 17). Aquests són representatius de la totalitat de congèneres, ja que contenen de 3 a 7 àtoms de clor, amb propietats fisicoquímiques diferents i habitualment avaluats en mostres ambientals.

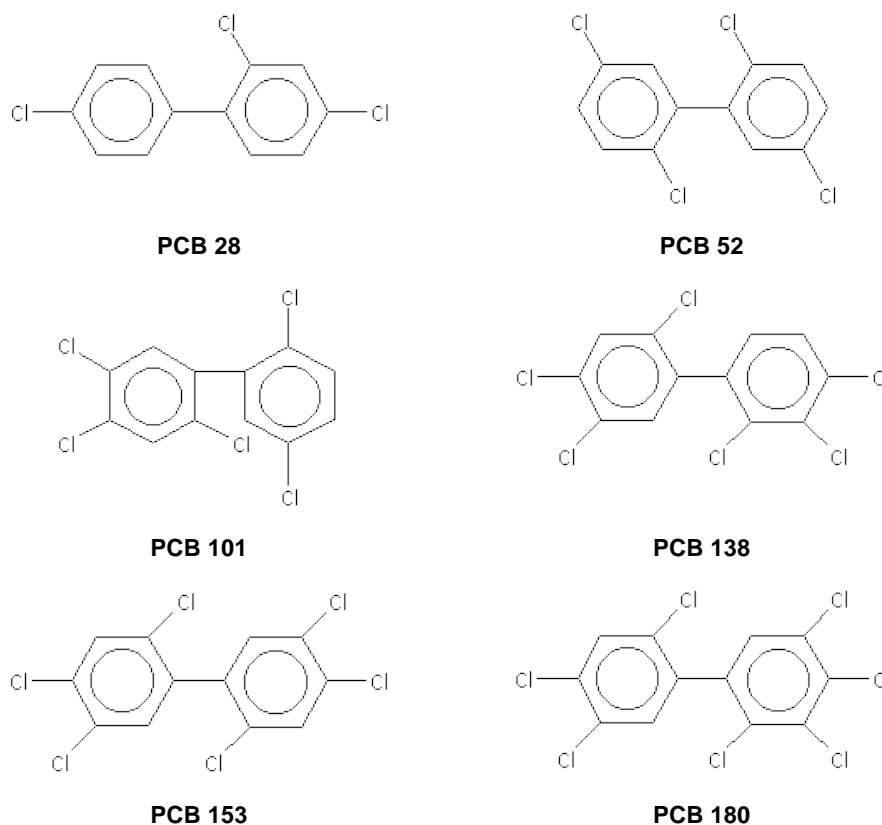


Figura 17. Estructura d'alguns PCBs analitzats

1.2.2. Hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs)

A més dels pesticides i dels productes químics industrials, existeix una tercera categoria de contaminants ambientals tòxics on es troben els hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs). Estan compostats només per àtoms de carboni i hidrogen, amb una estructura química de dos o més anells de benzè fusionats. Provenen de qualsevol combustió incompleta de matèria orgànica (Wakeham *et al.*, 1980), per tant, poden formar-se de forma natural i a partir d'activitats antròpiques (crema de combustibles fòssils). L'origen natural provinent d'erupcions volcàniques, incendis forestals, etc., però també d'altres fonts com les biogèniques (plantes,

algues, fitoplancton i microorganismes) i diagèniques (transformacions de material orgànics en sediments de llacs, etc.); aquestes són irrellevants enfront a les antròpiques.

La composició emesa dels PAHs depenen del combustible cremat i de la temperatura de la combustió (Howsam i Jones, 1998), on amb una alta temperatura l'eficiència del procés és major.

Les característiques físico-químiques dels PAHs són determinades, generalment, pel seu pes molecular. Posseeixen unes pressions de vapor a 25°C d'entre 10^{-13} i 10 Pa, i la solubilitat en l'aigua es troba entre 10^{-7} i 10^{-1} mmol/l (Mackay *et al.*, 1992); disminuint en augmentar el pes molecular. El seu log Kow s'incrementa directament amb el pes molecular, i es troba en un interval de 3 i 8 (Mackay *et al.*, 1992).

L'ample marge de propietats físico-químiques determinen el destí de cada compost. Els PAHs d'elevada solubilitat i pressions de vapor, és a dir, de baix pes, tendeixen quedar-se en la fase gas de l'atmosfera o fase dissolta si es troben en l'aigua; mentre que els compostos més pesats passen a formar part dels aerosols, a sedimentar en medi aquàtic o tendeixen a ser bioacumulats i la seva excreció és molt difícil (Vilanova *et al.*, 2001). En canvi, els PAHs menys pesats es poden excretar més fàcilment a partir, sobretot, de les brànquies i, també, de la pell i les mucoses. Els PAHs entren bàsicament per emissions atmosfèriques i fàcilment són transportats i dispersats per tot el planeta; fins poder arribar a àrees remotes on mai van ser produïts (Wania i Mackay, 1996).

Les característiques físico-químiques i la facilitat de dispersió pot provocar efectes sobre la salut, independentment de l'origen del contaminant. En el medi aquàtic, aquests compostos tendeixen a unir-se en els sediments, on romanen durant molt de temps. Molts éssers vius els metabolitzen ràpidament, però és precisament durant aquest procés quan els PAHs produeixen majors danys ja que en ser oxidats pel citocrom P450s, es converteixen en metabòlits molt tòxics. I aquests són els que causen efectes més greus, per sobre dels metabòlits, els genotòxics: reaccionen amb les cadenes d'ADN, que de vegades la capacitat d'autoreparació de la cèl·lula no pot restaurar a l'estat original, tot produint-se una mutació. A més, aquestes mutacions poden desencadenar en un càncer. Existeixen, però, organismes amb una habilitat limitada de metabolitzar aquestes substàncies i acumular-les arribant a una elevada concentració, propietat que els fa molt útils com a biomonitors.

A conseqüència de la seva toxicitat, existeixen 16 PAHs que han estat llistats per la EPA dels Estats Units: Naftalè, Acenaftilè, Acenaftè, Fluorè, Fenantrè, Antracè, Flourantè, Pirè, Benzo(a)antracè, Crisè, Benzo(b)fluorantè, Benzo(k)fluorantè, Benzo(a)pirè, Dibenzo(a,h)antracè, Benzo(g,h,i)perilè i Indeno (1,2,3-cd)pirè. A parts d'aquests, el Perilè també ha estat inclòs a l'estudi (Figura 18).

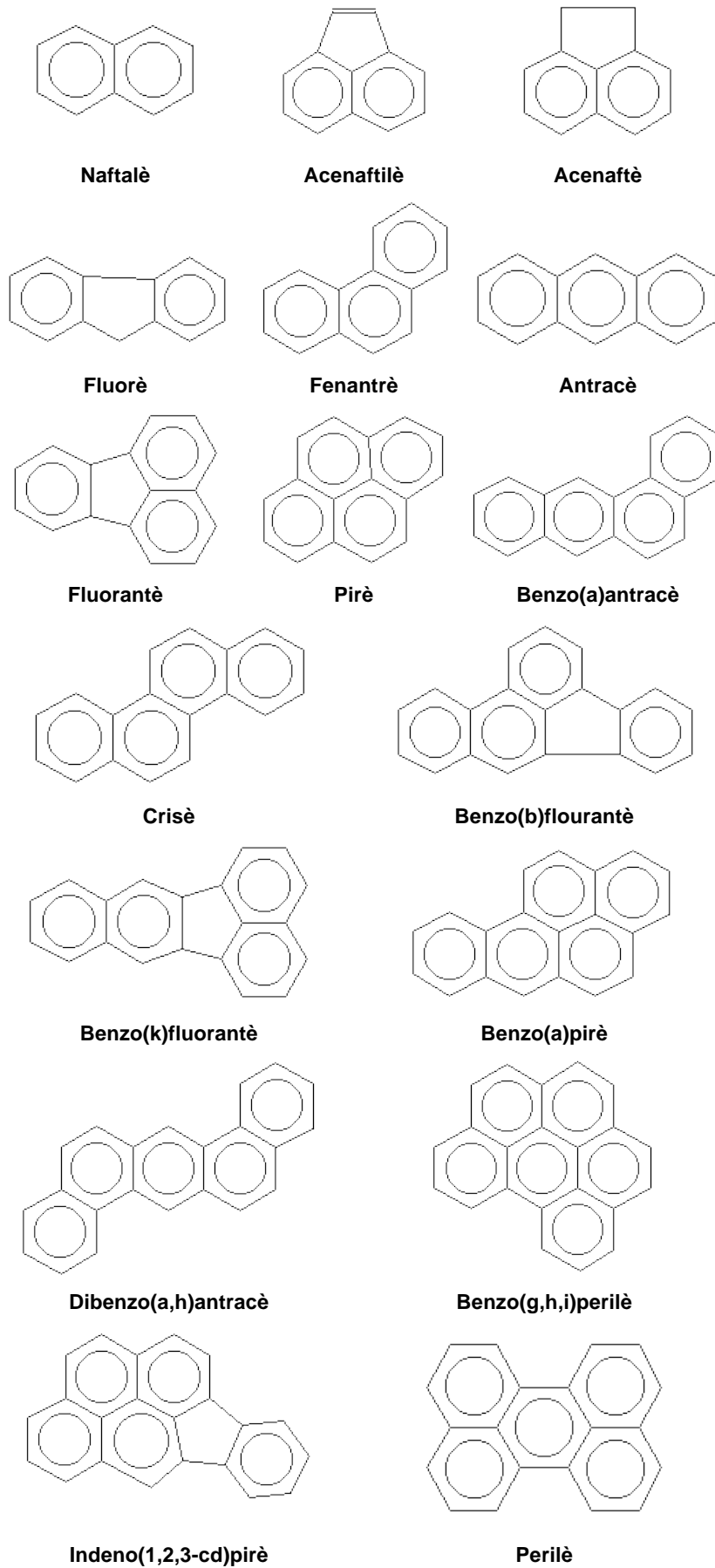


Figura 18. Estructura química dels PAHs estudiats.

	Ús antic/actual	Legislació	Propietats físiques-químiques	Efectes	
OCPS	HCB	-Fungicida o pesticida. - Es genera indirectament en la indústria.	Prohibits com a producte directe.	- Anell de benzè amb 6 Cl - $T_{1/2}$ (aire)= 2anys; $T_{1/2}$ (sediment)= 2,7-22,9 anys - log Kow= 3,03-6,42 - Elevada bioacumulació.	- Grup 2B (IARC) - Toxicitat crònica =lesions cutànies, fotosensibles, hipermentació, porfíria, debilitat extrema, disrupció estrogènica, càncer, immunodepressió,etc.
	HCHs	- Agrícola - 2a G.M.= control mosquits	- Prohibits (70s); però a Nord Amèrica i Europa el lindà segueix vigent.	- Fórmula $C_6H_6Cl_6$. - Químicament inerts= isòmers α , β , γ , δ , i ϵ . - Solubilitat en aigua alta (excepte isòmer γ -HCH) - Moderada P_v . - $T_{1/2}$ en tots els compartiments és llarga. - Elevada toxicitat i bioacumulació	- Grups 2B (IARC) - Fonamentalment afecta al sistema nerviós central. - Lindà = carcinògen - β -HCH = activitat estrogènica
	DDT i derivats	- DDT i DDD = Insecticida - Control de plagues. (40s) - Control de malària - DDE = hidròlisi del DDT	- Prohibits (70s); però és present en Índia, Mèxic o Àfrica pel control de malària.	- $T_{1/2}$ (aigua)= 1 any; $T_{1/2}$ (sediment)= 9 anys; $T_{1/2}$ (sòls)= 16 anys. - Solubilitat (25°C) < 0,05 mg/L - log Kow >6 - Elevada bioacumulació i biomagnificació. - DDT elevada toxicitat en peixos i ocells.	- Grup 2A (IARC) - Malaties cerebrovasculars, efectes disrupció estrogènica, DDT elevat carcinògen, etc.
	Clicodiens clorats	- Aldrín i Dieldrín = insecticida. - Endrina = rodenticida - Endosulfà = insecticida - Heptaclor = termicida - Heptaclor epòxid= metabòlit	- Prohibits o limitats en molts països.	- $T_{1/2}$ (sòl)= 6,5-11 anys; excepte el endosulfà ($T_{1/2}$ =50dies) - Solubilitat en aigua < 0,53 mg/L (a 25°C) - $P_v = 6,2 \cdot 10^{-6}$ mm Hg - log Kow = 5,34 - Alta bioacumulació (excepte l'endosulfà) - Elevada toxicitat en peixos.	- Carcinògen - L' α -endosulfà és més tòxic que β -endosulfà.
	PCBs	-Variats d'usos industrials: dielèctrics en transformadors, líquids d'intercanvi de calor, additius en pintures, en paper de còpia sense carboni, i en plàstics.	- Prohibits des de finals dels anys 70; però encara perdura en transformadors en servei.	- Derivats del bifenil, amb fórmula $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ - 209 PCBs classificats per IUPAC - Químicament inerts i bons aïllants tèrmics - més Cl = més persistència, bioacumulació/iomagnificació, i més liposolubilitat, més toxicitat. - log Kow= 4,3-8,26. - Posició "orto-" = el més persistent.	- Grup 2A (IARC) - Dioxines i furans són els més tòxics. - Efectes carcinògens - Toxicitat aguda = desordres respiratoris, immunològics, lesions dèrmiques i oculars,etc. - Toxicitat crònica = atròfia tímica, erupcions cutànies, alteracions hepètics, desordres reproductius i immunològics.
	PAHs	-Provenen de la combustió incompleta tant natural com antropogènica.		- Determinades pel seu pes molecular. - P_v (25°C)= 10^{-13} - 10 Pa - Solubilitat (aigua) = 10^{-7} - 10^{-1} mmol/l - log Kow= 3-8 - Els més pesats tenen tendència a sedimentar i a bioacumular-se més.	- Són metabòlits molt tòxics quan són metabolitzats. - Reaccionen amb l'ADN, i pot produir mutació o càncer. - Existeix organismes que poden acumular altes concentracions =bons biomonitors.

Taula 1. Resum dels Contaminants Orgànics Persistents, on es pot veure l'ús característic, les propietats físico-químiques, la legislació marcada i els efectes produïts de cada compost.

1.2.3. Dinàmica dels COPs als sistemes marins

Les propietats físico-químiques específiques dels COPs, juntament amb les característiques del medi receptor, juguen un paper molt important en la distribució d'aquests compostos un cop alliberats al medi ambient. Una vegada es troben els COPs en el medi, aquests pateixen processos de transport, barreja, transformació, disposició, transferència i repartiment entre les diferents fases i compartiments ambientals (intercanvi aire/aigua, adsorció, sedimentació, intercanvi aire/sedimentació, etc.). A la figura 19 es mostra un esquema dels principals processos físics, químics i biològics que afecten i determinen la distribució i destí final dels COPs als sistemes marins.

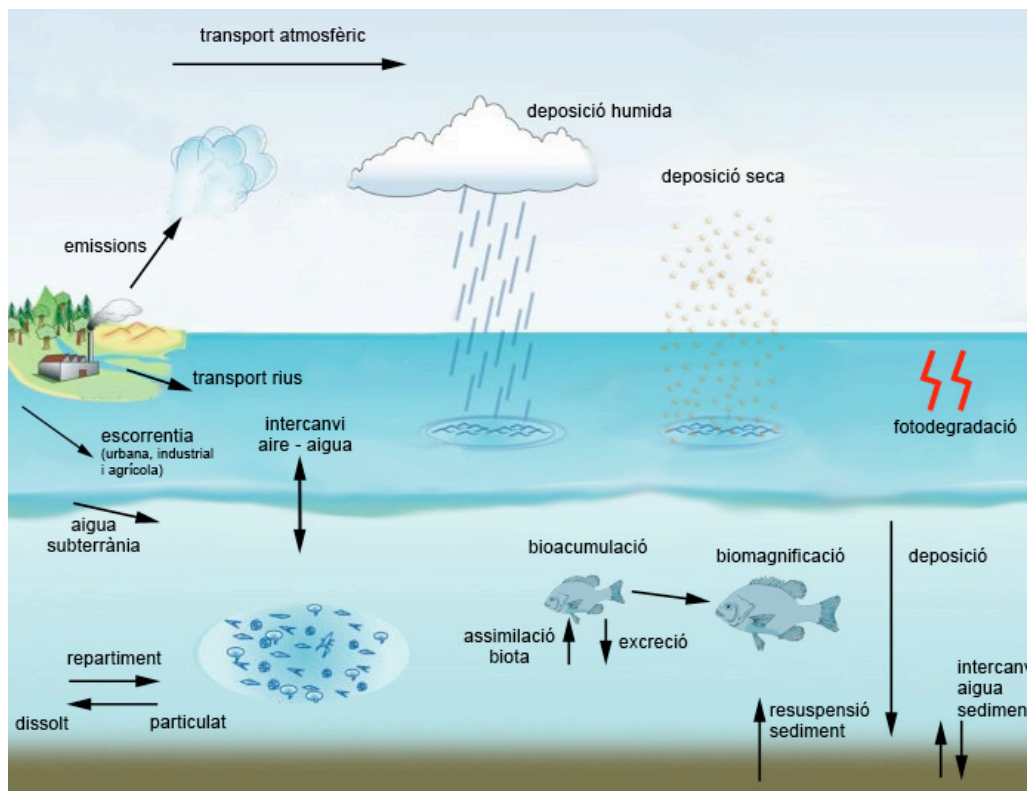


Figura 19. Dinàmica ambiental dels COPs als sistemes marins.

Els COPs, tal com s'ha comentat, poden viatjar i quedar-se en els diferents compartiments ambientals descrits a continuació:

- Atmosfera:

L'atmosfera és la via més important d'aportació i transport de contaminants, gràcies al seu volum i a la velocitat de les masses d'aire per recórrer llargues distàncies. Un factor condicionant a això és també la semivolatilitat d'aquests compostos, on s'ha pogut observar que una part d'aquests ha passat a l'atmosfera i s'ha transportat a llargues distàncies fins arribar a zones remotes i fredes, com les regions àrtiques i alpines (Wania i Mackay, 1996; Vives *et al.*, 2004; Gioia *et al.*, 2008), lluny de les seves fonts de producció i d'ús originals.

La distribució dels COPs està molt condicionada per la temperatura. A major temperatura més volatilitat d'un compost. Molts tenen pressions de vapor situades dins l'interval de les temperatures ambientals de les zones temperades (10^{-2} a 10^{-5} Pa). D'aquesta manera, en zones amb temperatures elevades (zones tropicals), els COPs tendiran a evaporar-se, mentre que en zones amb temperatures baixes tendiran a condensar-se. El procés "Fraccionament global o latitudinal" i "Condensació freda" o "Retenció selectiva" (Wania i Mackay, 1996,1993; Grimalt *et al.*, 2001) consisteix en la predicció de que el contaminant orgànic persistent en forma de gas que condensarà primer serà aquell que necessita major temperatura per mantenir-se en estat gasós. Així, els més volàtils com els benzens menys clorats o el Naftlatè quasi mai es dipositen i continuen el seu viatge per tot el planeta.

El transport atmosfèric dels COPs succeeix en dues fases, la gasosa i la particulada. Aquesta distribució depèn bàsicament de la pressió de vapor (Yamasaky *et al.*, 1982) i de les condicions físiques de l'atmosfera, com la temperatura, la quantitat i la composició de partícules en suspensió (Pankow, 1987). L'adsorció dels COPs a partícules atmosfèriques és important degut al caràcter lipofílic ($\log Kow > 4$), sabent que la major importància ve amb elevades $\log Kow$ o menors pressions de vapor (Fernández *et al.*, 2003). Un dels paràmetres que determinen la persistència i la tendència a viatjar llargues distàncies és la vida mitjana dels compostos en l'atmosfera i la mida de la partícula. Els PAH tenen vides mitjanes entre hores i dies; els plaguicides organoclorats, HCHs i els DDTs són de dies i setmanes; i els PCBs entre setmanes i mesos. Els més duradors són els HCBs que tenen valors d'alguns anys (Gramatica, 2001).

En els processos de repartiment i en la vida mitjana influeixen altres factors que s'han de tenir en compte. Entre aquests, cal destacar els processos d'eliminació o rentat dels compostos del medi, tal com són la degradació fotoquímica i la deposició atmosfèrica.

-La fotodegradació pot ser produïda per una radiació directa o indirecta. La indirecta és mitjançant reaccions amb radicals lliures per fotòlisis, com són l'ozó o els hidroxil (Lemaire *et al.*, 1982). El procés de degradació fotoquímica és irreversible.

-Pel que fa a la deposició atmosfèrica es tracta d'un procés reversible. Pot tenir lloc per deposició humida que provoca un rentat dels COPs atmosfèrics degut a la pluja, neu o boira que arrossega els contaminants associats a l'aerosol atmosfèric i dissolt dels compostos gasosos a les gotes d'aigua; o per deposició seca que provocant una precipitació per gravetat dels COPs associats als aerosols. (Cotham i Bidleman, 1991).

-Aigua:

L'entrada dels compostos orgànics persistents a l'oceà es produeix per via deposició atmosfèrica i sobretot a través dels cursos fluvials (rius, escorrentia superficial, abocaments directes, l'intercanvi amb les aigües subterrànies, etc.) (Figura 19). Els organoclorats, que són compostos molt poc solubles en aigua, dificulta el transport als sistemes fluvials. El transport més comú d'aquests contaminants es dona quan són absorbits per partícules del sòl i aquests són arrossegats per les pluges intenses, mitjançant l'escorrentia. El destí i el transport descrit

venen controlats principalment per la seva partició entre les dues fases: la particulada i la dissolta de la columna d'aigua. El grau de partició depèn de les propietats físico-químiques del compost (solubilitat en aigua i la lipofilitat), la quantitat i tipus de matèria orgànica particulada i dissolta en la columna d'aigua, la presència de col·loides (Baker *et al.*, 1991), i, la temperatura de l'aigua i de l'aire (Bergen *et al.*, 1993). Durant el trànsit de la matèria orgànica sedimentable a través de la columna d'aigua, també es poden produir processos de dissolució i degradació que provoquen una transformació de la matèria orgànica particulada en material dissolt (Gustafsson *et al.*, 1997). Els COPs dissolts en l'aigua poden volatilitzar-se de nou cap a l'atmosfera, mentre que els que tenen més afinitat per les partícules i agregats són més resistents a la volatilització, a la degradació i solen ser menys biodisponibles (Alexander, 1995).

En el cas de les zones costaneres, al ser àmbits molt dinàmics, queden més afectats pels processos descrits anteriorment. Es tracten de zones amb elevada activitat urbana, agrícola i/o industrial. La entrada principal dels COPs en aquests àmbits es tracta del transport fluvial, com l'escorrentia urbana i/o agrícola i els abocaments directes.

- Sediments:

Un cop passat per la columna d'aigua, els compostos pateixen processos de sedimentació on van a parar al fons de les masses d'aigua per formar part dels sediments marins. Es considera un dels destins finals dels COPs. Els sediments regulen la retenció d'aquests compostos per diversos factors com el contingut de carboni orgànic, l'intercanvi aigua/sediment, la torbació, la temperatura, i les transformacions químiques i biològiques (Fernández *et al.*, 1999 i 2000; Grimalt *et al.*, 2001). Els contaminants existents als sediments poden retornar de nou cap a la columna d'aigua a través de la difusió (intercanvi aigua-sediment), bioturbació i/o resuspensió (figura 19) (Meijer *et al.*, 2006). Els COPs acumulats als sediments també poden ser subjectes de diverses transformacions químiques i biològiques a llarg termini.

- Organismes aquàtics

Un altre destí comú dels COPs es tracta de l'acumulació en els teixits diana dels organismes marins a través de l'exposició a l'aigua, al material particulat, sediments o la ingesta d'altres espècies (Figura 19). L'absorció de productes químics presents en els sediments succeeix per contacte dèrmic directe i oral (per ingestió) (Varanasi, 1989). Dels organismes aquàtics, les espècies bentòniques són les més vulnerables a la contaminació al ser el seu hàbitat el fons marí, com és el cas de *Citharus linguatula*. Gràcies a estudis basats sobre les propietats físico-químiques de les substàncies i el medi, la degradació biològica, el transport i la cinètica d'ingesta, i excreció; permet conèixer la fracció biodisponible del contaminant (Baumand *et al.*, 1998). La bioacumulació, fet que defineix la capacitat d'acumular contaminants químics en els peixos a través de totes les vies d'exposició possible, pot tenir lloc de dues maneres diferents: mitjançant la bioconcentració (com a resultat de l'exposició directe

a l'aigua o de la ingestió de partícules en suspensió) i la biomagnificació (a través de la xarxa tròfica) (Kidd *et al.*,2001). L'entrada dels COPs dins dels peixos marins es realitza, en general, amb un mecanisme de difusió passiva; on el flux d'entrada depèn de les concentracions de l'aigua (Gobas *et al.*, 1986) i del contingut lipídic de les membranes (Spacie i Hamelink, 1982).

Degut a la resistència i descomposició, no s'excreten fàcilment i tendeixen a acumular-se a l'organisme. En general, l'excreció de compostos orgànics es veu facilitada per la conversió metabòlica en formes més polars. Alguns compostos, però, poden transformar-se en metabòlits més persistents que el compost primari; això és important per a la bioacumulació d'alguns compostos en els peixos. Com per exemple, el pp'-DDT és parcialment metabolitzat a pp'-DDE en els organismes o en el pas de Aldrín a Dieldrín (Lund, 1998).

Cal tenir en compte que els COPs, un cop han entrat en el medi marí, poden ser afectats pel moviment de masses d'aigua a través de processos d'advecció i difusió turbulenta (Jurado *et al.*,2007).

1.2.4. Marc legal dels COPs

En les últimes dècades, hi han hagut varis acords internacionals que s'han centrat en controlar riscos associats a les substàncies químiques perilloses (SAICM;2006). Els acords globals per la reducció i eliminació eventual dels contaminants orgànics persistents mitjançant la restricció de la seva producció i comerç es tracta d'un procés a llarg termini.

Des de la primera Conferència Internacional sobre el Medi Humà (Estocolm, 1972) s'ha plantejat la necessitat de controlar els risc de les substàncies químiques perilloses, centrat l'atenció internacional en temes medi ambientals, especialment els relacionats amb la degradació ambiental i la contaminació, i es senyalava el fet de que la contaminació no reconeix els límits polítics o geogràfics i afecta als països, regions i pobles més allà del seu punt d'origen.

En 1994, 103 països adoptaren el Programa Ambiental de les Nacions Unides (UNEP) amb un acord per la protecció del medi ambient marí. Van treballar cap a l'acord global de prohibir i eliminar 12 compostos(figura 20), originant el Conveni d'Estocolm (CE) sobre COPs, firmat el 23 de maig del 2001, que representa un avanç en la lluita contra la contaminació global del planeta i planteja una sèrie de desafiaments i oportunitats per a les organitzacions que promouen la protecció de la salut i el medi ambient.

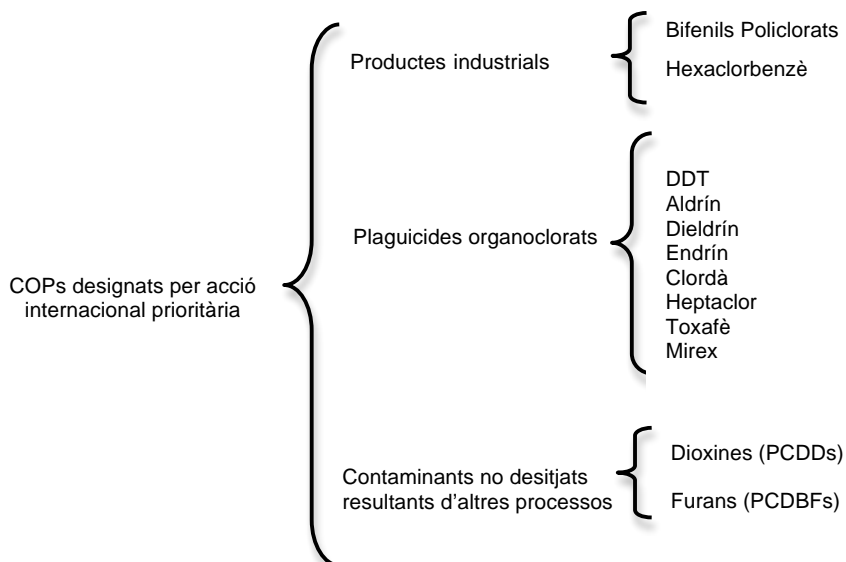


Figura 20. Classificació dels COPs denominats d'interès prioritari (CE,2001).

A partir de la data firmada, els governs tenien 2 anys per elaborar plans nacional d'aplicació, per tal d'executar totes les mesures establertes en el Conveni. Quan va entrar en vigor, mitjans de maig 2004, ja hi havia 151 estats signataris i 111 parts que havien ratificat el Conveni d'Estocolm, entre ells Espanya.

Aixa mateix, la Convenció sobre el Prior Consent Agreement (PIC,1998) o procediment de Consentiment Fondament Previ (CFP), per a certs productes químics perillosos i pesticides en comerç internacional, fou acordada en Conveni de Ròtterdam, Països Baixos, en setembre de 1998. Aquest conveni va entrar en vigor el 24 de Febrer de 2004. S'aplica a plaguicides i productes químics industrials que han segut prohibits o rigorosament restringits per raons sanitaris o ambientals per alguns països i que han segut notificats per la seva inclusió en el procediment de PIC.

El Parlament Europeu va aprovar el Reglament REACH (Registre, Avaluació i Autorització de substàncies Químiques), nou instrument de gestió de substàncies químiques, que entrà en vigor el 1 de juny de 2007 i s'aplicarà de forma escalonada fins el 2018, any en el que estarà totalment desenvolupat. Aquest reglament estableix un registre europeu únic que controla les substàncies químiques que es produeixen o importen en quantitats majors a una tona. Alguns productes químics presents en el mercat no s'inclouen en el REACH. És el cas, per exemple, de les substàncies intermitents no aïllades, és a dir, les substàncies únicament fabricades per a la síntesi química d'altres substàncies i que no es separa de la mescla reactiva. Per a altres productes (polímers, substàncies emprades en investigació i desenvolupament), s'han previst exaccions totals o parcials. Per últim, REACH, ha segut concebut per a completar i no per sobreposar-se a altres textos legislatius de la Unió Europea. Per aquesta raó, no s'aplicarà als casos dels biocides o fitosanitaris (REACH (CE) nº 1907/2006).

1.3. Objectius

Els objectius d'aquest treball es troben integrats dins d'un projecte del **Biomare** on pretén investigar els contaminants orgànics persistents en diferents espècies de peixos, sediments i columna d'aigua en diversos punts de la costa catalana.

Així doncs, aquest projecte té els següents objectius principals marcats:

- L'anàlisi d'unes mostres de la matriu de l'espècie, escollida com a biomarcador, *Citharus linguatula* i identificar, si n'hi ha, els possibles contaminants orgànics persistents.
- Quantificar els contaminants trobats en les mostres analitzades.

2. ÀMBIT D'ESTUDI

2. ÀMBIT D'ESTUDI

2.1. Ubicació

El Mar Mediterrani és el mar semitancat més gran d'Europa. Es caracteritza per una plataforma continental estreta i una zona litoral limitada. A més a més per altes temperatures, una elevada salinitat (36-29%), un règim de mareas dèbils i intercanvis limitats d'aigua (EEA, 2006) fet que provoca una tendència a la concentració dels contaminants (Osterberg i Keckes, 1977). Climatològicament, la regió mediterrània està caracteritzada per unes temperatures generalment suaus, amb estius càlids i secs, mentre que els mesos d'hivern i tardor presenta una gran pluviometria. Aquestes característiques fonamentals del clima mediterrani esdevenen més marcades en un gradient nord-sud i oest-est.

Les activitats humanes provoquen impactes i severes amenaces sobre el medi marí mediterrani, receptor de gran quantitat de residus i serioses alteracions de l'ecosistema natural. Particularment, les zones costaneres estan subjectes a pressions importants provocades per una elevada concentració de població i de les activitats econòmiques derivades. Activitats com l'agricultura, la indústria i l'activitat portuària són els protagonistes principals d'aquestes amenaces. Generalment, la densitat de població és més elevada a les zones costaneres que a zones d'interior, a més, cal destacar les activitats turístiques, fet que agreuja encara més les pressions que s'exerceixen sobre la costa. Aquest fet juntament amb les característiques oceanogràfiques i geogràfiques del Mar Mediterrani el fan especialment vulnerable a la contaminació antropogènica. Per tot això, l'estudi i control de la contaminació en aquest mar és un tema d'interès primordial, que augmenta encara més quan ens referim a contaminants com ara els COPs, que poden persistir en el medi durant llargs períodes de temps.

Aquest projecte s'ha centrat en dos punts de la costa catalana per realitzar la captura de l'espècie de *Citharus linguatula*, mostres que posteriorment han estat analitzades. La pesca emprada fou l'arrossegament comercial. El primer punt de mostreig escollit es troba pròxim al Port de Barcelona en una profunditat de 85 metres i unes coordenades de calada (llançament de les xarxes) 41°15'35"N i 2°09'00"E, i les coordenades de llevada de xarxa (recollida de les xarxes) a 41°11'28" i 2°01'53"E. L'altre punt de captura de les mostres està situat a la costa de Blanes en una profunditat de 106m. i unes coordenades 41°38'67" i 2°53'86" inicials, 41°33'86" i 3°00'78" de finals. Les mostres foren congelades a -20°C immediatament després de la pesca.

2.1.1. Port de Barcelona

En matèria de medi ambient, la millora i control de qualitat del sistema marí és una de les principals preocupacions dels ports. La situació de partida acostuma a ser bastant negativa, ja que les aigües portuàries generalment reben els abocaments d'aigües residuals de zones

urbanes pròximes i, sobretot, els abocaments industrials procedent de les mateixes instal·lacions portuàries que tenen com a destí final el fons marí.

A Barcelona, la conversió de certes àrees del Port en zones d'oci obertes a la població ha creat la necessitat de millorar l'aspecte i la qualitat de les aigües abrigades d'ell mateix. Existeix el Servei de Medi Ambient (SMA) que té com a objectiu controlar la qualitat del medi aquàtic i es centra en avaluar l'impacte de les activitats portuàries sobre aquest medi i, per extensió, sobre les comunitats naturals que depenen d'ell. El SMA realitza campanyes periòdiques per tal de controlar els paràmetres físico-químics de l'aigua, la contaminació en els sediments, i també controla la qualitat d'aire pròxim a aquesta zona per tal d'observar si en la composició conté contaminants que puguin ser dipositats en el medi marí. A part d'aquests controls periòdics, en el Port de Barcelona es realitza un seguiment de les poblacions de les comunitats vinculades al substrat (bentòniques) i de les de la columna d'aigua (planctòniques); l'objectiu aquests estudis consisteix, per una part, conèixer les condicions base del medi marí portuari i, per una altra, investigar les possibles millores associades a la implantació de mesures de control de les afeccions ambientals de l'activitat portuària.

2.1.2. Blanes

El terme municipal de Blanes es troba situat a l'extrem meridional de la província de Girona, al costat de la desembocadura del riu Tordera, una de les entrades dels contaminants orgànics persistents en aquesta zona, juntament amb l'escorrentia superficial o la deposició atmosfèrica. Antigament, l'economia d'aquesta localitat estava basada en el sector primari (tant la pesca com l'agricultura). Però, a partir de la segona meitat del segle XX va haver-hi una revolució econòmica amb l'aparició d'una incipient indústria tèxtil i un potent sector turístic que segueixen com a motors de l'economia actual del municipi, tot i que encara deixa lloc als sectors tradicionals. L'activitat del municipi és fonamental per l'anàlisi dels COPs.

2.1. Els peixos bentònics com a bioindicadors: el cas de *Citharus linguatula*

Els peixos que habiten les àrees costaneres han estat sovint proposats com a sentinelles de la contaminació procedent de terra endins, per la bioacumulació en els seus teixits de compostos hidrofòbics, bé directament de l'aigua a través de la respiració o, de la xarxa tròfica mitjançant la seva dieta. A banda de per aquesta capacitat de bioacumulació també són utilitzats perquè per organoclorats (no pas per PAHs) presenten un escàs metabolisme, i consegüentment reflecteixen els nivells trobats a l'ambient aquàtic. Així, mentre els organoclorats es bioconcentren a través de la xarxa tròfica, els hidrocarburs són, en general, més fàcilment metabolitzats. També ocupen diferents hàbitats en el mateix ecosistema, i tenen diferents comportaments alimentaris, oferint l'estudi de l'influència dels diferents factors a la bioacumulació de contaminants.

Freqüentment, les comunitats bentòniques s'utilitzen com a indicadors de l'estat de salut dels sediments, ja que són organitzacions estables en l'espai i en el temps i, per tant, acumulen una certa història dels fets que ocorren en els sediments on habiten.

En el present estudi s'ha fet servir l'espècie *Citharus linguatula*, espècie bentònica pràcticament no utilitzada per aquesta finalitat.

2.1.1. *Citharus linguatula*

El *Citharus linguatula* pertany a la família Citharidae (Linnaeus, 1758), de l'ordre dels pleuronectiformes (peixos plans). Espècie més coneguda com a Palaia presenta una llargada entre un rang de 100mm i 300mm, tot i que acostuma a arribar als 200mm; s'ha comprovat que les femelles solen ser un o dos centímetres més grans que els mascles (Planas i Vives 1956). Presenten el cos extremament comprimit (aplanat lateralment) i perfectament adaptat al seu hàbitat per passar desapercebut en el fons marí. De manera que sembla com si es veiés només un costat del peix; així, s'observa en el costat esquerra de la palaia, un opercle i els dos ulls molt grossos un al costat de l'altre. La boca gran i punxeguda se li obre lateralment i no de dalt a baix com a la majoria de peixos (Figura 21).



Figura 21. Imatge del *C. linguatula*.

Aquesta transformació extrema, que afecta no tan sols a la morfologia sinó a l'anatomia, es produeix quan el peix passa de ser una larva planctònica a un juvenil bentònic, en l'etapa immediata al període que s'anomena d'assentament. Així, en ecllosionar l'ou, la larva que en surt no és diferent de la resta de peixos (simètrica, i amb un ull a cada banda). És just abans d'assentar-se quan els ulls es desplacen progressivament cap a la banda esquerra (Figura 22), i el peix esdevé totalment asimètric. El costat que resta exposat a manera d'esquena (anomenat ocular o zenital) és més fosc, de color marronós rosaci semblant al substrat. El costat que resta en contacte més o menys permanent amb el fons (costat cec o nadiral) és de color més blanquinós.

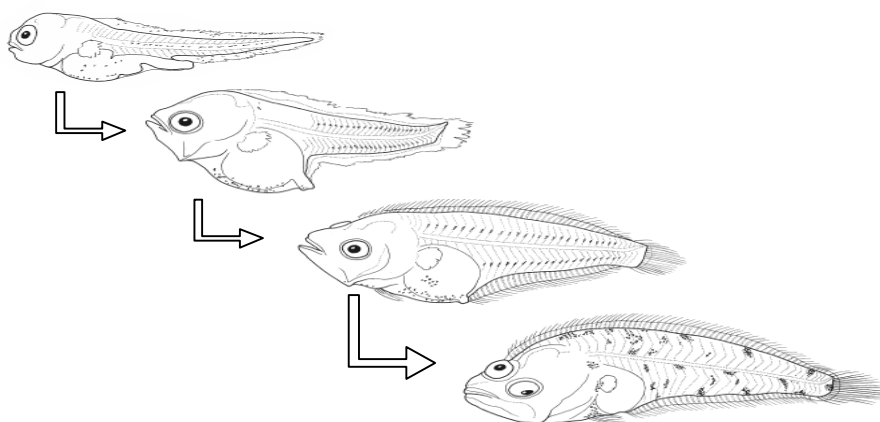


Figura 22. Sèries successiva dels estadis larvaris de la Palaia on es pot apreciar el desplaçament de l'ull dret cap al cantó esquerre del peix. (Sabatés, 1988).

C. linguatula viu en fons fangosos, de sorres fangoses i gruixudes, petits blocs coral·lígenes, pedres i detrits. Són animals bentònics sobre la placa continental, que majoritàriament, es troben en profunditats entre 10 i 100 metres, encara que poden ser vistos en aigües profundes de 200m (Kaya, 1993). La seva distribució geogràfica és a través del Mar Mediterrani i l'Atlàntic Oriental (Nielsen *et al.*,1986), fins els 23° de latitud sud (clima subtropical) (Figura 23).



Figura 23. Distribució geogràfica de *C. linguatula*.

Pel que fa a la seva alimentació és bàsicament ictiòfaga, on el seu aliment principal és de peixos petits, crustacis i en menor grau cefalòpodes. Accidentalment es pot trobar microplàncton (Plana i Vives, 1956).

Presenten una reproducció gonocòrica. La maduració dels òrgans sexuals es realitza durant els mesos de juny i juliol; mentre que l'època de posta s'inicia a principis d'agost fins a principis de novembre. Durant els mesos restants de l'any, les gònades quedaran en estat de complet repòs sexual (Plana i Vives, 1956).

3. METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

L'anàlisi de COPs implica la necessitat d'assolir una gran cura i precisió, raó per la qual, en alguns estudis d'investigació de tot el món, és palpable que encara hi ha algunes dificultats en la determinació acurada de COPs, especialment els PAHs i els OCPs (Carvalho *et al.*, 1999; de Mora *et al.*, 2004).

La contaminació externa i la pèrdua de compostos buscats durant l'anàlisi de les mostres de peix, pot distorsionar els resultats, ja que la concentració d'aquest analits és força baixa. Per tal d'evitar la contaminació externa, és important que el laboratori de la investigació no hi hagi cap font de COPs. S'han de realitzar proves de blancs, que consisteixen en fer tot el procediment analític sense mostra, i així es comprova que estigui lliure de contaminants tant l'equipament de laboratori com els dissolvents utilitzats. Cal especificar que tot el material reutilitzable que entra en contacte amb la mostra és netejat a consciència, amb sistemes com l'estada en cubetes d'àcid i sabó, neteges amb ultrasons o mullant el material reutilitzat (volatilitzant possibles restes de compostos orgànics a uns 450°C). Pel que fa a les possibles pèrdues de compostos investigats, s'introdueixen patrons de concentració coneguda a la mostra; d'aquesta manera es pot estimar les pèrdues durant el procediment.

El procediment seguit per la identificació de COPs en les mostres de *Citharus linguatula* s'observa a la figura 24. Primerament s'han d'homogeneïtzar les mostres de múscul de peix en pes fresc amb sulfat de sodi, i seguidament se li afegeix uns 25mL de dissolució d'extracció per realitzar l'extracció amb microones. L'extracte obtingut ha de ser filtrat i concentrat fins a 1mL, amb absència de qualsevol partícula de matriu de peix ni contingut d'aigua, si no hauran de ser eliminats. Una vegada preparada la columna, es passa a realitzar el fraccionament cromatogràfic per tal de separar els diferents contaminants i patrons interns en les fraccions corresponents. Una vegada concentrat les dues fraccions mitjançant un flux de nitrogen i es passa a l'anàlisi dels resultats en un GC-MS (cromatògraf de gasos acoblat a espectròmetre de masses). A més, s'analitza el contingut d'aigua i de lípids que pot donar informació complementària.

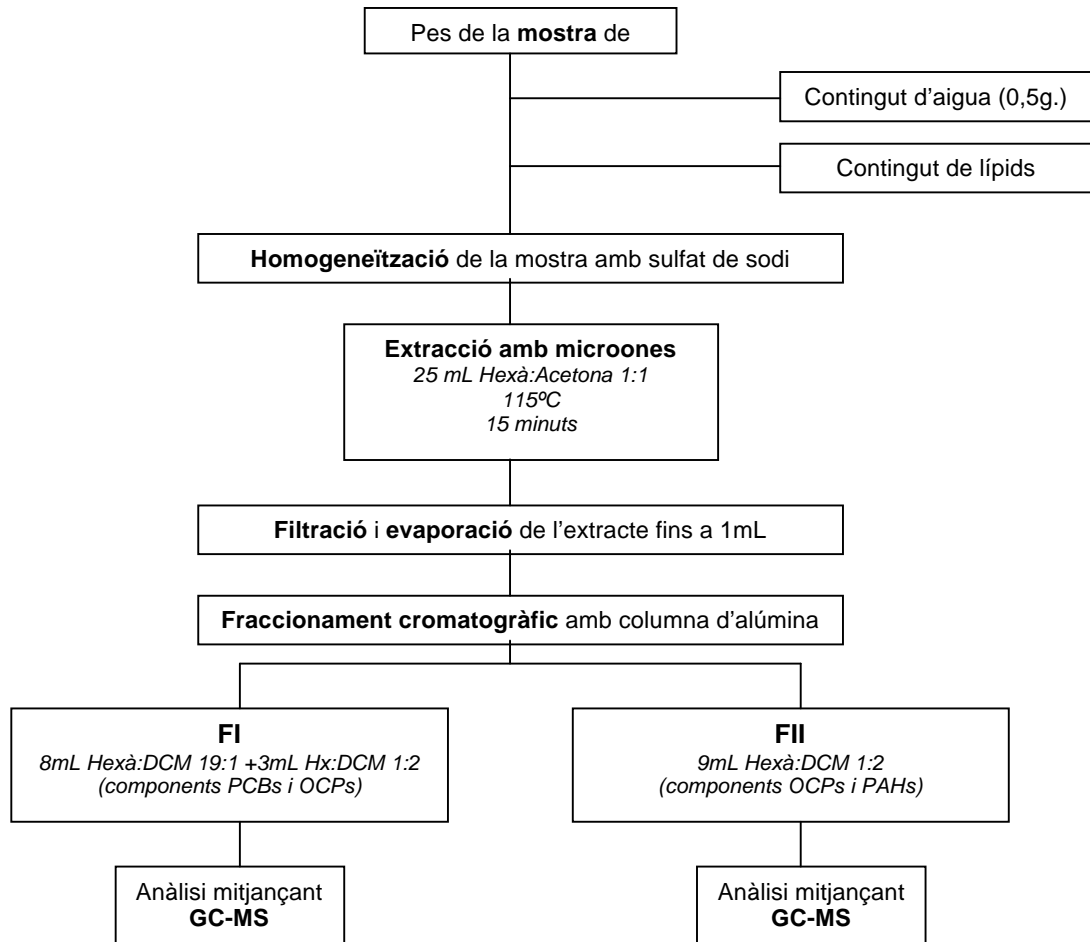


Figura 24. Esquema del mètode analític de l'estudi de compostos organoclorats i PAHs.

3.1. Preparació de les mostres per a l'extracció

Les mostres a analitzar han de ser descongelades durant una nit a la nevera. Una vegada descongelades, s'ha de separar la pell del múscul del peix, i posteriorment, es secciona uns grams de múscul dorsal; l'òptim són uns 12 grams per mostra, però dependrà de la quantitat de mostra total de la que es disposa. Aquests grans han de ser tallats en petits trossos utilitzant unes tisores i unes pinces netejades prèviament en ultrasons durant 15 minuts i després amb barreja de neteja (DCM:MeOH 2:1). La resta de la mostra ha de ser novament congelada.

De la mostra agafada, es guarda 1 gram per mostra que s'utilitzarà per determinar el contingut de lípids i d'aigua, si és possible. Amb la resta s'analitzarà la determinació de PAHs, PCBs i OCPs en les mostres de *Citharus linguatula*.

Cada tanda d'extracció de mostres ha de contenir un blanc i una mostra de material de referència (IAEA-406), d'uns $1,5 \pm 0,1$ g. Les mostres de *Citharus linguatula* són barrejades amb $15 \pm 0,1$ g. de sulfat de sodi anhidrid (Na_2SO_4), que hagi segut netejat amb la mufla a uns 450°C durant unes 6 hores. La principal funció del sulfat és retenir la major quantitat d'aigua de les mostres, ja que és molt important que no continguin aigua, o que la quantitat sigui la mateixa

per totes les mostres alhora de realitzar l'extracció. La barreja és triturada en un morter per acabar d'homogeneïtzar-la. També cal afegir el Na_2SO_4 al blanc i al peix de referència.

La necessitat de dur a terme aquest procés d'homogeneïtzar abans de l'extracció és degut a que, en les mostres amb característiques estructurals no homogènies, es pot donar un escalfament selectiu d'algunes àrees o components de la mostra (Eskilsson i Blörklund, 2000).

3.1.1. Liofilització

La liofilització s'ha utilitzat com a mètode alternatiu per eliminar el contingut d'aigua de les mostres. S'ha utilitzat en la segona tanda de mostres, a causa dels problemes observats en la primera tanda on no es va realitzar. La liofilització té com a gran inconvenient la possible pèrdua de contaminants volàtils, com és el cas per exemple del Naftalè. Així, inicialment es va pensar que amb el sulfat introduït era suficient per eliminar tot el contingut d'aigua, i no calia realitzar la liofilització.

Les mostres han d'estar preparades de la mateixa manera descrites anteriorment (pesades, amb el sulfat i triturades). En el cas en què s'utilitzi aquest procés, s'ha d'introduir, abans de la liofilització, els patrons interns en la mostra. (en el cas que no s'utilitzi la liofilització, els patrons seran introduïts més endavant). Un cop la temperatura de la trampa de fred baixa aproximadament als -40°C , es col·loquen les mostres al receptacle corresponent i s'activa la bomba de buit. D'aquesta manera, i per acció del buit, l'aigua s'escapa de les mostres en forma gasosa desplaçant-se fins a la trampa de fred, on queda retinguda, ja en forma sòlida. Les mostres resten liofilitzant-se durant 16 hores. Posteriorment, es pesa de nou, obtenint el pes sec, aquesta és una altre forma de calcular el contingut d'aigua de les mostres.

La liofilització s'ha realitzat mitjançant una liofilitzadora TELSTAR CryOdos (Figura 25).



Figura 25. Imatge de la liofilitzadora en el moment de la liofilització de les mostres.

3.2. Determinació del contingut d'aigua de les mostres

Per determinar el contingut d'aigua s'agafa 0,5 grams de cadascuna de les mostres descongelades amb l'ajuda d'unes pinces o tisores, prèviament netejades per ultrasons i amb dissolvent (barreja de neteja DCM:MeOH 2:1). La resta de la mostra ha de ser novament congelada. La mostra agafada s'introdueix dins d'un tub d'assaig, es pesa amb la bàscula (pes humit); i es deixa a l'estufa (Memmert) a 105° durant unes 24 hores, fins que el pes de la mostra s'estabilitza. Finalment, es deixa refredar uns minuts a temperatura ambient i es torna a pesar (pes sec). El contingut d'aigua es troba mitjançant la següent expressió:

$$\text{Contingut en aigua (\%)} = (\text{Pes humit} - \text{Pes sec}) * 100$$

3.3. Determinació del contingut de lípids de les mostres

El contingut de lípids de les mostres a analitzar és important ja que els contaminants orgànics persistents estudiats tenen una gran tendència a bioacumular-se en el teixit lipídic dels organismes; de manera, que pot ajudar a relacionar-se amb la presència i/o quantitat d'aquests contaminants.

Per calcular el contingut de lípids s'extreu 0,5 grams de cada mostra i s'introdueixen en tubs d'assaigs. Se li afegeix 5 mL de n-hexà:acetona (1:1 v/v) i, per tal d'homogeneïtzar-se es passa per l'ultrasons (Figura 26,a) durant 15 minuts. Els extractes es centrifuguen (centrifugadora Hetich, Rotofix 32) durant 5 minuts a 20 revolucions/min (Figura 26,b). Es decanta el sobrenedant de les mostres centrifugades en uns tubs d'assaigs prepesats. Es torna a extreure novament (afegint 5mL de dissolució cada vegada) el teixit amb l'ultrasons i posteriorment a centrifugar dos cops més.

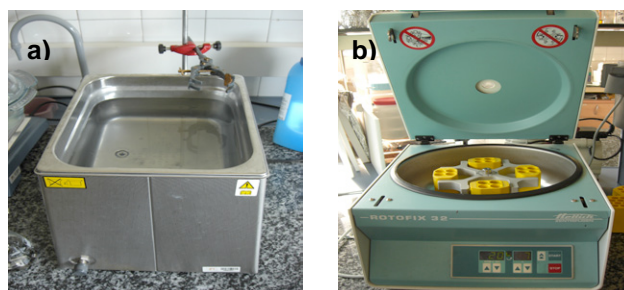


Figura 26. a) Imatge de l'ultrasons. b) Imatge de la centrifugadora.

La combinació dels tres extractes de la mateixa mostra és evaporada fins a la sequedat mitjançant el Centrivap (UVS 400 A Universal Vacuum System; Thermo Savant) durant 20 minuts a temperatura ambient; cal especificar que el programa es tracta de barreja de dissolució. El Centrivap fa una trampa de fred i juntament amb el gir provocat per una centrifugació de les mostres, fa el buit i com a conseqüència de les diferències de pressions provoca que el dissolvent evaporat passi a un altre recipient (Thermo Savant) (Figura 27).



Figura 27. Imatge del centrivap (UVS 400 A Universal Vacuum System).

Probablement, un cop finalitzat aquest procés hagi quedat una mica d'aigua que tenia la mostra. Per tal d'eliminar aquesta aigua i tenir només el contingut de lípids, s'ha de preparar una pipeta plena de sulfat de sodi (Na_2SO_4) prèviament muflada, i la mostra és passada per aquesta pipeta amb ajuda de dissolució fent tres neteges del tub d'assaig, per assegurar que no es deixa lípids en el tub. Es recollirà en un altre tub d'assaig prèviament pesat. Un cop

realitzat, es torna a passar pel Centrivap durant 20 minuts més fins a la sequedat. El pes del residu restant és el percentatge lipídic de la mostra.

3.4. L'extracció

3.4.1. En què consisteix una extracció

L'extracció és el pas de transferència dels components químics de la superfície de la matriu al dissolvent (Letellier i Budzinski, 1999). Es produeix en diferents passos (Figura 28): 1) desadsorció de la superfície de la matriu, 2) difusió en la banda de porus orgànics cap al dissolvent i 3) solubilització en el dissolvent (Pawliszyn 1993). D'aquests tres, el primer és el pas més important a considerar (Letellier i Budzinski, 1999).

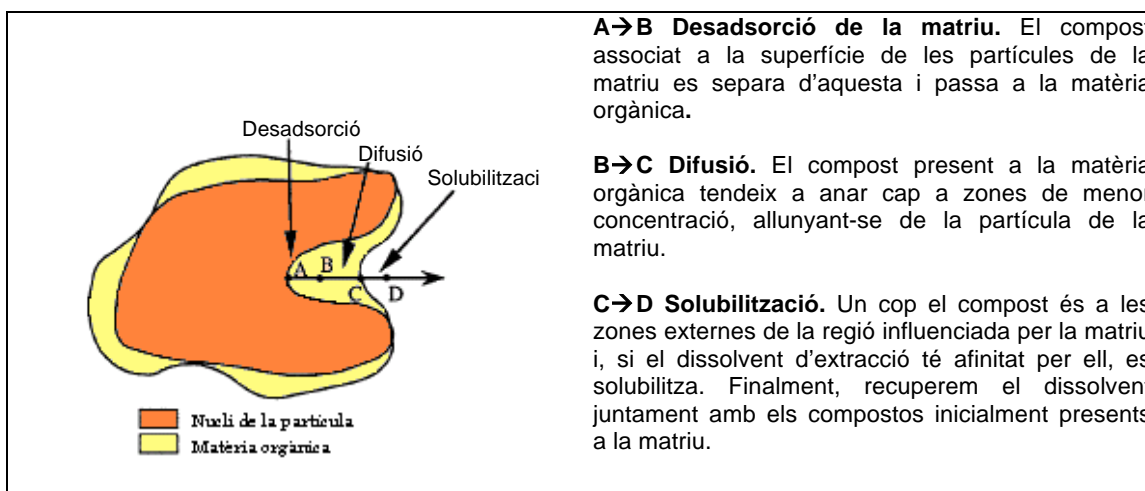


Figura 28. Els diferents passos que es produeixen a l'extracció (adaptat de Pawliszyn et al (1993).

3.4.2. Mètode d'extracció utilitzat

El mètode d'extracció utilitzat en el present estudi es tracta de l'extracció assistida amb microones (MAE), és una de les metodologies més noves per investigacions de contaminants orgànics en general. Té avantatges respecte altres mètodes, com per exemple el mètode de Soxhlet, perquè té un consum de dissolvent i de temps considerablement menor (Carro *et al.*, 2000; Gferer *et al.*, 2004). A més, l'ús d'una tècnica com la MAE es fonamenta en què s'obtenen unes recuperacions similars a les d'altres tècniques extractives per COPs (Jayaraman et al, 2000).

L'escalfament durant la MAE es basa en l'efecte directe de les radiacions no-ionitzants (freqüència 300-300.000 MHz) del microones a les molècules a través de (Letellier i Budzinski, 1999):

- La conducció iònica, que és la migració dels ions quan s'aplica un camp magnètic. La resistència de la dissolució a aquest flux de ions resulta en una fricció que alhora provoca un escalfament.
- La rotació dels dipols, que és deguda al realineament continu com a conseqüència de l'aplicació del camp magnètic. A la freqüència dels microones comercials, els dipols s'alineen milers de milions de cops per segon i això resulta en calor.

Existeixen dos tipus d'extraccions amb microones, una amb tubs oberts i altres tancats. Els tubs de microones tancats, tipus d'extracció usada, condueixen a un augment de pressió que fa augmentar el punt d'ebullició del dissolvent emprat (Camel, 2000). Això permet una extracció a temperatures per sobre del punt d'ebullició normal del dissolvent, ja que tot i això segueix sent líquid. A més, estant tancats permeten l'extracció de compostos volàtils o semivolàtils, evitant-ne les pèrdues (Gfrerer i Lankmayr, 2005). Malgrat la seva efectivitat, la MAE no és molt específica ni selectiva (Letellier i Budzinsky, 1999), així que una gran quantitat de compostos interferents poden ser presents a la mostra, dificultant-ne l'anàlisi. De manera que el procés de fraccionament (veure apartat 3.5) és dissenyada per solventar aquest problema.

3.4.3. Disseny del programa escollit de la MAE per l'estudi de *Citharus linguatula*

3.4.3.1. Factors a considerar

Alhora de determinar el programa de la MAE cal considerar que la seva eficiència és dependent dels següents paràmetres físics i químics:

- La temperatura. És el principal factor en importància per assegurar una bona eficiència en l'extracció, ja que els valors elevats incrementen la difusió del dissolvent dins les parts internes de la matriu (Camel, 2000).
- La polaritat i el volum del dissolvent d'extracció. Els dissolvents polars són requerits perquè es produeixi l'escalfament. En general, l'extracció amb una combinació de dissolvents apolar i polar és més eficient per recuperant en peixos OCPs i PCBs. Entre aquest tipus de dissolvent, la combinació entre l'hexà i l'acetona és el més utilitzat. La quantitat de dissolvent utilitzat sembla que no és un factor significatiu, i les recuperacions fins i tot decreixen si s'utilitza molt dissolvent (Eskilsson i Blörklund, 2000).
- El temps d'extracció, no és un factor realment significatiu per l'extracció dels compostos orgànics a les matrius ambientals. Segons els estudis elaborats per conèixer l'efecte del temps d'extracció en les recuperació de PAHs, PCBs i OCPs s'ha arribat a la conclusió que, en moltes ocasions, el temps òptim necessari d'extracció són 10 minuts.
- La natura de la matriu en l'extracció pot afectar en les recuperacions dels components (Skilsoon i Björklund, 2000). Concretament, sembla que el contingut de carboni orgànic de la matriu impedeix l'extracció, degut a la forta interacció entre l'analit i la matriu fa difícil la desadsorció (Camel, 2000).

Una vegada s'ha descrit els principals paràmetres a optimitzar i la seva importància, s'ha d'analitzar el conjunt de condicions per escollir el programa a utilitzar per les mostres. La dificultat alhora d'establir un mètode per extraure PAHs, PCBs i OCPs en matriu de peix, rau en la escassetat de precedents a la bibliografia. En alguns estudis de teixit biòtic mostra bones recuperacions per a una importants varietat de COPs a 115°C.

3.4.3.2. Programa utilitzat

Per l'extracció de les mostres de *Citharus linguatula* es va realitzar mitjançant un microones MARS-X (Figura 29). Aquest té una capacitat per extreure 14 mostres simultàniament. Cal especificar, que es disposava només d'una capacitat de 7 mostres (1 blanc més 6 mostres de peix).



Figura 29. Imatge del microones MARS-X.

El programa de microones escollit, que va ser anomenat *POPs 2*, i consta de les següents característiques:

- Rampa de temperatura fins a 115°C.
- Màxima potència de 1200W.
- Amb un 70% d'eficiència.
- Temps d'extracció: 15 minuts.

3.4.4. Metodologia emprada en l'extracció del peix

3.4.4.1. Extracció en el microones

Primerament, es realitza una extracció de neteja, per assegurar que els vasos del microones estan lliures d'aigua o d'una altra contaminació. A cada vas se li afegeix 25mL de dissolvent d'extracció, prèviament preparat (Hexà:Acetona 1:1) i uns agitadors. Aquests envasos són tancats i col·locats dins del microones. També es connecten les sondes de pressió i de temperatura en el contenidor de referència, que serà qui controlarà aquests paràmetres durant la duració de l'extracció. És important comprovar que estigui tancat l'aixeta de cada vas perquè no hi hagi perill de fuites de dissolvent. S'inicia el programa de microones que té com a objectiu arribar a la temperatura de 115°C en els 15 minuts preestablerts; temperatura a la que es manté durant 2 minuts. Seguidament, es deixa refredar els tubs per sota de 30°C. Finalment, es llença el dissolvent de cada contenidor, havent assegurat així l'absència de contaminació per compostos extraïbles amb el programa utilitzat.

El procés es repeteix amb les mostres a analitzar. Prèviament, les mostres que havien homogeneïtzades amb sulfat i pesades són introduïdes en els envasos, i un cop se li ha afegit els patrons interns (veure apartat 3.6), se li afegeix 25 ml de dissolvent d'extracció alhora que l'agitador. Un dels tubs es reserva pel blanc (que ha de contenir la mateixa quantitat de sulfat, de dissolvent i de patrons interns que les mostres). Un cop finalitzada l'extracció, és molt important deixar refredar els contenidor per sota de 30°C abans d'obrir-los per evitar possibles pèrdues per volatilització.

3.4.4.2. Filtració i concentració de l'extracte

El contingut de cada envàs és filtrat i recollit en un baló (Figura 30). Tant el baló com l'embut són de vidre i han de ser, prèviament, netejat amb una mica de dissolució d'extracció. La filtració és realitzada amb l'ajuda de cotó fluix introduït amb unes pinces en la boca del coll de cada l'embut; aquest cotó fluix ha estat netejat per extracció Soxhlet, per evitar cap contaminació. Se li afegeix 2mL de dissolució d'extracció en un parell d'ocasions al envàs i s'agita amb el vòrtex per tal de no perdre res que hagi quedat enganxat en les parets. En la mostra filtrada no pot haver cap presència de la matriu del peix, si és així s'ha de tornar a filtrar. És molt important, també que no hagi quedat res d'aigua a la mostra, si és així s'observa dues fases ben diferenciades en els balons, com a conseqüència de la diferència de densitat de cada líquid. Aquesta aigua pot interferir alhora de la separació dels contaminants a analitzar, de manera que s'ha d'eliminar. Els processos utilitzats per tal d'eliminar-la va ser:

- Traspasar la fase d'extracció, (té menys densitat que l'aigua i queda a la part superior), en un altre baló net amb l'ajuda d'una pipeta. Fent les neteges necessàries amb hexà. Així l'aigua serà separada de la mostra que es vol analitzar.
- Si encara queda aigua a la mostra, es prepara una pipeta plena de sulfat, i es fa passar la mostra per dins la pipeta. El sulfat absorirà l'aigua i deixarà passar la mostra per ser recollida en un baló.



Figura 30. Imatge de la filtració del extracte d'algunes de les mostres de peix.

Un cop assegurat de ser eliminat tot contingut d'aigua a la mostra, aquesta es concentra mitjançant el Rotavapor BÜCHI (Figura 31) a una temperatura de 26°C fins que quedi entre 0,5 i 1ml, moment en què la mostra ja està llesta per ser fraccionada.



Figura 31. Imatge del rotavapor mentre s'evaporava un extracte.

3.5. Fraccionament

3.5.1. En què consisteix el fraccionament

El fraccionament permet separar els diferents contaminants de la mostra. La separació es realitza per polaritat i grandària molecular de cada component. El sistema consta d'una fase estacionària, d'una fase mòbil i de la dissolució extreta del microones.

La cromatografia en columna ha estat el mètode utilitzat per fer el fraccionament. És un mètode senzill d'aplicar i barat per a la neteja selectiva de la mostra. Malgrat que tant l'alúmina com la sílica han estat usades amb efectivitat per a la separació dels OCPs de lípids de peixos (Van der Valk i Wester, 1991), la primera és més aconsellable degut a la menor possibilitat de pèrdues originades per algunes reaccions, com la de degradació del DDT a DDE; per aquesta raó se li ha introduït alúmina a la columna, en comptes de sílica.

En la cromatografia en columna, la fase mòbil és mou per pressió, empès per la força gravitatòria. L'addició de fase mòbil és constant. Primer de tot, s'afegeix la mostra a la columna, distribuint-se entre les dues fases (Figura 32). Mentre es recull el dissolvent que elueix a la part inferior de la columna, s'afegeix la fase mòbil per la part superior amb l'ajuda d'una pipeta. Els compostos avancen i s'enllacen amb les parts inferiors de la fase estacionària. A mesura que els compostos dissolts a la fase mòbil van eluint per la part inferior de la columna, es pot separar aquests diferents volums, generant el que s'anomena fraccions. És així com es separen els compostos que han eluït en diferents fraccions. El canvi de polaritat dels dissolvents de les diferents fraccions també és clau per un bon fraccionament. Per separar compostos apolars, com els COPs, la polaritat va decreixent a mesura que avancen les fraccions. Són les primeres fraccions les que es recullen per analitzar, mentre que els compostos polars es queden retinguts a les darreres fraccions o la fase estacionària de la columna.

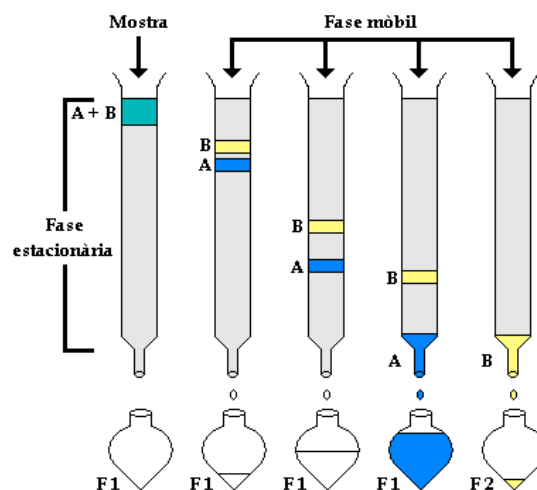


Figura 32. Esquema de cromatografia en columna.

3.5.2. Justificació del fraccionament

Per la falta d'estudis que apliquin mètodes d'anàlisi integrats de OCPs, PCBs i PAHs és difícil trobar un mètode ja validat a la bibliografia. No obstant, Vives et al., 2002, planteja el fraccionament d'un ampli nombre de PCBs, PAHs i OCPs amb una columna d'alúmina com a fase estacionària, fàcil d'aplicar i amb un consum baix de dissolvent. De totes maneres, en aquest estudi es va realitzar el procés amb un patró conegut per tal de comprovar, amb menys volum de dissolvent que en el cas de Vives *et al.*, 2002, el resultat fos el mateix. D'aquesta forma s'ha confirmat la separació de PCBs i OCPs, que es recullen en la primera fracció de dissolvent apolar, dels PAHs i d'alguns OCPs cauen en la segona fracció (Figura 33). L'únic compost que difereix amb Vives *et al.*, 2002 és el 4,4'-DDT, que en el seu cas només surt a la primera fracció. Els volums preestablerts per les fraccions en aquest estudi van ser els següents:

- Primera fracció (FI = FI.1+FI.2): 8 mL n-hexà:DCM (19:1 v/v) + 3 mL n-hexà:DCM (1:2v/v).
- Segona fracció (FII): 9 mL n-hexà:DCM (1:2 v/v).

Volum	8 mL Hx:DCM (19:1)+3 mL Hx:DCM (1:2)	9 mL Hx:DCM (1:2)
PCB 118	■	
PCB 209	■	
TBB	■	
Aldrin	■	
4,4'-DDD	■	
4,4'-DDE	■	
2,4'-DDT	■	
4,4'-DDT	■	
Dieldrin		■
a-Endosulfan		■
b-Endosulfan		■
Endrin		■
a-HCH		■
b-HCH		■
g-HCH		■
Heptachlor	■	
trans-Heptachlor epoxi	■	
Hexachlorbenzene	■	
Methoxychlor		■
Napthalene		■
D8-napthalene		■
Phenanthrene		■
D10-Anthracene		■
Pyrene		■
D10-Pyrene		■
Crysene		■
D12-Perylene		■

Figura 33. Fraccionament dels diferents compostos.

Resultat d'aquest fraccionament, s'obtenen grans volums per a cada fracció. La seva evaporació per concentrar la mostra només es recomana utilitzant un aire comprimit altament pur (com el N₂) (Muir i Sverko, 2006).

3.5.3. Metodologia emprada en el fraccionament dels extractes del peix

La cromatografia en columna es realitza en una columna de vidre de 12mm de diàmetre extern i de 400mm de llargada, prèviament netejada amb ultrasons (15min), acetona i Me:OH 1:1. Un cop fixada al suport i muntada la seva clau de pas, la columna és netejada amb hexà. Se li afegeix una mica de llana de vidre amb l'ajuda d'unes pinces i una vareta de vidre netes; l'objectiu d'aquesta és sostenir la fase estacionària. A continuació, se li afegeix 10ml d'hexà a la columna. Seguidament, se li introdueix 5g. d'alúmina muflada. Ha d'estar activada durant una nit a 120°C a l'estufa, però abans ser introduïda a la columna ha de ser desactivada al 2% amb aigua MilliQ. L'alúmina s'ha d'afegir gradualment a la columna i mentre les

partícules cauen es va colpejant secament per evitar que es formin bombolles d'aire que entorpirien la fraccionació. A continuació, s'afegeixen 1 gr. de Na_2SO_4 , que eviten l'entrada d'aigua a la fase estacionària de la columna. S'enrasa el dissolvent sense deixar que el Na_2SO_4 s'assequi. S'afegeix a la columna, mitjançant una pipeta, els 0,5 o 1 ml. de mostra dels balons evaporats. Es pipeteja 1 ml. de dissolvent de la primera fracció i s'acaba de netejar el baló, afegint-ho a la columna. Es torna a enrasar el dissolvent. A continuació, s'afegeix el dissolvent de la fracció 1 (F1), 8mL d'hexà:DCM(19:1, v/v) i 3mL d'hexà:DCM(1:2, v/v) i s'enrasa, acumulant el dissolvent que elueix dins un baló de vidre (Figura 34). Es fa el mateix amb la fracció 2 (F2), que conté 9 ml d'hexà:DCM (1:2, v/v) i es recull en un altre baló.



Figura 34. Cromatografia en columna amb l'elució de la FI.

Evaporar els extractes recollits en els balons mitjançant el rotavapor (per acció de la temperatura i el buit), posant l'aigua del bany a 26°C fins tenir un volum aproximadament 1mL. Transferir aquest dissolvent a un vial d'uns 2mL de capacitat. Després, amb una pipeta, es fan un parell de rentades amb nou dissolvent a cadascuna de les fraccions de la mostra per acabar de recuperar els compostos que poden haver quedat adherits a les parets del baló. Aquests vials són evaporats, aquesta vegada amb un flux de nitrogen (Figura 35). S'ha d'evitar la sequedat absoluta. El contingut del vial es traspassa a un petit insert de vidre d'uns $200\mu\text{L}$ de capacitat. Es fa una última rentada del vial amb el mateix dissolvent de la fracció de la mostra i és traspasat a l'insert. Tornar a concentrar els extractes amb nitrogen fins un volum aproximat d'uns $20\mu\text{L}$.



Figura 35. Imatge del generador del flux de N_2 .

A l'insert, s'afegeixen $20\mu\text{L}$ d'iso-octà amb l'ajut d'una xeringa prèviament netejada (2 neteges de 15 vegades de DCM i 2 neteges de 15 vegades més amb iso-octà). Es tancaran les mostres amb taps de vials.

3.6. Mètode de validació de les mostres

A les mostres de *Citharus linguatula* analitzades s'ha introduït, en la fase de preparació per l'extracció (en la primera fase de l'anàlisi), uns patrons interns de concentració coneguda. Aquests patrons serveixen per observar i quantificar la possible pèrdua de contaminants dels extractes estudiats. Aquests compostos triats com a patrons complien una sèrie de criteris (Baumard i Budzinski, 1997):

- Absència en les mostres naturals.
- Propietats físico-químiques semblants, de manera que s'obtinguin recuperacions similars al llarg del procés de tractament de la mostra.
- Resposta única, cap interferència amb l'analit ni amb cap altre compost de la matriu.

S'ha introduït 40 µL de cada patró interns a cada mostra; d'una concentració de 10ng/µL:

- Patró de PCBs: el PCB 209.
- Patró OCPs: Tetrabromobenzene (TBB).
- Patró de PAHs: D10-Anthracene, D8-Napthalene, D12-Pyrene i D10-Pyrene.

A més dels patrons interns, el mètode s'ha validat a partir d'un material de referència i uns patrons de concentració coneguda:

- El material de referència IAEA-406 (Viena, Àustria). És un homogeneïtzat de peix en el què hi ha presents concentracions conegudes i certificades de nombrosos organoclorats (quasi mig centenar de PCBs i més d'una vintena d'OCPs) i nombrosos hidrocarburs del petroli, entre els quals es troben més d'una desena de PAHs.
- La dissolució patró de PCBs: "PCB congener content evaluation mix 1" d'AccuStandard (New Haven, EE.UU.) conté 6 congèneres de PCBs (28,52,101,138,153 i 180) a una concentració de 10mg/l per a cadascun d'ells.
- La dissolució patró de OCPs: "Pesticide-mix 14" de Dr. Ehrenstofer (Augsburg, Alemanya). Conté Aldrín, pp'-DDD, pp'-DDE, op'-DDT, pp'-DDT, Dieldrín, α -endosulfan, β -endosulfan, Endrina, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, Heptaclor, Heptachlor-endo-epòxid (trans-, isomer A), HCB, Metoxiclor a 10mg/l per cada component.
- La dissolució patró de PAHs: "PAH solution kit" conté els 16 PAHs de la llista de la EPA (Agència de Protecció Medi Ambient, d'EE.UU.). Acenaftè, Acenaftilè, Antracè, Benzo(a)antracè, Benzo(b)fluorantè, Benzo(k)fluorantè, Benzo(g,h,i)perilè, Benzo(a)pirè, Crisè, Dibenzo(a,h)antracè, Fluorantè, Indeno(1,2,3-c,d)pirè, Naftalè, Perilè, Fenantrè, Pirè es troben a 0,5 mg/l cadascun.

3.7. Anàlisi instrumental

Abans de l'anàlisi cromatogràfic, s'afegeix 20µL de patró intern de trifenilamina al vial per tal de corregir la variabilitat del instrument. Les mostres van ser analitzades mitjançant un GC-MS (cromatògraf de gasos acoblat a espectròmetre de masses). Aquest té una bona sensibilitat en que pot detectar tot tipus de substàncies i, a més, pot identificar els diferents compostos de la mostra, encara que no se'n disposi de patrons.

3.7.1. Instrument analític

La cromatografia de gasos té un funcionament similar a la cromatografia en columna ensemantada en la fase de fraccionament. Una important diferència, però, és que la fase mòbil és gas i els compostos no interactuen amb ella, només són transportats per ella. Es produeix una separació dels compostos de la mateixa manera que en la cromatografia en columna, obtenint els compostos separats segons el temps d'estada en la columna (temps de retenció). Per a cada temps de retenció hi ha una resposta d'un senyal elèctric que és directament proporcional a la quantitat de compost. El resultat és un cromatograma en què cada pic correspon, si la separació ha estat efectiva, a un compost diferent, del qual l'àrea del pic és indicadora de la seva concentració a la mostra.

L'espectròmetre de masses permet identificar el compost, obtenint informació sobre la seva estructura i pes molecular. Primer de tot, ionitza les molècules de cada pic, de manera que es generen diferents ions amb una raó m/z (massa/càrrega) determinada i els classifica segons aquesta relació. A partir de l'espectre d'abundància d'ions amb diferents m/z que genera cada pic, podem assignar-li amb certa probabilitat la identitat del compost concret, com si fos una empremta digital. L'espectròmetre de masses (MS) està acoblat a un cromatògraf de gasos (GC, gas chromatograph), amb el qual s'introdueix el compostos en el MS, mentre que el GC és la tècnica d'introducció de la mostra en el MS, i així s'obté un GC-MS.

Cal especificar, que aquest és un instrument molt sensible, i s'ha de controlar molt la calibració i la sensibilitat del GC-MS, ja que pot interferir alhora dels resultats.



Figura 36. Imatge del GC-MS en el moment de l'injecció.

Les mostres de *Citharus linguatula* van ser analitzades en un GC-MS KONIK (model KMAS-5, 200 VAC de 50 Hz; i KONIK HRGC 4000B-Gas Chromatograph). Conté una columna Agilent DB-5MS d'una llargada de 30 metres, un diàmetre intern de 0,25mm i un espessor de pel·lícula de 0,25 μ m. L'injector treballa en mode splitless i el MS mode d'impacte d'electrons a 70eV. (Figura 36). El volum d'injecció és de 2 μ L.

3.7.2. Mètode d'anàlisi

El mètode d'anàlisi utilitzat amb el GC-MS ha estat adaptat, reproduint les condicions descrites a Vivet et al., 2002.

El programa de temperatura del forn comença a 90°C (mantenint-se durant 1 minut) augmentant 10°C/min fins a 120°C, i després a 4°C/min fins a 310°C, mantenint-se 15 minuts a aquesta temperatura. La temperatura de l'injector va ser de 280°C, la línia de transferència a

280°C i de la font d'ions va ser de 200°C. Com a gas portador va ser utilitzat l'heli (He) a un flux de 1,1 ml/min. L'anàlisi de les fraccions es va utilitzar dos mètodes diferents d'injecció:

- En la primera fracció (F1) es va utilitzar el mètode "Full scan", en el qual es produeix un escanejat complet de masses, a partir de la massa 50 fins la massa 600. El temps d'escàner per cada mostra és de 60 minuts.
- En la segona fracció (FII) es va utilitzar el mètode "SIM"(Selective Ion Monitorin), en el qual només s'escaneja les masses que s'han preestablert anteriorment. Les masses són: 128, 136, 152, 154, 166, 183, 284, 74, 109, 178, 181, 188, 219, 394, 66, 100, 195, 202, 212, 195, 318, 79, 81, 235, 228, 227, 252, 264, 276 i 278. El temps d'escàner per cada mostra és de 50 minuts.

3.7.3. Identificació i integració dels pics

Una vegada injectades les mostres cal identificar els pics del cromatograma resultant (Figura 37,a.) per saber de quin compost és tracta, i què s'obté de les mostres. El programa informàtic utilitzat és el Konik MS Q12 (Konikrom V1.00), i es pot identificar els contaminants estudiats segons el temps de retenció i la massa que tenen amb l'ajuda del patró analitzat anteriorment. A més, és pot corroborar amb una biblioteca universal (programa NIST MS Search 2.0 (Figura 37, b.)) de compostos que hi ha a disponibilitat, que és capaç d'identificar el compost de què es tracta. La integració de cada pic es realitza amb l'ajuda del programa anomenat Instrument 1 (Figura 37,c.).

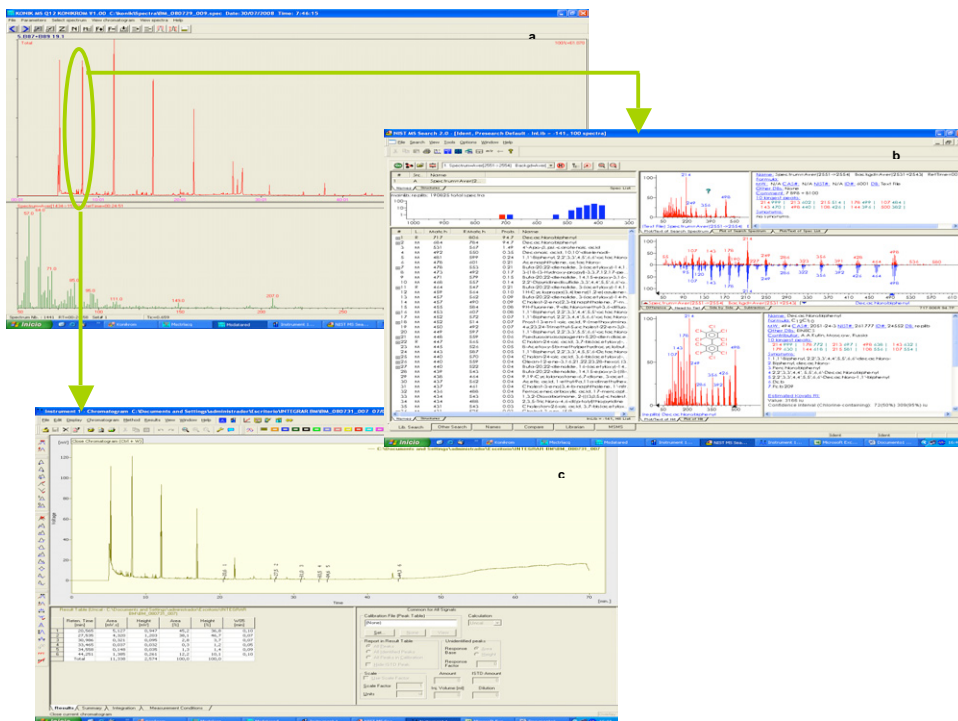


Figura 37. Imatges dels diferents programes utilitzats per l'anàlisi dels resultats.

3.7.4. Quantificació de contaminants

Una vegada s'ha identificat el pic amb el compost corresponent, tant dels patrons com de les mostres injectades, s'ha de realitzar uns càlculs per tal de saber la concentració del compost.

Primerament, s'ha de trobar un factor que corregeix les variacions que produeix el GC-MS en cada moment d'injecció, anomenat **factor de correcció** (FC). Aquest té la funció de corregir l'àrea obtinguda del pic, i ve definit pel patró d'injecció (trifenilamina) que s'ha introduït just en el moment d'injecció en cada vial. El factor de correcció variarà segons la mostra i el patró utilitzat, és a dir, és diferent per cada patró intern. El càlcul per obtenir el factor de correcció serà de la manera següent:

$$FC = \frac{A_{Trife.}^{Patró_e}}{A_{Trife.}^{Mostra}},$$

On FC és el factor de correcció, $A_{Trife}^{Patró}$ és l'àrea del pic de la trifenilamina obtingut en el patró extern injectat (el PCB 209, i el TBB en el cas de la primera fracció; i els diferents d-PAHs: D8-Naftalè, D10-Antracè, D10-Pirè i D12-Perilè en el cas de la segona fracció). I A_{Trife}^{Mostra} és l'àrea del pic de la trifenilamina obtingut per cada mostra injectada.

El factor de correcció s'ha de multiplicar per cada àrea de cada compost obtingut a les mostres: els patrons interns i els contaminants trobats. Pel que fa als contaminants s'ha de multiplicar pel factor corrector del patró que correspon, (veure Taula 2). D'aquesta manera s'obté **l'àrea corregida** de les variacions de la injecció.

Un cop es té l'àrea corregida dels patrons interns i contaminants de les mostres es passa calcular **la quantitat obtinguda del compost de mostra analitzada**. Aquesta concentració correspon a la concentració de la mostra inicial, on ja esté en compte les possibles pèrdues durant el procés analític. Ja que tenint en compte que la concentració real dels tres patrons interns és coneguda (s'ha introduït 40µL de cada patró intern i la seva concentració és de 10ng/µL (en el cas del patró de d-PAHs s'ha de trobar la concentració per cada d-PAH)), es pot obtenir la concentració del compost identificat de la manera següent:

$$Q_z (ng) = \frac{A_z}{A_y^{Patró_i}} \times Q_i^{Patró_i}$$

On Q_z és la concentració del contaminant "z" obtinguda de cada mostra en el total de grams de peix analitzats, la A_z equival a l'àrea del pic corregida d'aquest mateix compost (z); i $A_y^{Patró(i)}$ és l'àrea del pic corregida del compost patró intern ("y" serà el patró intern necessari depenent del compost calculat, (veure Taula 2), i $Q_i^{Patró(i)}$ és la concentració coneguda dels patrons interns que s'ha introduït inicialment a la mostra.

Finalment, obtindrem la **concentració** de cada contaminant en cada mostra en unitats de **ng/gr. de pes fresc de peix**, de la manera següent:

$$C_z (ng / g) = \frac{Q_z (ng)}{pes_i mostra (g)}$$

On C_z és la concentració real del contaminant “z” per gram de peix en pes fresc; Q_z és la concentració del contaminant en tota la mostra analitzada; i $pes_i mostra$ equival al pes inicial agafat de cada mostra per realitzar l’anàlisi dels COPs.

També es pot calcular la **recuperació dels compostos (%)**. És calcula mitjançant els patrons interns de les mostres i els patrons externs injectats. Aquesta recuperació quantifica i dona una idea de les pèrdues dels contaminants durant la analítica; també dependrà del compost (veure Taula 2). Es realitza de la manera següent:

$$Recuperació(\%) = \frac{A_{corregida}^{Patró(i)}}{A^{Patró(e)}} \times 100$$

On $A_{corregida}^{Patró(i)}$ és l'àrea del pic corregida per el FC del patró intern de la mostra, l' $A^{Patró(e)}$ és l'àrea del pic del patró extern.

Compost	m/z	Patró intern de Confirmació	Compost	m/z	Patró intern de Confirmació
Naftalè	128	D8-Naftalè	β-HCH	219/181	TBB
Acenaftè	152	D8-Naftalè	γ-HCH	109/181	TBB
Acenaftilè	154	D8-Naftalè	Heptaclor	100/272	TBB
Flourè	166	D8-Naftalè	Aldrin	66/263	TBB
Fenantrè	178	D10-Antracè	β-Endosulfan	195/241	TBB
Antracè	178	D10-Antracè	4,4'-DDE	318/246	TBB
Fluorantè	202	D10- Pirè	Dieldrin	79/246	TBB
Pirè	202	D10- Pirè	Endrin	81/263	TBB
Benzo[a]antracè	228	D10- Pirè	α-Endosulfan	195/207	TBB
Crisè	228	D10- Pirè	4,4'-DDD	235/165	TBB
Benzo[b]fluorantè	252	D12-Perilè	2,4'-DDT	235/165	TBB
Benzo[k] fluorantè	252	D12-Perilè	4,4'-DDT	235/165	TBB
Benzo[a] pirè	252	D12-Perilè	Methoxychlor	227	TBB
Perilè	252	D12-Perilè	PCB 28	256/258	PCB 209
Indo[1,2,3-cd]perilè	276	D12-Perilè	PCB 52	292/220	PCB 209
Benzo[ghi]perilè	278	D12-Perilè	PCB 101	326/254	PCB 209
Dibenzo[a,h]antracè	276	D12-Perilè	PCB 138	360/290	PCB 209
α-HCH	181/219	TBB	PCB 153	360/362	PCB 209
HCB	284/142	TBB	PCB 180	394/396	PCB 209

Taula 2. Confirmació del patró intern que s'utilitza per les recuperacions segons el compost.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Es va realitzar dues tandes de mostres una de 6 mostres més un blanc; i l'altre de 4 mostres més un blanc, però aquesta última no va poder ser injectada al GC-MS per problemes en aquest. Els resultats de la primera tanda es presenten a continuació.

4.1. Contingut d'aigua i de lípids

El contingut d'aigua i de lípids de les mostres és complementari a l'anàlisi qualitatiu i quantitatiu de Contaminants Orgànics Persistents, ja que aquests tenen tendència concentrar-se al teixit adipós. El contingut d'aigua també és interessant, però menys important ja que durant l'anàlisi de les mostres pot produir perturbacions en els resultats.

Per realitzar els contingut d'aigua s'ha agafat 0,5g. de múscul de peix d'aquelles mostres que hi havia més que suficient per l'anàlisi dels COPs. Pel cas de l'aigua només s'ha pogut realitzar en una de les mostres de *Citharus linguatula* (en la mostra B25+B27). Pel que fa el contingut de lípids, també de 0,5g. s'ha realitzat en tres de les mostres (B25+B27, B32+B33 i B87+B89); mentre que la resta de mostres no es disposava de suficient múscul per l'anàlisi de COPs, lípids i d'aigua.

	Lloc de la mostra	Contingut d'aigua %	Contingut de lípids %
B25 + B27	Blanes	54,89	0,21
B30	Blanes	-	-
B32 + B33	Blanes	-	0,24
B87 + B89	Port Barcelona	-	2,21
B90	Port Barcelona	-	-
B98 + B100	Port Barcelona	-	-

Taula 3. Contingut d'aigua i de lípids d'algunes mostres.

Es pot observar que l'espècie *Citharus linguatula* té un elevat contingut d'aigua, un 54,89%; tot i que s'hauria de realitzar el càlcul en la resta de mostres per tal que es confirmi aquest elevat contingut d'aigua.

Els valors de contingut lipídic per a peixos del Medi Mediterrani varia de 0-20% (Pastor, 1995) que ens mostra la gran variabilitat interespecífica que pot existir. En l'espècie *Citharus linguatula* s'ha trobat un contingut bastant baix, entre 0,21% i 2,21% (més baix en Blanes, que en Barcelona).

4.2. Anàlisi dels Contaminants Orgànics Persistents en *Clitharus linguatula*

4.2.1. Anàlisis d'OCPs en la primera fracció

Per realitzar la identificació de compostos en les mostres, primerament és necessari començar amb els patrons injectats, el PCB 209, el tetrabromobenzè (TBB), la dissolució d'OCPs i la dissolució de d-PAHs; que tenen la funció de comprovar els temps de retenció de cada compost, i en el cas dels patrons del PCB 209, TBB i d-PAHs (aquest últim en la segona fracció) ajuda a quantificar la concentració dels contaminants obtinguts a les mostres.

En la figura 38 es presenta un exemple de identificació de compostos, és tracta del cromatograma del patró de dissolució d'OCPs, senyalant cada un dels compostos que el formen i es pot observar el temps de retenció i l'àrea del pic de cada substància.

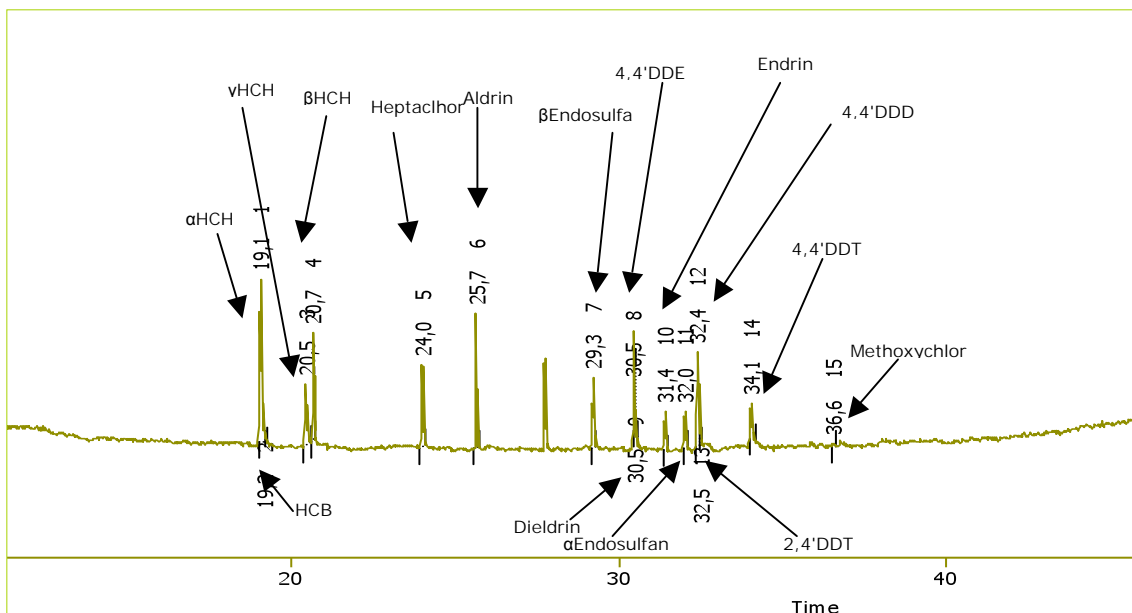


Figura 38. Exemple de cromatograma del patró d'OCPs amb la identificació, el seu temps de retenció i àrea obtinguda de cada compost.

També es va realitzar l'anàlisi del blanc en les dues fraccions i es va comprovar tota absència de contaminants orgànics persistents. D'aquesta manera es pot corroborar que en el laboratori realitzat no existeix cap font d'aquests contaminants.

En les taules següents es mostren els resultats obtinguts en la primera fracció en Blanes (Taules 4, 5 i 6). Es pot observar, primerament els patrons interns de les mostres amb els seus respectius càlculs i més avall, els contaminants trobats, si és el cas, en cada una de les mostres. En aquesta fracció han d'eluir els PCBs i la majoria d'OCPs (Figura 33).

4. Resultats i Discussió

B25 + B27		Pes mostra = 6,88 gr.					
	Temps de retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat del compost (ng)
Patrons:							
Trifenilamina	27,1	9,311	200,0				
TBB	20,1	2,687	400,0	0,361	0,969	30,0	400,0
PCB 209	43,6	1,458	400,0	1,087	1,584	36,8	400,0

Taula 4. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B25+B27 recollida a Blanes.

B30		Pes mostra = 2,69 gr						
	Temps de retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quant. patró (ng/µL)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng/)	Concentració. en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	27,1	16,529	200,0					
TBB	20,0	6,067	400,0	0,203	1,233	38,1	400,0	
PCB 209	43,6	0,184	400,0	0,612	0,113	2,6	400,0	
D8-Naftalè	7,5	0,068	403,2	0,203	0,014	0,7	400,0	
OCPs i PAH:								
Naftalè	18,4	0,227			0,046		339,337	126,148
p,p'-DDE	30,5	3,799			0,772		23,292	8,659

Taula 5. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B30 recollida a Blanes.

B32 + B33		Pes mostra = 4,83 gr.					
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quant. patró (ng/µL)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)
Patrons:							
Trifenilamina	27,6	1,730	200,0				
TBB	20,5	0,041	400,0	1,941	0,079	2,5	400,0
PCB 209	44,3	1,193	400,0	5,848	6,977	162,1	400,0

Taula 6. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B32+B33 recollida a Blanes.

Els resultats obtinguts en les mostres no foren com s'esperaven, aquesta és la principal raó pel qual s'ha optat per presentar, en la taula de resultats, gairebé tots els passos (veure apartat 3.7.4) per obtenir la concentració real (ng/g peix fresc), un dels objectius principals del projecte. D'aquesta manera, pot ser més visual alhora d'identificar i explicar les possibles causes que han donat lloc a resultats erronis.

En la taula 4 i 6 es mostra els resultats obtinguts de la mostra B25+B27 i B32+B33 recollides a Blanes. Com es pot observar no s'han pogut identificar cap contaminant en aquestes dues mostres, només s'han trobat els patrons interns introduïts (que elueixen a la primera fracció). El tant per cent de recuperació obtingut dels patrons: el 30% i 2,5% del total en el cas del TBB, i el 37% del PCB 209 en la B25+B27 dóna una idea de la quantitat perduda durant el procés analític. Cal especificar que en el cas de la mostra B32 + B33 dóna un 162% del PCB 209 trobat, aquest error (ja que no es pot trobar més quantitat del patró que la introduïda) s'identifica amb que l'àrea de la trifenilamina de la mostra és molt més petita que la

del patró; fet que fa suposar que hi va haver un problema d'injecció. Pel que fa als tant per cents anterior, es pot extrapolar que és possible que les mostres estiguin contaminades amb la presència d'alguns OCPs i PCBs, però que aquests s'hagin perdut al 100% durant el procés analític del laboratori. La concentració extrapolada no pot superar el tant per cent trobat de cada patró corresponent a la mostra i al contaminant.

Pel que fa a la mostra B30 (Taula 5) s'ha pogut identificar dos contaminants: el p,p'-DDE i el Naftalè. També s'han identificat els patrons interns que elueixen en la primera fracció el TBB i el PCB 209; però en aquest cas s'ha trobat el patró intern D8-Naftalè que hauria d'eluir en la segona fracció, de la mateixa manera que el Naftalè trobat, no hauria de ser present en aquesta fracció. La raó de la seva presència pot ser deguda a un problema durant la fraccionació, o bé, un error d'identificació del pic. El que sí podem confirmar és que no hauria de mostrar-se fins que no realitzéssim la segona fracció. La concentració obtinguda del p,p'-DDE és de 8,66ng/g. de pes fresc de peix .

Com es pot comprovar en les taules de resultats, alguns dels valors obtinguts són incongruents. S'hauria d'ampliar el número de mostres per donar validesa o descartar definitivament aquests valors.

El motiu principal de l'afirmació del paràgraf anterior és la poca consistència d'alguns guarismes. Per exemple, hi ha **factors de correcció** sorprenents, la trifenilamina és el patró d'injecció en el qual s'introdueix a la mostra i als patrons just en el moment d'injecció, cosa que no s'explica que en alguns casos les àrees de les trifenilamina de les diferents mostres o patrons sigui tant variable, indica molta variabilitat i sensibilitat del GC-MS. Degut a aquesta variabilitat d'àrees es provoquen factors de correcció molt elevats (en el cas del PCB 209 de la mostra B32+B33) o molt minsos, com en els casos del TBB en les mostres B25+B27 i la mostra B30, o D8-Naftalè de la mostra B30.

Un altre factor que interfereix en els resultats és la **recuperació**. Aquest depèn de l'àrea dels patrons injectats i els patrons interns de les mostres. En alguns casos l'àrea dels patrons externs injectats és més petita que dels patrons intern; fet que és inexplicable ja que els patrons no pateixen cap anàlisi, si no que són introduïts directament en un vial i injectat al GC-MS, la qual cosa significa que no és possible que hagi perdut durant la injecció molta quantitat de patró, més que de patró intern que sí ha patit un llarg procés analític. Aquest cas és sobretot el del patró del tetrabromobenzè (TBB) on s'ha trobat un àrea del pic de 3,23mV, en molts casos inferior a l'àrea dels patrons interns de les mostres. Aquesta és una de les explicacions pel qual **dóna recuperacions descartables**. En aquest cas, seria convenient la injecció de més patrons, sobretot del TBB més Trifenilamina, per agafar com a nova referència sent descartat el patró que tenim inicialment.

La escassa identificació de contaminants esperats inicialment, i l'arrossegament d'errors descrits fan arribar a la conclusió de que aquestes mostres han de ser descartades com a bons resultats, i la necessitat de realitzar noves mostres per concloure i confirmar que aquestes són errònies, o en cas que s'identifiqui el mateix arribar a la conclusió de que existeix poca contaminació en les mostres.

L'anàlisi de les possibles causes que han fet obtenir aquests valors són especificats més endavant (apartat 4.3).

A continuació es presenta els resultats obtinguts de la primera fracció (FI) procedents de les mostres capturades al Port de Barcelona. En aquestes s'ha pogut identificar i quantificar més compostos que en el cas anterior.

B87 + B89		Pes mostra = 4,00g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	27,1	17,884	200,0					
TBB	20,0	5,958	400,0	0,188	1,119	34,6	400,0	
PCB 209	43,6	2,437	400,0	0,566	1,379	32,0	400,0	
OCPs:								
p,p'-DDE	30,5	0,706			0,133		47,398	11,850
PCB 101	32,6	0,090			0,051		14,772	3,693
PCB 138	33,1	0,108			0,061		17,727	4,432
PCB 153	34,7	0,279			0,158		45,794	11,449
PCB 180	37,0	0,123			0,070		20,189	5,047

Taula 7. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B87+B89 recollida al Port de Barcelona.

B98 + B100		Pes mostra = 3,50g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	27,5	4,320	200,0					
TBB	20,5	5,127	400,0	0,777	3,985	123,3	400,0	
PCB 209	44,2	1,385	400,0	2,342	3,244	75,4	400,0	
OCPs:								
p,p'-DDE	30,9	0,321			0,250		25,044	7,155
PCB 138	33,5	0,037			0,087		10,686	3,053
PCB 153	34,6	0,148			0,347		42,744	12,212

Taula 8. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B398+B100 recollida al Port de Barcelona.

B90		Pes mostra = 2,89g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	27,1	14,318	200,0					
TBB	20,0	4,345	400,0	0,235	1,019	31,5	400,0	
PCB 209	43,6	1,589	400,0	0,707	1,123	26,1	400,0	
D8-Naftalè		2,965	403,2	0,235	0,695	33,2	403,2	
OCPs i PAHs:								
p,p'-DDE	30,4	0,739			0,173		68,576	23,729
PCB 28	31,7	0,231			0,163		58,150	20,121
PCB 52	31,9	0,175			0,124		44,053	15,243
PCB 101	32,5	0,091			0,064		22,907	7,926
PCB 138	33,6	0,210			0,148		52,863	18,292
PCB 153	34,7	0,717			0,507		180,491	62,454
PCB 180	37,0	0,214			0,151		53,870	18,640

Taula 9. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B90 recollida al Port de Barcelona.

En les mostres recollides al Port de Barcelona s'han pogut identificar alguns contaminants orgànics persistents, en general la presència de p,p'-DDE i d'alguns PCBs. La concentració més elevada obtinguda correspon a la mostra B90, on també s'han trobat la major quantitat de PCBs. En la figura 39 s'observa els diferents PCBs obtinguts en cada mostra del Port del Barcelona. Els PCB 28 i el PCB 52 només s'ha identificat en la mostra B90 en concentracions de 20,12 i 15,24ng/g de peix, respectivament; mentre que els PCB 101 i el PCB180 s'ha identificat en la mostra B87+B89 en concentracions de 3,69 i 5,05ng/g de peix, i en la B90 en concentracions de 7,93 i 18,64ng/g de peix, respectivament. I els PCB 138 i PCB 153 s'ha observat en les tres mostres recollides al Port de Barcelona en concentracions de 4,43 i 11,45ng/g de peix en la mostra B87+89; 3,03 i 12,21ng/g de peix en la mostra B98+B100; i 18,29 i 62,45ng/g de peix en la mostra B90, respectivament.

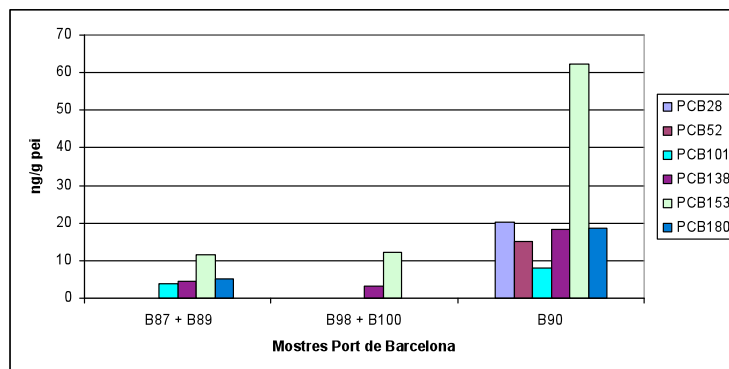


Figura 39. Gràfic on s'observa la comparació dels diferents PCBs obtinguts en les tres mostres recollides al Port de Barcelona.

En el cas del p,p'-DDE s'ha obtingut en concentracions de 11,85; 7,16 i 23,73ng/g de peix, que es poden comparar entre mostres en la figura 40.

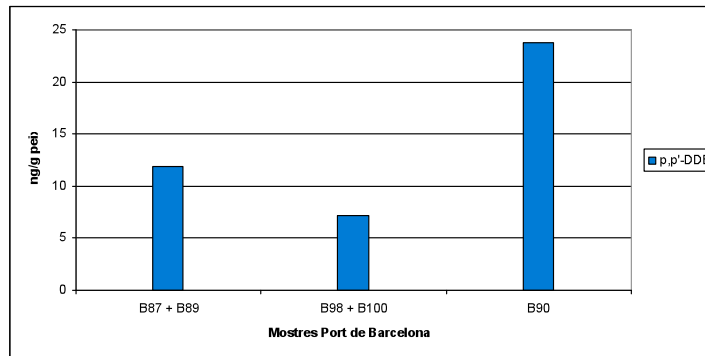


Figura 40. Gràfic on s'observa la comparació del p,p'-DDE obtinguts en les mostres recollides a Blanes.

En la mostra B90 s'ha tornat a identificar el patró D8-Naftalè i el compost Naftalè. Ja s'ha explicat anteriorment que la possible raó de que aparegui a la fracció I.

Igual que en el cas de les mostres de Blanes, cal especificar que l'absència d'altres contaminants no es pot afirmar que no hi siguin, perquè hi ha possibilitat que hagin perdut al 100% durant el procés analític. En les mostres B87+B89 i B90 s'observa que el tant per cent obtingut dels patrons de TBB i de PCB 209 estan entre un 25% i un 33%, de manera que hi ha més probabilitats de que hi hagués presència d'alguns contaminants que no s'ha pogut identificar, que en la mostra B98+B100 on el tant per cent obtingut d'aquests patrons és bastant més elevat.

Un altre cas a destacar és la recuperació del TBB, de l'ordre de 123% en la mostra B98+B100 pel fet que l'àrea de la trifenilamina del patró injectat (TBB més Trifenilamina) és bastant més petita que l'àrea del mateix compost en la mostra, aquest fet confirma que aquest patró hauria de ser descartat ja que dóna errors a la quantificació dels contaminants.

Pel que fa a les recuperacions en general, semblen ser més correctes que en les mostres recollides a Blanes, tot i que en alguns casos s'arrossega l'error del factor de correcció, i a més, cal especificar, un cop més, que hi ha patrons interns on la seva àrea és més gran que la del patró de referència. Aquest cas torna a ser el del patró del TBB, una confirmació més a l'error d'injecció d'aquest patró (té una àrea de 3,23mV).

D'aquesta manera cal especificar que aquestes mostres tampoc poden considerar-se correcte en una investigació ja que hi ha indicis d'errors experimentals o d'injecció. Caldria analitzar noves mostres per intentar identificar i reduir els errors produïts en el present estudi.

4.2.2. Anàlisi d'OCPs en la segona fracció

. En una vista general, es pot observar que s'han pogut identificar més contaminants que en la primera fracció, però que, en general, les àrees dels compostos són molt més petites.

Els patrons externs de referència són identificats amb la seva àrea corresponent, igual que en el cas de la primera fracció, per tal conèixer les recuperacions dels compostos. Cal especificar, una vegada més, que hi ha alguns casos en què l'àrea del patró de referència és més petita que l'àrea del patró intern de les mostres, la qual cosa no pot ser possible. Els casos són el patró D12-Perilè per les mostres B25+B27 i B32+B33. D'aquesta manera, els contaminants corregits per aquest patró haurien de ser descartats.

En la segona fracció han d'eluir tots els PAHs i alguns OCPs, i pel que fa als patrons interns han de sortir el patró mixt amb els 4 patrons que el componen: D8-Naftalè, D10-Antracè, D10-Pirè i el D12-Perilè. Llavors, per tal de corregir el OCPs trobats, com que el patró intern TBB elueix en la primera fracció i els mètodes d'injecció són diferents, s'ha d'establir una relació entre el patró referència de la primera fracció amb el patró referència injectat amb el mètode SIM, que donarà un coeficient, el qual, multiplicat per l'àrea del pic del TBB amb el mètode full scan (primera fracció) simula l'àrea del pic del patró intern TBB si hagués estat injectat amb el mètode SIM. D'aquesta manera ja es pot realitzar les operacions corresponents per corregir els compostos organoclorats trobats en l'actual fracció. Cal especificar, que aquest procés arrossega l'error, anteriorment explicat, del patró TBB més trifenilamina. En les mostres B30 de Blanes i B90 del Port de Barcelona el patró intern D8-Naftalè s'ha obtingut com ja s'ha vist en la primera fracció, doncs, s'ha realitzar la mateixa operació que en cas del TBB per simular l'àrea d'aquest en el mètode SIM, i poder utilitzar-ho per corregir els possibles PAHs trobats dependents d'aquest patró.

A continuació es presenten els resultats de les mostres de *Citharus linguatula* analitzades que van ser capturades a Blanes (Taules 10,11 i 12).

B25+B27		Pes mostra= 6,88 g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,4	0,045						
D8-Naftalè	7,1	0,004	403,2	2,689	0,011	0,6		
D10-Antracè	19,6	0,045	559,2	2,689	0,121	41,7		
D10-Pirè	26,2	0,014	275,2	2,689	0,038	24,5		
D12-Perilè	41,5	0,217	277,2	2,689	0,583	627,4		
TBB	FI	0,018 ¹	400,0	2,244	0,039	186,5		
OCPs i PAHs:								
Naftalè	7,3	0,004			0,011		403,200	58,605
Acenftalè	13,3	0,001			0,003		100,800	14,651
Fluorè	15,5	0,002			0,005		201,600	29,302
p,p'-DDT	31,9	0,023			0,052		527,116	76,616

Taula 10. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B25+B27 recollida a Blanes.

1. Àrea simulada amb SIM

4. Resultats i Discussió

B30		Pes mostra= 2,69g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,4	0,047						
D8-Naftalè	FI	0,0005 ¹	403,2	2,575	0,0013	0,1		
D10-Antracè	19,6	0,030	559,2	2,575	0,0772	26,6		
D10-Pirè	26,3	0,022	275,2	2,575	0,0566	36,9		
D12-Perilè	41,8	0,009	277,2	2,575	0,0232	24,9		
TBB	FI	0,039 ¹	400,0	2,149	0,0847	403,3		
OCPs i PAHs:								
Benzo(b) fluorantè	38,7	ND			-		-	ND
Indo[1,2,3-cd] pirè	39,0	ND			-		-	ND
Benzo[ghi]perilè	43,2	ND			-		-	ND
p,p'-DDT	31,2	0,001			0,00215		10,150	3,773
α-HCH	16,3	ND			-		-	ND
γ-HCH	18,1	ND			-		-	ND

Taula 11. Resultats obtinguts en la FIJ de la mostra B30 recollida a Blanes.

B32 + B33		Pes mostra= 4,83g.						
	Temps retenció (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,4	0,068						
D8-Naftalè	7,5	0,203	403,2	1,779	0,3612	19,0		
D10-Antracè	18,6	0,606	559,2	1,779	1,0783	371,8		
D10-Pirè	26,1	0,007	275,2	1,779	0,0125	8,1		
D12-Perilè	41,8	0,237	277,2	1,779	0,4217	453,5		
TBB FI	FI	0,00027 ¹	400,0	1,485	0,0004	1,9		
OCPs i PAHs:								
Naftalè	8,0	0,002			0,0036		3,972	0,822
Acenftalè	13,2	0,013			0,0231		25,821	5,346
Acenaftilè	14,1	ND			-		-	ND
Fluorè	15,8	ND			-		-	ND
β-HCH	17,0	0,222			0,3297		333438,328	69034,850
γ-HCH	18,1	0,001			0,0015		1501,974	310,968

Taula 12. Resultats obtinguts en la FIJ de la mostra B32 + B33 recollida a Blanes.

Dels OCPs trobats en les mostres recollides a Blanes destaquen en presència els hexaclorcilcohexans β i γ en dos de les mostres, i el p,p'-DDT també en dos de les tres mostres de Blanes. En la mostra B30 s'identifiquen els compostos β-HCH i γ-HCH, però per sota del nivell de detecció, i per tant no es possible la seva quantificació. (l'àrea del pic es mostra amb un 0).

1. Àrea simulada amb SIM
ND: No Detectat (Per sota del límit de detecció)

Els PAHs identificats en les mostres varien bastant entre mostres, tot i que es podria dir que el Naftalè seria el més present, dos de les mostres en aquesta segona fracció, i sorprenentment, en la primera fracció de la mostra restant de Blanes, la B30. En la mostra B25+B27 s'ha identificat, a part del Naftalè, els compostos Acenaftilè i Fluoré amb concentracions de 58,65 i 14,65ng/g de peix fresc amb contingut elevat d'aigua, respectivament. Tot i que s'ha de destacar la recuperació és molt petita, (segons Taula 2) de l'ordre de 0,6%. En la mostra B32+B33 el Fluoré s'ha identificat però per sota del nivell de detecció, de la mateixa manera que el Acenaftilè; també s'ha observat la presència de l'Acenaftalè amb una concentració de 5,35ng/g de peix fresc i el Naftalè amb 0,822ng/g de peix; en aquest cas la recuperació és de 19%. En la mostra B30 no s'ha pogut quantificar cap hidrocarburs aromàtic policíclics ja que han estat per sota del límit de detecció del masses; els compostos PAHs identificats són el Benzo(b)fluoranté, el Indo[1,2,3, cd]pirè i el Benzo(ghi)perilè.

Es torna a observar, en alguns casos, que les recuperacions són superiors al 100% màxim; aquests casos coincideixen amb el TBB i el D12-Perilé, fet que ja s'ha comentat que de que les àrees dels d'aquests patrons inectats són més minses de les haurien de ser, i pot provocar errors com aquests.

Igual que en el cas de les mostres de la primera fracció de Blanes, cal especificar que l'absència d'altres contaminants no es pot afirmar que no hi siguin, perquè hi ha possibilitat que hagin perdut al 100% durant el procés analític. Hi ha bastants casos que el tant per cent de recuperació són bastant baixos; fet que dóna més probabilitat de que puguin haver altres contaminants no identificats en aquestes mostres.

D'aquesta manera cal especificar, una vegada més, que aquestes mostres tampoc poden considerar-se correcte en una investigació ja que hi ha indicis d'errors experimentals o d'injecció. Caldria analitzar noves mostres per intentar identificar i reduir els errors produïts en el present estudi.

Les taules 13, 14 i 15 representen els resultats de la segona fracció del Port de Barcelona:

4. Resultats i Discussió

B87 + B89		Pes mostra= 4,00g.						
	Temps residència (min)	Àrea pic(mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,3	0,042						
D8-Naftalè	7,0	0,724	403,2	2,881	2,086	109,9		
D10-Antracè	19,6	0,071	559,2	2,881	0,205	70,5		
D10-Pirè	26,3	0,035	275,2	2,881	0,101	65,7		
D12-Perilè	41,7	0,020	277,2	2,881	0,058	62,0		
TBB	FI	0,039 ¹	400,0	2,405	0,093	443,2		
PAHs i OCPs:								
Naftalè	7,8	0,005			0,014		2,785	0,696
Acenftalè	12,9	0,006			0,017		3,341	0,835
Acenaftilè	13,8	0,002			0,006		1,114	0,278
Fluorè	15,8	0,003			0,009		1,671	0,418
Crisè	33,4	0,002			0,006		15,726	0,696
Dieldrin	28,1	0,001			0,002		10,336	2,584
Endrin	29,1	0,003			0,007		31,008	7,752

Taula 13. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B87 + B89 recollida al Port de Barcelona.

B98 + B100		Pes mostra=3,50g.						
	Temps residència (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng/µL)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,3	0,039						
D8-Naftalè	7,2	0,055	403,2	3,103	0,171	9,0		
D10-Antracè	19,5	0,055	559,2	3,103	0,171	58,8		
D10-Pirè	26,2	0,019	275,2	3,103	0,059	38,4		
D12-Perilè	41,7	0,013	277,2	3,103	0,040	43,4		
TBB	FI	0,033 ¹	400,0	2,590	0,086	410,7		
PAHs i OCPs:								
Naftalè	7,2	0,001			0,003		7,331	2,095
Acenaftilè	14,0	ND			-		-	ND
Fluorè	16,0	ND			-		-	ND
Perilè	41,6	ND			-		-	ND
Benzo[ghi]perilè	43,5	0,001			0,003		21,323	6,092
Dieldrin	28,5	0,06			0,155		720,666	205,905
Endin	29,1	0,009			0,023		108,100	30,886
a HCH	16,4	0,002			0,005		24,022	6,863
g HCH	18,1	0,008			0,020		96,089	27,454

Taula 14. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B98 + B100 recollida al Port de Barcelona.

1. Àrea simulada amb SIM
ND: No Detectat (Per sota del límit de detecció)

B90	Pes mostra=							
	2,89g.							
	Temps residència (min)	Àrea pic (mV)	Quantitat patró (ng)	FC	Àrea corregida (mV)	Recuperació (%)	Quantitat compost (ng)	Concentració en peix fresc (ng/g)
Patrons:								
Trifenilamina	24,3	0,060						
D8-Naftalè	FI	2,687 ¹	403,2	2,017	5,418	285,5		
D10-Antracè	19,6	0,128	559,2	2,017	0,258	89,0		
D10-Pirè	26,3	0,060	275,2	2,017	0,121	78,8		
D12-Perilè	41,8	0,034	277,2	2,017	0,069	73,7		
TBB FI	FI	0,028 ¹	400,0	1,683	0,048	226,2		
PAHs i OCPs:								
Naftalè	7,8	0,006			0,012		0,900	0,312
Acenftalè	13,1	0,003			0,006		0,450	0,156
Acenaftilè	14,1	0,021			0,042		3,151	1,090
Fluorè	15,3	0,013			0,026		1,951	0,675
Benzo(a)pirè	41,1	0,001			0,002		8,153	2,821

Taula 15. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B90 recollida al Port de Barcelona.

Es pot observar, tal com passava a les mostres de Blanes que les àrees tant dels patrons com dels compostos trobats són molt més petites que de les àrees dels pics de la primera fracció.

El Dieldrín, Endrín, el α -HCH i el γ -HCH són els OCPs identificats en la segona fracció d'aquestes mostres. Tot i la seva identificació, la quantificació d'aquests no és vàlida per raons explicades anteriorment del seu patró de TBB. L'arrossegament d'aquest error provoca grans errades en el càlcul de la simulació de l'àrea del TBB en mètode SIM. Aquest fet, provoca que la recuperació sigui molt superior al 100%; fet que corrobora que el càlcul dels OCPs obtinguts a les mostres no sigui possible per donar resultats acceptables.

El Naftalé, el Acenaftilè i el Fluoré són els PAHs identificats en les tres mostres de Barcelona. Les seves concentracions en les diferents mostres són bastant variants: 0,67; 0,28 i 0,42ng/g de peix fresc en el cas de la mostra B87+B89, 0,31; 1,09 i 0,68ng/g de peix en la mostra B90 i en la B98+B100 el Naftalè té una concentració de 2,09ng/g de peix, mentre que el Acenaftalé i el Fluoré estan per sota del límit de detecció i no ha estat possible la seva quantificació. El Acenaftalè s'ha identificat en dues mostres amb concentracions de 0,16ng/g de peix en la mostra B90 i en la B98+B100 torna a estar per sota del nivell de detecció. Hi ha PAHs que només s'han obtingut en una de les tres mostres de Barcelona com són el Crisè amb una concentració de 117,94ng/g de peix en la mostra B87+B89; el Pirè de la mostra B98+B100 on no s'ha pogut quantificar per estar per sota del límit de detecció del masses; el Benzo(a)pirè que s'ha obtingut una concentració 2,821ng/g de peix en la mostra B90; i el Benzo[ghi]perilè que s'ha identificat en la mostra B98+B100 en una concentració de 6,09ng/g de peix fresc. Cal especificar que el D8-Naftalè de la mostra B90 s'ha hagut de realitzar la simulació d'àrea de pic com si hagués estat injectat en mètode SIM, ja que ha eluït durant la primera fracció; aquest fet

1. Àrea simulada amb SIM

arrossega un error en els càlculs de la quantificació dels contaminants, on es pot veure que la recuperació trobada és de 285%.

Tal com s'ha anat dient en els apartats anteriors, queda la possibilitat, cal dir-la que la mostra contingui més contaminants dels identificats en aquestes mostres, ja que la pèrdua de patrons deixa oberta aquesta possibilitat; tot i que la probabilitat és menor que en el cas de la primera fracció on apareixen recuperacions més minses.

Per tal de donar resultats coherents de l'anàlisi de COPs i verificar aquests obtinguts s'haurien de realitzar, com ja s'ha dit, més mostres; ja que aquestes per les diferents raons descrites haurien de ser descartades. Aquestes mostres poden donar una idea de la presència de contaminació i la identificació d'alguns contaminants, però la seva quantificació no pot donar-se per vàlida.

4.2.3. Comparativa de mostres de Blanes i el Port de Barcelona

A la taula 16 es resumeixen els resultats finals obtinguts, on es pot observar els contaminants identificats en cadascuna de les mostres i la seva quantificació.

		Blanes			Port de Barcelona		
		B25 + B27	B30	B32 + B33	B87 + B89	B98 + B100	B90
O C P S	P,p'-DDE	-	0,047	-	11,850	7,155	23,729
	P,p'-DDT	102,849	5,065	-	-	-	-
	∑DDTs	102,849	5,112	-	11,850	7,155	23,729
	PCB 28	-	-	-	-	-	20,121
	PCB 52	-	-	-	-	-	15,243
	PCB 101	-	-	-	3,693	-	7,926
	PCB 138	-	-	-	4,432	3,053	18,292
	PCB 153	-	-	-	11,449	12,212	62,454
	PCB 180	-	-	-	5,047	-	18,640
	∑ PCBs	-	-	-	24,621	15,265	166,405
	A-HCH	-	ND	-	-	9,214	-
	B-HCH	-	-	92672,827	-	-	-
	Γ-HCH	-	ND	417,445	-	36,854	-
	∑HCHs	-	ND	93090,272	-	46,068	-
	Dieldrín	-	-	-	3,469	276,408	-
	Endrín	-	-	-	10,406	41,461	-
	P A H S	Naftalè	58,605	126,148	0,822	0,696	2,095
Acenaftalè		14,651	-	5,346	0,835	-	29,174
Acenaftilè		-	-	-	0,278	NQ	204,215
Fluorè		29,302	-	-	0,418	NQ	0,675
Crisè		-	-	-	3,931	-	-
Benzo[b]fluorantè		-	ND	-	-	-	-
Benzo[a]pirè		-	-	-	-	-	2,821
Indoo[1,2,3-cd]pirè		-	ND	-	-	-	-
Benzo[ghi]perilè	-	-	-	-	6,092	-	

Taula 16. Taula resum dels resultats finals obtinguts en les sis mostres analitzades. Les concentracions dels compostos estan en unitats de ng/g de peix fresc. ND= no detectat, perquè es trobaven per sota de límit de detecció.

ND:No Detectat (Per sota del límit de detecció)

A continuació es compararan ambdues localitzacions i es discutiran els resultats obtinguts. El lector pot ser que noti que no es té en compte la quantia de contaminants. Això és així degut a incoherències als càlculs i possibles falles metodològiques que comentarem més endavant. Oblidarem doncs en aquest apartat tots aquests problemes per poder efectuar la comparativa dels valors obtinguts a les mostres. Cal dir que mancaria continuar amb aquest estudi de l'espècie per corroborar la falla o l'encert dels valors obtinguts.

Tot veient els resultats podem observar que en la major part dels casos s'obté un resultat raonable segons els estudis que s'han fet i consultat de diverses fonts. No s'ha pogut trobar cap referència de l'espècie estudiada en el present projecte, ja que és una espècie molt poc investigada en aquest tema. De tal manera, s'ha escollit com a referència una espècie bastant semblant en hàbitat i característiques fisiològiques, la qual és molt estudiada. Aquest és el cas de l'espècie *Mullus barbatus*, on conté de PCBs entre $8,7 \pm 4$ i $20,3 \pm 9$ ng/g peix de pes fresc en el múscul, estudiat en la zona del Delta de l'Ebre (Mar Mediterrani) (en l'estudi Pastor *et al.*, 1996); i pel que fa als DDTs s'espera una concentració dins de $4,4 \pm 2$ i $16,8 \pm 1$ ng/g de pes fresc en el múscul de *M. barbatus*. (Pastor *et al.*, 1996). Pel que fa als altres OCPs i als PAHs obtinguts en aquest estudi no s'ha pogut trobar cap referència adequada.

Com s'esperava, els contaminants són més presents a les mostres del Port de Barcelona que a les de Blanes.

El Port de Barcelona és un zona d'una alta activitat i el punt final de molts residus industrials. Segons els nostres estudis podem confirmar la presència d'una gran quantitat de PCBs. Aquests són uns resultats que ja s'intuïen però que aquest estudi ha pogut corroborar. Els hidrocarburs aromàtics policíclics també són més presents a aquesta localització. Tot i que alguns d'aquests contaminants s'originen a la natura i per tant també els podem trobar a Blanes.

Per contra a Blanes no s'ha trobat a les mostres cap rastre de PCBs. En general, els valors obtinguts solen ser inferiors als obtinguts a una zona més industrialitzada com el Port de Barcelona. La inexistència de PCBs i HCHs a la major part de les mostres indiquen que la influència dels COPs ha estat menor. Tot i això cal recordar que aquest tipus de contaminants per definició no necessiten ser presents a prop de la font ja que poden viatjar grans distàncies i a més, són molt persistents i pràcticament no biodegradables. És per aquest motiu que és estrany que no aparegui el mínim rastre d'aquestes substàncies encara que en una proporció menor. De totes maneres, encara que segons els biomarcadors les aigües de Blanes semblen més netes, no s'escapen de rastres de contaminació que en alguns casos són significatius com podria ser la presència de Naftalé a totes les mostres analitzades i la seva gran concentració de les mateixes.

Cal destacar la presència a ambdues localitzacions de DDTs. Totes les mostres han mostrat un rastre en major o menor mesura d'aquests pesticides, prohibits als anys 70. És a Blanes on podem trobar una major concentració degut segurament a una major activitat agrícola de la zona i ésser així una zona més susceptible a aquest tipus de contaminants.

D'altra banda hi ha una absència que cal remarcar. És estrany que no aparegui ni rastre a cap de les mostres analitzades del Hexaclorbenzens (HCBs). A d'altres estudis consultats l'aparició d'aquest compost és habitual. Caldria esbrinar si la manca d'aquests compostos a les mostres és deguda a l'absència de les mateixes o bé a que el *C. linguatula* és un mal biomarcador pels HCBs.

Les dues localitzacions són zones de pesca costanera on el *C. linguatula* és una de les espècies capturades. Podem veure doncs com la contaminació generada per l'indústria i l'agricultura, juntament amb l'elevada biomagnificació característica d'aquests compostos, poden acabar afectant a l'espècie humana.

4.3. Problemes associats a la metodologia i la quantificació

S'ha mencionat que la major part dels valors obtinguts són raonables i suporten la comparació amb estudis similars. Cal explicar però, aquells valors que després d'un estudi i anàlisi s'han comprovat errònis o si més no, dubtosos.

Per fer un control de la qualitat de resultats s'ha fet servir el document emès per IOMC (Programa Inter-Organitzacions pel Maneig segur de productes Químics, un acord de cooperació entre PNUMA, OIT, FAO, OMS, ONUDI, UNITAR y OCDE) el Març del 2007 amb títol "Guía para el Análisis de Contaminantes Orgánicos Persistentes". Aquest document ha ajudat a detectar possibles falles al procés.

En aquest apartat es descriurà tots els passos realitzats en l'anàlisi de COPs que hagin pogut interferir en la bona identificació i quantificació dels compostos en les mostres analitzat segons el document del IOMC:

- Identificació errònia d'un pic. És possible que en el cas del compost β -HCH a la mostra B32+B33 sembla ser que degut a la gran quantitat de pics que apareixien al cromatograma probablement es va cometre un error d'identificació que va portar a un valor erroni.
- Complexitat metodològica. Tot i que la metodologia emprada es creu que ha estat la correcte, no deixa de ser un procés complex i llarg susceptible d'errors analítics:
 - L'eliminació de l'aigua abans de l'extracció. Es va realitzar fent servir sulfat de sodi però es va detectar restes d'aigua que van poder interferir en el valors finals. Es va optar per no fer servir la liofilització prèvia ja que es pensava que

aquest pas eliminava massa compostos volàtils. Però s'ha demostrat que és un pas necessari per poder eliminar tot rastre d'aigua a les mostres. La manipulació requerida sense aquest pas previ pot provocar pèrdues o alteracions, es a dir, contaminació externa de les mostres.

- Condicions atmosfèriques de treball. El laboratori tenia suficient humitat com per poder interferir en les mostres. De totes maneres s'hauria de quantificar per corroborar si s'ha de canviar de lloc aquest estudi o no.
 - Contaminació externa. En tot moment s'ha tingut la màxima cura possible. De totes maneres, cal tenir en compte aquest factor ja que en algunes fases del mètode d'anàlisi el risc de contaminació era elevat i no es pot assegurar que s'hagi evitat completament.
 - Experiència del personal de laboratori. Com és natural en un treball d'aquesta índole, l'experiència en un entorn real d'assaig ha estat insuficient. El treball constant i diari ha fet millorar aquest apartat. De totes maneres la complexitat de la metodologia no fa possible assegurar que no hagi hagut errors de caràcter humà.
- GC-MS. El resultat són molt sensibles a la calibració de l'aparell. S'hauria de comprovar un altre cop la calibració i tornar a injectar nous patrons per tal de verificar els valors obtinguts. A més s'ha de tenir en compte dos factors més en relació amb aquesta màquina:
 - Límit de detecció. S'han trobat compostos en diverses mostres que no han pogut ser quantificats degut a que es trobaven per sota del límit. Fora interessant identificar aquest límit per poder millorar l'anàlisi d'aquestes substàncies.
 - Relació senyal-soroll. Aquest és un factor important segons els pics interessants. Aquesta relació ha de ser igual o major que 3:1 (IOMC,2007). No se sap si s'ha complert aquesta condició.

El mostreig i transport va ser càrrec del grup de treball BIOMARE, i l'emmagatzemen de es va realitzar amb una refrigeració de -20°C (tal com recomana IOMC, 2007). Aquesta guia recomana també el registre i el control de temperatura de l'emmagatzematge, juntament amb la disposició d'un equip de subministrament d'energia en casos de talls d'energia.

De la mateixa manera, la calibració dels aparells necessita d'una cura i unes mans expertes al tractar-se d'un equip car. No es creu que hagin hagut falles en aquest punt ja que es confia en la experiència del personal de laboratori que va ajudar i guiar en aquest punts.

5. CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS

5.1. Valoració d'objectius

Dels dos objectius principals del projecte podem dir que s'ha assolit de manera satisfactòria el primer dels objectius, l'anàlisi de les mostres del *Citharus linguatula*. En aquest anàlisi s'han identificat diversos compostos contaminants dins les matrius de les mostres. Cal dir que de totes maneres s'esperava l'aparició de més compostos dels que s'han identificat. Caldria injectar quatre mostres més que romanen al laboratori sense ser injectades. Això encara ens donaria més dades per poder aprofundir a l'anàlisi. Aquestes noves mostres podrien a més, evitar alguns dels problemes que ja s'han detectat.

Degut als problemes mencionats durant la memòria no es creu que la quantificació, segon dels objectius, s'hagi complert. Tot i que algunes de les dades semblen raonables a primera vista, el fet que apareguin dades incongruents durant les diverses operacions fan dubtar de les quanties que ens apareixen com resultats finals. Caldria evitar els problemes mencionats a l'apartat 4.3. en noves investigacions ja que això ajudaria a acceptar o descartar definitivament els valors obtinguts en aquest treball.

5.2. Valoració del projecte

Formar part d'un projecte tant important com BIOMARE ha estat gratificant i motivant. En línees generals el recolzament per part del personal de laboratori, dels responsables del projecte ha estat exemplar.

Caldria però fer alguns apunts que millorarien futurs estudis i ajudarien a aprofundir en el coneixement dels COPs i de les espècies afectades pels contaminants. La restricció d'accés al laboratori ha esdevingut un problema no només de comoditat si no que ha fet que les hores d'espera que mancava el procés no s'hagin respectat tot el desitjable.

També fora convenient la participació de més estudiants amb diversos espècimens de la mateixa espècie que ajudaria a contrastar informació i fer que l'avenç en aquest àmbit sigui més ràpid. Cal dir que no s'ha trobat informació sobre estudis amb aquesta espècie com a biomarcador. Per tant, cal continuar amb l'estudi per donar validesa a les dades i assolir conclusions més profundes i acurades.

5.3. Línees de continuació

Degut a la importància del projecte BIOMARE, el gran risc que representen els COPs i el desconeixement del *C. linguatula* fora convenient continuar amb la investigació i l'anàlisi en nous estudis.

Algunes de les idees proposades serien les següents:

- Injecció de les quatre mostres ja analitzades per tal de assolir un punt de partida més sòlid en futures investigacions.
- Capturar noves mostres i fer un estudi simultani de diversos espècimens del *C. linguatula* per corroborar si es tracta d'un bon biomarcador.
- Analitzar altres parts dels espècimens que no siguin el múscul com podrien ser el fetge o la bilis tal i com s'ha fet a d'altres espècies.
- Un cop fet aquests nous estudis es podria estudiar les causes i les conseqüències d'aquesta contaminació.

6. LLISTAT D'ACRÒNIMS

6. LLISTAT D'ACRÒNIMS

BIOMARE	Identificació de BIO marcadors de l'impacte antropogènic en comunitats MAR ines: una aproximació Ecosistèmica
CE	Conveni d'Estocolm
COPs o POPs	Contaminants Orgànics Persistents
DCM	Diclorometà
DDD	Diclordifenildicloretà
DDE	Diclordifenildicloetilè
DDT	Diclorodifeniltricloroetà
d-PAHs	Deuterats-Hidrocarburs aromàtics policíclics
EEUU	Estats Units
EPA	Agència de Protecció del Medi Ambient en EE.UU.
FAO	Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació
FC	Factor recuperació
Full scan	Escanejat complet de masses
GC	Cromatògraf de gasos
GC-MS	Cromatògraf de gasos acoblat a espectròmetre de masses
HCB	Hexaclorbenzè
HCHs	Hexaclorciclohexans
HCl	Àcid clorhídric
IARC	Agència Internacional per la Investigació del Càncer
IOMC	Programa inter-organitzacions per el maneig segur de productes químics
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemist
Kow	Coeficient de repartició octanol-aigua
m/z	relació massa/càrrega
MAE	Extracció assistida amb microones
MS	Espectròmetre de masses
OCDE	Organització de Cooperació i Desenvolupament Econòmic
OCPs	Compostos organoclorats persistents
OIT	Organització Internacional del Treball
OMS	Organització mundial de la salut
ONU DI	Organització de les Nacions Unides per al Desenvolupament Industrial
PAHs	Hidrocarburs aromàtics policíclics
PCBs	Bifenils policlorats
PCDF	Dibenzofurans policlorats
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP en anglès)
P _v	Pressió de vapor
REACH	Registre, Avaluació i Autorització de substàncies Químiques (Reglament)
SIM	Monitoreig selectiu d'ions
SMA	Servei de Medi Ambient
t _{1/2}	Temps de vida mitja
TBB	Tetrabromobenzè
UNEP	Programa Ambiental de les Nacions Unides
UNITAR	Institut de les Nacions Unides per la Formació i la Investigació

Unitats:

%	Tant per cent
°C	Graus Celsius
min	minuts
m	metres
Kg	kilogram
G	gram
µg	microgram
L	litre
mL	Mililitre
µL	Microlitre
Ppm	parts per milió
mV	miliVolts
Mmol	Milimol
mm Hg	milímetres de mercuri
Pa	Pascals

7. BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

- Aislabe, J. M.; Richrads, N. K.; i Boul, H. L. (1997). Microbial degradation of DDT and its residues- a review. *New Zealand Journal og Agricultural Research*, 40: 269-282.
- Alexander, M. (1995). How toxic are chemicals in soil? *Environmental Science and Tecnology*, 29: 2712-2717.
- Baker, J. E.; P.; i Eisenreich, S. (1986). Influence of colloids on sediment-water partition coefficients of polychlorobiphenyl congeners in natural waters. *Environmental Science and Tecnology*, 20:1136-1143.
- Baker, J. E.; Eisenreich, S. (1991). Sediment trap fluxes and benthic recycling of organic carbon, polycyclic aromatic hydrocarburs, and polychlorobiphenyls congeners in Lake Superior. *Environmental Science and Tecnology*, 25: 500-509.
- Barber, J. L.; Sweetman, A. J.; van Wijk, D.; i Jones, K.C. (2005). Hexacholorobenzene in the global environment: emissions, levels, distribution, trends and processes. *Science of the Total Environment*, 309: 1-44.
- Baumard, P.; Budzinki, H. (1997). International standard quantification method and Gas Chromatograph-Mass Spectrometer (GD-MS): a reliable total for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) quantification in natural matrices. *Analisis*, 27: 246-252.
- Bergen, B.; Nelson, W.; i Pruell, R. (1993). Partitioning of polycholorinated biphenyl congeners in the sea water of New Bedford Harbor, Massachussets. *Environmental Science and Tecnology*,27: 937-942.
- Bélanger, J. i Paré, J. (2006). Applications of microwave-assisted processes (MAP) to environmental analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386: 1049-1058.
- Bidleman, T. F. (1988). Atmospheric processes. *Environmental Science and Tecnology*,22: 361-367.
- Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *Tract-Trends in Analytical Chemistry*, 19: 229-248.
- Carrera, G.; Fernández, P.; Grimalt, J.; Ventura, M.; Camarero, L.; Catalán, J.; Nickus, U.; Thies, H.; i Psenner, R. (2002). Atmospheric deposition of organochlorine compounds to remote high mountain lakes of Europe. *Environmental Science and Tecnology*,36: 2581-2588.
- Carson, R. (1962). Silent Spring. Ed. Houghtin Mifflin Company, New York. 368 pp.
- Carvalho, F.; Villeneuve, J.; Cattini, C. (1999). Determination of Organochlorine Compounds, Petroleum Hydrocarbons, and Sterols in a Sediment Sample, laea-383. Results of an Intercomparison Exercise. *Marine Environment Laboratory*, 75: 315-329.
- Chen, W.; Kan, A.T.; Fu, G.; Vignona, L.C.; i Tomson, M. B. (1999). Adsorption-desorption of hydrophobic organic compounds in sediment of Lake Charless, Louisiana, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*,18: 1610-1616.
- Cotham, J. W.; i Bidleman, T. (1991). Estimating the atmospheric deposition of organochlorine contaminants to the arctic. *Chemosphere*, 22: 165-188.
- de Mora, S; Villeneuve, J.; Sheikholeslami, M. (2004). Organochlorinated compounds in Caspian sea sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 30-43.
- de Voogt, P.; i Brinkman, U. (1989). Production, properties and usage of polychlorinated biphenyls. En Halogenated byphenils, naphtalenes, dibenzodioxins and related products. (Eds. Kimbrought i Jensen). Ed. Elsevier Science Publishers B.V. (biomedical division), Amsterdam: 3-45pp.
- de Voogt, P.; Wells, D.; Reutergardh, L.; i Brinkman, U. (1990). Biological activity, determination and occurrence of planar, mono- and di-ortho PCBs. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 40: 1-46.

- EEA (2006). Priority issues in the Mediterranean environment. European Agency (EEA)/ United Nations Environmental Programme (UNEP), Copenhagen.
- E-PRTR, 2006. www.ec.europa.eu/environment/ipcc/eper/pdf/es_prtr.pdf
- Erickson, M.; (1997). Analytical chemistry of PCBs. Ed. Lewis Publishers, Amsterdam. 667pp.
- Eskilsson, CS.; Björklund, E. (2000). *J. Chromatogr. A*, 902: 227-50.
- Fernández, P.; Carrera, G.; Grimalt, J.; Ventura, M.; Camarero, L.; Nickus, U.; Thies, H.; i Psenner, R. (2003). Factors governing the atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons to remote area. *Environmental Science and Technology*, 37: 3261-3267.
- Fernández, P.; Grimalt, J.; i Vilanova, R. (2002a). Atmospheric gas-particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in high mountain regions of Europe. *Environmental Science and Technology*, 36: 1162-1168.
- Fernández, P.; Rose, N.; Vilanova, R.; i Grimalt, J. (2002b). Spatial and temporal comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and spheroidal carbonaceous particles in remote European lakes. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus*, 2: 261-274.
- Fernández, P.; Vilanova, R.; i Grimalt, J. (1996). PAH distributions in sediments from high mountain lakes. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, 9: 121-128.
- Fernández, P.; Vilanova, R.; i Grimalt, J. (1999). Sediment fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in European high altitude mountain lakes. *Environmental Science and Technology*, 33: 3716-3722.
- Fernández, P.; Vilanova, R.; Martínez, C.; Appleby, P.; i Grimalt, J. (2000). The historical record of atmospheric pyrolytic over Europe registered in the sedimentary PAH from remote mountain lakes. *Environmental Science and Technology*, 24: 1906-1913.
- Gevao, B.; Hamilton-Taylor, J.; Murdoch, C.; Jones, K.; Kettrup, A.; Mansour, M.; Steinberg, C.; Nyholm, N.; i Muir, D. (1997). Half-lives and bioconcentration of lindane (γ -HCH) in different fish species and relationship with their lipid content. *Chemosphere*, 35: 343-351.
- Gferer, M. i Lankmayr, E. (2005). Screening, optimization and validation of microwave-assisted extraction for the determination of persistent organochlorine pesticides. *Analytica Chimica Acta*, 553: 203- 211.
- Gobas, F. A. P. C.; Opperhuizen, A.; Hutzinger, O. (1986). Bioconcentration of hydrophobic chemicals in fish: relationship with membrane permeation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 5: 637-646.
- Gioia, R.; Nizzetto, L.; Lohman, R.; Dachs, J.; Temme, C. i Jones, K. C. (2008). Polychlorinated biphenils (PCBs) in air and seaqater of the Atlantic Ocean: sources, trends and processes. *Environmental Science and Technology*, 2008: 1416-1422.
- Gold, G.; Zapata, O.; Ceja, M.; Rodas, J. P.; QBB.Domínguez, J. A.; Rodríguez, F.; QFB. Ku, P. M.; QFB.; Espinola, D. Y. (2005) Diagnóstico Regional de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) en la Zona Costera de la Península de Yucatán y el Sur del Golfo de México. Cinvestav Unidad Mérida. 81pp.
- Gramatica, P.; Consolaro, F.; i Pozzi, S. (2001). QSAR approach to POPs screening for atmospheric persistence. *Chemosphere*, 43: 655-664.
- Grimalt, J.; Fernández, P.; i Vilanova, R. (2001a). Trapping or organochlorine compounds in high mountain lakes. *The Scientific World*, 1: 609-611.
- Grimalt, J.; Fernández, P.; Berdie, L.; Vilanova, R.; Catalán, J.; Psenner, R.; Hofer, R.; Appleby, P.; Rosseland, B.; Lien, L.; Massabuau, J.; i Battarbee, R. (2001b). Selective trapping of organochlorine compounds in mountain lakes of temparate areas. *Environmental Science and Technology*, 35: 2690-2697.
- Grimalt, J.; Sunyer, J.; Moreno, V.; Amaral, O.; Sala, M.; Rosell, A.; Antó, J.; i Albaigés, J. (1994). Risk excess of sorft-tissue sarcoma and tryoid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mistures with a high hexachlorobenzene content International. *Journal of Cancer*, 56: 200-2003.

- Grimalt, J.; Puig, P.; i Cómez-Catalán, J. (1993). Requirement for a standardized nomenclature criterium for PCBs: Computer-assisted assessment of correct congener denomination and numbering. *Chemosphere*, 27:1451-1459.
- Gustafsson, Ö; Gschwend, P. M.; i Buesseler, K. O. (1997). Settling removal rates of PCBs into the Northwestern Atlantic derived from ^{238}U - ^{234}Th disequilibria. *Environmental Science and Technology*, 31: 3544-3550.
- Hardman, D.J.(1991). Biotransformation of halogenated compounds. *Critical Reviews in Biotechnology*, 11
- Hites, R.; i Eisenreich, S. (1989). Sources and Fates of Aquatic Pollutants. *Advances in Chemistry Series*. Ed. American Chemical Society, Washington.
- Howsam, M.; i Jones, K. (1998). Sources of PAHs in the environment. En The Handbook of Environmental Chemistry Volum 3, Part 1, PAHs and Related Compounds. (Eds. Neilson).
- IOMC. (2007). Guía para el Análisis de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs). 24pp
- Iwata, H.; Tanabe, S. i Tatsukawa, R. (1993a). A new view on the divergence of HCH isomer compositions in oceanic air. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 302-305.
- Jensen, S.; Johnels, A.; Olsson, M.; i Otterlind, G. (1969). DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature*, 224: 247-250.
- Jones, K. C.; i de Voogt, P. (1999). Persistent organic Pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution*, 100:209-221.
- Jurado, E.; Zaldivar, J. M.; Marinov, D.; i Dachs, J. (2007). Fate of persistent organic pollutants in the water column: does turbulent mixing matter? *Marine Pollution Bulletin*, 54: 441-451.
- Kaya, M. (1993). Ege denizi derin deniz balıkları üzerine biraras tirma Doga Tr. *J. Of Zoology*, 17: 411-426
- Kennish, M. J. (1997). *Estuarine and Marine Pollution*. CRC Press, Inc., Florida.
- Kidd, K. A.; Bootsma, H. A.; Hesslein, R. H.; Muir, D. C. G.; i Hecky, R. E. (2001). Biomagnification of DDT through the benthic and pelagic food webs of Lake Malawi, East Africa: importance of trophic level and carbon source. *Environmental Science and Technology*, 35: 14-20.
- Lemaire, J.; Cambell, I.; Hulpke, H.; Guth, J. i Van Waldow, C. (1982). An assessment of test methods for photodegradation of chemicals in the environment. *Chemosphere*, 11: 119-164.
- Letillier, M; Budzinski, H. i Bellocq, J. (1999). Focussed microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments and source rocks. *Organic Geochemistry*, 30: 1353-1365.
- Li, Y. F.; i MacDonald, R. W. (2005). Sources and pathways of selected organochlorine pesticides to the Arctic and the effect of pathway divergence on HCH trends in biota: a review. *Science of the Total Environment*, 342: 87-106.
- Linares, R. M. (2007). Evaluación Ambiental de pesticidas organoclorados en sedimentos de la Laguna de Chantuto (Chiapas, México) y de la Bahía de Santander (Cantabria, España).
- Lores, M.; Llompert, M.; Gonzalez-Garcia, R.; Gonzalez-Barreiro, C.; i Cela, R. (2002). Photolysis of polychlorinated biphenyls by solid-phase microextraction: on-fibre versus aqueous photodegradation. *Journal of Chromatography A*, 963: 37-47.
- Lucio J.; Enrique S.; Omar M.; Alicia G.; Daniel A. M.; Lorena L. M; i Pablo M. (2004). Contaminantes orgánicos persistentes (COPs) y metales pesados en agua y sedimentos del río de la Plata y su frente marítimo. Buenos Aires.
- Lund, B. (1998). The role of the of metabolism in the toxicokinetics of persistent organic pollutants. *Organohalogen Compounds*, 37: 341-344.
- Mackay, D. Ying Shiu, W., i Ching Ma, K. (1992). Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Ed. Lewis Publishers Chelsea.
- Mackay, D.; Shiu, W. Y.; Mai, K.-C.; Lee, S. C. (2006). Physical- chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Volumen II. *Halogenated hydrocarbons*. CRC Press, Florida.

- McIntyre, A. D. (1992). Current state of the oceans. *Marine Pollution Bulletin*, 25: 28-31.
- Meijer, S.N.; Dachs, J.; Fernández, P.; Camarero, L.; Catalán, J.; Grimalt, J.O. (2006). Modelling the dynamic air-water-sediment coupled fluxes and occurrence of polychlorinated biphenyls in a high altitude lake. *Environmental Pollution*, 140:546-560.
- Muir, D. i Sverko, E. (2006). Analytical Methods for PCBs and Organochlorine Pesticides in Environmental Monitoring and Surveillance. *Anal. Bioanal. Chem.* 386:769-789.
- Nielsen, J.; Wittehead P. J. P.; Bauchot, M. -L.; Hureau, J.- C.; Nielsen, J.; Tortonose, E. (1986). Citharidae: Fishes of the North eastern Atlantic and the Mediterranean. 3: 1286.
- Pankow, J. F. (1987). Review and comparative analysis of the theories on partitioning between gas and aerosol particulate phases in the atmosphere. *Atmospheric Environment*, 21: 2275-2283.
- Perna, L. (2003). Chromatographic separations for fission products and actinides determination by different analytical techniques: mass spectrometry and radiometry, 94 pp.
- Planas, A.; Vives, F. (1956). Contribución al estudio de la solleta (*Citharus linguatula* Günthy) del Mediterraneo occidental. Tomo III: 107-131.
- Pastor, D. (1995). Avaluació de sistema de vigilància de la contaminació aquàtica mitjançant indicadors biològics. Universitat de Barcelona
- Pastor, D.; Boix, J.; Fernández, V. i Albaigés, J. (1996). Bioaccumulation of Organochlorinated Contaminants in Three Estuarine Fish Species (*Mullus barbatus*, *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax*). *Marine Pollution Bulletin*, 32: 257-262.
- Pawliszyn, J. (1993). On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction-gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 284: 265-273.
- Reglamento (CE) No 850/2004 sobre contaminantes orgánicos persistentes y por el que se modifica la Directiva 79/117/CEE
- Reglamento (CE) No 178/2006 para establecer el anexo I que incluye la lista de alimentos y piensos a los que se aplican contenidos máximos de residuos de plaguicidas
- Reglamento REACH (CE) nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo (2006)
- Sabatés, A. (1988). Larval development and spawning of *Citharus linguatula* (Linnaeus, 1758) in the western Mediterranean. *J. Planck. Res.* 1131-1140.
- SAICM, 2006. Strategic Approach to International Chemicals Management. www.chem.unep.ch/saicm/
- Spacie, A., i Hamelink, J. (1982). Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1: 309-320.
- Turusov, V.; Rakitsky, V.; i Tomatis, L. (2002). Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence and risks. *Environmental Health Perspectives*, 110: 125-128.
- UNEP/MAP. (2001b). protecting the Mediterranean from land-based pollution. United Nations Environment Programme. *Mediterranean Action Plan*, Athens.
- UNEP, 1995. Consideration of global measures on persistent organic pollutants (POPs).
- Vallack, H. W.; Bakker, D. J.; Brandt, I.; Broström-Lundén, E.; Brouwer, A.; Bull, K. R.; Gough, C.; Guardans, R.; Holoubek, I.; Jansson, B.; Koch, R.; Kuylenstierna, J.; Lecloux, A.; Mackay, D.; McCutcheon, P.; Mocarrelli, P.; i Taalman, R. D. F. (1998). Controlling persistent organic pollutants- what next? *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 6: 143-175.
- Van der Valk, F. i Wester, P. (1991). Determination of toxaphene in fish from northern Europe. *Chemosphere CSMHAF*, 22: 57-66.
- Varanasi, U. (1989). Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Ed. CRC Press, Inc., Boca Raton. 341 pp.

- Venkatesan, M. I.; Greene, G. E.; Ruth, E.; i Chartrand, A. B. (1996). DDTs and dumpsite in the Santa Monica Basin, California. *The Science of the Total Environment*, 179: 61-71.
- Vives, I. (2004). Contaminants orgànics persistents en peixos de llacs alpins I Àrtics. 288pp
- Vives, I.; Grimalt, J. O.; Catalan, J. ; Rosseland, B. ; i Battarbee, R. W. (2004). Influence of altitude and age in the accumulation of organochlorine compounds in fish mountain lakes. *Environmental Science and Technology*, 38: 690-698.
- Vilanova, R.; Fernández, P.; I Grimalt, J. (2000). Polycchlorinated biphenyl partitioning in the waters of a remote mountain lake. *The Science of the Total Environment*, 279: 51-62.
- Wakeham, S.; Schaffner, C.; I Gegir, W. (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments- I. Compounds having anthropogenic origins. *Geochemical and Cosmochemical Acta*, 44: 403-413.
- Walker, C. H. (2001). Organic Pollutants. *An Ecotoxicological perspective*. Taylor & Francis, New York.
- Walker, K.; Vallero, D. A.; I Lewis, R. G. (1999). Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment. *Environmental Science and Technology*, 23: 4373-4378.
- Wania, F.; i Mackay, D. (1996). Global fraction and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in Polar regions. *Ambio*, 22: 10-18.
- Wania, F.; i Mackay, D. (1996). Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Technology*, 30:390A-396A.
- Yamasaky, H.; Kuwata, K.; i Miyamota, H. (1982). Effects of ambient temperature on aspects of airborne PAHs. *Environmental Science and Technology*, 16: 89-94.

8. PRESSUPOST

8. PRESSUPOST

El pressupost d'aquest projecte ronda els **7144,94 €**.

Per a la determinació de les despeses tindrem en comte els següents apartats: Materials i equips; Depesa personal; Desplaçaments; Dietes; Energia i Cost total.

8.1. Materials i equips

Material i equips	Cost total (€)
Material d'oficina	93,45
Material de laboratori fungible	758,52
Material de laboratori amortitzable	184,72
Total = 1036,69€	

Taula 17. Cost dels materials i equips.

8.1.1. Material d'oficina

Material	Unitats	Cost (€/unitat)	Cost total (€)
Llibreta	1	5	5
Bolígraf Bic cristal	2	0,23	0,46
Retolador permanent	2	1,7	3,4
Paper 100% reciclat DIN-A4 80g.pack 500 fulls	1	4,50	4,50
Fulls de colors	30	0,04	1,2
CD-R 700 Mb. 80 minuto	4	1,21	4,84
Tinta HP negre	1	25,05	25,05
Tinta HP color	1	35,15	35,15
Enquadernació	3	2,95	11,8
Altres			5
Total = 93,45 €			

Taula 18. Cost del material d'oficina.

8.1.2. Material de laboratori fungible

Material	Unitats	Cost (€/unitat)	Cost total (€)
Vials	156	0,740	115,44
Taps vials MS	78	0,160	12,48
Taps vials	206	0,111	22,87
Inserts	78	0,162	12,636
Caixa guants làtex (100u.)	1	9,310	9,310
Pipetes curtes	780	0,114	88,92
Pipetes llargues	430	0,129	55,47
Caixa de parafilm	1	25,52	25,52
Paper d'alumini	1	30	30
Altres			10,00

Material	Quantitat (L)	Cost (€/L)	Cost total
Acetona	1	20,96	20,96
DCM	4	36,00	144,00
Hexà	5	25,80	129,00
Isoactà	0,5	49,60	24,80
Altres (aigua destil·lada, aigua MilliQ, etc.)			10,00

Material	Quantitat (Kg)	Cost (€/Kg)	Cost total (€)
Alúmina	1	42,60	42,60
Sulfat	0,500	15,01	1,51
Llana de vidre	0,250	10	2,50
Cotó flux	0,100	5	0,5

Total = 758,52€

Taula 19. Cost del material de laboratori fungible.

8.1.3. Material de laboratori amortitzable

El material amortitzable és aquell que es pot amortitzar, és a dir que pot ser utilitzat en més d'un experiment. Considerem amortitzable aquells que tenen una duració de més d'un any. Per tal de calcular el cost del material amortitzable es realitza mitjançant:

$$Cost(€) = \frac{(Valor \text{ _adquisició} \times Temps \text{ _utilitzat})}{Temps \text{ _Vida \text{ _útil}}} \times Unitats$$

Material	Unitats	Preu adquisició(€/unitat)	Vida útil (anys)	Temps utilitzat (dies)	Cost (€)
Balons	20	24,39	5	70	18,697
Tubs d'assaig	6	0,67	3	5	0,018
Morter	6	22,27	5	10	0,732
Nevera/congelador	1	750	10	80	16,427
Balança	1	1.240	10	80	27,159
Proveta 500 ml	1	45,86	3	4	0,167
Proveta 25 ml	2	25,37	3	8	0,370
Proveta 10 ml	10	23,28	2	60	19,121
Embuts	10	2,3	3	3	0,063
Pinces	2	4,2	7	75	0,246
Jeringues	2	54	2	20	2,957
Xeringues del MS	2	41	0,2	6	6,735
Pot de vidre gran	1	3	3	80	0,219
Pot de melmelada	2	2	3	80	0,292
Columna de vidre	7	29,3	5	60	6,738
Vareta de vidre	2	10,12	7	60	0,475
Columnas Cromatogràfiques (MS)	1	544	3500 injeccions	6	25,000
Microones MARSX	1	2.716	15	4	1,983
Rotavapor Büchi	1	271	10	60	4,452
Generador de N ₂	1	79,5	2	55	5,986
Ultrasons Selecta	1	582	15	60	6,374
Centrifugadora Hettich	1	1.780	15	1	0,325
Centrivap UVS 400	1	2.100	15	1	0,383
Estufa Memmert	1	1.632	15	80	23,830
Desecador	1	225	10	80	4,928
Liofilitzadora CryOdos	1	5.700	15	1	1,040
Altres					10

Total = 184,720€

Taula 20. Cost del material de laboratori amortitzable.

8.2. Despesa personal

La despesa de personal assignada al projecte es calcula per a la fórmula:

$$DespesaPersonal(\text{€}) = RH(\text{hores} \cdot \text{persona}) * \frac{SBA + SS \left(\frac{\text{€}}{\text{any} \cdot \text{persona}} \right)}{\frac{\text{Numerohorestreball}}{\text{any}}}$$

SBA= Sou brut anual(d'una persona) =16000€

SS= Quota empresa seguretat social=33,3%

RH= Recursos humans (hora * persona)= 450h

$$DespesaPersonal(\text{€}) = 450x \frac{16000 + (0,33x16000)}{1800} = 5320\text{€}$$

Total = 5320 €

8.3. Desplaçaments

Pel que fa al desplaçament, es considera els kilòmetres realitzats amb cotxe des de Terrassa fins la Universitat Autònoma de Barcelona i la tornada amb el preu aproximat de la gasolina en el seu moment.

Transport	Kilòmetres/viatge	Nº Viatges	Cost gasolina (€/km)	Cost total (€)
Cotxe	20	112	0,135	302,40
Altres				10,00
				Total = 312,40 €

Taula 21. Cost total dels desplaçaments.

8.4. Dietes

Dietes	Unitats	Cost (€/unitat)	Cost total (€)
Menú UAB	3	8	24
Altres	17	4	68
			Total = 92 €

Taula 22. Cost de dietes realitzades.

8.5. Energia

En aquest cas es considerarà només el cost de l'electricitat consumida per la nevera/congelador on s'han conservat les mostres durant el temps de les tasques de laboratori, els dos aires acondicionadors del laboratori, així com l'energia consumida per l'ordinador portàtil amb el que s'ha redactat el projecte.

Seria interessant quantificar el consum energètic per la resta del laboratori, ja que és on hi ha major part de consum energètic. No obstant, és un càlcul complex d'estimar, tot i que caldria tenir-ho en compte en altres projectes. Per tant, el cost total d'energia calculat és aproximat i menor al real.

Pel càlcul del cost de l'energia (Taula 23) es considera que el cost de l'energia és d'uns 0,092834 euros/kW

Equips	Temps utilitzat (h)	Energia (kWh)	Energia (kW)	Cost (€)
Ordinador portàtil	300	0,116	34,8	3,23
Nevera/Congelador	2880	0,0625	180	16,71
2 aires acondicionadors	2880	1,400	3920	363,91
Total = 383,85 €				

Taula 23. Cost del consum energètic.

8.6. Cost total

Material i equips	Cost total (€)
Material i equips	1036,03
Despesa personal	5320
Desplaçaments	312,40
Dietes	92
Energia	383,85
Total = 7144,94€	

Taula 24. Cost total del projecte

9. PLANIFICACIÓ

9. PLANIFICACIÓ

Per realitzar la planificació del projecte s'ha utilitzat el programa Microsoft Project on rigorosament s'ha fet un seguiment de les tasques realitzades. D'aquesta manera s'obté la taula 25 en forma de taula i de manera gràfica mitjançant un diagrama de Gannt en la figura 41.

Tasca	Duració	Inicia el	Finalitza el
REALITZACIÓ DEL PROJECTE	117 days	01/04/2008	09/09/2008
RECERCA BIBLIOGRÀFICA	17 days	01/04/2008	23/04/2008
LABORATORI	78 days	28/04/2008	13/08/2008
Realització de blancs (DCM i Hexà)	3 days	28/04/2008	30/04/2008
Aprentatge de columnes cromatogràfiques	3 days	05/05/2008	07/05/2008
Realització de blancs de columnes cromatogràfiques	15 days	08/05/2008	28/05/2008
Contingut d'aigua i lípids de les mostres de peix 'Simulacre' de la metodologia completa amb unes mostres de sediment	4 days	02/06/2008	05/06/2008
	8 days	10/06/2008	19/06/2008
Realització del patró+Anàlisi Patró	9 days	25/06/2008	07/07/2008
1 ^a Tanda de mostres (6+1blanc)	8 days	08/07/2008	17/07/2008
2 ^a Tanda de mostres (4+1blanc)	6 days	21/07/2008	28/07/2008
Injecció en el GC-MS de la 1 ^a fracció	3 days	29/07/2008	31/07/2008
Injecció en el GC-MS de la 2 ^a fracció	2 days	01/08/2008	04/08/2008
Anàlisi de resultats	8 days	04/08/2008	13/08/2008
REALITZACIÓ MEMÒRIA	11 days	11/08/2008	24/08/2008
Càlculs	5 days	11/08/2008	15/08/2008
Conclusions	6 days	18/08/2008	24/08/2008
Estudis dels resultats	5 days	18/08/2008	22/08/2008
Valoracions personals	2 days	22/08/2008	24/08/2008
PREPARACIÓ D'EXPOSICIÓ ORAL	3 days	05/09/2008	09/09/2008
Realització d'un PPT	3 days	05/09/2008	09/09/2008

Taula 25. Descripció de les diferents tasques a desenvolupar per la realització del projecte, especificant la data d'inici i final de cadascuna, així com la seva durada.

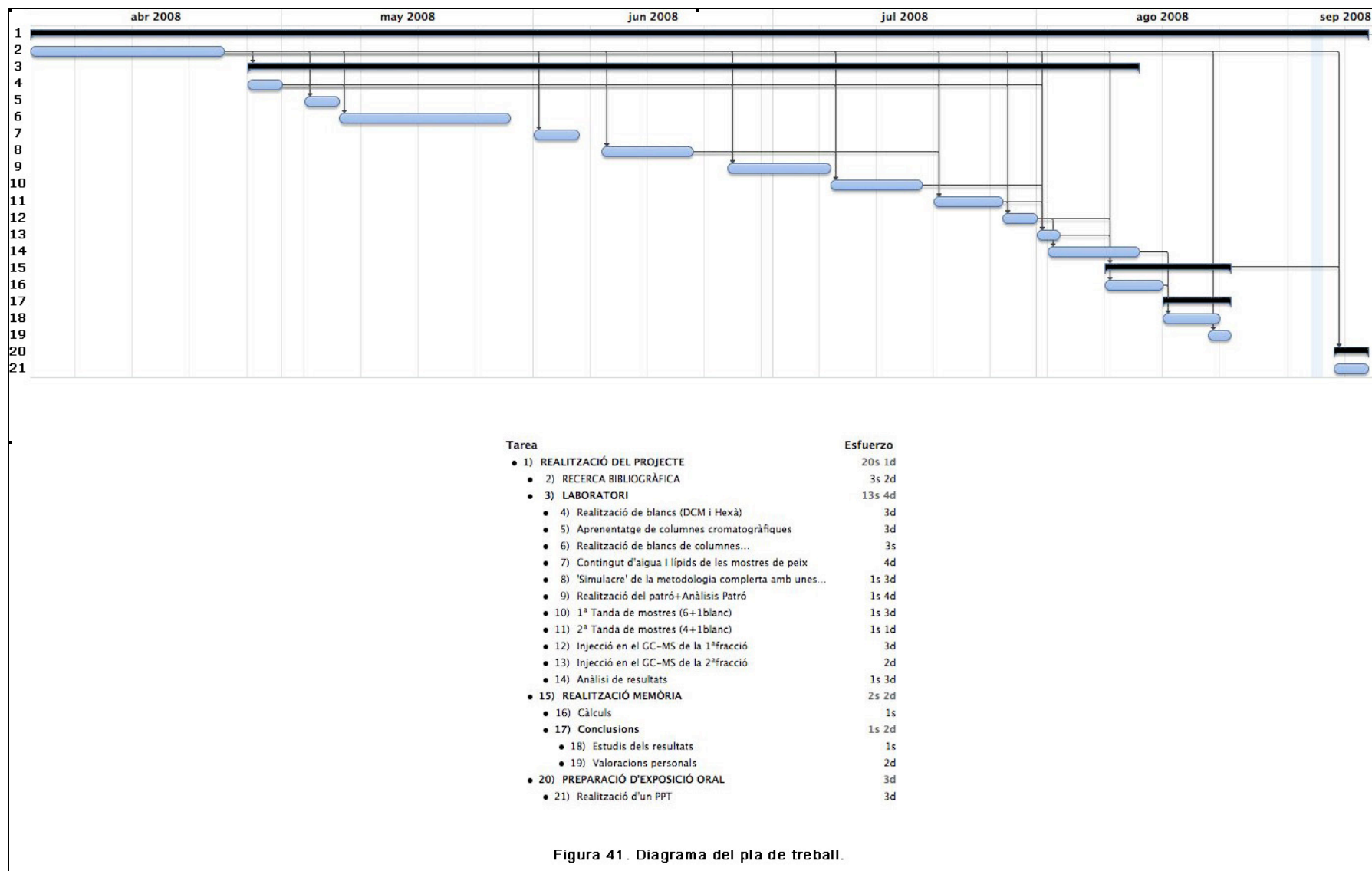


Figura 41. Diagrama del pla de treball.

ÍNDIX DE TAULES I FIGURES

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1. Estructura química de l'HCB.....	8
Figura 2. α -HCH.....	9
Figura 3. β -HCH.....	9
Figura 4. γ -HCH.....	9
Figura 5. Estructura química del p,p'-DDT.....	10
Figura 6. p,p'-DDE.....	11
Figura 7. p,p'-DDD.....	11
Figura 8. Estructura química del metoxiclor.....	11
Figura 9. Aldrín.....	12
Figura 10. Dieldrín.....	12
Figura 11. Endrín.....	12
Figura 12. α -endosulfà.....	13
Figura 13. β -endosulfà.....	13
Figura 14. Heptaclor.....	13
Figura 15. Heptaclor epòxid.....	13
Figura 16. Estructura genèrica dels PCBs.....	14
Figura 17. Estructura d'alguns PCBs analitzats.....	15
Figura 18. Estructura química dels PAHs estudiats.....	17
Figura 19. Dinàmica ambiental dels COPs als sistemes marins.....	19
Figura 20. Classificació dels COPs denominats d'interès prioritari (CE,2001).....	23
Figura 21. Imatge del <i>C. linguatula</i>	29
Figura 22. Sèries successiva dels estadis larvaris de la Palaia on es pot apreciar el desplaçament de l'ull dret cap al cantó esquerre del peix. (Sabatés,1988).....	29
Figura 23. Distribució geogràfica de <i>C. linguatula</i>	30
Figura 24. Esquema del mètode analític de l'estudi de compostos organoclorats i PAHs.....	34
Figura 25. Imatge de la liofilitzadora en el moment de la liofilització de les mostres.....	35
Figura 26. a) Imatge de l'ultrasons. b) Imatge de la centrifugadora.....	36
Figura 27. Imatge del centrivap (UVS 400 A Universal Vacuum System).....	36
Figura 28. Els diferents passos que es produeixen a l'extracció (adaptat de Pawliszyn et al (1993)).....	37
Figura 29. Imatge del microones MARS-X.....	39
Figura 30. Imatge de la filtració del extracte d'algunes de les mostres de peix.....	40
Figura 31. Imatge del rotavapor mentre s'evaporava un extracte.....	40
Figura 32. Esquema de cromatografia en columna.....	41
Figura 33. Fraccionament dels diferents compostos.....	42
Figura 34. Cromatografia en columna amb l'elució de la FI.....	43
Figura 35. Imatge del generador del flux de N ₂	43
Figura 36. Imatge del GC-MS en el moment de l'injecció.....	45
Figura 37. Imatges dels diferents programes utilitzats per l'anàlisi dels resultats.....	46
Figura 38. Exemple de cromatograma del patró d'OCPs amb la identificació, el seu temps de retenció i àrea obtinguda de cada compost.....	52
Figura 39. Gràfic on s'observa la comparació dels diferents PCBs obtinguts.....	56
Figura 40. Gràfic on s'observa la comparació del p,p'-DDE obtinguts en les mostres recollides a Blanes.....	57
Figura 41. Diagrama del pla de treball.....	92

ÍNDEX DE TAULES

Taula 1. Resum dels Contaminants Orgànics Persistents, on es pot veure l'ús característic, les propietats físico-químiques, la legislació marcada i els efectes produïts de cada compost.....	18
Taula 2. Confirmació del patró intern que s'utilitza per les recuperacions segons el compost.....	48
Taula 3. Contingut d'aigua i de lípids d'algunes mostres.....	51
Taula 4. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B25+B27 recollida a Blanes.	53
Taula 5. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B30 recollida a Blanes.	53
Taula 6. Resultats obtinguts de la FI de la mostra B32+B33 recollida a Blanes.	53
Taula 7. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B87+B89 recollida al Port de Barcelona.....	55
Taula 8. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B398+B100 recollida al Port de Barcelona.....	55
Taula 9. Resultats obtinguts en la FI de la mostra B90 recollida al Port de Barcelona.	56
Taula 10. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B25+B27 recollida a Blanes.	58
Taula 11. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B30 recollida a Blanes.....	59
Taula 12. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B32 + B33 recollida a Blanes.	59
Taula 13. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B87 + B89 recollida al Port de Barcelona.....	61
Taula 14. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B98 + B100 recollida al Port de Barcelona....	61
Taula 15. Resultats obtinguts en la FII de la mostra B90 recollida al Port de Barcelona.	62
Taula 16. Taula resum dels resultats finals obtinguts en les sis mostres analitzades. Les concentracions dels compostos estan en unitats de ng/g de peix fresc. ND= no detectat, perquè es trobaven per sota de límit de detecció.	63
Taula 17. Cost dels materials i equips.	85
Taula 18. Cost del material d'oficina.	85
Taula 19. Cost del material de laboratori fungible.	86
Taula 20. Cost del material de laboratori amortitzable.	86
Taula 21. Cost total dels desplaçaments.	87
Taula 22. Cost de dietes realitzades.....	87
Taula 23. Cost del consum energètic.	88
Taula 24. Cost total del projecte	88
Taula 25. Descripció de les diferents tasques a desenvolupar per la realització del projecte, especificant la data d'inici i final de cadascuna, així com la seva durada	91