



II. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

Kongresuko artikulu-bilduma

ZIENTZIA ZEHATZAK ETA NATUR ZIENTZIAK

2017ko maiatzaren 10, 11 eta 12
IRUÑEA, EUSKAL HERRIA





(c) 2017 Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)
Nafarroako Unibertsitateko Publikoa, Euskal Herriko Unibertsitatea
(UPV/EHU), Mondragon Unibertsitatea (MU), Deustuko Unibertsitatea (DU)
eta Nafarroako Unibertsitatea laguntzaileak izan dira edizio honetan.

(c) Egileak

Editoreak: Iñaki Alegria, Ainhoa Latatu, Miren Josu Omaetxebarria, Patxi Salaberri

Artikuluak *Creative Commons Aitortu-PartekatuBerdin 3.0* lizentziapean daude

ISBNa: 978-84-8438-627-8 Lan osorako

ISBNa: 978-84-8438-631-5 4. liburukia

DOI: <https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.2017.04>

Harremanetarako: argitalpenak@ueu.eus

UEU. Erribera 14 1 D. 48005 Bilbo. Tel.: 94 679 05 46

ZIENTZIA ZEHATZAK ETA NATUR ZIENTZIAK

Aurkibidea

Hitzaurrea.....	5
Batzordeak.....	7
Denboraren eremuan helburuetara orientatutako egokitzapena errearen ez-ohiko adierazpenak erabilita, <i>Judit Muñoz Matute, Elisabete Alberdi Celaya, David Pardo eta Victor M. Calo</i>	10
Konposatu per- eta polifluoratuak mikrouhinen bidez prestatzen diren krispeten ontziratze materialetan, <i>Itsaso Zabaleta, Noelia Negreira, Ekhine Bizkarguenaga, Igor Torre, Ailette Prieto,</i> <i>Adrian Covaci eta Olatz Zuloaga</i>	16
MALDI-IMS: Ehun bateko konposatuen distribuzio-irudiak lortzeko masa-espektrometria teknika ezagutzen, <i>Antonio Veloso</i>	22
Aztarna mailako kutsatzaile organikoen biokontzentrazioa eta metabolizazioa arrainetan: Amitriptilinen kasua, <i>Haizea Ziarrusta, Ruth Berasategui, Leire Mijangos, Urtzi Izagirre, Merle M. Plassmann,</i> <i>Jonathan P. Benskin, Eneritz Anakabe, Maitane Olivares eta Olatz Zuloaga</i>	28
Metilselenokarbamatoen aktibitate antileishmaniala, <i>Mikel Etxebeste</i>	34
Laser aplikazioetarako ikusgaiko eremu gorrian igorpen eraginkorra eta egonkorra duten antena molekularrak, <i>Eduardo Avellanal Zaballa</i>	39
Lupien (<i>Dicentrarchus labrax</i>) ataletan disuptore endokrinoen metaketa kontrolpeko baldintzetan, <i>Oihana Ros, Matteo Barbatto, Urtzi Izaguirre, Eider Bilbao, Maren Ortiz, Ailette Prieto,</i> <i>Asier Vallejo eta Nestor Etxebarria</i>	45
Epoxi erretxina/Poli (ϵ -kaprolaktona) itsasgarri itzulkorra, <i>Oihane Llorente, Alba Gonzalez</i> eta <i>Lourdes Irusta</i>	53
Angelman Sindromearen oinarriak ikertzen: Zein da UBE3Aren biktima? <i>Nagore Elu</i>	60
Piriniotako muturluzearen (<i>Galemys pyrenaicus</i>) ekologia espazial eta trofiko: kontserbaziorako funtsezko faktoreak, <i>Amair Esnaola Illarreta, Jorge Gonzalez Esteban, Arturo Elozei Irurtia</i> eta <i>Joxerra Aihartza Azurtza</i>	67
Grafenoan oinarritutako Litio-ioi kondentsadorea, <i>María Arnaiz, Jon Ajuria Cristina Botas,</i> <i>Daniel Carriazo, Teofilo Rojo eta Eider Goikolea</i>	74
Material zeramikoaren tenperatura altuko propietate infragorriak: boro nitruro kubiko eta hexagonala, <i>Iñigo González de Arrieta, Gabriel Alejandro López, Raquel Fuente, Telmo Echániz</i> eta <i>Manuel José Tello</i>	82
Argiaren lokalizazio azpinaometrikoa eta elektroien energia-galera metalezko nanopartikuletan: deskribapen klasikoa vs kuantikoa, <i>Mattin Urbieto, Marc Barbry, Yao Zhang, Peter Koval,</i> <i>Daniel Sánchez-Portal, Javier Aizpurua eta Nerea Zabala</i>	88

Burmuinaren eta gonadaren arteko harremanak ugalketaren eraenketan: gene esangarrien transkripzio-aldaketak Pasaiaiko <i>Chelon labrosus</i> korrokoien gametogenesisian, <i>Ainara Valencia, Josu Andrieu, Anthony Nzioka, Ibon Cancio</i> eta <i>Maren Ortiz-Zarragoitia</i>	96
Eugiko Munizio Fabrika Errealeko bi burdinazko balen karakterizazioa, <i>Iñaki Zalakain, Carlos Berlanga, Lucas Álvarez, Luis Enrique Asa, Paco Labé, Pedro Jose Rivero</i> eta <i>Rafael Rodríguez</i>	103
Noaingo oilategi konpostagailua, etxeko soberakin organikoak aprobetxatzeko ikerkuntza partehartzailea, <i>Ania Ibarguren, Joseba Arizmendiarieta, Monica Usanoz</i> eta <i>Ignacio Irigoien</i>	110
Minbiziaren aurkako jomuga garrantzitsua: Topoisomerasa I, <i>Endika Martin Encinas</i>	116
MCT1 genearen T1417A polimorfismoaren eragina metabolismo anaerobikoan oinarritutako kirol jardueran, <i>Julen Diaz Ramirez, Jon Larruskain, Arkaitz Castañeda, Iker Muñoz</i> eta <i>Adrian Odriozola</i>	124
Erantzun Modulagarriak Cd Estresaren Pean Magurio Arruntean (<i>Littorina littorea</i>), <i>Denis Benito Fernandez, Michael Niederwanger, Reinhard Dallinger, Urtzi Izagirre</i> eta <i>Manu Soto</i>	130
Spin-orbita akoplamenduak eragindako elektroifonoi elkarrekintzaren ezabapena Ti/Si(111) gainazalean, <i>Peio G. Goiricelaya, Idoia G. Gurtubay</i> eta <i>Asier Eiguren</i>	138
Efektu erlatibistak gainazalen erantzun propietateetan: Karga eta spin oszilazio kolektiboak, <i>Jon Lafuente-Bartolome, Idoia G. Gurtubay</i> eta <i>Asier Eiguren</i>	146
Mas hartzailearen deskribapena giza espermatozoidetan: angiotentsina 1-7 bidezko aktibazioaren eragina espermatozoidetan, <i>Lorea Cortes, Asier Valdivia</i> eta <i>Ekaitz Agirregoitia</i>	152
Litio metalikoaren gainazalaren egokitzea bateria elektrikoetarako, <i>Ane Etxebarria-Dueñas, Oleksandr Bondarchuk</i> eta <i>Miguel Ángel Muñoz-Márquez</i>	159
Kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarrenergia erreken funtzionamenduan, <i>Olatz Pereda, Daniel von Schiler, Vicenç Acuña, Jordi René Mor, Isabel Muñoz, Sergi Sabater</i> eta <i>Arturo Elozegi</i>	165
Permakultura garapen iraunkorraren begiradatik: bizi-esperientzia praktikoak Yogyakarta eta Bali-n (Indonesia), <i>Leire Agirreazkuenaga Onaindia</i>	173
Frustrazioa, egitura eta propietate konplexuen jatorria, <i>Irene Urcelay Olabarria, José Luis García Muñoz, Eric Ressouche</i> eta <i>Vassil Skumryev</i>	177
Oihartzun denbora eta eremu magnetiko estatikoaren araberako BOLD erantzunaren neurketa bereizmen handiko irudi bidezko erresonantzia magnetikoa erabiliz: In-vivo azterketa bat, <i>Irati Markuerkiaga, Jose P Marques, Lauren J Bains</i> eta <i>David G Norris</i>	184

IKERGAZTE 2017

Nazioarteko Ikerketa Euskaraz

HITZAURREA

Duela 45 urte sortu zenetik, euskal komunitate zientifiko-intelektuala trinkotzea da UEUk duen helburu garrantzitsuenetako bat. Elkarren berri izatea ezinbestekoa da ezagutzak aurrera egin dezan, are gehiago gure kasuan, euskaraz lanean dihardugun ikertzaileak hain sakabanatuta egonda. Ildo horretatik, UEUk hainbat arlotako adituak bildu izan ditu zenbait ekimenetan azken hamarkadetan: Informatikari Euskaldunen Bilkurak (10 edizio) Historialari Euskaldunen Topaketak (5 edizio), Hizkuntzalari Euskaldunen Bilkura (2 edizio), Matematikari Euskaldunen Bilkura, Osasun Zientzietako eta Natur Zientzietako ikertzaileen bilkurak (2 edizio), besteak beste, horren adibide argiak dira.

Pozik esan dezakegu ikertzaile euskaldunak inoiz baino gehiago direla, baina tamalez, haien arteko ezagutza urria da oraindik. Hutsune horretaz jabetuta 2015. urtean antolatu genuen I. Ikergazte kongresua, Durangon, arrakasta handiz. Aurten maiatzaren 10, 11 eta 12an, Iruñean, bigarren Ikergazte kongresua antolatu dugu, Nafarroako Unibertsitate Publikoarekin elkarlanean, antzeko arrakastarekin. Ohiko kongresu zientifikoen moduan antolatu da: hitzaldi orokorrak, arlokako ahozko aurkezpenak zein posterrak, tailerrak eta saio osagarriak; baina ezaugarri berezi birekin: jakintza-arlo guztiak bilduta eta euskaraz.

“IkerGazte2017: Nazioarteko Ikerketa Euskaraz” goiburu duen kongresuaren artikuluko bilduma dugu hau. Izenburu horretan Ikerketa, Euskara eta Gaztetasuna bildu nahi izan ditugu. Ikusgarri egin nahi dugu Euskal Herriko ikertzaile gazteek egiten duten nazioarte mailako ikerketa. Maiz nazioartean erakutsi eta aurkezten dira lan horiek, Euskal Herrian eta euskaraz aurkezteko aukerarik izan gabe. Kongresu honen helburua komunitate-zientifiko euskaldunaren ikertzaileak bildu eta elkarren berri izatea da, arlo guztiak jorratuz; hasi humanitateetatik eta gizarte-zientzietatik, eta zientzia zehatz, natur zientzia, ingeniari, arkitektura eta osasun-arloetako gaietaraino. Nazioartean ingelesez argitaratu ohi diren lanak euskaraz ere argitaratzeko eta zabaltzeko aukeraren aldeko apustua da. Bigarren edizio hau ere euskaraz egindako ikerketan mugarri izango delakoan gaude!

Honelako kongresu bat aurrera ateratzeko ezinbestekoa da bai banakoen lan eskerga, baita erakunde publiko eta pribatu ugariaren laguntza ere: UEUko lan-taldea, Nafarroako Sostengu Taldea eta UEUkideak; Batzorde Zientifikoko ikertzaileak eta Batzorde Dinamizatzaileko ikergazteak; Unibertsitate eta Ikertalde laguntzaileak; aldizkari zientifikoak eta bestelako laguntzaileak. Aurten azpimarratzekoak dira Nafarroako Unibertsitate Publikoaren aldetik eta Nafarroako Gobernutik jasotako interesa eta babesa. Bestalde, Iruñeko Udalak eta Udalbiltzak sariak babestu dituzte. Horrez gain, hainbat pertsonak eta komunikabidek erakutsitako atxikimendua ere aipatu nahi dugu. Esker mila guztiei.

Egitarau interesgarri eta erakargarria da, arlo guztietako ekarpenak biltzen dituen; 63 ahozko aurkezpenak dira eta 59 poster modukoak. Guztira 122 komunikazio.

Hasieran, 136 komunikazio jaso ziren, baina gainbegiratze-prozesua gainditu ondoren 126 komunikazio hautatu ziren aurkezteko, eta horietatik 122 daude bilduma honetan.

Jakintza-arloei dagokionez hauek dira zenbakiak:

Giza Zientziak eta Arteak	25
Gizarte-Zientziak eta Zuzenbidea	24
Zientzia Zehatzak eta Natur Zientziak	27
Ingeniaritza eta Arkitektura	23
Osasun Zientziak	23

Ikertzaileen filiazioari dagokionez, espero bezala, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) da maizen aipatu dena, 88 ekarpenekin. Ondoren Mondragon Unibertsitatea (8 ekarpen), Nafarroako Unibertsitate Publikoa (7 ekarpen) eta Nafarroako Unibertsitatea (7 ekarpen) aurkitzen ditugu maizen. Deustuko Unibertsitatetik aurkezpen bat dago. Paueko Unibertsitatetik ere ekarpen bat egon da eta ekarpen bana Madrileko Unibertsitate Teknikotik, Bartzelonako Jaume I Unibertsitatetik eta Radboud Unibertsitatetik.

Unibertsitateei loturiko ikerketa-zentroak eta taldeak aipatzen dira ekarpenetako askotan, beherago aipatzen diren Ikertalde laguntzaileez gain, PIE, NU-Cima, NU-Tecnun, Hegoa Institutua, DeustoTech, BioCruces Osasun Ikerketa Institutua, BCMaterials, DIPC, edo CIC-energyGUNE agertzen dira besteak beste.

Euskal Herritik kanpoko erakundeei dagokienez, hauek dira lankidetzan aipatzen diren unibertsitateak: Curtin University, University of Antwerpen, Stockholm University, Tecnológico de Monterrey, Australian Nuclear Science and Technology Organisation (ANSTO), University of Birmingham.

Eta bi urtean behin errepikatzeko asmoa dugu. Beraz, adi, Ikergazte2019 etorriko da-eta!

Iñaki Alegria, Ainhoa Latatu, Miren Josu Omaetxebarria, Patxi Salaberri

BATZORDEAK

Batzorde Zientifikoa

Batzordeburua:

Miren Josu Omaetxebarria (UPV/EHU, UEU)
Patxi Salaberri (NUP)

Idazkaria:

Edurne Koch (UEU)
Ainhua Latatu (UEU)

Giza Zientziak eta Arteak

Itziar Aduriz (Bartzelonako Unibertsitatea, UEU)
Mikel Aizpuru (UPV/EHU, UEU)
Enara Artetxe (UPV/EHU, UEU)
Aritz Irurtzun (CNRS-IKER, UEU)
Paula Kasares (NUP, UEU)
Kepa Korta (UPV/EHU)
Aitzpea Leizaola (UPV/EHU, UEU)
Elizabete Manterola (UPV/EHU, UEU)
Ismael Manterola (UPV/EHU, UEU)
Blanca Urgell (UPV/EHU)

Gizarte-Zientziak eta Zuzenbidea

Luzia Alberro (Deustuko Unibertsitatea)
Josu Amezaga (UPV/EHU, UEU)
Ritxar Arlegi (NUP, UEU)
Aitor Bengoetxea (UPV/EHU, UEU)
Eneko Bidegain (MU, UEU)
K. Josu Bijuesca (Deustuko Unibertsitatea)
Lore Erriondo (UPV/EHU, UEU)
M^aLuz Esteban (UPV/EHU, UEU)
Mikel Iruskieta (UPV/EHU, UEU)
Xabier Landabidea (Deustuko Unibertsitatea, UEU)
Jean-Michel Larrasquet (ESTIA, UEU)
Nerea Mujika (Deustuko Unibertsitatea)
Iñaki Peña (Deustuko Unibertsitatea)

Zientzia Zehatzak eta Natur Zientziak

Elizabete Alberdi (UPV/EHU, UEU)
Itziar Aretxaga (INAOE)
Arturo Elosegi (UPV/EHU, UEU)
Nestor Etxebarria (UPV/EHU, UEU)
Arantza Garcia Lekue (DIPC)
Maite Insausti (UPV/EHU)
Kizkitza Insausti (NUP)
Marian Iriarte (UPV/EHU)
Natxo Irigoien (NUP)
Josu Jugo (UPV/EHU, UEU)

Ingeniaritza eta Arkitektura

Olatz Arbelaitz (UPV/EHU, UEU)
Gorka Azkune (Deustuko Unibertsitatea)
Gabriel Ibarra (UPV/EHU)
Karmele Lopez de Ipiña (UPV/EHU, UEU)
Maialen Sagarna (UPV/EHU)
Arkaitz Zubiaga (University of Warwick)

Osasun Zientziak

Rafael Aldabe (CIMA, NU)
Jose Ramon Bilbao (UPV/EHU, Gurutzetako Ospitalea)
Koldo Callado (UPV/EHU, UEU)
Izaskun Elezgarai (UPV/EHU, UEU)
Felix Elortza (Biogune, UEU)
Karlos Ibarguren Olalde (Osakidetza)
Xabier Isasi (UPV/EHU, UEU)
Nerea Osinalde (UPV/EHU)

Beste gainbegirale batzuk

Lorea Agirre (Jakin)
Iñaki Alegria (UEU)
Ander Altuna (UEU)
Unai Lopez (Deusto)
Iñigo Mendialdua (EHU)

Batzorde Dinamizatzailea

Borja Ariztimuño (UPV/EHU)
Garazi Arrula (UPV/EHU)
Haritz Iribas (NUP)
Eñaut Izagirre (UPV/EHU, UEU)
Olatz Pereda (UPV/EHU, UEU)
Olatz Perez de Viñaspre (UPV/EHU, UEU)
Libe Solagaistua (UPV/EHU, UEU)

Batzorde Teknikoa

Ane Sarasua (UEUko idazkari nagusia)
Idoia Torregarai (komunikazio-arduraduna)
Ainhoa Latatu (koordinatzailea)
Edurne Koch (koordinatzaile teknikoa)

Ikerketa-talde laguntzaileak

- ADIAN. UPV/EHUko Informatika Fakultateko Ikerketa Taldea (Aldapan, Egokituz eta DSG ikerketa-taldeak barneratzen ditu).
- AFIT. UPV/EHUko Antropologia Feminista Ikerketa Taldea.
- DEUSTU-EUSKAL GAIK. Deustuko Unibertsitateko Euskal Gaien Institutua.
- EUDIA – UPV/EHUko Euskararen barietatea aztertzeke ikerketa-taldea.
- GOGO ELEBIDUNA – Psikolinguistika Laborategia.
- HEZIKOM. Mondragon Unibertsitateko HUHEZI Fakultateko Hezkuntza eta Komunikazioaren inguruko ikerketa-taldea.
- IXA. UPV/EHUko hizkuntzaren tratamendu automatikoaren inguruko ikerketa-taldea.
- Jokabide-Ekologia eta Eboluzioa Saguzarretan Ikerketa Taldea. UPV/EHU.
- NOR. UPV/EHUko Ikus-entzunezko Komunikazio eta Publizitate Saileko Ikerketa Taldea.
- PARTE HARTUZ. UPV/EHUko Politika eta Administrazio Zientzia Saileko Ikerketa Taldea

Aldizkari zientifiko laguntzaileak

- EKAIA. Euskal Herriko Unibertsitateko zientzia- eta teknologia-aldizkaria da.
- ELHUYAR ZIENTZIA ETA TEKNOLOGIA aldizkaria.
- GOGOIA. Euskal Herriko Unibertsitateko Logika, Kognizio, Hizkuntza eta Informaziorako Institutuak (ILCLik) egindako aldizkaria da.
- JAKIN. Giza eta gizarte-zientzien alorreko kultur aldizkaria.
- SENEZ. EIZIE elkarteak kudeatzen duen itzulpengintzaren arloko aldizkaria.
- TANTAK. Euskal Herriko Unibertsitateko hezkuntzari buruzko aldizkaria da.
- UZTARO. UEUk kudeatzen duen giza eta gizarte-zientziei buruzko aldizkaria.

Hizlari gonbidatuak

- Laurence Tresse, Lyoneko Astrofisika Ikerketa Zentroko zuzendaria.
- Jose Ramon Etxebarria, UPV/EHUko irakasle eta ikertzailea, UEUkidea.
- Arkaitz Carracedo, Ikerbasqueko ikertzailea eta CIC bioGUNEen ikerketa-taldeko burua.
- Elin Haf Gruffyd Jones, Aberystwyth Unibertsitateko irakasle eta ikertzailea.

Tailerrak

- «Komunikazioa errazteko teknikak». Amagoia Lauzirika. Jendaurreko komunikazio eta haren gaitasunen garapenerako trebatzailea.
- «Informazioaren irudikapena. Nondik hasi?». Vega Asensio. Biologian doktorea eta Zientzia Bisualean eta Ilustrazio Zientifikoan aditua.
- «Euskaraz hobeto idazteko tailerra». Ander Altuna. UEUren argitalpenen hizkuntza-arduraduna.
- «Ingurune digitalaren inguruko ikerketak diziplina aniztasunaren ikuspegitik: sarea egiten». Errota digitala. Ikerketarako, dibulgaziorako eta formaziorako elkarteak #Audiences #Transmedia #MediaEcology #MinorityLanguages.
- «Bibliografiaren kudeaketa Zotero erabiliz». Juanan Pereira. UPV/EHUko irakasle eta ikertzailea.
- «Ikerketatik irakaskuntzara: gaitasun digitala giltzarri». Amaia Arroyo eta Rakel Gamito. Konpetentzia digitaletan eta on-line irakaskuntzan adituak.

Mahai-inguruak

- «Ikerketa eta politika. Politika eta ikerketa». Gidaria: Josu Amezaga. UPV/EHUko Gizarte eta Komunikazio Zientzien fakultateko irakasle eta ikertzailea. Parte-hartzaileak: Itziar Alkorta (UPV/EHU), MLuz Esteban (UPV/EHU), Inmaculada Arostegi (UPV/EHU), Emilio Majuelo (NUP).
- «Euskarazko aldizkari zientifikoen etorkizuna». Gidaria: Xabier Isasi. UPV/EHUko irakasle eta ikertzailea. Parte-hartzaileak: Belen Uranga (BAT), Asier Vallejo (EKAIA), Aitziber Agirre (ELHUYAR), Karlos del Olmo (SENEZ) eta Gidor Bilbao (UZTARO).

Denboraren eremuan helburuetara orientatutako egokitzapena errorearen ez-ohiko adierazpenak erabilita

Muñoz Matute, Judit^{1,2}; Alberdi Celaya, Elisabete¹; Pardo, David^{1,2,3}; Calo, Victor Manuel^{4,5}

¹ Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa

² BCAM - Basque Center for Applied Mathematics, Bilbao

³ IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao

⁴ Applied Geology, Western Australian School of Mines, Faculty of Science and Engineering, Curtin University, Perth, WA, Australia 6845

⁵ Mineral Resources, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Kensington, WA, Australia 6152

Laburpena

Helburuetara orientatutako algoritmo moldagarriak asko erabili izan dira ingeniartzako hainbat problematan sare optimoak sortzerakoan. Lan honetan uhinen hedapen problemaren frekuentziaren eremuan egindako lana denboraren eremuko problemetara zabaldu dugu. Honetarako, problema osoa forma ahula erabilita adierazi da, problema adjuntua formulatu eta helburuetara orientatutako egokitzapena aplikatu ahal izateko. 1D-ko zenbait problemarentzat lortutako zenbakizko emaitzak erakutsiko dira, zeintzuetan errore berriari dagozkion goi-limiteak klasikoak baino zorrotzagoak diren. Errorearen adierazpen berri hau helburuetara orientatutako prozesu egokituak diseinatzeko erabil daiteke.

Hitz gakoak: uhin ekuazioa, helburuetara orientatutako egokitzapena, errorearen adierazpenak, Elementu Finituen Metodoa

Abstract

Goal-oriented adaptive algorithms have been widely employed to produce optimal grids in order to solve challenging engineering problems. In this work, we extend the error representation using unconventional dual problems for goal-oriented adaptivity in the context of frequency-domain wave-propagation problems to the case of time-domain problems. To do that, we express the entire problem in weak form in order to formulate the adjoint problem and apply the goal-oriented adaptivity. Some numerical results are provided in 1D which show that the upper bounds of the new error representation are sharper than the classical ones and therefore this new error representation can be used to design goal-oriented adaptive processes.

Keywords: wave equation, goal-oriented adaptivity, error representation, Finite Element Method

1 Sarrera eta motibazioa

Uhin hedapenaren fenomeno eta haren aplikazioak besteak beste akustikako problemetan, elastikotasunean eta elektromagnetismoan ageri dira. Aipaturiko problemen soluzio analitikoa aurkitzea sarritan oso zaila edo ezinezkoa da, emaitza onak lortzeko zenbakizko metodo zehatzak garatzea funtsezkoa izanik. Deribatu partzialeko ekuazioak askatzeko oso erabilia da Elementu Finituen Metodoa (EFM) (Larsson eta Thomée, 2008). Metodo honek geometria era malguan deskribatzea ahalbidetzen du.

EFM-ko algoritmo egokituak tresna garrantzitsua dira konputazio kostu askorik gabe emaitza zehatzak lortzeko. Era honetako algoritmoetan, elementuaren tamaina edo hurbilketaren ordena lokalki aldatzen dira. Egokitzapen prozesuek errorearen adierazle lokalak darabiltzate errore globala murrizteko. Edo-nola ere, ingeniartzako problema askotan interes kantitate bat, hau da, soluzioaren ezaugarriaren bat, era zehatzean hurbildu nahi da. Beharrian honetatik sortu zen helburuetara orientatutako egokitzapen kontzeptua. Alor honetan garrantzitsuak izan dira zenbait autoreren lanak (Becker eta Rannacher, 1996; Prudhomme eta Oden, 1999; Oden eta Prudhomme, 2001). Helburuetara orientatutako lanetan, interes kantitatea sarritan soluzioaren funtzional lineal bezala adierazten da, eta interes kantitateko errorea hasierako problemaren eta problema dualaren erroreen menpe. Ondorioz, errorearen goi-muga bat problemaren forma bilinealen ekarpen lokal bezala adierazten da, zein errore lokalen normen baturak mugatuta

dagoen. Goi-muga hauek egokitzapena egiteko irizpide bezala erabil daitezke (Šolin eta Demkowicz, 2004).

Lan honetan, Darrigrand *et al.* autoreek 2015 lanean garatutako errorearen adierazpena dimentsio bakarreko uhin ekuaziora hedatu dugu, denboraren eremuko zenbait problematarako errorearen adierazpenaren goi-muga zorrotzagoak lortuz. Ekarpene hau ingeniartzako zenbait uhin hedapen problema hobeto ebazteko erabil daiteke, hala nola, irudi sismikoen eskuratzeko eta neurri elektromagnetiko geofisikoen interpretazioa (Pardo *et al.*, 2006).

2 Arloko egoera eta helburuak

Oraintsu, Darrigrand *et al.* autoreek 2015 lanean frekuentziaren eremuko problemetan helburuetara orientatutako egokitzapena aplikatu ahal izateko errorearen adierazpen berri bat garatu dute. Beraiek dimentsio bakarreko Helmholtz-en ekuaziorako orain artekoak baino goi-muga zorrotzagoak aurkitu dituzte. EFM-a eta denboraren eremuko problemetako prozesu egokituak frekuentziaren eremukoengandik ezberdinak dira, ordea. Denboraren menpeko problemetako hurbilpenak lerroen metodoaren bidez ebazten dira (Hughes, 2012), espazioa eta denbora aldagaiak banaka diskretizatuz. Lehenengo, espazioko aldagaia diskretizatzen da EFM-a erabilia eta horretarako espazioko formulazio bariazionala behar izaten da (Salsa, 2008). Hau egin ostean, Ekuazio Diferentzial Arrunten (EDA) sistema lortzen da, ohiko zenbakizko metodoak erabiliz ebatz daitekeena (hau da, denboraren diskretizazioa).

Lerroen metodoan, espazioan eta denboran independenteki garatzen dute egokitzapena. Baina helburuetara orientatutako egokitzapenean, aldagai biak ageri direneko problemaren formulazio bariazionala ezinbestekoa da problema duala eta interes kantitateko errorea definitu nahi badira. Espazio eta denboraren formulazio bariazionala French autoreak 1993 lanean eta Hulbert eta Hughes autoreek 1990 lanean azaltzen dute. Formulazio hauek oinarri hartuta, helburuetara orientatutako egokitzapen estrategiak garatu dira: egitura dinamikoetarako helburuetara orientatutako egokitzapena (Verdugo *et al.*, 2014); helburuetara orientatutako hurbilpena eta honen goi-mugak problema parabolikoetan (Díez eta Calderón, 2007); eta uhin ekuazioa askatu ahal izateko egokitzapen estrategiak (Bangerth *et al.*, 2010).

3 Ikerketaren muina

Lan honetan kontsideratu dugun problema dimentsio bakarreko uhin ekuazioa da. Atal honetan, uhin ekuazioari helburuetara orientatutako egokitzapena aplikatzeko beharrezko formulazioa eta zenbakizko emaitza batzuk aurkezten dira.

3.1 Formulazio sendoa eta bariazionala. Diskretizazioa

Izan bitez $\Omega = (a, b) \subset \mathbb{R}$ eta $I = (0, T] \subset \mathbb{R}$, hurrengo problema kontsideratuko dugu:

$$\begin{cases} u_{tt} - \alpha^2 u_{xx} = f & \Omega \times I, \\ u(x, t) = 0 & \partial\Omega \times I, \\ u(x, 0) = u_0(x) & \Omega, \\ u_t(x, 0) = v_0(x) & \Omega. \end{cases} \quad (1)$$

(1) formulazioari *formulazio sendoa* deritzo. Ekuazio honen soluzioa espazio-eremuko muturretan finko dagoen korda mugikor bat da.

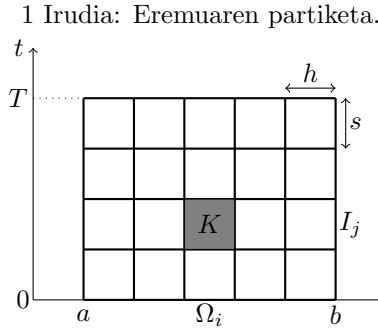
Helburuetara orientatutako egokitzapenean bi oinarritzko osagai daude. Bata, problema duala da, zeinek espazio-denborako puntu bakoitzak interes kantitatean duen eraginari buruzko informazioa ematen duen. Bestea, errorearen adierazpena da, zeinek interes kantitateko errorea mugatzeko balio duen. Bi kontzeptu hauek problemaren formulazio bariazional batean oinarrituta daudenez, ekuazioa forma bariazionalan adierazi behar da aldagai bietan. Formulazio hau eraikitzeke aldagai aldaketa bat egiten da, denboran deribatu bat murriztuz. Ondoren, ekuazioa test funtzio batzuen bidez biderkatu eta eremu osoan integratzen da. Espazioan bi aldiz deribatutako terminoa zatika integratuz eta hasierako baldintzak forma ahulean ezarri problemaren *formulazio bariazionala* lortzen da:

$$\begin{cases} \text{Aurkitu } U^* = \{u^*, v^*\} \text{ non} \\ B(U^*, \Psi) = F(\Psi), \forall \Psi = \{\psi, \varphi\}. \end{cases} \quad (2)$$

(2) formulazioan, $B(\cdot, \cdot)$ forma bilineala eta $F(\cdot)$ forma lineala dira eta honela definituta daude:

$$\begin{aligned} B(U, \Psi) &:= \int_I \int_{\Omega} u_t \psi \, dx dt - \int_I \int_{\Omega} v \psi \, dx dt + \int_{\Omega} u(x, 0) \psi(x, 0) \, dx + \\ &+ \int_I \int_{\Omega} v_t \varphi \, dx dt + \int_I \int_{\Omega} \alpha^2 u_x \varphi_x \, dx dt + \int_{\Omega} v(x, 0) \varphi(x, 0) \, dx, \\ F(\Psi) &:= \int_{\Omega} u_0(x) \psi(x, 0) \, dx + \int_I \int_{\Omega} f \varphi \, dx dt + \int_{\Omega} v_0(x) \varphi(x, 0) \, dx. \end{aligned}$$

Soluzioa hurbildu ahal izateko, eremu osoko partiketa bat definitzen dugu (ikus 1 irudia), K espazio-denbora elementua izanik, h elementuen tamaina espazioan eta s elementuen tamaina denboran. Partiketa honi lotuta, dimentsio finituko test- eta saiakera-azpiespazio egokiak aukeratu ahal dira.



3.2 Problema primalak eta dualak. Errorearen adierazpena

Errorearen adierazpen klasikoa definitu ahal izateko problema primal jarraia eta diskretua:

$$\begin{cases} \text{Aurkitu } U^* = \{u^*, v^*\} \text{ eta } U_{hs}^* = \{u_{hs}^*, v_{hs}^*\} \text{ non} \\ B(U^*, \Psi) = F(\Psi), \forall \Psi = \{\psi, \varphi\}, \\ B(U_{hs}^*, \Psi_{hs}) = F(\Psi_{hs}), \forall \Psi_{hs} = \{\psi_{hs}, \varphi_{hs}\}, \end{cases} \quad (3)$$

eta beraien dualak behar dira:

$$\begin{cases} \text{Aurkitu } \Psi^* = \{\psi^*, \varphi^*\} \text{ eta } \Psi_{hs}^* = \{\psi_{hs}^*, \varphi_{hs}^*\} \text{ non} \\ B(U, \Psi^*) = L(U), \forall U = \{u, v\}, \\ B(U_{hs}, \Psi_{hs}^*) = L(U_{hs}), \forall U_{hs} = \{u_{hs}, v_{hs}\}, \end{cases} \quad (4)$$

Problema dualean, test eta saiakera funtzioen eginkizunak aldatu egiten dira problema primalarekin konparatuz. Iturria, *amaierako funtzionala* $L(\cdot)$ da eta soluzioaren ezaugarri fisikoak adierazten ditu. Problema primalaren (3) eta dualaren (4) erroreak honakoak dira:

$$e_{hs} = U^* - U_{hs}^*, \quad \varepsilon_{hs} = \Psi^* - \Psi_{hs}^*, \quad (5)$$

$B(\cdot, \cdot)$ forma bilinealak, *Galerkinen ortogonalitasuna* betetzen du:

$$B(e_{hs}, \Psi_{hs}) = 0, \quad \forall \Psi_{hs}. \quad (6)$$

(6) ezaugarriari esker, problema primalaren errorea interes kantitatean eremu osoko integral baten bitartez adierazi ahal da eta era honetan mugatu:

$$|L(e_{hs})| = |B(e_{hs}, \varepsilon_{hs})| \leq \sum_K |B_K(e_{hk}, \varepsilon_{hs})|, \quad (7)$$

non $B_K(\cdot, \cdot)$ forma bilinealaren elementu bakoitzeko murrizketa den. (7) formulari *erroraren adierazpen klasikoak* deritzo.

3.3 Proposamen berria

Errorearen adierazpen berria eraikitzeko forma bilineal berri bat $\tilde{B}(\cdot, \cdot)$ aukeratu behar dugu eta errore berri bat definitu hurrengo problemaren soluzio moduan:

$$\begin{cases} \text{Aurkitu } \tilde{\varepsilon}_{hs} \text{ non} \\ \tilde{B}(U, \tilde{\varepsilon}_{hs}) = L(U) - B(U, \Psi_{hs}^*), \forall U. \end{cases} \quad (8)$$

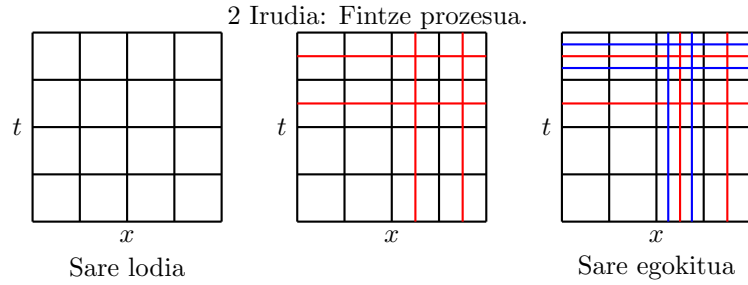
(8) definiziotik eta $B(\cdot, \cdot)$ -k betetzen duen Galerkinen ortogonalitasuna (6) aplikatuz, errorearen adierazpen berria eta goi-muga berria definitzen ditugu:

$$|L(e_{hs})| = |\tilde{B}(e_{hs}, \tilde{\varepsilon}_{hs})| \leq \sum_K |\tilde{B}_K(e_{hs}, \tilde{\varepsilon}_{hs})| \quad (9)$$

Gure helburua forma bilineal aproposak aurkitzea da, errorearen goi-muga berriak (9) klasikoak (7) baino finagoak izanik egokitze prozesua burutzeko irizpide hobe bat edukitzeko.

3.4 Fintze estrategia

Atal honetan, helburuetara orientatutako h - eta s - egokitzapenak burutzeko erabili dugun algoritmoa azalduko dugu. Sare lodi batetik abiatuz, tentsore-biderkadura motako finketak egiten ditugu espazioan eta denboran, sare egokitu bat lortu arte, ikus 2 irudia. Erroreak (5) estimatzeko sare fin bat erabiliko dugu.

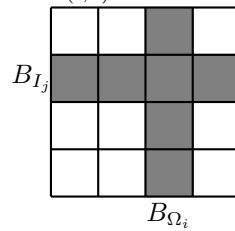


Espazioan eta denboran tokiko ekarpenak bereizita dituen errorearen goi-muga erabiltzen dugu:

$$|L(e_{hs})| = |B(e_{hs}, \varepsilon_{hs})| \leq \frac{1}{2} \sum_i |B_{\Omega_i}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})| + \frac{1}{2} \sum_j |B_{I_j}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})|. \quad (10)$$

(10) goi-mugan, $B_{I_j}(\cdot, \cdot)$ eta $B_{\Omega_j}(\cdot, \cdot)$ kantitateak forma bilinealaren elementu bakoitzeko murrizketak dira denboran eta espazioan, hurrenez hurren, 3 irudian ikusten den moduan.

3 Irudia: $B(\cdot, \cdot)$ -ren murrizketak.



Fintze eta gelditze irizpidetarako bi tolerantzia tol_1 and tol_2 finkatzen ditugu. Fintze irizpideak

$$\frac{|B_{\Omega_i}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})|}{M}, \quad \frac{|B_{I_j}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})|}{M}, \quad M = \max \left(\max_{\Omega_i} |B_{\Omega_i}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})|, \max_{I_j} |B_{I_j}(e_{hs}, \varepsilon_{hs})| \right),$$

tol_2 baino handiagoak diren elementuetan fintzen dugu sarea. Errore erlatiboa $\frac{|L(e_{hs})|}{|L(U)|}$, tol_1 baino txikiagoa denean amaitzen da egokitze prozesua. Era berean, fintze irizpidean $\tilde{B}(\cdot, \cdot)$ ere erabili ahal dugu.

3.5 Zenbakizko emaitzak

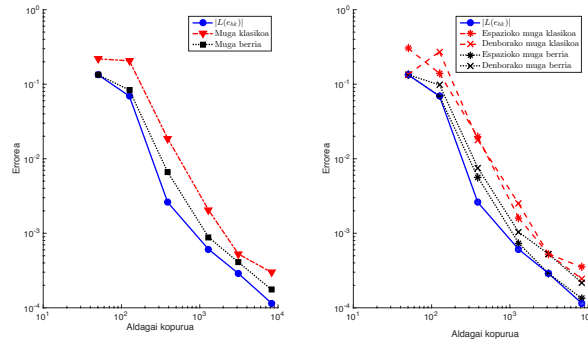
Adibide moduan (1) formulazioan $\Omega \times I = (0, 2) \times (0, 5]$, $f = 0$, $\alpha = 1$, $u_0(x) = \sin(\pi x/2)$ eta $v_0 = 0$ aukeratzen ditugu. Hurrengo amaierako funtzionala aukeratu dugu: $L(u) = \int_{3.75}^5 \int_{1.5}^2 u(x, t) dx dt$.

Sare lodia 2^4 elementurekin eta sare fina 2^{14} -ekin ezarri ditugu. Tolerantziak $tol_1 = 0.001\%$ eta $tol_2 = 10\%$ finkatu ditugu. Zatika jarraiak diren funtzio linealak erabili ditugu hurbilketarako eta simetrikoa eta positiboki definitua den hurrengo forma bilineala aukeratu dugu:

$$\tilde{B}(U, \Psi) := \int_I \int_{\Omega} u_x \varphi_x dx dt + \int_I \int_{\Omega} v \psi dx dt.$$

4 irudiko ezkerreko grafikoan, helburuetara orientatutako egokitzapenean (7) irizpide klasikoa erabilita lortzen diren goi-mugak ikus daitezke. Goi-muga berria (9), klasikoa (7) baino finagoa dela ikus daiteke. Irudi bereko eskuineko grafikoan, goi-mugen ekarpena espazioan eta denboran konparatu dira. Goi-muga berriak bai espazioan eta bai denboran klasikoak baino finagoak dira. Antzerako emaitzak lortzen ditugu irizpide moduan $\tilde{B}(\cdot, \cdot)$ erabiltzen dugunean. Beraz, egokitze prozesua burutzeko irizpide hobe bat lortu dugu.

4 Irudia: Goi-muga klasikoa eta berria (ezk.). Goi-mugen ekarpena espazioan eta denboran (esk.).



4 Ondorioak

Lan honetan denboraren eremuko problemetan helburuen egokitzapena aplikatzeko errorearen adierazpen berri bat proposatzen da, ez-ohiko problema dualak darabiltzana. Errorearen adierazpen berri hau dimentsio bakarreko uhin ekuazioan aplikatu dugu eta goi-muga berriak ohikoak baino zorrotzagoak direla ikusi dugu interes kantitatean.

5 Etorkizuna

Lan hau 2D eta 3D-ko problemetara hedatu daiteke. Beste forma bilineal batzuk ea dauden ere azter daiteke. Beste hedapen posible bat, egun existitzen diren helburuetara orientatutako estrategia egokitueto konplexutasun konputazionala murriztea izan daiteke.

Erreferentziak

- BANGERTH, WOLFGANG, MICHAEL GEIGER, eta ROLF RANNACHER. 2010. Adaptive Galerkin finite element methods for the wave equation. *Computational Methods in Applied Mathematics* 10.3–48.
- BECKER, ROLAND, eta ROLF RANNACHER. 1996. *A feed-back approach to error control in finite element methods: Basic analysis and examples*. Citeseer.
- DARRIGRAND, VINCENT, DAVID PARDO, eta IGNACIO MUGA. 2015. Goal-oriented adaptivity using unconventional error representations for the 1D Helmholtz equation. *Computers & Mathematics with Applications* 69.964–979.
- DÍEZ, PEDRO, eta GIOVANNI CALDERÓN. 2007. Goal-oriented error estimation for transient parabolic problems. *Computational Mechanics* 39.631–646.
- FRENCH, DONALD A. 1993. A space-time finite element method for the wave equation. *Computer methods in applied mechanics and engineering* 107.145–157.
- HUGHES, THOMAS JR. 2012. *The finite element method: linear static and dynamic finite element analysis*. Courier Dover Publications.
- HULBERT, GREGORY M, eta THOMAS JR HUGHES. 1990. Space-time finite element methods for second-order hyperbolic equations. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering* 84.327–348.
- LARSSON, STIG, eta VIDAR THOMÉE. 2008. *Partial differential equations with numerical methods*, volume 45. Springer Science & Business Media.
- ODEN, JOHN TINSLEY, eta SERGE PRUDHOMME. 2001. Goal-oriented error estimation and adaptivity for the finite element method. *Computers & Mathematics with Applications* 41.735–756.
- PARDO, D, L DEMKOWICZ, C TORRES-VERDÍN, eta L TABAROVSKY. 2006. A goal-oriented hp-adaptive finite element method with electromagnetic applications. Part I: Electrostatics. *International Journal for Numerical Methods in Engineering* 65.1269–1309.
- PRUDHOMME, SERGE, eta J TINSLEY ODEN. 1999. On goal-oriented error estimation for elliptic problems: application to the control of pointwise errors. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering* 176.313–331.
- SALSA, SANDRO. 2008. *Partial differential equations in action: from modelling to theory*. Springer Science & Business Media.
- SOLIN, P, eta L DEMKOWICZ. 2004. Goal-oriented hp-adaptivity for elliptic problems. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering* 193.449–468.
- VERDUGO, FRANCESC, NÚRIA PARÉS, eta PEDRO DÍEZ. 2014. Goal-oriented space-time adaptivity for transient dynamics using a modal description of the adjoint solution. *Computational Mechanics* 54.331–352.

6 Eskerrak

Lehenengo hiru autoreak Euskal Gobernuak Ikerketa Talde Kontsolidatuak (IT649-13 Mathematical Modeling, Simulation, and Industrial Applications M2SI) eta Espainiar Gobernuak Ekonomia eta Lehiakortasun Ministeritzak (MTM2016-76329-R erreferentzi zenbakiduna) partzialki diruz lagunduak izan dira.

David Pardok eta Victor M. Calok Europako “Union’s Horizon 2020 research and innovation” programako dirulaguntza jaso dute, Marie Skłodowska-Curie No. 644602 erreferentziaduna.

David Pardok Espainiar Gobernuak Ekonomia eta Lehiakortasun Ministeritzako (MTM2013-40824-P eta MTM2016-81697-ERC erreferentziadunak), BCAM-eko “Severo Ochoa” bikaintasun akreditazioko SEV-2013-0323 eta Euskal Gobernuak laguntza ere jaso du (BERC 2014-2017 programatik eta ICERMAR KK-2015/0000097 proiektutik).

Victor M. Calok Nazio Lehenetsuneko Ikerketa programako (7-1482-1-278 dirulaguntza), Qatar-eko Nazio Ikerketarako laguntza eta Commonwealth Scientific Industrial Research Organisation-eko Deep Earth Imaging Enterprise Future Science Platforms-eko dirulaguntzak jaso ditu.

Judit Muñoz Matutek Euskal Herriko Unibertsitateko dirulaguntza ere jaso du, No. PIF15/346.

Konposatu per- eta polifluoratuak mikrouhinen bidez prestatzen diren krispeten ontziratze materialetan

Itsaso Zabaleta¹, Noelia Negreira², Ekhine Bizkarguenaga¹, Igor Torre¹, Ailette Prieto¹, Adrian Covaci², Olatz Zuloaga^{1,3}.

¹*Kimika Analitikoa Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU)*

²*Toxikologia Zentroa, Zientzia Farmazeutikoa Saila, Anbereseko Unibertsitatea (Belgika)*

³*Plentziako Itsas Estazioa (PIE), Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Plentzia, (Euskal Herria)*

itsaso.zabaleta@ehu.eus

Laburpena

Greenpeacek iaz jakinarazi zuen bezala, toxikoak eta akumulagarriak diren konposatu perfluoratuak (PFC-ak) aurkitu dira mendiko hainbat arropetan. Albisteak kezka larria sortu du egungo gizartean; izan ere, konposatu per- eta polifluoratuak (PFAS-ak) nonahi aurki ditzakegu, hala nola, sukaldeko tresnetan, jakien ontziratze materialetan edo xanpuetan. Ondoko ikerketa lana mikrouhinetan prestatzen diren krispeten ontziratze materialetan erabiltzen diren PFAS-etara bideratu da, hain zuzen. Ildo honetan, 46 PFASs eta beraien aitzindariak identifikatu dira Europako, Asiako eta Ameriketako hainbat herrialdetako ontziratze materialetan. Europa eta Ameriketako materialetan gehien bat kate laburreko PFAS-ak kuantifikatu diren bitartean, Asiakoetan bizidunetan gehiago metatzen diren kate luzeko PFAS-ak ikusi dira.

Hitz gakoak: Konposatu per- eta polifluoratuak, aitzindariak, degradazio produktuak, krispeten ontziratze materialak,

Abstract

As Greenpeace reported last year, toxic and accumulative perfluorinated compounds (PFCs) have been found in many mountain clothing. Concern has been growing since per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) are used in a wide range of applications, such as, cookware, food packaging materials and shampoos. The present work is focused on the application of these compounds in microwave popcorn bags. Within this context, up to 46 PFASs and potential precursors were identified in popcorn bags from European, American and Asian countries. Different patterns in the bag composition have been observed within the countries; while in European and American countries short chain PFASs were detected, Asian countries still use long chain PFASs, which have been found to be more bioaccumulatives.

Keywords: Per- and polyfluoroalkyl substances, degradation products, microwave popcorn bags, precursors

1. Sarrera eta motibazioa

Iaz Greenpeacek albiste kezkagarria argitaratu zuen The North Face, Columbia, Mammut eta beste etxe ezagunetako mendirako arropetan konposatu perfluoratu (PFC) toxikoak daudela esan zuenean. Izan ere, konposatu per- eta polifluoratuak (PFASs) gure eguneroko bizitzan erabiltzen diren material eta tresna ugarian aurki ditzakegu euren egiturak ematen dizkien propietate bereziei (egitura berdinean alde lipofilikoa eta lipofobikoa izateari) esker; hala nola, janarien ontziratze materialetan sarri erabiltzen dira konposatu hauek (Herzke et al., 2012). PFAS-ek fluoro atomoz guztiz (per-) edo partzialki (poli-) ordezkaturiko kate hidrofobikoa dute, zeinak ura aldaratzeko propietatea ematen dien. Kate hidrofobiko honi lotuta buru hidrofilikoa dute,

neutro edo positiboki edo negatiboki kargatuta egon daitekeena. Buru hidrofiliko honek koipea aldaratzeko propietatea ematen die. Egitura berezi honek konposatu tentso-aktiboak bihurtzen ditu (Richardson, 2012).

Orain arte, gehien aztertutako PFAS-en artean PFC-ak aurkitu ditzakegu. Azken hauen artean, azido perfluorooktanosulfonatoa (PFOS) eta azido perfluooktanoikoa (PFOA) dira normalean monitorizatzen direnak. Karbono-fluor loturak (ezagutzen den lotura sendoenetarikoa) ematen dien egonkortasunari esker, hidrolisi, fotolisi, eta biodegradazio prozesuen aurrean erresistentzia handia erakusten dute (Naile et al., 2010). Bestalde, azken urteotan egindako hainbat ikerketa toxikologikoek disruptore endokrinoak edota kantzerigenoak direla egiaztatu dute (Rosenmai et al., 2016) (Lau et al., 2007). Erakutsi duten toxikologiak, konposatu hauek duten egonkortasun eta bioakumulatzeko gaitasunarekin batera, kezka handia sortu du egungo gizartean. Izan ere, konposatu hauen aztarnak edateko uretan (Ullah et al., 2011), animaliatan (Kelly et al., 2009), janarien ontziratze materialetan (Zafeiraki et al., 2014) eta giza odoletan (Pan et al., 2010) eta esnetan (Kubwabo et al., 2013) aurkitu dira, besteak beste.

2000. urtean PFAS-ak ekoizten dituen konpainia nagusiak (3M Konpainiak) kate luzeko PFAS-ak kate laburreko (C₄-C₇) PFAS-en ordez ordezkatuko zituela iragarri zuen (3M Company, 2000), azken hauek toxikotasun baxuagoa dutela uste baita. 2006. urtean Kanada eta Estatu Batuetako hainbat PFAS ekoizlek PFOA-ren, kate luzeko PFAS-en eta euren aitzindarien produkzioa murrizten joateko konpromezua hartu zuten (Environment and climate change in Canada, 2006; US EPA, 2006). Era berean, 2009. urtean PFOS kutsatzaile organiko iraunkor (POP) moduan sailkatu zen Estokolmoko hitzarmenean eta bere erabilera mugatu zen (Stockholm Convention, 2009). Murrizketa guzti horiek konposatu polifluoratu berrien erabilera ekarri dute, hala nola, polifluoroalkil fosfonatuenak (PAP-ena). Hala ere, azken ikerketek konposatu horiek PFOA eta antzeko PFC-en aitzindari direla frogatu dute (D'eon eta Mabury, 2011), eta beraz, euren erabilera PFC-en iturri berria bilakatu da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Testuinguru honetan, ikerketa honen helburua mikrouhinetan prestatzen diren krispeten ontziratze materialetan dauden PFAS-ak identifikatzea da, bai PFC arruntak baita konposatu hauek emateko degradatu daitezkeen konposatuak ere (aitzindariak). Gaur egun, ikerketa lerro honetan egindako lanak PFC arruntak identifikatzera bideratu dira batez ere, eta konposatu hauen aitzindariak izan litezkeenak ez dira ia aztertu.

Bestalde, 24 PFAS kuantifikatzeko metodo analitikoa berretsi eta munduko hainbat herrialdeko (Europako 12 herrialde, Asiako 2 herrialde eta Ameriketako 3 herrialde) krispeten ontziratze materialetan aplikatu da, euren konposizioaren arteko antzekotasun edota desberdintasunak ikusteko.

3. Ikerketaren muina

Aurretik esan bezala ikerketa bi atal nagusitan banatu da. Lehenik eta behin, PFAS-en identifikazioa egin da eta, ondoren, 24 PFAS-en kuantifikazioa egin da herrialde desberdinen krispeten ontziratze materialen konposizioa konparatzeko.

3.1 PFAS-en identifikazioa krispeten ontziratze materialetan

Identifikazioa burutzeko likido-kromatografia tandem bereizmen altuko masa-espektrometria erabili da (LC-QTOF-MS). Teknika horri esker guztira 46 PFAS identifikatu dira, euren artean 33 aitzindari eta bitartekari eta 16 PFC. Aipatzekoa da ikerketa lan honek lehenengo aldiz identifikatu dituela PFC-etara degradatzen diren 9 bitartekari krispeten ontziratze materialean.

3.2 PFAS-ak krispeten ontziratze materialean determinatzeko metodo analitikoaren berrespena

Aurreko ikerketa lan batean (Zabaleta et al., 2016), gure ikerketa taldeak PFAS-ak ontziratze material desberdinetan kuantifikatzeko ultrasoinu fokatuaren bidezko solido likido erauzketa metodoa (FUSLE) garatu zuen. Hala ere, mikrouhinetan prestatzen diren ontziratze materialek

dituzten pigmentu anitzak direla eta, garbiketa urrats bat gehitu behar izan da erauzi garbiak lortu ahal izateko. Garbiketa urratsa Envi-Carb karbono grafitizatua erabiliz burutu da eta erauziak likido-kromatografia tandem masa-espektrometriaren bidez neurtu dira (LC-MS/MS). Metodoa 24 PFASs erabiliz berretsi da eta % 68-104 arteko berreskurapenak lortu dira konposatu guztientzat azido perfluorooktanofosfonikoaren (PFOPA) eta azido perfluorodekanofosfonikoaren (PFDPA) kasuan izan ezik (% 39 eta % 46, besteak beste). Azken bi hauen kasuan, euren galerak zuzentzeko estandar faltagatik lortu dira berreskurapen baxuak.

3.3 PFAS-en kuantifikazioa herrialde desberdinetako krispeten ontziratze materialean.

Kuantifikatutako PFC-en artean C₄-C₁₆ bitarteko katea duten konposatu perfluoratu karboxilokoak (PFCA-k) aurkitu dira. Herrialde bakoitzean marka eta zapore desberdinetako krispeten ontziratze materiala aztertu da. Kate laburreko PFCA-en kasuan, azido perfluorobutanoikoa (PFBA) eta azido perfluorohexanoikoa (PFHxA) dira kontzentrazio altuenean aurkitutako konposatuak, eta Espainiako krispeten ontziratze materialetan aurkitu dira gehienbat (250-820 ng/g tartean PFBA eta 174-811 ng/g tartean PFHxA). Kate luzeagoko PFCA-k, ordea, Txinako ontziratze materialetan aurkitu dira kontzentrazio altuenean; azido perfluorooktanoikoa (PFOA) 51-56 ng/g tartean, azido perfluorononanoikoa (PFNA) 7-9 ng/g tartean eta azido perfluorodekanoikoa (PFDA) 38-44 ng/g tartean aurkitu dira.

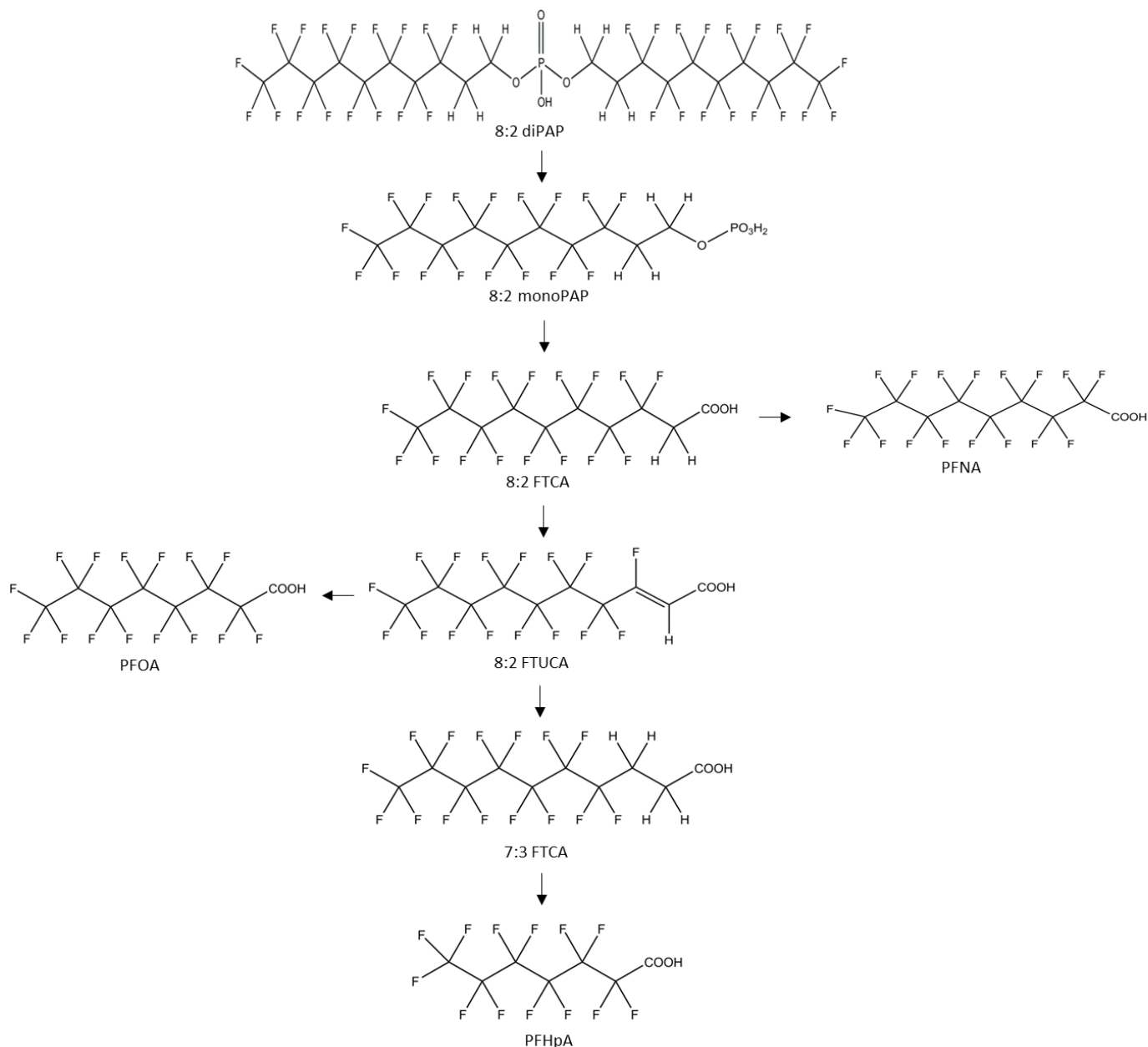
Kate luzeagoko PFCA-k ere aztertu dira, 11-16 bitarteko kate karbonodunak, hain zuzen ere. 1. irudian ikus daitekeen bezala, Txinako ontziratze materialetan aurki daitezke konposatu hauek gehienbat. Kontuan hartu behar da, euren toxikotasun altua dela eta, zenbait herrialdetan kate luzeko PFCA-k gehiago ez ekoizteko konpromezua hartu zen arren, Txinan behintzat oraindik erabiliak direla.

1.irudia. Kate luzeko (C₁₁-C₁₆) PFCA-en ehunekoa (%) herrialde desberdinetako krispeten ontziratze materialetan.

PFUnDA: azido perfluoroundekanoikoa, PFDoDA: azido perfluorododekanoikoa, PFTrDA: azido perfluorotridekanoikoa, PFTeDA: azido perfluoroteradekanoikoa, PFPeDA: azido perfluoropentadekanoikoa, PFHxDA: azido perfluorohexadekanoikoa.

PFC arruntez gain, gaur egun erabiltzen diren hainbat konposatu fluoratu PFC-en aitzindari direla frogatu da. Adibide bezala 2. irudian lan honetan identifikatu diren zenbat aitzindari eta bitartekari daude. Kuantifikatutako aitzindari eta bitartekarien kasuan, kate laburreko PFC-etara degradatzen diren aitzindari eta bitartekariak Europako eta Ameriketako materialetan kuantifikatu dira, kate luzeko PFC-etara degradatzen direnak Asiako herrialdeetan aurkitu diren bitartean. Honek berriro mahaigainean jartzen du Europako eta Amerikako paketatzeetan kate laburreko PFAS-etara mugitu diren bitartean, Asiako herrialdeetan oraindik ere kate luzekoak, gehiago akumulatzen direnak, ugarienak direla.

2.irudia. PFC-tara degradatzen diren zenbat aitzindari eta bitartekariren degradazio bidea.



8:2 diPAP: bis (1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodezil) fosfatoa, 8:2 monoPAP: 1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodezil fosfatoa, 8:2 FTCA: azido 2-perfluorooktil etanoikoa, 8:2 FTUCA: azido 2H-perfluoro-2-dezenoikoa, 7:3 FTCA azido 3-perfluoroheptil propanoikoa, PFHpA: azido perfluoroheptanoikoa, PFOA: azido perfluorooktanoikoa, PFNA: azido perfluorononanoikoa.

4. Ondorioak

Ikerketa lan honetan 46 PFAS-en identifikazioa gauzatu da bereizmen altuko masa-espektrometria teknikaren bitartez (LC-QTOF-MS) Europako 12 herrialdetako, Ameriketako 3 herrialdetako eta Asiako bi herrialdetako krispeten ontziratze materialean. PFC arruntak identifikatzeaz gain, euren aitzindari eta degradazio-bitartekariak ere identifikatzea lortu da, kontuan hartuz, bitartekari batzuen identifikazioa lan honetan egin dela aurrenekoz. Bestalde, metodo analitiko zehatz baten berrespena egin da 24 PFASs kuantifikatzeko. Munduko herrialde desberdinetako ontziratze materiala aztertzean, desberdintasun argiak ikusi dira herrialdeen artean; Europa eta Ameriketako ontziratze materialetan kate laburreko PFAS-ak erabiltzen diren bitartean, Txinan bereziki oraindik kate luzeko PFAS-ak erabiltzen dira.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetatik abiatuta bi erronka nagusi planteatu ahal dira. Alde batetik, argi gelditu da euren toxikotasuna ezaguna den arren, kate luzeko PFAS-ak edota PFC-en aitzindariak ekoizten eta erabiltzen jarraitzen direla; beraz, erakunde desberdinek dagozkien neurriak hartu beharko lituzkete hau ekiditeko. Bestalde, migrazio ikerketak egitea beharrezkoa lirateke ontziratze materialetik jakietara zenbat kutsatzaile igortzen den ikusteko.

6. Erreferentziak

- 3M Company. (2000). Phase-out Plan for POSF-based products. U.S. EPA Adm. Rec., AR226-0600.
- D'eon, J. C., eta Mabury, S. A. (2011). Exploring Indirect Sources of Human Exposure to Perfluoroalkyl Carboxylates (PFCAs): Evaluating Uptake, Elimination, and Biotransformation of Polyfluoroalkyl Phosphate Esters (PAPs) in the Rat. *Environmental Health Perspectives*, 119(3), 344–350.
- Environment and climate change in Canada (2006): Environmental Performance Agreement Respecting Perfluorocarboxylic Acids (PFCAs) and their Precursors in Perfluorinated Products Sold in Canada.
- Herzke, D., Olsson, E., eta Posner, S. (2012). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in consumer products in Norway – A pilot study. *Chemosphere*, 88(8), 980–987.
- Kelly, B. C., Ikononou, M. G., Blair, J. D., Surridge, B., Hoover, D., Grace, R., eta Gobas, F. A. P. C. (2009). Perfluoroalkyl Contaminants in an Arctic Marine Food Web: Trophic Magnification and Wildlife Exposure. *Environmental Science & Technology*, 43(11), 4037–4043.
- Kubwabo, C., Kosarac, I., eta Lalonde, K. (2013). Determination of selected perfluorinated compounds and polyfluoroalkyl phosphate surfactants in human milk. *Chemosphere*, 91(6), 771–777.
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., eta Seed, J. (2007). Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicological Sciences*, 99(2), 366–394.
- Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B., Park J., Koh C. H., Jones P. D., Lu Y., eta Giesy, J. P. (2010). Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea. *Environmental Pollution*, 158(5), 1237–1244.
- Pan, Y., Shi, Y., Wang, J., Cai, Y., eta Wu, Y. (2010). Concentrations of perfluorinated compounds in human blood from twelve cities in China. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(12), 2695–2701.
- Richardson, S. D. (2012). Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 84(2), 747–778.
- Rosenmai, A. K., Taxvig, C., Svingen, T., Trier, X., van Vugt-Lussenburg, B. M. A., Pedersen, M., Lesné L., eta Vinggaard, A. M. (2016). Fluorinated alkyl substances and technical mixtures used in food paper-packaging exhibit endocrine-related activity in vitro. *Andrology*, 1-11.
- Stockholm Convention (2009). Stockholm Convention, List of POPs in the Stockholm Convention, (<http://chm.pops.int/Convention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>).
- Ullah, S., Alsberg, T., eta Berger, U. (2011). Simultaneous determination of perfluoroalkyl phosphonates, carboxylates, and sulfonates in drinking water. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6388–6395.
- US EPA (2006). US EPA: PFOA Stewardship Program. US EPA 2010/2015.

- Zabaleta, I., Bizkarguenaga, E., Bilbao, D., Etxebarria, N., Prieto, A., eta Zuloaga, O. (2016). Fast and simple determination of perfluorinated compounds and their potential precursors in different packaging materials. *Talanta*, 152, 353–363.
- Zafeiraki, E., Costopoulou, D., Vassiliadou, I., Bakeas, E., eta Leondiadis, L. (2014). Determination of perfluorinated compounds (PFCs) in various foodstuff packaging materials used in the Greek market. *Chemosphere*, 94, 169–176.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Zientzia eta Berrikuntza Ministeritzako CTM2014-56628-C3-1-R proiektu barruan burutu da. Era berean, I. Zabaletak Anbereseko Unibertsitatean egindako egonaldiari esker sortutako lana da. I. Zabaleta-k eta E. Bizkarguenaga-k eskarrak eman nahi dizkie Euskal Herriko Unibertsitateari beraien doktoretza aurreko eta doktoretza ondoko diru-laguntzengatik, hurrenez hurren. Era berean, Patricia Navarro eta Alicia Sanchez doktoreen laguntza teknikoa eskertzen da bereizmen altuko masa espektrometria teknikan (Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrak, Sgiker (UPV-EHU)).

MALDI-IMS: Ehun bateko konposatuen distribuzio-irudiak lortzeko masa-espektrometria teknika ezagutzen

Antonio Veloso

*POLYMAT, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU, Tolosa Hiribidea 72, 20018, Donostia
antonio.veloso@polymat.eu*

Laburpena

Gaur egun, laborategietan biomolekulak eta materialak karakterizatzeko gero eta gehiago hedatu den Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) edo matrizez lagundutako laserraren bidezko desortzio ionizazioa-hegaldi denbora masa espektrometria teknika erabiltzen da. Teknika hau hainbat alorretan zabaldu egin da, masa molekularra jakitea baimentzen duelako inolako zatiketarik gabe, hau da, molekulen mikroegiturak karakterizatzea baimentzen du. Aldi berean, ehun batean dauden molekulen banaketa eta distribuzioa jakitea lor daitezke MALDI Imaging Mass Spectrometry (IMS) edo masa espektrometriaren bidezko irudia deritzon teknikari esker. Lan honetan, MALDI-IMS teknikaren oinarriak eta aplikazioak azaldu eta aztertuko dira.

Hitz gakoak: MALDI-TOF, IMS; masa espektrometria, irudiak, karakterizazioa

Abstract

Nowadays, the improved Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) technique is more and more used in laboratories to characterize biomolecules and materials. The use of this technique has increased in different fields due to the fact that molar mass is determined without any fragmentation, that is, allows the molecules microstructure characterization. At the same time, MALDI Imaging Mass Spectrometry (IMS) technique allows to detect the distribution of molecules in a tissue. In this work, the fundamentals and applications of MALDI-IMS technique are going to be explained and studied.

Keywords: MALDI-TOF, IMS; mass spectrometry, images, characterization

1. Sarrera eta motibazioa

1980. hamarkadan Tanaka et al. (1988), Karas eta Hillenkampek (1988) Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) edo matrizez lagundutako laserraren bidezko desortzio-ionizazioa/hegaldi-denbora masa espektrometria asmatu eta garatu zuten. Teknika hau hainbat arlotan barreiatu da, proteinak, lipidoak eta farmakoak identifikatzeko edo polimeroak karakterizatzeko, hain zuzen ere. Lortzen diren espektroetan masa absolutu independenteen balioak lortzen dira, hau da, hegaldi denborarekin erlazionatzen diren masa-karga erlazio balioak (m/z). Proteinen kasuan, entzima bat erabiliz (tripsina adibidez) proteina zatiak edo peptidoak lortzen dira. Digestioa egin ondoren, lagin hori matrizearekin nahasten da eta espektrometro barruan analisia burutzen da. Horrela, proteinaren sekuentzia jakitea lor daiteke, hau da, zeintzuk diren aminoazidoak eta zein den horien ordena proteinan. Farmakoen eta lipidoen kasuan horien masa absolutua jakitea lortzen da. Polimeroen kasuan, polimero kate bakoitza eta horien kopurua ikus daiteke eta horregatik monomero unitatearen masa eta mutur taldeak jakiteko aukera lortzen da eta baita masa molarren distribuzioa (MMD) jakiteak ere.

Beste teknika analitiko batzuekin alderatuz, masa espektrometriak informazio gehigarria ematen du, analito baten eta horren zatien masa molekularrak, esate baterako. Gainera, analisia egiteko laginaren oso kantitate gutxi kontsumitzen da, denbora laburrean eta lortzen diren masa molekularrak balio absolutuak dira. Bestalde, beste masa espektrometria batekin alderatuz, MALDI teknikan ioi gehienek karga bakarra dute, eta datuen tratamendua eta interpretazioa erraztu egiten da eta lortzen den bereizmena hobesten da masa tarte handiagoetan. Desabantaila nagusia, teknika suntsitzailea izatea da, hau da, ezin dira laginak berreskuratu.

Bestalde, MALDI Imaging Mass Spectrometry (IMS) edo masa espektrometriaren bidezko irudi teknikak ehun batean dauden molekulen banaketa eta distribuzioa jakitea lortzea ahalbidetzen du. IMS teknika, oso teknika bikaina da ehun biologikoetan dauden molekulen distribuzioa aztertzeko molekula mota ezberdinen identifikazioa eta lokalizazioa ahalbidetzen duelako, konposatuaren edota familia kimikoaren aukera egin aurretik. Analizatu behar diren konposatuen aukera aldeztu aurretik egin behar ez denez, aukera dago irudiak sortzeko masa espektrometroan detektatutako ioietatik abiatuta (Caprioli et al., 1997; Rohner et al., 2005; Khatib-Shahidi et al., 2006).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

IMS teknika oso erabilgarria eta interesantea da hainbat arlotan ehun batean molekula bat non kokatzen den zehazki jakiteko. Teknika honek ehunen *ex vivo* analisiak baimentzen ditu inolako etiketatzerik egin gabe (label-free), hau da, arriskutsuak diren isotopo erradiaktiborik erabili gabe markatzaile bezala. Modu honetan, ehun batean proteinen, peptidoen, lipidoen zein farmakoen kokapena edo metatzea jakin daiteke erradiografiarik egin gabe, hots, hain garestia den material erradiaktiboaren erabilpena saihestuz. Beste aldetik, ehunen konparazioa burutu daiteke bereizitasunak aurkitzeko. Modu honetan, ehun osasuntsuak eta gaixoak konparatzeko aukera dago edo gaixotasun baten sailkapenak egiteko ere gaixotasun-aldia zehazteko, minbiziaren kasuan adibidez (Meding et al. 2012) eta aurrerapen handia izango litzateke minbizi ebakuntzetan azkar jakin daitekeelako zenbat ehun gaixoa kendu behar da. Aldi berean, ehun batean farmako baten inkubazioa eta IMS esperimendua eginez, ikertu daiteke farmako horrek non daukan eragina (Greer et al., 2011; Chumbley et al., 2016). Beraz, teknika honek gero eta garrantzia handiago dauka Biokimika, Farmakologia eta Medikuntza arlotan.

Lan honen helburua, MALDI-IMS teknikaren oinarriak eta aplikazioak azaltzean datza. Horretarako, lehendabizi, laginaren prestakuntza-pausuak erakutsiko dira. Ondoren, espektroak eskuratzeko eta hauen prozesamendurako jarraituko diren pausuak azalduko dira. Azkenik, ehun batean lortutako emaitzak, hau da, batezbesteko espektroa eta irudiak aztertuko dira.

3. Ikerketaren muina

MALDI analisi orokor bat egiteko, laginaren prestakuntza egin behar da espektrometroan sartu aurretik. Lagina prestatzeko MALDI matrizearekin nahasten da. Matrize ezberdin asko eta hauek prestatzeko teknika ugari existitzen dira. Normalean konposatu organiko eta aromatikoa dira. Horrela, espektrometroko laserrak laginean dauden osagai guztiak ionizatu egiten ditu zatiketarik gertatu gabe, hau da, matrizeak laserraren energia xurgatzen du eta laginaren osagaiak ionizatzeko energia transferitzen dio. Ondoren, ioien masak TOF analizatzailean banatzen dira eta azkenik, ioiak detektorera iristen dira espektro bat lortuz. Espektro on bat lortzeko zenbait parametro optimizatzen dira, hala nola, energia, tiro zenbakia, maiztasuna, masa eskualdea, detektorea, etab... Espektroan dauden gailur guztiak, laginean dagoen osagaien masa izango dira.

MALDI-IMS teknikan, espektroak lortzeko prozesua MALDI analisi orokorrean egiten den bezalakoa da, baina lagina prestatzeko eta datuen tratamendua egiteko zenbait ezberdintasun nabarmendu daitezke. Esan dugun bezala, teknika honekin ehun batean dauden konposatu desberdinen distribuzio espaziala lortzen da. Horregatik, lehenik eta behin erabiliko den ehuna kriostatoa erabiliz moztu eta beirazko portan jartzen da (1.a irudia). Kriostatoak -16 °C lan egitea baimentzen du eta horrela ehunaren degradazioa saihesten da. Gainera, ehuna izoztuta dagoenez, xaflak oso uniforme geratzen dira eta ehunaren mikroegiturak mantentzen dira. Informazio anitz lortzeko, xafla ezberdinak jarraian egiten dira, modu honetan ehunaren xafla batzuk mikroskopioan sartzeko, beste batzuk tindaketa egiteko eta azken batzuk MALDI-IMS esperimentuak burutzeko erabiltzen dira (1.b irudia). Ehuneko xafla MALDI espektrometroan sartu aurretik matrizez estali behar da. Hau modu homogeneoan egin behar da irudi ona eta egokia lortzeko (1.c irudia). Matrizez ehunak estaltzeko teknika ezberdinak erabili dira: lainoztatzea sublimazioa, aerografoa, inprimatzailea... Guztiak matrizez asetutako disoluzio bat erabilita analizatu nahi den azalera homogeneoki estaltzea bilatzen dute. Egun, zenbait enpresak matrizez estaltzeko tresnak garatu dute, Imaging Prep (Bruker), AccuSpot (Shimadzu) edo SumCollect MALDI-spotter (SumChrome), adibidez.

Ehuna matrizez uniformeki estalita dagoenean, espektrometro barruan sartzen da eta programatzen da ehunaren posizio desberdinetan espektroa lortzeko (2.a irudia). Horrela, programatzerakoan bereizmen espazial bat ematen da eta hori izango da puntu batetik bestera laserrarekin tiro egiteko izango den distantzia. Beraz, posizio bakoitzean espektro bat lortuko da.

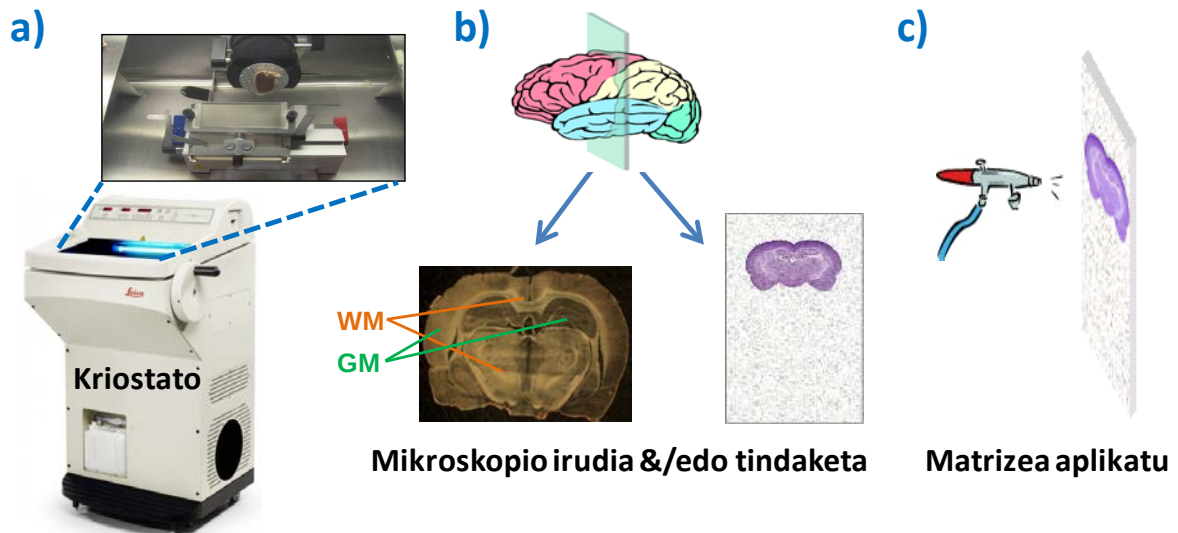
Espektro guztiak egin eta gero, datuen tratamendua eta prozesamendua egin behar da. Horretarako, lehendabizi posizio guztietan bildu diren batezbesteko espektroa lortzen da (2.b irudia). Espektro honetan gailur edo espezie guztiak izango dira, baina pixel edo posizio zehatz batean espezie batzuk izango dira, aldiz, beste batzuk ez. Beraz, aukera dago gailur bat zein pixeletan dagoen jakiteko, hau da, espezie baten distribuzioa ikusaraztea. Horrela, espezie bakoitzak ehunaren zein posiziotan kokatzen den jakin dezakegu. Gainera, gailur edo espezie bat posizio desberdinetan ager daiteke (pixel batzuetan) eta bakoitzak intentsitate desberdina izan. Horregatik, intentsitate eskala-kolore bat erabiliz espezie baten ugaritasuna edo banaketa irudika daiteke.

3. irudian, adibide zehatz bat erakusten da, MALDI masa espektrometria bitartez arratoi baten burmuineko ehunean lortutako batezbesteko lipidoen espektroa hain zuzen ere. Ehun honetan bi egitura ezberdin daude: materia grisa (GM) eta materia zuria (WM). Materia ezberdinak lipido kontzentrazio ezberdinak ditu eta batzuetan lipido espezie batzuk materia mota bakar batean izaten dira. Espektroko gailur bakoitza molekula bati dagokio. Espektro honetan gailur gehienak eta ugariak bi materietan agertzen dira, baina gailur ezberdinak ere bereizten dira. Horrela, gailur edo espezie baten distribuzioa ikusteko aukera ematen digu IMS teknikak. Gailur batzuen gainean espezie horren IMS irudia agertzen da. Ondorioz, GM eta WM-en konposizio zehatza jakitea lortzen da teknika hau erabilita. Bestalde, MALDI-IMS bidez lortutako arratoi-muineko lipido batzuen distribuzioen irudiak agertzen dira, non materia grisa eta zuria ondo bereizten diren. Gailur batean lortzen den irudia eta esleipena gailur horren gainean erakusten da. Eskala-kolorea alboan ikus daiteke. Kolore gorriak espezie bat oso ugaria dela adierazten du, aldiz, urdinak urria dela. Fosfatidilkolina (PC) espeziea ugariagoa da

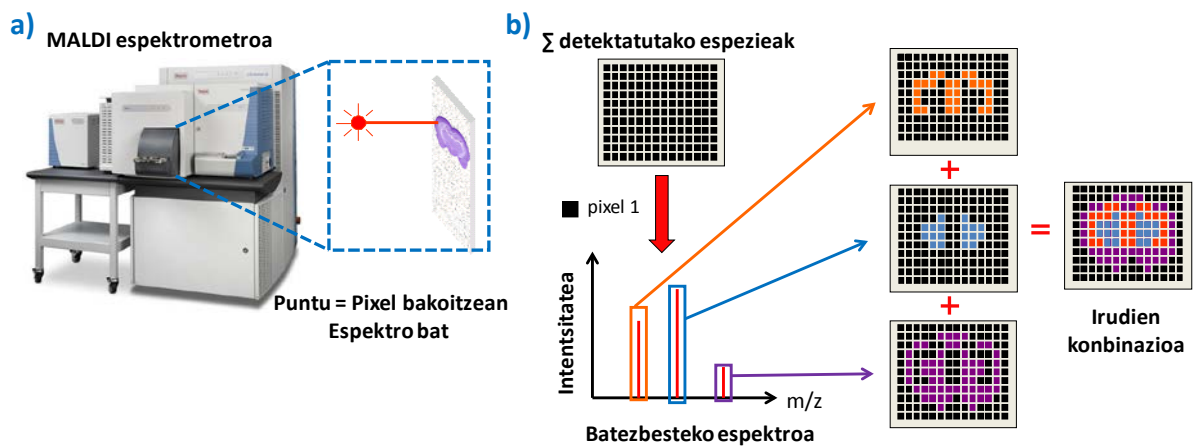
ehunaren barrualdean, aldiz, zeramida eta lisofosfatidilkolina (LPC) espezieak kanpoaldean barreiatzen dira. Azken espezie batzuk ehun osoan barreiatuta agertzen dira: diazilglizerola (DAG) eta esleitu ezin izan den espeziea (galdera-ikurra erabili da).

3.1 Irudiak eta grafikoak

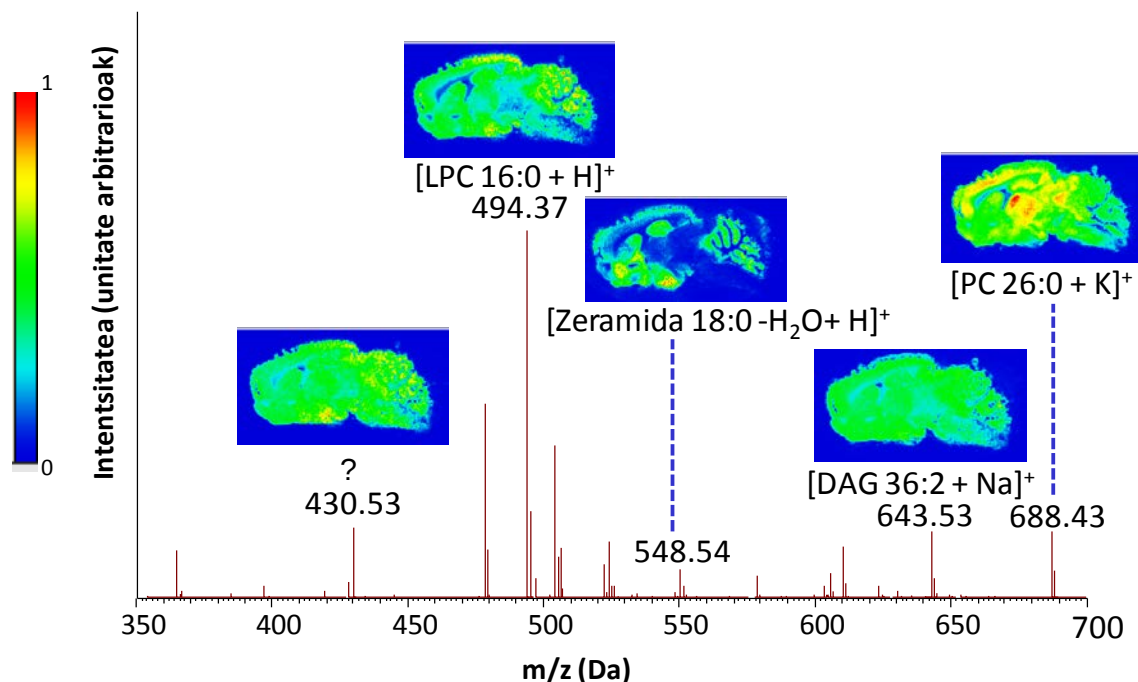
1. irudia. Ehunaren prestakuntza: a) Kriostato bidez ehuna moztu; b) Ehunaren mikroskopio irudia edo tindaketa; eta c) Matrizearen aplikazioa



2. irudia. a) MALDI espektrometroan espektroen eskuratzeko; eta b) Espektroen prozesamendua ehunaren konposatu desberdinak irudikatzeko



3. irudia. Arratoi baten burmuin ehunaren batezbesteko MALDI espektroa 300-700 Da masa tartean. Gailur batzuen gainean erantsita dauden irudiak gailur horri ehun horretan IMS irudia dagokio.



4. Ondorioak

MALDI masa espektrometriak, beste teknika analitikoekin alderatuz, arlo ezberdineko molekulak hobeto karakterizatzea bermatzen du, analitoaren eta bere zatien masa zehatza neurtzen duelako. Gainera, IMS teknikak molekula ezberdinak aldi berean detektatzea eta gainazal batean bakoitzaren distribuzioa ikusteko aukera ematen du, informazioa ugari lortuz. Era honetan, ehunetan lipido espezie ezberdinen kokapena jakin daiteke modu errazean eta konposatu erradiaktiborik erabili gabe. Lan honetan erakusten den bezala, teknika honen garapena beharrezkoa da esparru ezberdinetan dagoen ikerkuntza hobetzeko. Zehazki, lipido batzuen banaketa erakutsi da eta hauek nola barreiatzen diren arratoi burmuineko ehunean.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

IMS teknikaren garapenarekin batera Biokimika, Farmakologian eta Medikuntza arlotan aurrerapen handiak izango dira. Alde batetik, ehun osasuntsuak eta gaixoak konparatuz aukera egongo da ebakuntza batean ehun gaixoa guztiz kentzeko (minbizi batean garrantzi handia dauka, adibidez). Bestalde, gaixotasunen jatorriak ikertzeko ehunak analizatzeko aukera egongo da, jakiteko zein biomolekula aldatzen diren eta zeintzuk izan daitezkeen aldaketa horiek emateko arrazoiak. Bestalde, teknika honek aukera ematen du jakiteko farmako jakin bat zein azpiegitura espezifikoan daukan eragina eta non metatzen den.

6. Erreferentziak

- Tanaka, K.; Waki, H.; Ido, Y.; Akita, S.; Yoshida, Y.; Yoshida, T. (1988): Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid communication in Mass Spectrometry*, 2, 151-153.
- Karas, M.; Hillenkamp, F. (1988): Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Analytical Chemistry*, 60, 2299-2301.
- Caprioli, R. M.; Farmer T. B.; Gile, J. (1997): Molecular Imaging of Biological Samples: Localization of Peptides and Proteins Using MALDI-TOF MS. *Analytical Chemistry*, 69, 4751-4760
- Rohner, T.C.; Staab, D.; Stoeckli, M. (2005): MALDI mass spectrometric imaging of biological tissue sections. *Mechanisms of Ageing and Development*, 126, 177-185.

- Khatib-Shahidi, S.; Andersson, M.; Herman J.L.; Gillespie, T.A.; Caprioli, R. M. (2006): Direct Molecular Analysis of Whole-Body Animal Tissue Sections by Imaging MALDI Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 78, 6448–6456.
- Greer, T.; Sturm, R.; Li, L. (2011): Mass spectrometry imaging for drugs and metabolites. *Journal of Proteomics*, 74, 2617-2631.
- Meding, S.; Nitsche, U.; Balluff, B.; Elsner, M.; Rauser, S.; Schöne, C.; Nipp, M.; Maak, M.; Feith, M.; Ebert, M. P.; Friess, H.; Langer, R.; Höfler, H.; Zitzelsberger, H.; Rosenberg, R.; Walch, A. (2012): Tumor Classification of Six Common Cancer Types Based on Proteomic Profiling by MALDI Imaging. *Journal of Proteome Research*, 11, 1996–2003.
- Chumbley, C. W.; Reyzer, M. L.; Allen, J. L.; Marriner, G. A.; Via, L. E.; Barry, C. E. . Caprioli, R. M. (2016): Absolute Quantitative MALDI Imaging Mass Spectrometry: A Case of Rifampicin in Liver Tissues. *Analytical Chemistry*, 88, 2392–2398.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau “*Biomolekulen eta farmakoen detekzioa MALDI-IMS Masa Espektrometria erabilia*” doktore-tesiaren atal batzuetan oinarrituta dago. Kimika Fisikoa sailean Espektroskopia Molekularraren taldean egin da, Dr. José Andrés Fernández eta Dr. Rafael Rodríguez-Puertas ikertzaileen zuzendaritzapean. Euskal Herriko Unibertsitateari (UPV/EHU) doktore-tesia aurrera eraman ahal izateko emandako diru-laguntza eskertzen diot.

Aztarna mailako kutsatzaile organikoen biokontzentrazioa eta metabolizazioa arrainetan: Amitriptilinen kasua

Haizea Ziarrusta^{1,2}, Ruth C. Berasategui¹, Leire Mijangos¹, Urtzi Izagirre³, Merle M. Plassmann², Jonathan P. Benskin², Eneritz Anakabe⁴, Maitane Olivares¹ eta Olatz Zuloaga^{1,3}

1. Kimika Analitikoa Saila (Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, Euskal Herria), 2. Department of Environmental Science and Analytical Chemistry (Stockholm University, Stockholm, Suedia), 3. Plentziako Itsas Estazioa (Euskal Herriko Unibertsitatea, Plentzia, Euskal Herria), 4. Kimika Organikoa II Saila (Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, Euskal Herria)

haizea.ziarrusta@ehu.eus

Laburpena

Gizakiok gure eguneroko bizitzan ehundaka produktu erabiltzen ditugu, besteak beste, zainketa pertsonalerako produktuak eta farmakoak. Produktu horien erabilpena ekosistemen kutsadurarako bide bihurtzen da, eta araztegiak ez direnez gai konposatu hauek guztiz eliminatzeko, gure ibai eta itsasoetara heldu eta bertako sedimentuetan zein biotan metatu eta transformatzeko joera erakusten dute. Zenbait kasutan, 1. eta 2. faseko metabolizazio-prozesuetan lortutako eratorriak, jatorrizko kutsatzailea baino toxikoagoak izan daitezkeela azpimarratu behar da. Lan honetan, depresioaren aurka erabiltzen den amitriptilina farmakoaren biokontzentrazioa eta metabolizazioa aztertu dira urraburu arrainetan (*Sparus aurata*).

Hitz gakoak: aztarna mailako kutsatzaile organikoak, amitriptilina, depresioaren kontrako konposatu triziklikoak, biokontzentrazioa, metabolizazioa, urraburu arraina (*Sparus aurata*)

Abstract

*Humans use thousands of chemical products, including pharmaceutical and personal care products (PPCPs). Due to the incomplete elimination of such chemicals in urban wastewater treatment plants, their use is one of the main pathways for environmental pollution. Once in the rivers and oceans, the above-mentioned compounds tend to accumulate and transform in sediments and biota, and it should be highlighted that in some cases, the phase I and phase II metabolism products are even more toxic than the original pollutant. In this work we have studied the bioconcentration and metabolism of the tricyclic antidepressant amitriptyline in gilt-head bream (*Sparus aurata*).*

*Keywords: trace organic pollutants, amitriptyline, tricyclic antidepressants, bioconcentration, metabolism, gilt-head bream (*Sparus aurata*).*

1. Sarrera eta motibazioa

Garai berriekin lotuta dauden xaboiak, koloniak, kosmetikoak eta farmakoak gizartearen ongizatearen eta garapenaren parte-hartzaile aktiboak badira ere, aldi berean, ingurumeneko poluzioaren eta osasun arazoaren eragileak dira. Hain zuzen ere, produktu horietan dauden konposatu kimikoak ingurumenara heldu eta ura, atmosfera, sedimentuak eta biota kutsatzen baitituzte. Guzti hau dela eta, uraren kutsadura gutxitzea eta kontrolatzea da XXI. mendeko erronka nagusietako bat.

Zainketa pertsonalerako produktu eta farmako askoren osagaien artean konposatu organikoak ditugu, eta azken hauek ez direnez erabat eliminatzen ohiko araztegi-takako tratamenduetan, ibaietako zein itsasoetako uretara isurtzen dira. Behin uretara isurita, materia partikulatuari lotu, sedimentatu, transformatu, espezie desberdinetan metatu edota metaboliza daitezke. Garraio, akumulazio eta eraldatze prozesu hauek ekosisteman izan ditzaketen eragin toxikoen ondorioz, konposatu organikoen analisia eta monitorizazioa sustatzen dituzten legediak ezarri dira izaki bizidunen ongizatea eta uraren kalitate egokia bermatzeko. Ildo horretan, azpimarratzekoa da Europako Ur Esparru Zuzentarauak (*Water Framework Directive*, WFD 2013/39/CE) ezarritako araudia. Bertan, lehentasunezko kutsatzaileen uretako eta biotako gehienezko kontzentrazioak zehazteaz gain, konposatu emergenteen

jarraipen zorrotza egitea gomendatzen da, nahiz eta azken hauek oraindik arautu gabe egon. Horien artean farmakoak, disruptore endokrinoak, garbiketa produktuak, nanomaterialak eta konposatu perfluoratuak daude.

Merkatuan gizaki eta animalientzako 5.000 konposatu farmazeutiko baino gehiago daude eskuragarri eta 100.000-200.000 tona sintetizatzen dira urtero (Van Doorlaer et al., 2014). Behin farmakoak kontsumituta, gorputzean metabolizatu eta gernutik kanporatzen dira, eta araztegiatara iristen dira (Baker eta Kasprzyk-Horden, 2013). Baina araztegiek oraindik ez dute farmako guztien ezabatze eraginkorra bermatzen duen sistemarik (Baker eta Kasprzyk-Horden, 2013). Batzuetan, gainera, farmakoetatik eratorriak diren degradazio produktuak eta metabolitoak jatorrizko farmakoa baino kaltegarriagoak izan daitezke (Daghrir eta Drogui, 2013). Ohikoa den arren konposatu hauek kontzentrazio baxuetan aurkitzea (ng/L mailan), ingurumenean modu jarraituan agertzen diren konposatuak direnez, epe laburreko zein luzeko arazoak sor daitezke gizakietan eta ur-espezieetan. Arrainen gisako uretako organismo bizidunak dira konposatu horietara esposatuta egoteko aukera handiena dutenak, eta frogatuta dago zenbait farmakok arrainetan sexu aldaketa, antibiotikoen aurkako babesa edota epe luzeko arazo toxikologikoak sustatu ditzaketela (Marcoux et al., 2013; McEneff et al., 2014). Beraz, nabarmentzekoa da ingurumenean aurkitzen diren konposatu sintetikoen jarraipen osotuaren beharrezan, uretan soilik beharrean, uretako organismo bizidunetan ere bai.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Depresioaren eta buruko gaitzen kontrako farmako erabilienek serotoninaren birkaptazio selektiboa inhibitzen dute (SSRI – *Selective Serotonine Reuptake Inhibitor* delakoak). Egun, efektu sekundario gutxiago dituzten eta selektiboagoak diren fluoxetina bezalako SSRI farmakoak gehiago erabiltzen diren arren, antidepresibo triziklikoak oso erabiliak dira eraginkortasun handia dutelako. Antidepresibo triziklikoen artean gehien erabiltzen diren konposatuak, amitriptilina (AMI), imipramina eta klomipramina (serotoninan eragina dutenak), eta nortriptilina (NOR, norepinefrinan eragina duena) dira.

Antidepresibo triziklikoen ezaugarri fisiko-kimikoak direla eta, organismo bizidunen hainbat ehunetan bioakumulatzeko gaitasuna dute, eta Euskal Herriko ibaietan jasotako arrainen gibelean ere detektatu da amitriptilina (Ziarrusta et al., 2015). Gainera, oraindik arlo honetan ikerketa gutxi egin badira ere, amitriptilina eta antzeko antidepresiboek arrainetan eragin kaltegarriak sortzen dituztela ikusi da, ATP-aren aktibitatea inhibituz (Lajeunesse et al., 2011) edota ugalketa eta garapen sistemak aztoratuz (Yang et al., 2014).

Aurretiaz aipatutako guztia kontuan hartuta, lan honen helburua urraburu arrainetan (*Sparus aurata*) amitriptilinen biokontzentrazioa eta metabolizazioa aztertzea da.

3. Ikerketaren muina

3.1 Esposizio-esperimentuak eta laginen analisisa

Plentziako Itsas Estazioko akuarioetan esposizio esperimentuak egiteko Urraburu arrain (*Sparus Aurata*) gazteak arrain-haztegitik lortu dira. Arrainen bizi-irautea ziurtatzeko laborategiko tenperatura 18°Ctan mantendu da, 14:10-h argitasun/iluntasun zikloak bermatu dira eta egunero 0,10 g arrinjaki/arrain eman zaie. Esposizio-esperimentuak bi kontzentrazio mailatan egin dira: kontzentrazio altuan (10 ng/mL AMI) eta ingurumenean aurkitzen den kontzentrazio baxuagoan (0,20 ng/mL AMI). Kasu bietan, kontrol gisa, kutsatu gabeko beste edukiontzi bat izan dugu baldintza berdinetan.

Arrainen lagin-biltze eta disezioa Euskal Herriko Unibertsitateko Bioetika Batzordearen jarraibideen arabera egin dira. Kutsatutako zein kontroleko edukiontzitik 10 urraburu jaso dira esposizioa hasi eta bigarren, laugarren eta zazpigarren egunetan. Edukiontzietatik arrainak bildu eta ordu erdira gehienez arrainen disezioa egin da plasma, behazuna eta ehun biologikoak (gibela, garuna, zakatzak eta muskulua) bereizteko, eta laginak -80°Ctan mantendu dira aztertu arte.

Laginketako egunetan, esposatutako uretan amitriptilinarek eta nortriptilinarek kontzentrazioa ezagutzeko, tankeetako ura ere bildu da eta aurretiaz garatutako metodo analitikoa erabiliz aztertu da (Ziarrusta et al., 2015).

Lagin biologikoak aztertu aurretik (Ziarrusta et al., 2015), egun berean jasotako (kontrola eta esposizio 2., 4. eta 7. egunak) 10 arrainen plasma, behazun eta liofilizatutako ehunak elkartu eta homogeneizatu dira, arrainez-arrain eman daitezkeen aldakortasunak ekiditeko.

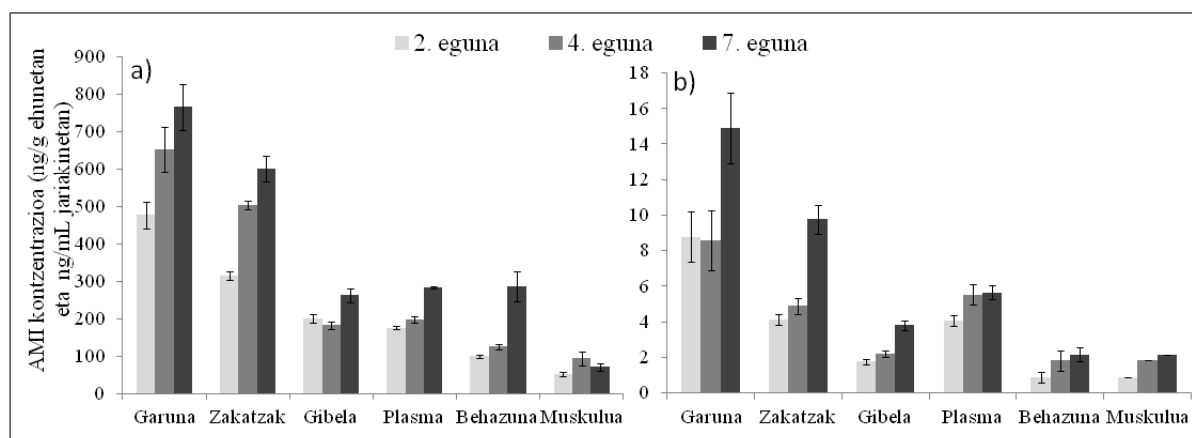
Ur zein lagin biologiko guztien erauziak likido-kromatografia-masa-espektrometriaren bidez analizatu dira. Analisi kuantitatiboa egiteko bereizmen baxuko tandem masa-espektrometria erabili da, hain zuzen ere, Agilent 1260 serieko likido-kromatografoa eta Agilent 6430 kuadropolo hirukoitzeko masa espektrometroa. Analisi kualitatiboa, ordea, bereizmen altuko tandem masa-espektrometriaren bidez aurrera eraman da, Thermo Scientific etxeko Q Exactive HF kuadropolo-Orbitrap masa-espektrometro hibridoari lotutako Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 ultrabereizmeneko likido-kromatografoan.

3.2 Amitriptilinarek akumulazioa urraberu arrainetan

Esperimentu osoan zehar ez da arrainik hil, eta esposatutako eta kontroleko arrainen baldintza-faktorea (arrainen masa/arrainen luzera³ x 100) eta indize hepatosomatikoa (gibelaren masa/arrainen masa osoa x 100) estatistikoki konparagarriak izan dira (p balioa > 0.05). Modu honetan, arrainen bizi-kalitatea esperimentuan zehar egonkor mantendu dela ziurtatu da.

1. Irudian ikus daitekeenez, amitriptilina kontzentrazio altuenak, esposizio 7. egunean, garunean eta zakatzetan aurkitu ziren, ondoren gibelan, plasman, behazunean, eta azkenik, maila baxuago batean muskuluan. Amitriptilinarek hidrofobikotasuna kontuan hartuta ($\log K_{ow} = 4.81$ pH 7,3an), lipidotan aberatsak diren ehunetan metatze altuagoa espero zitekeen arren, lipidikoak ez diren zakatzetan ere aurkitu dira kontzentrazio altuenetarikoa. Hortaz, ondoriozta daiteke amitriptilinarek akumulazioan bere propietate fisiko-kimikoez gain, bestelako faktoreek ere garrantzia dutela. Amitriptilina droga psikoaktiboa dela kontuan hartuta, garunean behatutako kontzentrazioak logikoak dirudite. Gainera, depresioaren kontrako beste hainbat farmakorekin egindako esperimentuetan ere antzeko emaitzak aurkitu dira bibliografian, hau da, drogaren metaketa garunean gertatu den bitartean, metabolizazioa gibelan nagusitu da (Brooks et al., 2005; Nallani et al., 2016; Schultz et al., 2011; Tanoue et al., 2015). Bestalde, kontuan hartuta amitriptilinarek plasmako kontzentrazioak zakatzetakoak baino altuagoak izan direla, eta bi kontzentrazioen artean korrelazio positibo altua behatu dela ($r > 0,98$), ondoriozta daiteke amitriptilinarek absortzioa zakatzetatik eman dela nagusiki, eta ez hesteetatik (Qiao et al., 2000).

1. Irudia. Plasma, behazun (ng/ml-an) eta ehun biologiko desberdinetan (ng/g-an) behatu diren amitriptilina kontzentrazioak kontzentrazio altuko (a) eta baxuko (b) esposizio-esperimentuetan.



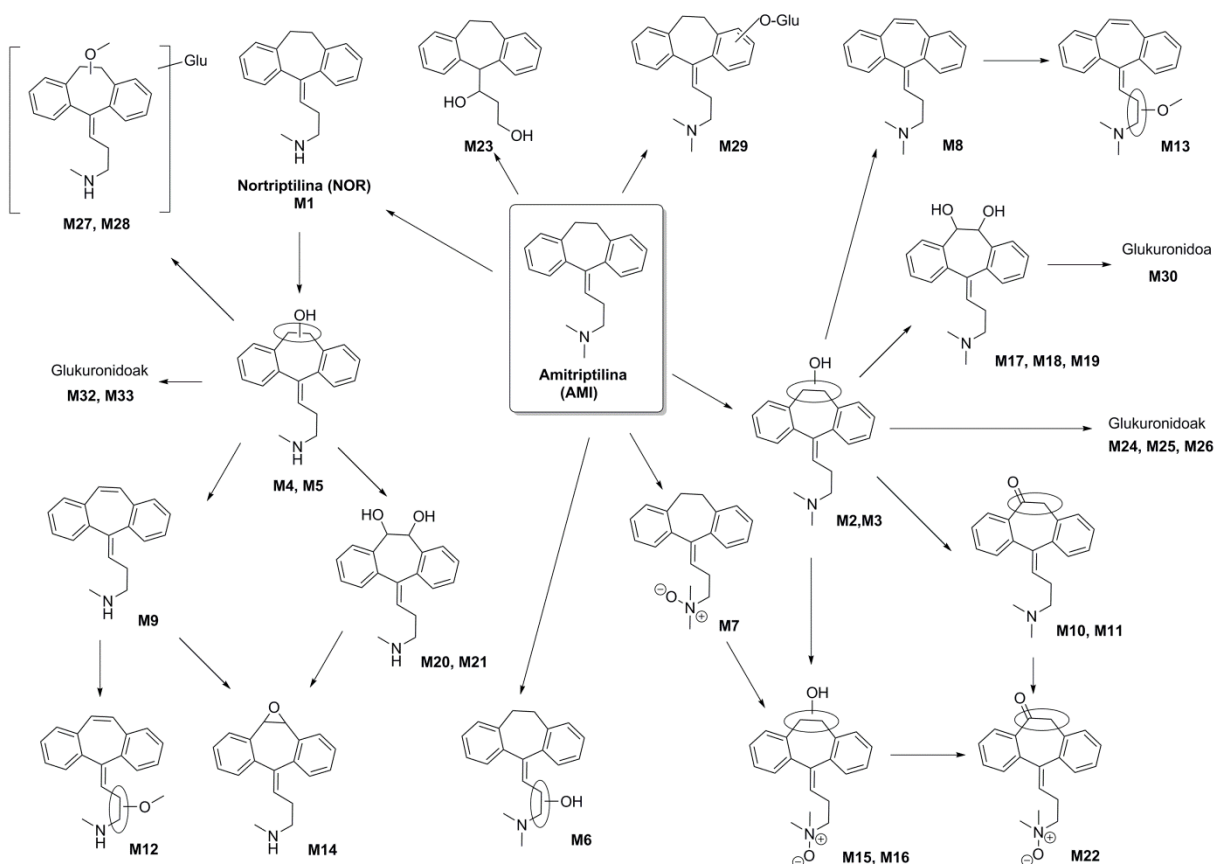
Orokorrean egun desberdinetako biokontzentrazio faktoreak ($BCF = \text{kontzentrazioa ehun biologikoan} / \text{kontzentrazioa uretan}$) konparagarriak izan dira (p balioa > 0,05), bai kontzentrazio

altuko zein baxuko esperimentuetan eta horrek orekara heldu izana adierazten du. Bestalde, bi esperimentuak erkatzean, ondorioztatu da kontzentrazioarekiko menpekotasuna dagoela, garuneko, zakatzetako eta gibleko BCFak baxuagoak izan baitira kontzentrazio altuko esperimentuan. Horren arrazoa amitriptilinarekin metabolizazioarekin erlazionatuta egon daiteke, farmakoaren presentzia altuan sortutako oxigenodun espezie errektiboen gorakadak bultzatuta (Xu et al., 2015).

3.3 Amitriptilinare metabolizazio-bidea eta metabolitoen distribuzioa urraburu arrainen ehun eta jariakin biologiko desberdinetan

Amitriptilinareen metabolizazio-bidean adierazitako 1. eta 2. faseko metabolitoen egiturak 2. irudian ikus daitezke. Metabolitoen identifikazio probablea bereizmen altuko masa-espektrometriaren bidez aurrera eraman da konposatuaren masa zehatza eta fragmentazioa kontuan izanik. 33 metabolito determinatu dira, eurentatik 10 lehen aldiz bibliografian deskribatutakoak.

2. irudia. Amitriptilinareen metabolizazio bidea urraburu arrainean.



Amitriptilinareen metabolitoak behazunean (29), gibelean (21) eta plasman (19) behatu dira nagusiki. Kontuan izan behar da gibela dela farmakoaren metabolizazioaren gune nagusia eta bertan sortutako metabolitoek zirkulazio sistemikoa (plasmaren bidez, adibidez) edo eliminazioa (behazunaren bidez) pairatuko dutela. Behazunak hesteetan eta gibelean sortutako metabolitoak biltzen ditu eta normala da bertan metabolito gehien behatzea.

Amitriptilinarene eta bere metabolitoen ugaritasuna erkatu ahal izateko hurbilketa bat egin behar izan dugu, metabolitoen estandarrak ez baititugu eskuragarri. Hurbilketa horretan, konposatu bakoitzak duen seinalea hartu dugu erantzun analitiko gisa, eta ugaritasunak zehazterako orduan detektagailuak konposatu bakoitzarentzat duen sentikortasuna edo seinale instrumentala berdintzat jo dugu. Honela, ikusi da zakatzetan eta garunean amitriptilina bera dela konposaturik ugariena (%30 eta %40, hurrenez hurren). Zakatzetan amitriptilinarene absortzioa gertatzen da, eta ondorioz, konposatuaren kontzentrazio altuak espero dira. Bestalde, garunera heltzeko amitriptilina eta bere

metabolitoek muga hematoentzefalikoa zeharkatu behar dute difusioz, eta prozesu hori errazago gertatzen da amitriptilinarentzat, 1. eta 2. faseko metabolito polarragoentzat baino. Gibelaren kasuan M2 amitriptilinarenera eratorri monohidroxilatua izan da metabolitorik ugariena (% 30), eta ez da harritzekoa, bibliografian sakon deskribatuta baitago amitriptilinarenera hidroxilazioa eraztun zentralako endozikloaren etileno taldean (Breyer-Pfaff, 2004). Plasman, ordea, M10 (M2-ren deshidrogenazio produktua) izan da metabolitorik ugariena (% 33). Behazunaren kasuan, amitriptilina oso portzentaia txikian agertu da (% 2an) eta 2. faseko M24 eta M26 glukuronido eratorriak izan dira ugariak (% 30), hain zuzen ere, M2/M3 monohidroximetabolitoen eratorriak direnak. Azkenik, azpimarratzekoa da giza-gernuan egindako azterketekin eta *in vitro* egindako beste ikerketa batzuekin alderatuz (Rousu et al., 2010; Zhou et al., 2016), metabolito guztiak ez direla berdinak izan. Horrela, ondoriozta dezakegu metabolizazioak espeziarekiko menpekotasuna duela.

4. Ondorioak

Lan honetan depresioaren aurka erabiltzen den amitriptilina farmako triziklikoa ingurumenaren kutsatzaile moduan aztertu da, araztegiaren ez baita bera bezalako konposatuaren erabateko eliminazioa gertatzen. Emaitzek argi utzi dute amitriptilina zakatzetatik sartu dela arrainetara, eta plasman zehar garraiatuz, nagusiki garunean metatu dela. Bestalde, kutsatzailearen metabolizazioa gibelean gertatu den arren, metabolito berriak identifikatzeko plasma eta behazuna ere oso interesgarriak dira, metabolitoen zirkulazioan eta eliminazioan duten funtzioagatik. Urraburuen adibide honetan 33 metabolizazio-produktu identifikatu dira, eta horietatik 10 bibliografian lehen aldiz deskribatutakoak izateak metabolizazioa espezie-espezifikoa dela adierazten du.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Baldintza kontrolatuetan aurrera eramanez lan honetan bi gauza agerian geratu dira. Alde batetik, ura aztertzeaz gain oso garrantzitsua dela arrainak edo bestelako ur-espezieak monitorizatzea, horietan kutsatzaileak metatzeko gaitasun handia erakusten baitu. Eta bestetik, akumulazio osoa aztertzeke ez dela nahikoa jatorrizko kutsatzailea soilik aztertzea, baizik eta beharrezkoa dela sortutako metabolitoen identifikazioa burutzea. Izan ere, metabolizazio-produktuek ere toxikotasunean eragina izan dezakete eta ingurumenerako arrisku kimikoen ebaluazioan sartu beharko lirateke.

6. Bibliografia

- Baker, D.R.; Kasprzyk-Hordén, B. (2013): Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: new developments. *Sci Total Environ*, 454-455; 442-456.
- Breyer-Pfaff, U. (2004): The Metabolic Fate of Amitriptyline, Nortriptyline and Amitriptylinoxide in Man. *Drug Metab.*, 36 (3-4), 723-746.
- Brooks, B. W.; Chambliss, C. K.; Stanley, J. K.; Ramirez, A.; Banks, K. E.; Johnson, R. D.; Lewis, R. J. (2005): Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environ. Toxicol. Chem.*, 24 (2), 464-469.
- Daghrir, R.; Drogué, P. (2013): Tetracycline antibiotics in the environment: a review. *Environ Chem Lett.*, 11; 209-227.
- Lajeunesse, A.; Gagnon, C.; Gagné, F.; Louis, S.; Čejka, P.; Sauvé, S. (2011): Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment – Evidence of biological effects. *Chemosphere*, 83 (4), 564-571.
- Marcoux M.A.; Matias M.; Olivier F.; Keck G. (2013): Review and prospect of emerging contaminants in water- key issues and challenges linked to their presence in wastewater treatment schemes: general aspects and focus on nanoparticles. *Waste Manag.*, 33; 2147-2156.

- McEneff G.; Schmidt W.; Quinn B. (2014): Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Short Summary of Current Knowledge and the Potential Impacts on Aquatic Biota and Humans. *Epa Research Report*, 142, 1-42.
- Nallani, G. C.; Edziyie, R. E.; Paulos, P. M.; Venables, B. J.; Constantine, L. A.; Huggett, D. B. (2016): Bioconcentration of two basic pharmaceuticals, verapamil and clozapine, in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, 35 (3), 593–603.
- Qiao, P.; Gobas, F. A.; Farrell, A. P. (2000): Relative contributions of aqueous and dietary uptake of hydrophobic chemicals to the body burden in juvenile rainbow trout. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 39 (3), 369–377.
- Rousu, T.; Herttuainen, J.; Tolonen, A. (2010): Comparison of triple quadrupole, hybrid linear ion trap triple quadrupole, time-of-flight and LTQ-Orbitrap mass spectrometers in drug discovery phase metabolite screening and identification in vitro – amitriptyline and verapamil as model compounds. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 24 (7), 939–957.
- Schultz, M. M.; Painter, M. M.; Bartell, S. E.; Logue, A.; Furlong, E. T.; Werner, S. L.; Schoenfuss, H. L. (2011): Selective uptake and biological consequences of environmentally relevant antidepressant pharmaceutical exposures on male fathead minnows. *Aquat. Toxicol.*, 104 (1–2), 38–47.
- Tanoue, R.; Nomiya, K.; Nakamura, H.; Kim, J.-W.; Isobe, T.; Shinohara, R.; Kunisue, T.; Tanabe, S. (2015): Uptake and Tissue Distribution of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Wild Fish from Treated-Wastewater-Impacted Streams. *Environ. Sci. Technol.*, 49 (19), 11649–11658.
- Van Doorslaer, X.; Dewulf, J.; Van Langenhove, H.; Demeestere, K. (2014): Fluoroquinolone antibiotics: an emerging class of environmental micropollutants. *Sci. Total Environ.*; 500-501; 250-269.
- Xu, H.; Yang, M.; Qiu, W.; Pan, C.; Wu, M. (2013): The impact of endocrine-disrupting chemicals on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos. *Environ. Toxicol. Chem.*, 32 (8), 1793–1799.
- Yang, M.; Qiu, W.; Chen, J.; Zhan, J.; Pan, C.; Lei, X.; Wu, M. (2014): Growth inhibition and coordinated physiological regulation of zebrafish (*Danio rerio*) embryos upon sublethal exposure to antidepressant amitriptyline. *Aquat. Toxicol.*, 151, 68–76.
- Ziarrusta, H.; Mijangos, L.; Prieto, A.; Etxebarria, N.; Zuloaga, O.; Olivares, M. (2015): Determination of Tricyclic antidepressants in biota tissue and environmental waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 408 (4), 1205–1216.
- Ziarrusta, H.; Mijangos L.; Izagirre U.; Plassmann M.M.; Benskin J.P.; Anakabe E.; Olivares M.; Zuloaga O. (2017): Bioconcentration and Biotransformation of Amitriptyline in Gilt-head Bream. *Environ Sci Technol.* doi: 10.1021/acs.est.6b05831.
- Zhou, X.; Chen, C.; Zhang, F.; Zhang, Y.; Feng, Y.; Ouyang, H.; Xu, Y.; Jiang, H. (2016): Metabolism and bioactivation of the tricyclic antidepressant amitriptyline in human liver microsomes and human urine. *Bioanalysis*, 8 (13), 1365–1381.

7. Eskerrak eta Aipamenak

Lan hau Espainiako Ekonomia eta Lehiakortasun Ministeritzak diruz lagundu du CTM2014-56628-C3-1-R proiektuaren bitartez. Bestalde, H. Ziarrusta eta L. Mijangos ikerlariak eskerrak eman nahi dizkie Espainiako Ministeritzari eta Eusko Jaurlaritzari beraiei doktoretza aurreko laguntzengatik.

Lan hau bibliografian aipatzen den Ziarrusta et al. 2017 artikulutik eratorria da.

Metilselenokarbamatoen aktibitate antileishmaniala

Etxebeste-Mitxeltorena Mikel^{1,3}, Romano B¹, Jiménez-Ruiz A², Plano D¹, Nguewa P³, Sanmartín, C¹.

¹Nafarroako Unibertsitatea, Kimika Organikoa eta Farmazeutikoa Saila

²Alcala de Henaresko Unibertsitatea, Biokimika eta Biologia Molekularra Saila

³Nafarroako Unibertsitatea, ISTUN

metxebeste@alumni.unav.es

Laburpena

Lan honetan, metilselenola barnean duten, 11 karbamato alifatiko, aromatiko eta heteroaromatikoren sintesia azaltzen da. Molekula hauek *Leishmania infantum* amastigote axenikoetan bahetu dira. Bestalde, THP-1 zelula linean ere testatu dira, selektibotasun indize bat ezartzearen. Lortutako datuak (IC₅₀), erreferentziatzat erabiltzen diren farmakoek (edelfosina eta miltefosina) datuekin parekatu dira. Frogatutako hainbat molekulek erreferentziazko farmakoak baino IC₅₀ hobeak dute, selektibitate antzeko edota hobeagoarekin.

Abstract

In this work, 11 aliphatic, aromatic, and heteroaromatic carbamate derivatives containing a metilselenol moiety have been synthesized. The new compounds have been evaluated in vitro for their cytotoxicity activity against Leishmania infantum axenic amastigotes. In order to establish their selectivity indexes (SI) the cytotoxic effect of each compound was also assayed in THP-1 cell line. Some of the compounds presented a better activity than the reference drugs Edelfosine or Miltefosine, and similar or better SI.

Sarrera eta motibazioa

Leishmaniasia, munduko osasun erakundeak klasifikatutako 17 ahaztutako gaixotasun tropikaletako bat, *Leishmania* generoko parasito protozoario batek eragiten du. Mundu mailako osasun arazo larri bat da gaur egun, bereziki baliabide urri eta pobrezia handiko herrialdeetan. 88 herrialdeetan endemikoa da 12 milioi pertsona kalteturik. Urtero bi milioi kasu berri estimatzen ditu MOEak.(5,15)

Leishmaniasiarene gaixotasunean hiru forma kliniko bereizten dira: Biszerala, larruazalekoa edo mukokutaneoak. Gaixotasun forma hauek Trypanosomatidae familiako *Leishmania* generako espezie infekzio ezberdinen baitan dago. 21 espezie ezberdinez kutsa daiteke gizakia, 30 flebotomoren ziztadaren eraginez. (4,6,8,25)

Txertorik ez denez existitzen, gaixotasuna kontrolpean edukitzeko modua bektorearen eta gaixoen kudeaketan datza, transmisioa murriztearen, edota gaixoen tratamenduan. Hala ere, gaur egun existitzen diren tratamendu edo sendagailak (Antimonial pentabalenteak, miltefosina, edelfosina, B anfoterizina, paramomizina, etab.) ondorio kaltegarri ugari sortzen dituzte. Hain zuzen ere arrazoi hauengatik behar beharrezkoa da, administratzeko errazak diren eta ondorio kaltegarri gutxi sortzen dituzte sendagai eraginkor berriak sortzea. (2,7,10,18,24)

Gure lan taldean sintetizatutako metilselenokarbamato ezberdinen ahalmen antitumoralak ikusita, pentsatzekoa da droga hauek eraginkorrak izan daitezkeela Leishmaniasiarene aurka, gaur egun erabiltzen diren hainbat sendagai (Miltefosina, Edelfosina) minbiziaren tratamenduan erabiltzen baitziren. Taldean, aurrez sintetizatutako imidoselenokarbamato batzuk ere aktibitate leishmanizida aurkeztu zuten. (9,11,12,13,17,19,21,22,27)

Bestalde, organoseleno konposatu ezberdinak parasitemiaren murrizketa suertatzen dutela demostratua da. Are gehiago, arratoietan manifestazio klinikoak eta heriotza-tasa murrizten dute. Beraz, selenioaren erabilera estrategi berri eta eraginkora izan liteke gaixotasun honen tratamenduan. Jakina da gainera, tripanosomatidoek, ugaztunek ez bezala, estres oxidatiboari aurre egiteko mekanismo ezberdina daukatela, zeinetan selenoproteina propio ezberdinak hartzen duten parte, hala nola, Sel-Tryp izenekoa. (16)

Ikerketaren helburuak

Alor honetako ikerkuntzaren egoera ikusita, ondorengo helburuak proposatu dira proiektu honetan:

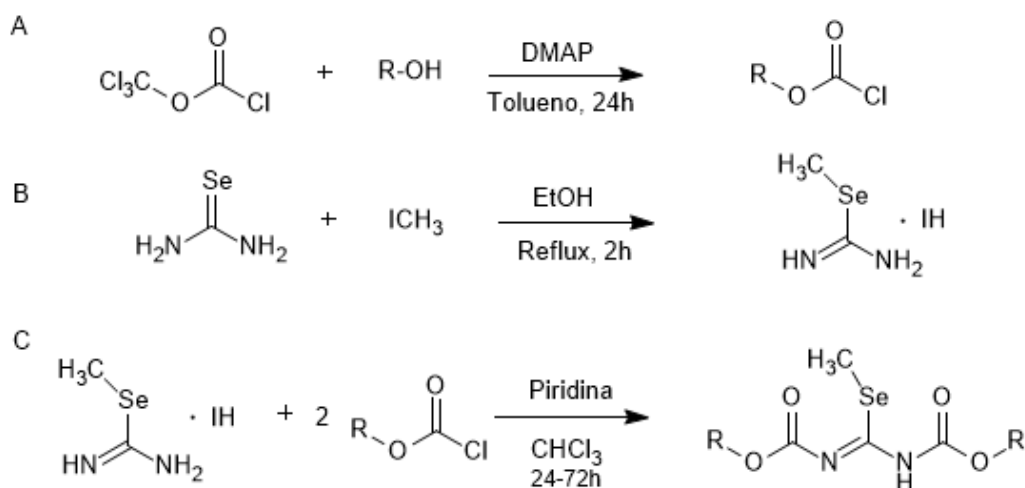
- 11 metilselenocarbamato ezberdinen sintesia.
- Kimika organikoan ohikoak diren teknikak erabiliz (IR, RMN-¹H, RMN-¹³C, analisi elementala, masa espektrometria eta fusio puntua) konposatu berriak karakterizatzea.
- Leishmania infantum amastigote axenikoetan konposatu berrien zitotoxitatea bahetzea eta selektibotasun indize bat lortzea THP-1 zeluletan duten eraginkortasunarekin alderatuta.

Ikerketaren muina eta ondorioak

1) Kimika

Irudian ikus daitekeen bezala, selenokarmabatoak sintetizatzeko bidea sinple eta pauso gutxikoa da. Amaierako produktuen sintesia, aurrez sintetizatutako kloroformiatoen eta aurrez sintetizatutako Se-metilselenourearen arteko erreakzioaren bidez burutzen da. Hainbat kasuetan, kloroformiatoak ere komertzialak izan daitezke. (12, 14, 26)

1. irudia. I. serieko konposatuak



C Erreakzioa, 24-72 orduz agitazioan mantentzen da, 1:2 ratio molarra erabiliaz, kloroformo erreakzio ingurunean, piridinaren presentzian. Kasu batzuetan, DMAP (dimetilaminopiridina) erabiltzen da base katalizatzaile moduan. Erreakzioa gertatuta, urarekin garbitu eta diklorometanoaz erauzi. Disolbatzailea atmosfera negatiboan xurgatu eta hauspeakina eter etilikoaz garbitzen da. (23)

2) Biologia

L. infantum amastigote axenikoak, 10% FCS, 1g/L b-alanina, 100mg/L *L*-asparagina, 200 mg/L sakarosa, 50mg/L sodio pirubato, 320 mg/L azido maleiko, 40mg/L azido fumariko, 70mg/L azido sukziniko, 200mg/L azido zetoglutariko, 300mg/L azido zitriko, 1.1 g/L bikarbonato sodiko, 5g/L MES, 0.4 mg/L hemina, 10mg/L gentamizina osatutako M199 (Invitrogen, Leiden, The Netherlands) ingurunean hazi ziren 5.4 pHan, 37 °Ctan. THP-1 zelulak, Dr. Michele hornituta, 10% FCS, 1nM HEPES antibiotiko, 2nM glutamina eta 1nM sodio pirubatoaz osatutako ingurunean hazi ziren, 7.2ko pHan, 37°Ctan eta %5eko CO₂ atmosferan.

Sintetizatutako konposatuekin amastigote axenikoetan buruturiko tratamendua, parasitoen hazkunde fase logaritmikoan zehar egin zen, 10⁶ parasito/ml-ko kontzentrazioan 37°Ctan, 24 orduz. THP-1 monozito zelulen tratamendua berriz, hauen hazkunde fase logaritmikoan burutu zen 4x10⁵ zelula/ml-ko kontzentrazioan, 37°Ctan, %5-eko CO₂ atmosferan, 24 orduz. 0.08, 0.4, 2.0, 10.0 and 50.0 µM kontzentrazioak bahetu ziren.

Bizirik geratutako zelulen portzentajea iodopropidioaren (PI) eskusio metodoaz neurtu zen, fluxu zitometriaren bidez. Zelulen ebaluaketa mikroskopikorako parasitoen zuzeneko behaketa burutu zen 96 platertxoko plakatan, kontrastezko mikroskopia edo mikroskopia fluoreszente bidez. (1,3,20)

Esperimentua burutzean jasotako amastigoteetarako eta THP-1 zeluletarako IC₅₀ (zelulen hazkundearen %50a galarazten duen dosia) datuak 1. taulan ikus daitezke.

1.taula: Konposatuen IC₅₀ Amastigote eta THP-1 zeluletan

Erreferentzia	R	IC ₅₀ Amastigote ± errorea	IC ₅₀ THP-1± errorea	SI
1	Propil	2.76±0.07	>25	>9
2	Butil	2.81±0.07	15.78±0.24	5.63
3	Hexil	2.79±0.11	5.54±0.76	1.99
4	Isobutil	4.12±0.15	21.49±0.89	5.21
5	Alil	2.58±0.16	11.8±1.04	4.57
6	Fenil	2.98±0.05	8.02±0.38	2.69
7	4-metoxifenil	2.98±0.11	11.27±1.09	3.79
8	4-klorofenil	3.26±0.26	3.7±0.14	1.13
9	4-fluorofenil	2.98±0.04	13.84±1.36	4.64
10	Benzil	11.3±0.41	8.93±0.38	0.79
11	4-nitrobenzil	4.75±0.35	13.06±1.09	2.75
Edelfosina	-	0.82±0.13	4.96±0.16	6
Miltefosina	-	2.84±0.1	18.5±0.6	7

Taulan ikusgai den moduan, sintetizatutako 7 konposatuk 3tik beherako IC₅₀ dute, gaur egun erabiltzen den Miltefosina sendagailaren ordenan. Selektibotasun indizeak, orokorrean erreferentziatzat hartutako sendagailenak baino zertxobait baxuagoak dira, 1 konposatuaren kasuan izan ezik, non selektibotasuna 9tik gorakoa den.

Kate alifatikoak dituzten konposatuetan ikusi daiteke, katearen luzerak ez duela eraginkortasunean eraginik, baina hauen bolumenak bai, eragozpen esteriko handikoak (4. Konposatuak) eraginkortasun urriagoa du eta.

Bestalde, eraztun aromatikoak dituzten konposatuetan auresan daiteke, erradikal elektroerakargarriak (NO₂) eraginkortasuna murrizten dutela eta eraztun aromatikoak eta karbamatoaren artean bereizle (CH₂) bat sartzeak ere eraginkortasuna nabarmenki gutxitzen duela.

Talde honetan aurrez egindako ikerketa batean, imidoselenokarbamato serie bat sintetizatu eta metodologia berdina erabiliaz *L. infantum* amastigoteetan bahetu ziren (15). Lan honen bidez egiaztatuta da, karbamatoaren oxigeno atomo horren gehitzeak, eraginkortasunaren hobetzea dakarrela.

Etorkizunerako planteatutako norabidea

- Konposatu guztiak, zepa ezberdinetako promastigote eta amastigoteetan bahetu.
- Konposatu liderrak, eraginkorrak eta selektiboak baldin badira, *in vivo* testatu leishmaniadun arratoietan.
- Konposatu liderren sufrezko analogoak sintetizatu eta testatu.
- Konposatuen formulazioa eraginkortasuna eta selektibitatea hobetzeko.

Erreferentziak

1. Alzate JF, Álvarez-Barrientos A, González VM, Jiménez-Ruiz A. (2006) Heat-induced programmed cell death in *Leishmania infantum* is reverted by Bcl-X(L) expression *Apoptosis* 11:161-171.
2. Alzate JF, Arias A, Mollinedo F, Rico E, De la Iglesia-Vicente J, Jimenez-Ruiz A. (2008) Edelfosine induces an apoptotic process in *Leishmania infantum* that is regulated by the ectopic expression of Bcl-XL and Hrk. *Antimicrob Agents Chemother* 52:3779-3782.
3. Alzate JF, Arias A., Moreno-Mateos D, Alvarez-Barrientos A, Jiménez-Ruiz A. (2007) Mitochondrial superoxide mediates heat-induced apoptotic-like death in *L. infantum*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 152:192-202
4. Bates, P.A. (2007). "Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies". *Int J Parasitol* 37(10): 1097-1106.
5. Bern C, Maguire JH, Alvar J. (2008) Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2:313.
6. Botero, D., Restrepo, M. Colombia (1992). "Parasitosis humanas". *Corporación para Investigaciones Biológicas*. Segunda edición.
7. Cabrera-Serra MG, Valladares B, Piñero JE. (2008) In vivo activity of perifosine against *Leishmania amazonensis*. *Acta Trop* 108:20-25.
8. David CV, Craft N. (2009) Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatol Ther* 22:491-502.
9. Fernandez-Rubio C, Campbell D, Vacas A, Ibañez E, Moreno E, Espuelas S, Calvo A, Palop JA, Plano D, Sanmartin C, Nguewa P. (2015) Leishmanicidal activities of novel mmethylseleno-imidocarbamates. *ACC* 59:5705-5713.
10. Frézard F, Demicheli C, Ribeiro RR. (2009) Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. *Molecules* 14:2317-2336.
11. Ibañez E, Agliano A, Prior C, Nguewa P, Redrado M, Gonzalez-Zubeldia I, Plano D, Palop JA, Sanmartin C, Calvo A. (2012) The Quinoline Imidoselenocarbamate EI201 Blocks the AKT/m TOR Pathway and targets cancer stem cells leading to a strong antitumor activity. *Current Medicinal Chemistry* 19:3031-3043.
12. Ibañez E, Plano D, Font M, Calvo A, Prior C, Palop JA, Sanmartin C. (2011) Synthesis and antiproliferative activity of novel symmetrical alkylthio- and alkylseleno-imidocarbamates. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46:265-274.
13. Ibañez E, Stoedter M, Hofmann P, Plano D, Calvo A, Nguewa P, Palop JA, Sanmartin C, Schomburg L. (2010) Structure- and cell-specific effects of imidoselenocarbamates on selenoprotein expression and activity in liver cells in culture. *Metallomics* 4:1297-1307.
14. Iriepa I, Villasante FJ, Galvez E, Bellanato J, Martín A, Gomez-Sal P. (2004) Synthesis, spectroscopic and crystallographic study of some carbamates from an azabicyclic chloroformate and primary heterocyclic amines. *New J. Chem.* 28:618-624.
15. Lindoso JA, Lindoso AA. (2009) Neglected tropical diseases in Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 51:247-253.

16. Lobanov AV, Gromer S, Salinas G, Gladyshev VN. (2006) Selenium metabolism in *Trypanosoma*: characterization of selenoproteomes and identification of Kinetoplastida-specific selenoproteins. *Nucleic Acids Res* 34:4012-4024.
17. Moreno D, Plano D, Baquedano Y, Jimenez-Ruiz A, Palop JA, Sanmartin C. (2010) Antileishmanial activity of imidothiocarbamates and imidoselenocarbamates. *Parasitol Res* 108:233-239.
18. Palumbo E. (2008) Oral miltefosine treatment in children with visceral leishmaniasis: a brief review. *Braz J Infect Dis* 12:2-4.
19. Plano D, Baquedano Y, Ibañez E, Jimenez I, Palop JA, Spallholz J, Sanmartin C. (2010) Antioxidant-prooxidant properties of a New Organoselenium Compound Library. *Molecules* 15:7292-7312.
20. Plano D, Baquedano Y, Moreno-Mateos D, Font M, Jimenez-Ruiz A, Palop JA, Sanmartín C. (2011) Selenocyanates and diselenides: A new class of potent antileishmanial agents. *Eur J Med Chem* 46:3315-3323.
21. Plano D, Ibañez I, Calvo A, Palop JA, Sanmartin C. (2001) Novel library of selenocompounds as Kinase Modulators. *Molecules* 16:6349-6364.
22. Plano D, Sanmartin C, Moreno E, Prior C, Calvo A, Palop JA. (2007) Novel potent organoselenium compounds as cytotoxic agents in prostate cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17:6853-6859.
23. Romano B, Font M, Encío I, Palop JA, Sanmartín C. (2014) Synthesis and antiproliferative activity of novel methylselenocarbamates. *Eur. J. Med. Chem.* 83:674-684.
24. Rosenthal E, Delaunay P, Jeandel PY, Haas H, Pomares-Estran C, Marty P. (2009) Liposomal amphotericin B as treatment for visceral Leishmaniasis in Eruope. *Med Mal Infect* 39:741-744.
25. Sharma U, Singh S. (2008) Insect vectors os *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *J Vector Borne Dis* 45:255-272.
26. Terraza CA, Tagle LH, Leiva A, Vega JC. (2004) Synthesis and characterization of 4,4'-(dimethylsylene)bis(phenyl chloroformate) and 4,4'-(dimethylgermylene)bis(phenyl chloroformate) and their use in the synthesis of poly(urethanes). *Polym. Bull.* 52:101-107.
27. Zuazo A, Plano D, Ansó E, Lizarraga E, Font M, Martínez de Irujo J. (2012) Cytotoxic and proapoptotic activities of imidoselenocarbamate derivatives are dependent on the release of methylselenol. *Chem Res Toxicol* 25:2479-2489.

Laser aplikazioetarako ikusgaiko eremu gorrian igorpen eraginkorra eta egonkorra duten antena molekularrak

Avellanal Zaballa E^a, Sola Llano, R., Bañuelos Prieto, J.

Kimika Fisikoa Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea (UPV/EHU) 644 PK 48080 Bilbo

^aedurne.avellanal@ehu.es

Laburpena

Aurkeztu berri den lan honetan, metodo konputazional eta teknika espektroskopikoen bitartez kromoforo anizkoitzeko koloratzaileen egiturazko ezaugarriez gain ezaugarri fotofisiko eta elektronikoak aztertu dira ikusgaiko eremu gorrian sintonizagarriak diren laser aplikazioan erabiltzeko asmoz. Horretarako, perileno gorria, BODIPY eta kumarina kobalenteke lotu dira talde banatzaile aproposa dela medio. Diseinu molekular honek argi bilketa handitu ez ezik, kitzikapen eremuarekiko menpekotasunik gabeko argi gorria lortzea ahalbidetzen du ere, intramolekularra den energia transferentzia prozesu eraginkorren ondorioz.

Hitz gakoak: Laser koloratzaileak, energia transferentzia, antena molekularrak.

Abstract

The herein reported work deals about the characterization of the photophysical signatures as well as the structural and electronical properties of multichromophoric dyes by means of spectroscopic techniques and computational methods, towards the development of red-emitting tunable lasers. To this aim, perylene red, BODIPY and coumarine have been linked covalently through suitable spacers. This molecular assembly not only improves light harvesting, but also provides solely red-edge emission regardless of the excitation spectral region owing to consecutive and efficient intramolecular energy transfer processes.

Keywords: Dye lasers, energy transfer, molecular antennas

1. Sarrera eta motibazioa

Azken urteotan, ezaugarri fotofisiko hobeak eta optimizatuak dituzten koloratzaile fluoreszente berrien ikerketak gorakada handia jaso du. Izan ere, bioirudirako molekula organiko hauen eskaera altua da (Moerner, 2015). Bereizmen altuko teknika honetan, fluoroforo baten bitartez markatuta dagoen biomolekulen presentzia monitoriza daiteke ingurune biologikoan mikroskopia fluoreszentearen bidez (Weissleder eta Pittet, 2008). Koloratzaile hauek ere baliogarriak dira sintonizagarriak diren laserren garapenerako non ingurune aktiboak (fotoegonkorra eta oso fluoreszentea den kromoforoa) eremu espektral zehatz baten barruan modulatu eta amplifikatu dagoen igorpen suspertua sortzen duen. (Kuehne eta Gather, 2016) Kimika organikoaren inguruan egin diren aurrerapenak ere eragina izan dute koloratzaileen arrakastan; izan ere, nukleo kromoforikoen funtzionalizazio selektibo eta sakona ahalbidetzen duten bide sintetiko berriak abian jarri dira, egitura organiko kopuru zabala lortuz (Moliner et al., 2017). Laser aplikazioarekin lotuz eta biofotonikan eta biomedikuntzan erabiltzearen, uhin-luzera altuetan igorpena duten koloratzaileen garapenean arreta handia dago (leiho biologikoaren barruan batez ere > 650 nm), argi mota hau ehun biologikoetan gehiago barneratzen baita bioirudiaren bidezko detekzioaren selektibitatea eta sentikortasuna hobetuz edo terapia fotodinamikorako erabiltzen diren fotosentikortzaileen aktibazioa bultzatuz (Abrahamse eta Hamblin, 2016).

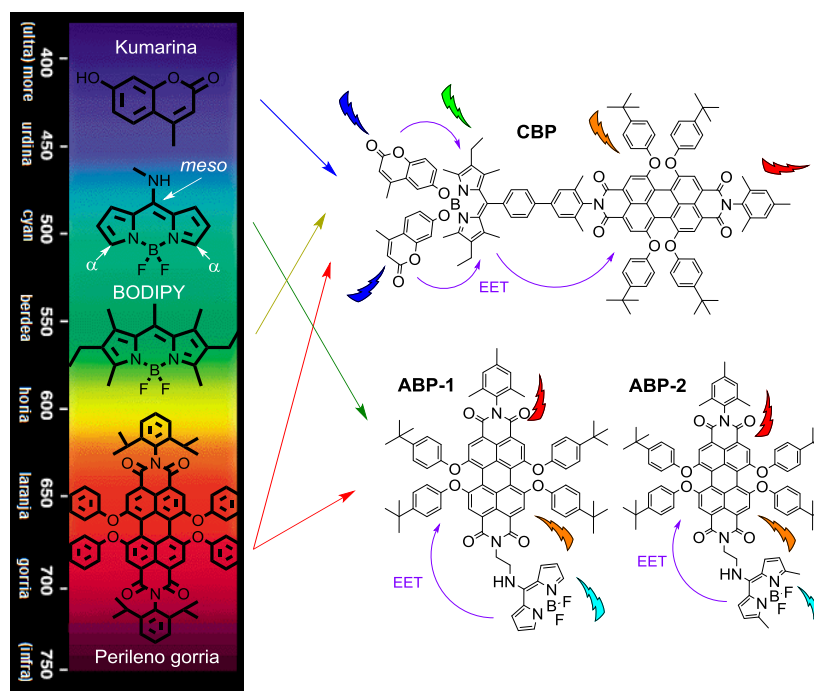
Espektrro elektromagnetiko ikusgaiko eremu gorrian komertzialki eskuragai dauden koloratzaileen artean, perilendiimiden (PDI) familia azpimarratu behar da, perileno gorria (Würthner et al., 2016) izenarekin ezaguna den koloratzailea, hain zuzen ere. Luminoformo hau bere ahalmen fluoreszente eta fotoegonkortasun altuagatik nabarmentzen da. Halere, nahiz eta printzipioz laser sintonizagarrien

ingurune aktiborako egokia izan, ponpaketarako uhin-luzera estandarretan (adibidez 532 nm-tan, Nd:YAG-ko laserrekin) absortzio probabilitate baxua duenez, bere erabilera mugatua da. Honen ondorioz, perileno gorri honen kontzentrazio oso altuak beharrezkoak izango lirarteke, disolbatzaile organikoetan disolbagarritasun arazoak sortuz eta fluoreszenteak ez diren prozesuak sortaraziz. Hori dela eta, igorpen ahalmena murrizten da eta seinalearen anplifikazioa oztopatzen da, oro har laser eraginkortasuna murriztuz.

2. Ikerketaren helburuak

Aurkeztu berri den lan honetan, UCM-ko Kimika Organiko taldearekin batera (M. J. Ortiz irakaslea), perileno gorriaren argi absortzio ahalmena eta laser prestazioak hobetzeko estrategia bat aztertu da. Honetarako, kromoforo anizkoitzeko koloratzaileak garatu dira, non kumarinak (López-Arbeloa et al., 2001) (absortzio/igorpen bandak ikusgai eremu ultramore/uridinean dituztenak) eta boro-dipirrometenoak (Loudet eta Burgess, 2007) (BODIPY, euren banda espektralek eremu urdina zein berde/horia betetzen dituzte) perileno gorriara kobalenteke lotu diren kate alkiliko linealen edo fenilo bezalako banatzaileen bitartez (1. Irudia). Ezaugarri fotofisiko ezin hobeak izateaz gain intramolekularrak diren kitzikapen energia transferentziak (EET, *Excitation Energy Transfer*) ahalbidetzen dituztelako aukeratu dira antena molekular hauek. Horretarako, energia emailearen fluoreszentzia bandaren eta energia hartzailearen absortzio bandaren arteko gainjartze espektrala ezinbestekoa da energia trukea Förster (FRET, *Förster Resonance Energy Transfer*) mekanismoaren bitartez baimentzeko. Gainera, lotura kobalenteak ezartzen duen emaile-hartzaile distantzia laburrengatik energia trukea oso eraginkorra izango da (Fan et al., 2013). Horrela, tarte espektral zabal batean zehar eta modu eraginkor baten bitartez argia biltzea posible da (gutxi gorabehera 250 nm-tik 600 nm-tara, hots, ultramore-ikusgai eremu osoan), baina beti perilenotik igorpen fluoreszentea (sintonizagarria dena 575-720 nm tartean, hau da, leiho biologiko barnean) eta laser gorria (sintonizagarria 620-640 nm tartean) bakarrik lortuz intramolekularra den FRET prozesuari esker.

1. irudia. Koloratzaile komertzialen eta hauei esker garatutako kromoforo anizkoitzeko koloratzaileen molekula-egiturak.



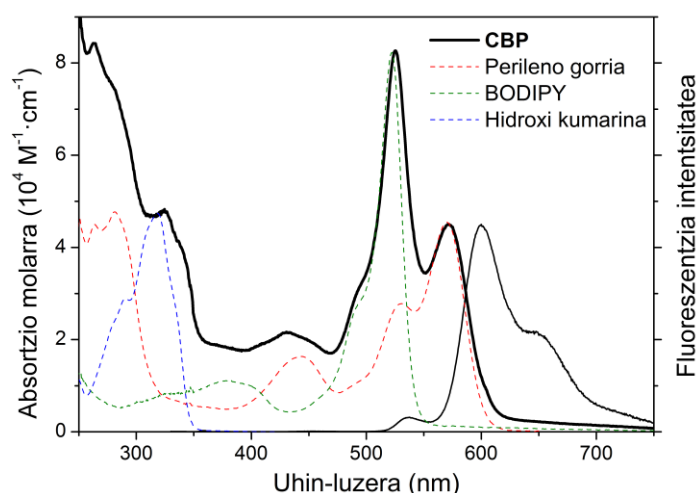
Jarraian sintetizatutako koloratzaile konplexu hauen karakterizazio fotofisikoa (absortzioa eta igorpena bai egoera geldikorrean bai denboran zehar neurtuta pikosegundoko eskalan) simulazio mekanokuantikoaren laguntzarekin (*Density Functional Theory* mailan, DFT) azaltzen da.

Era berean, kobalentekei lotuta dauden koloratzaileen artean gertatzen diren energia trukearen ebaluazioaren bitartez antena molekular hauen funtzionamendua argi biltzaile eta energia eraldatzaile gisa egiaztatzen da.

3. Emaitzak eta eztabaida

CBP konposatuaren (ikusi molekula-egitura 1. Irudian) absortzio espektroa unitate kromoforiko bakoitzari dagokion hiru banda nagusiz osatuta dago: 325 nm-tan hidroxi kumarinarena, 525 nm-tan eta oso intentsua BODIPY-arena, eta 570 nm-tan perileno gorriarena (2. Irudia). Espektro hau kalkulu teorikoekin bat dator, simulazioak unitate kromoforiko bakoitzean bakarrik aurkitzen diren hiru trantsizio nagusi iragartzen baititu. Ondorioz, diseinu molekularra egokia izan da, unitate kromoforiko bakoitzak bere identitatea mantentzen baitu lotura kobalentearen ostean argia absorbatzeko ahalmena asko handituz (ikusi absortzio molarrek 1. Taulan) ultramore-ikusgai espektroan zehar. Modu honetan, kitzikapena aurrera eraman daiteke kromoforo bakoitza (aurretik aipatutako hiru eremu espektralak) selektiboki kitzikatuz. Hala eta guztiz ere, absorbatutako erradiazioaren uhin-luzera alde batera utzita, argi eta garbi beti lortzen da perileno gorriaren igorpena 600 nm-tan nagusia izatea. Izan ere, ondoz ondoko energia truke eraginkorrak (~ %100, emaileren ahalmen fluoreszentea asko jaisten delako hartzailera lotuz gero, ia guztiz desagertu arte) gertatzen dira kumarinatik BODIPY-ra eta hemendik perilenora, lotura kobalenteak ezarritako energia emaila eta hartzailearen arteko hurbiltasun espaziala dela eta.

2. irudia. **CBP** absortzio eta fluoreszentzia (eskuineko ardatza) espektroak disoluzioan ($2 \cdot 10^{-6}$ M, etil azetatoan). Isolatutako koloratzaileen absortzio espektroak (marradunak) ere gehitu dira konparazio gisa.



Antena sistemaren igorpen gorri osoaren ahalmen fluoreszentea 0.82-tik zehar dago (1. Taula), perileno gorriaren parekoa. Halere, **CBP** konposatuaren abantailarik nagusienetarikoa argiaren bilketa askoz zabalagoa dela da, ultramore eta ikusgaiko eremu berde-laranja barne, baita kromoforoen arteko FRET energia jauzi jarrai eta eraginkorraren ondorioz igorpen gorria eksklusiboki lortzen dela. Esan beharra dago, laser aplikazioa kontuan hartuta, **CBP** konposatuak 532 nm-tan absortzio ahaltsua aurkeztzen duela (ponpaketa estandarren uhin-luzera). Horrela 630 nm inguruan laser seinalearen lorpena errazten eta hobetzen da (laser eraginkortasuna %35-raino igotzen delarik), perileno gorria bakarrik erabiliko bagenu (%20) baino kontzentrazio askoz baxuagoak erabiliz.

Nahiz eta aurreko antena molekularra egokia izan, 350-450 nm-ko tarte urdineko absortzioa ez da ona. Hori dela eta, argia absorbatzeko eremu espektrala handitzeko asmoz, energia emaila gisa erdiguneko *meso* posizioan amino bat duen BODIPY deribatua erabiltzea erabaki zen, *meso*-aminoBODIPY-a hain zuzen ere, **ABP-1** konposatua lortuz (ikusi 1. Irudia). Esan beharra dago, funtzionalizazio honek banda espektralen desplazamendu handia eragiten duela energia handiagoetara (100 nm gutxi gorabehera), hemizianina izeneko forma erresonante berria eratzen baita, aminoak

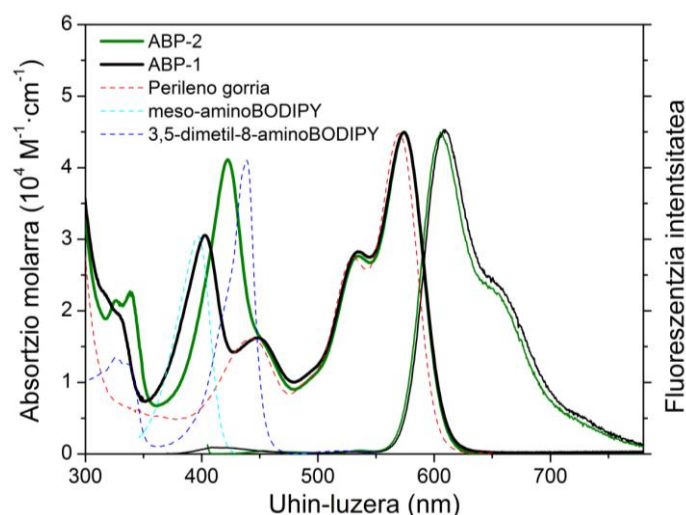
pirrol kromoforiko batekin (indazenoa) duen elkarrekintza erresonantearen ondorioz (Bañuelos et al., 2011). Era berean, posizio α -pirrolikoetan metiloak dituen konposatu analogoa (**ABP-2**, 1. Irudia) kontuan hartu zen, alkilazio honek lerrokatze batokromikoa (20 nm inguru) eragiten baitu eta ahalmen fluoreszentea handitzen baitu (Esnal et al., 2013).

1. taula. Perileno gorriaren eta antena bakoitzari dagokion ezaugarri fotofisikoak disoluzio diluituetan ($2 \cdot 10^{-6}$ M, etil azetatoan): absortzio (λ_{ab}) eta igorpen (λ_{fl}) maximoko uhin-luzerak, absortzio molarra (ϵ_{max}) uhin-luzera maximoan, etekin kuantikoa (ϕ) eta bizitza denbora (τ) fluoreszentea.

	λ_{ab} (nm)	ϵ_{max} ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)	λ_{fl} (nm)	ϕ	τ (ns)
Per-Gorria	568.0	49000	597.5	1.00	6.16
CBP	572.0	44000	600.0	0.82	5.87
	525.0	83000			
	324.5	47000			
ABP-1	574.0	44900	609.0	0.87	6.21
	403.0	30600			
ABP-2	574.0	46100	604.5	0.51	0.52(%65)-2.17(%32)- 6.53(%3)
	422.5	41500			

ABP-1 eta **ABP-2** antena molekularren absortzio espektroek argi eta garbi perileno gorriari dagokion trantsizioak aurkezten dituzte eta, honekin batera, 400-450 nm tartean *meso*-aminoBODIPY-ari dagokion banda berriak ikus daitezke (3. Irudia). Ondorioz, absortzio berri hauek eremu urdinean perilenoen absortzioa (UV eta eremu laranja-gorria) osatzen dute, argia biltzeko eremua zabalduz, ia pankromatikoa izanez, hau da, espektro ikusgai ia osoa betetzea lortzen da eraginkortasun handiz (ikusi absortzio molarrek 1. Taulan).

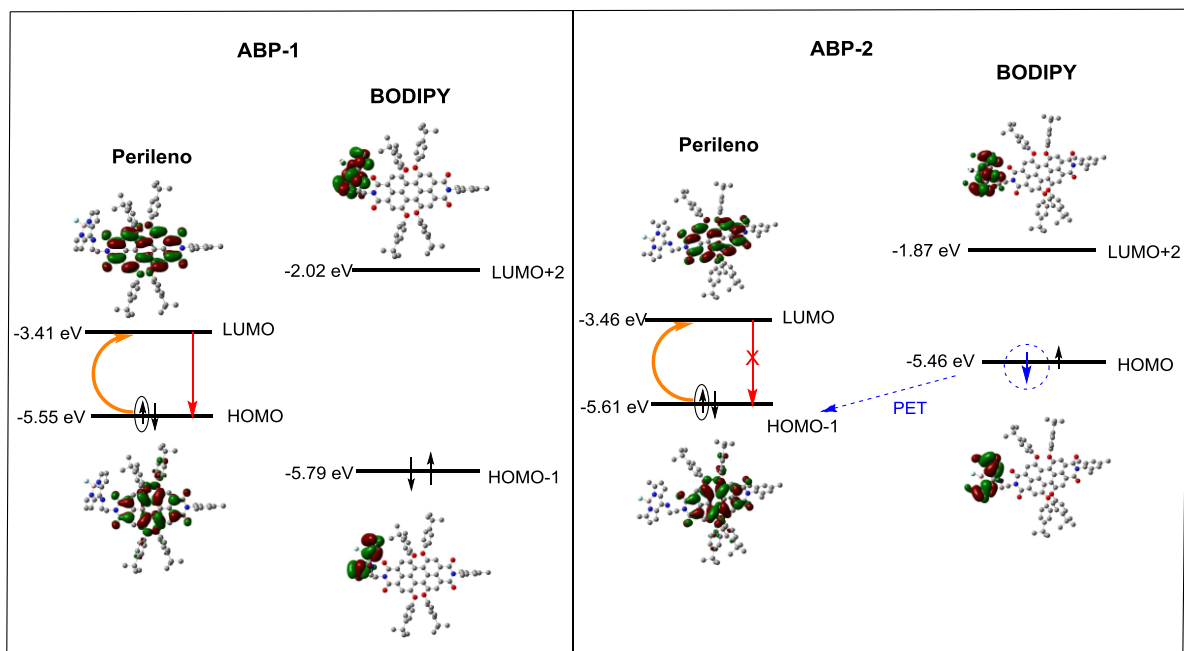
3. irudia. ABP-1 eta ABP-2 absortzio eta igorpen (eskuineko ardatza) espektroak disoluzioan ($2 \cdot 10^{-6}$ M, etil azetatoan). Isolatutako koloratzaileen absortzio espektroak (marradunak) ere gehitu dira konparazio gisa.



Fluoreszentzia espektroan (3. Irudiko eskuineko ardatza), argi eta garbi perileno gorriaren igorpena nagusitzen da, kromoforo hau zuzenean kitzikatuz, edota BODIPY-aren bitartez zeharka kitzikatzen bada ere. Berrio, energia trukea behatzen da eta oso eraginkorra gainera (%98). Izan ere, energia emailearen fluoreszentzia ia guztiz desagertzen da hartzailearekin lotzen denean antena molekularra osatzeko.

Deigarria da energia emailea den BODIPY-aren metilazio sinpleak **ABP-2** konposatuaren fluoreszentziaren etekin kuantikoaren jaitiera eragiten duela **ABP-1** konposatuarekiko konparatuta (0.51 vs 0.87, hurrenez hurren). Gainera, bere fluoreszentzia desaktibazioaren kurba triexponentzial batera doitu behar da erdibizitza balio motzak nagusitzen direlarik (0.52 eta 2.17 vs 6.21 ns hurrenez hurren, 1. Taula). Emaizta esperimental hauek **ABP-2** konposatuan desaktibazio ez-erradiatzailearen mekanismo gehigarriren bat dagoela aditzera ematen dute. Simulazio teorikoak **ABP-1** konposatuan orbital molekularrek espero zen ordenari jarraitzen diotela adierazten du. Hau da, energia baxuko trantsizioa HOMO-tik LUMO-ra gertatzen da eta horietan bakarrik perilenoak parte hartzen du. Era berean, hurrengo trantsizio baimenduta HOMO-1-etik LUMO+2-rako salto elektronikoari dagokio eta BODIPY-ak bakarrik parte hartzen du (4. Irudia). Hala eta guztiz ere, **ABP-2** konposatuan, BODIPY eta perilenoaren arteko orbital molekularren nahasketa eta berrantolaketa gertatzen da (4. Irudia). Hots, BODIPY-aren metilazioak bere HOMO orbitalaren energia handitzen du perileno gorriari dagokion HOMO-LUMO tartean sartuz. Beste era batean esanda, **ABP-2** konposatuan HOMO orbitala BODIPY-an dago, HOMO-1 perilenoan dagoen bitartean. Orduan, **ABP-2** konposatuan perilenoaren kitzikapen selektiboa egin ondoren, elektroiei batek HOMO-1 orbitaletik LUMO orbitalera salto egiten du, eta HOMO-1 orbitala erdi hutsik geratzen da. Egoera honen aurrean, HOMO orbitaleko elektroiei bat HOMO-1 orbitalera pasatzea termodinamikoki posible da LUMO orbitaleko elektroia bere oinarritzko egoerara argia igorritik itzultzea eragozten duelarik. Prozesu ez-erradiatzaile hau transferentzia elektroniko fotoinduzitu (PET, *Photoinduced Electronic Transfer*) moduan ezagutzen da eta, kasu honetan, prozesu erreduzitzailea da kitzikatu ostean BODIPY-tik perilenora gertatzen delako. Orduan, prozesu hau joera multiexponentzialaren eta fluoreszentziaren jaitzieraren erantzulea da (1. Taula).

4. irudia. Trantsizio elektronikoetan parte hartzen duten orbital molekular adierazgarrien eskema **ABP-1** eta **ABP-2** konposatuatarako.



4. Ondorioak

Lan honetan, antena molekular organikoak bai espektroskopikoki zein konputazionalki karakterizatu dira. Hauek kumarina, BODIPY eta perilenoaren arteko lotura kobalentean oinarritzen dira eta eremu espektral zabala batean argia biltzeko eta, oso eraginkorrak diren energia transferentzia intramolekular prozesu jarraituen bitartez, argi gorria bakarrik igortzeko gai dira.

Egiturazko diseinu honek laserraren ingurune aktiboko ponpaketaren uhin-luzera estandarretan (355 nm eta 532 nm, ND:YAG laserrarekin) perileno gorriak argia absorbatzeko duen ahalmena handitzea ahalbidetzen du. Horregatik, aurkezten den estrategia perileno gorrian oinarritzen diren laser ezaugarriak hobetzeko egokia da; izan ere, orain arte laser eraginkortasun arloan muga garrantzitsuak aurkezten zituzten erabilitako koloratzaile kontzentrazio altuagatik. Horrela, kromoforo anizkoitzeko egitura hauek askoz eraginkorragoa den laser seinalea lortzea ahalbidetzen dute (perileno gorriaren laser eraginkortasuna %20-tik %25-35-era hobetu da **CBP** eta **ABP-1** konposatueterako) egonkortasuna mantenduz (baita ere 100.000 pultsu ostean), baina koloratzaileraren kontzentrazioa askoz txikiagoa erabiliz.

5. Etorkizuna

Etorkizunean, metodologia hau (energia transferentziaren bidezko koloratzaile laserrak) argia absorbatzeko arazoak dituzten laser koloratzaileen eraginkortasuna hobetzeko ez ezik, fotoegonkortasun baxua aurkezten dutenen fluorofotarako ere erabili nahi da, laserraren ingurune aktiboko bizitza denbora zein bioirudirako zunda fluoreszenteen irradiazio denbora handitzeko asmoz. Izan ere, honako kromoforo anizkoitzeko egitura organikoetan posible da ponpaketa (normalean oso intentsua dena) zeharkako modu batean egitea, hots, koloratzaile igorlea (energia hartzailea dena) energia emaila moduan lan egiten duen koloratzaile oso fotoegonkor baten bitartez ponpatua izatea, energia transferentzia intramolekularra dela eta.

6. Erreferentziak

- Abrahamse, H. eta Hamblin, M. R. (2016), "New photosensitizers for photodynamic therapy", *Biochem. J.* 473, 347-364.
- Bañuelos, J.; Martín, V.; Gómez-Durán, A.; Arroyo, I. J. Peña-Cabrera, E.; García-Moreno, I.; Costela, A.; Pérez-Ojeda, E.; Arbeloa, T.; López-Arbeloa I. (2011), "New 8-Amino-BODIPY Derivatives: Surpassing Laser Dyes at Blue-Edge Wavelengths", *Chem. Eur. J.* 17, 7261-7270.
- EsnaI, I.; Valois-Escamilla, I.; Gómez-Durán, A.; Urías-Benavides, A.; Betancourt-Menidola, M. L.; López-Arbeloa, I.; Bañuelos, J.; García-Moreno, I.; Costela, A.; Peña-Cabrera, E. (2013), "Blue-to-Orange Color-Tunable Laser Emission from Tailored Boron-Dipyrromethene Dyes", *Chem. Phys. Chem.* 14, 4134-4142.
- Fan, J.; Hu, M.; Zhan, P.; Peng, X. (2013), "Energy transfer cassettes based on organic fluorophores: construction and applications in ratiometric sensing", *Chem. Soc. Rev.* 42, 29-43.
- Kuehne, A. J. eta Gather, M. C. (2016), "Organic lasers: recent developments on materials, device geometries, and fabrication techniques", *Chem. Rev.* 116, 12823-12864.
- López-Arbeloa, F.; López-Arbeloa, I.; Arbeloa-López, T. (2001), "Photophysical Properties of Laser Dyes: Correlations with the Lasing Characteristics", H. S. Nalwa, *Handbook of Advanced Electronic and Photonic Materials and Devices*, Academic, New York, 7, 5.
- Loudet, A. eta Burgess, K. (2007), "BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties", *Chem. Rev.* 107, 4891-4932.
- Moerner, W. E. (2015), "Single-Molecule Spectroscopy, Imaging, and Photocontrol: Foundations for Super-Resolution Microscopy", *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 8067-8093.
- Moliner, F.; Kielland, N.; Lavilla, R.; Vendrell, M. (2017), "Modern synthetic avenues for the preparation of functional fluorophores", *Angew. Chem. Int. Ed.* 56, DOI: 10.1002/anie.201609394.
- Weissleder, R. eta Pittet, M. J. (2008), "Imaging in the era of molecular oncology", *Nature*, 452, 580-589.
- Würthner, F.; Saha-Möller, C.R.; Fimmel, B.; Ogi, S.; Leowanawat, P.; Schmidt, D. (2016), "Perylene Bisimide Dye Assemblies as Archetype Functional Supramolecular Materials", *Chem. Rev.* 116, 962-1052.

7. Eskerrak/Aipamenak

Lan hau Eusko Jaurlaritzak emandako diru laguntzari (IT912-16 proiektua) eta doktoregai bekari (E. A.) esker gauzatu da. Era berean, M. J. Ortiz irakasleari (UCM, Madrilén) laginen sintesia egitea, I. García-Moreno ikerlariari (CSIC, Madrilén) laser neurketak egitea eta UPV/EHU-ko SGiker zerbitzuari "arina" klaster informatiko erabiltzen uztearren eskertzen diegu.

Lupien (*Dicentrarchus labrax*) ataletan disruptore endokrinoen metaketa kontrolpeko baldintetan

Ros Oihana¹, Barbatto Matteo², Izaguirre Urtzi², Bilbao Eider², Ortiz-Zarragoitia Maren², Prieto Ailette^{1,2}, Vallejo Asier¹, Etxebarria Nestor^{1,2}.

1. Kimika Analitikoa Saila (Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, Euskal Herria),

2. Plentziako Itsas Estazioa (Euskal Herriko Unibertsitatea, Plentzia, Euskal Herria).

oihana.ros@ehu.eus

Laburpena

Egunero erabiltzen ditugun konposatu asko disruptore endokrino (EDC) moduan sailkatu dira bizidunengan izan ditzaketen eragin endokrino nabarmenengatik. Konposatu horiek banakoen intersexualitatea, malformazioak, ugalketa-arazoak eta tamainaren txikitzea sor ditzakete, besteak beste. Lan honetan, laborategian, heldugabeko lupiak (*Dicentrarchus labrax*) 4 EDCtara (17- β -estradiola, 4-*tert*-oktilfenola, dietilestilbestrola eta bisfenol-A) esposatu ziren 10 egunetan zehar metatze-maila aztertze (gibelean, behazunean eta plasman). Ondoren, beste 12 egunetz eduki ziren ehunen berreskurapena aztertze. Lan honetan, EDCen kontzentrazio baxuek arrainetan hainbat kalte sortu dituztela ikusi da.

Hitz gakoak: konposatu disruptore endokrinoak, bioakumulazioa, lupiak (*Dicentrarchus labrax*).

Abstract

Many compounds used in our everyday life are classified as endocrine disrupting compounds (EDCs) due to the endocrine disruption effect they can have in living organisms. Low concentration of EDCs can cause intersexuality, malformations, fertility problems and a reduction of the size, among others. In the present work, juvenile European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) were exposed under laboratory conditions to 4 EDCs (17- β -estradiol, 4-*tert*-octylphenol, diethylstilbestrol and bisphenol-A) during 10 days with the objective of evaluating the accumulation capacity in different tissues (liver, bile and plasma). Afterwards, fish were depurated for 12 days. In the present work it has been proved that low concentration of EDCs can cause several alterations in fish.

Keywords: endocrine disrupting compounds, bioaccumulation, European Seabass (*Dicentrarchus labrax*).

1. Sarrera eta motibazioa

Azken urteotan, disruptore endokrino (EDC) moduan ezagutzen diren konposatuen erabilera izugarri hazi da eta, horrekin batera, horien arriskuarekiko ardura ere. EDCak, sistema endokrinoan aldaketak sortzen dituzten substantzia exogenoak, edo horien nahasteak, dira. Konposatu horiek organismo osasuntsuetan edo bere ondorengoetan kalteak sor ditzakete (Å. Bergman et al., 2012). Europar Batasunak EDC moduan joka dezaketen 553 konposatu ebaluatu ditu dagoeneko. Asko dira EDC moduan sailkatu direnak; alkil fenolak (APs), bisfenol-A (BPA), fungizidak, pestizidak, zenbait surfaktante, zenbait konposatu farmazeutikoak eta estrogenoak, besteak beste (Álvarez-Muñoz et al., 2015; Wang et al., 2016). EDCak eguneroko bizitzan etengabe erabiltzen dira eta saneamendu-sarean zehar, araztegiara heldu eta bertan kontzentra daitezke. Araztegiak ez dira gai konposatu horiek guztiz arazteko, eta ondorioz, araztegiaren irteera-korrontea bilakatu da konposatu horiek ingurumenera isurtzeko iturri nagusienetako bat. Araztegiez gain, abeltzaintza, nekazaritza, akuikultura eta industriak dira konposatu horien iturri nagusiak (Mortazavi et al., 2012; Álvarez-Muñoz et al., 2015). Orokorrean, kontzentrazio baxuetan (ng/L, μ L/L mailak) aurkitzen dira ingurumen-uretan (Álvarez-Muñoz et al., 2015; Ros et al., 2015b). Hala ere, kontzentrazio horiek nahikoak dira bertan bizi diren bizidunei kalteak sortarazteko. Eragindako kalteen artean, besteak beste, malformazioak, ugalketa-arazoak, tamainaren txikitzea edo intersexualitatea aurkitu dira

arrainetan, anfibiotan, moluskuetan, narrastitan eta ugaztunetan (Bizarro et al., 2014; Wang et al., 2016). EDCek sistema endokrinoa kontrolatzen duten konposatu naturalak ordezkatzan dituzte eta haien ohiko funtzionamendua aldatzen dute. Ondorioz, hormonek kontrolatzen dituzten erreakziok azkartu, inhibititu edota alda ditzakete. Beraz, oso garrantzitsua da kutsatzaile organiko horiek arrainen gorputzaren atal desberdinetan metatzeko duten gaitasuna aztertzea, beraien eraginak hobeto ulertzeko.

Aurretiaz azaldu bezala, EDCak oso kontzentrazio baxutan egon ohi dira uretan eta askotan detektaezinak izaten dira egun ezagutzen diren teknika analitikoekin. Arrainek, aldiz, konposatu horiek metatzeko (kontzentratzeko) joera erakusten dute. Modu horretan, uretan detekta ezinak diren konposatu asko, arrainetan topa daitezke eta konposatu horietara esposatuak izan direla ziurtatu (Gibson et al., 2005; Yang et al., 2014). Gibela da konposatu naturalak zein toxikoak metabolizatzen arduraren duen organoa. Transformazio pauso horren ondoren, konposatuak behazunera garraiatzen dira gorputzetik kanporatzeko. Hori dela-eta, behazuna da konposatu horien kontzentrazio-maila altuena espero den ehuna (Martínez-Gómez et al., 2013). Arrainek konposatuak metatzeko duten ahalmena biokontzentrazio-faktorearen ($BCF = C_{\text{analito}} / C_{\text{ehunea}}$ uretan) bidez determinatzen da. BCF-maila 5000 baino handiagoa denean, konposatu hori ehunetan metatzeko joera oso handia dela esaten da.

BCF balioak kalkulatzeko egindako lan gehienetan, ingurumeneko arrantzatutako arrainak erabili izan dira (Stasinakis et al., 2012; Wang et al., 2016), baina kasu horietan ingurumen-baldintzak ezin dira kontrolpean mantendu eta zaila da ondorio garbiak lortzea. Arazo horri aurre egiteko, laborategian egiten diren kontrolpeko esperimenduak dira irtenbide bat. Bertan, arrainak kontzentrazio ezaguneko kutsatzaile bakarrera zein nahaste batera esposatzen dira. Horrez gain, posiblea da arrain-talde homogeneo batekin lan egitea, edo sexualki heldugabeko arrainekin, kasurako. Zenbait lanetan aipatzen da kutsatzaileen nahasteak gehitzen direnean, beraien efektua arrainean asko handitzen dela (Martínez-Gómez et al., 2013; Tang et al., 2013).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Konposatu organikoek bizidunetan, ur organismoetan bereziki, duten metatzeko gaitasuna dela-eta, ezinbesteko da laborategiko baldintzetan hainbat esperimendu egitea ondoren ingurumeneko portaera hobeto ulertu ahal izateko. Tamalez, lan gutxi dago eginda horren inguruan. Lan honen helburua, beraz, efektu estrogenikoa duten familia desberdineko 4 EDCren nahasteak, (4-*tert*-oktil fenola (4tOP), BPA, dietilestilbestrola (DES) eta 17- β -estradiola (E2)) heldugabeko lupien atal desberdinetan (plasman, gibelean eta behazunean) metatzeko duten joera aztertzea izan da.

3. Ikerketaren muina

3.1 Esposizio esperimenduak eta laginen analisisa

Heldugabeko (~20 g, 5 hilabete) lupiak (*Dicentrarchus labrax*) laborategiko girora moldatzeko hilabetez eduki ziren itsasoko ura zuen akuario batean eta egunean behin eman zitzaizkien jaten (lupien pisuaren % 5 inguru). Erabilitako argi periodoa 12 ordukoa izan zen. Arrainen erdia inolako kutsatzailerik ez zuen 250 L-ko ontzi batera (kontrol-ontzira) pasatu ziren eta gainontzekoak, EDC bakoitzeko 150 ng/L-ko kontzentrazioa zuen ontzira (esposizio-ontzira). Lupiak 10 egunez egon ziren kontzentrazio horretara esposatuak eta, ondoren, 12 egunetako arazketa (kutsatzailerik gabe) jasan zuten. Esperimendua hasi eta 1., 3., 7. eta 10. egunetan, 10 lupia jaso ziren ontzi bakoitzetik. Esposizio-denbora amaituta, esposizio-ontzian geratutako arrainak, ontzi garbi batera eraman ziren arazketa urratsari hasiera emateko. Arrainak, arazketa hasi eta 4., 7. eta 12. egunen ostean jaso ziren.

Laginen analisiari dagokionez, lagin solidoak (arrain-gibela) ultrasoinu fokatuaren bidez erauzi eta fase solidoko erauzketa dispartsoarekin garbitu ziren (Ros et al., 2016) eta likidoak (arrain-plasma, behazuna eta ura), aldiz, polietersulfonaren bidezko mikroerazuketaren bidez

(Ros et al., 2015a; Ros et al., 2015b). Lan honetako lagin guztiak likido kromatografia-tandem masa espektrometriaren bidez neurtu ziren.

3.2 Organoen neurriak eta itxura

Esperimentuak iraun bitartean jasotako arrain guztien luzerak (cm), arrain osoaren pisuak (g) eta arrain bakoitzaren gibelaren pisuak (g) jaso ziren (1. taula). 1. taulan ikus daitekeen moduan, ez zen inolako desberdintasun esanguratsurik ikusi luzerari dagokionez egun guztiak kontuan hartuz eta arrainaren pisuan esperimentuko lehenengo 7 egunetan, baina bai ordea 10. egunean. Azken kasu horretan, esposatutako ontzian pisu galera ikusi zen, baina behin arazketa garaira helduta, arrainek hasierako pisua berreskuratu zuten. Esperimentu osoan zehar arrainei jaten eman zitzaaien arren, arazketa-egunera heldu arte ez zuten gehiegi jan, emandako jana ontzien hondoan ikusten baitzen, eta hori izan zitekeen pisu-galera sortzeko arrazoiatariko bat.

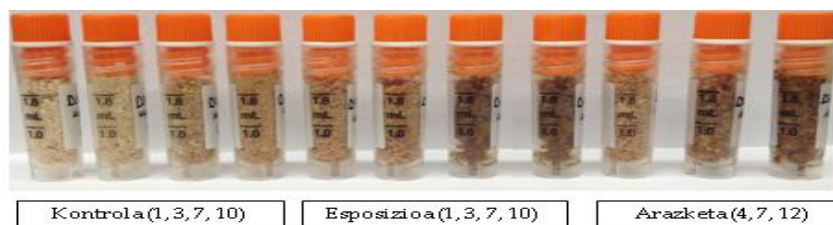
1. taula. Arrainen datu morfometrikoak eta gibelaren organometria (batezbestekoa $\pm$ desbideratze estandarra): luzera (cm), arrain osoaren pisua (g) eta gibelaren pisua (g).

	Luzera (cm)		Arrainaren pisua (g)		Gibelaren pisua (g)	
	Esposatua	Kontrola	Esposatua	Kontrola	Esposatua	Kontrola
1.eguna	13,4 $\pm$ 0,9	12,8 $\pm$ 0,6	24,48 $\pm$ 5,41	22,61 $\pm$ 4,40	0,54 $\pm$ 0,18	0,43 $\pm$ 0,12
3.eguna	13,2 $\pm$ 0,9	13,3 $\pm$ 0,6	25,37 $\pm$ 4,69	24,92 $\pm$ 2,20	0,51 $\pm$ 0,14	0,48 $\pm$ 0,19
7.eguna	13,4 $\pm$ 0,6	13,2 $\pm$ 1,6	24,89 $\pm$ 3,90	24,18 $\pm$ 6,56	0,38 $\pm$ 0,14	0,49 $\pm$ 0,16
10.eguna	12,8 $\pm$ 0,6	13,6 $\pm$ 0,9	20,76 $\pm$ 2,51	25,13 $\pm$ 3,77	0,25 $\pm$ 0,09	0,41 $\pm$ 0,14
14.eguna	13,3 $\pm$ 0,9	---	24,09 $\pm$ 4,33	---	0,41 $\pm$ 0,16	---
17.eguna	13,3 $\pm$ 1,0	---	23,16 $\pm$ 4,91	---	0,34 $\pm$ 0,15	---
22.eguna	13,1 $\pm$ 0,9	---	23,41 $\pm$ 6,08	---	0,28 $\pm$ 0,22	---

Azkenik, gibelaren pisuari erreparatzen badiogu, esposizioko lehenengo bi egunetan pisua nahiko egonkor mantendu zen, baina 7. egunetik aurrera pisuak behera egin zuen (ikus 1. taula). Era horretan, 10. egunerako desberdintasun esanguratsuak zeuden esposizioko eta kontroleko ontzien artean. Behin arazketa egunera helduta, bazirudien gibelaren pisua berreskuratuko zela (14. eguna), baina hurrengo egunetan berriro beherakada bat ikusi zen, esposizioko 7. eta 10. egunetako pareko balioak lortuz. Badirudi, EDCen ondorioz, gibela kaltetu zela, eta arrain osoaren pisuarekin gertatzen denaren kontrara, arazketa garaian ez zela gai izan hasierako balioak berreskuratzeke.

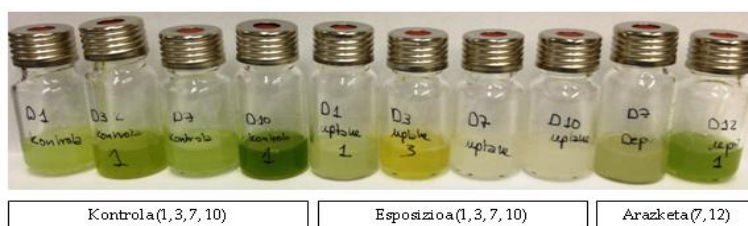
Gibelaren koloreari eta testurari erreparatuz gero (1 irudia), esan daiteke, egunak igaro ahala, liofilizatutako gibelaren kolorea iluntzen zihoala eta itxura geroz eta koipetsuagoa zela. Kolore aldaketa hori, lehenago aipatu berri den gibelaren pisuarekin zuzenki erlazionaturik egon daiteke, gibelaren pisua minimoa zen kasuetan, kolorerik ilunena lortu baitzen.

1. irudia. Arrain-talde desberdinetan (n=10) jasotako gibelaren itxura liofilizatu ostean.



Gibelarekin gertatu zen moduan, behazunean ere esposizio-egunen menpeko aldaketa nabariak ikusi ziren koloreari dagokionez (2. irudia). Kontroleko arrainen behazunaren kolorea berde mantendu zen 10 egunetan zehar, tonu-aldaketa batzuk gorabehera. Esposizio-ontziko arrainetatik jasotako behazunean, aldiz, egunak aurrera joan ahala, behazunaren kolorea aldatzen joan zen. Nabariena esposizioko 7. eta 10.egunean ikusi zen, non, behazun-xixkuan zegoen likidoak kolore zuria eta itxura koipetua zuen. Behin arazketa-egunak aurrera joan ahala, behazunaren itxura hobetzen joan zen, hau da, behazunaren berde kolorea berreskuratu egin zen.

2. irudia. Arrain-talde desberdinetan (n=10) jasotako behazunaren kolorea Milli-Q urarekin eta fosfato tanpoiarekin diluitu ostean.



Gibelea eta behazunaren gertatutako aldaketa fisikoen ondorioz, pentsa zitekeen EDCen eraginagatik gibela kalteturik zegoela eta ez zela gai behar bezala bere eginkizunak betetzeko. Gibelaren funtzioetako bat, azido biliarren sintesia da, bertan dagoen kolesterolek (CHL) abiatuz (Stellaard et al., 2016). Badirudi, esposaturiko lupien gibela ez zela gai izan azido biliarrik sintetizatzeko, eta ondorioz, eraldatu gabeko kolesterola behazun-poltsan pilatu zela. Hipotesi hori baieztatu zen CHLaren analisiak behazunaren egin ostean.

3.3 Ur-laginak

Esperimentuak iraun bitartean, EDC desberdinen kontzentrazioak neurtu ziren kontrol eta esposizioko ontzietan. Kontroleko ontzian BPA izan zen antzeman zen konposatu bakarra 23-57 ng/L bitartean. BPA, plastikoen osagaietariko bat izanik, ohikoak izaten dira BPA konposatuarekin izaten diren kutsadura arazoak (Salgueiro-González et al., 2012).

Esposatutako ontzian, aldiz, BPA (112 ng/L), E2 (102 ng/L) eta 4tOParen (101 ng/g) kontzentrazioak nominalen (150 ng/L) parekoak izan ziren 0. egunean, hau da, arrainik ez zegoen egunean, DESaren kasuan izan ezik, bere kontzentrazioa apur bat baxuagoa baitzen (68 ng/L). Espozizio-egunak aurrera joan ahala, eta arrainak ontzira sartzearekin batera, uretan muki itxura zuten zuntz antzekoak ikusi ziren ontzian (arrainen defentsa mekanismoa, Guardiola et al., 2015). Muki horien agerpenarekin 4tOP, DES eta E2 analitoen kasuan kontzentrazioen beherakada ikusi zen urak 0,45 µm-tako iragazkietatik iragazten zirenean. BParen kasuan 0. egunean neurtutako pareko balioak lortu ziren. Ura iragazi gabe kontzentrazioak 0. eguneko parekoak izan ziren, beraz, gainontzeko egunen urak iragazi gabe egitea erabaki zen. Esperimentuak iraun bitartean neurturiko uren kontzentrazioa hurrengoak izan zen: BPA (97 ± 12), 4tOP (87 ± 24), DES (59 ± 12) eta E2 (78 ± 17). Azkenik, behin arazketa garaira helduta, BPA izan zen antzeman zen konposatu bakarra 47-55 ng/L bitartean, balio horiek kontroleko ontzian neurtutako parekoak ziren, beraz, badirudi arrainek ez zutela inolako konposaturik kanporatu arazketa-egunetan zehar.

3.4 Konposatuen metaketa arrainen organo desberdinetan

Arrainak, 4 EDC desberdinen 150 ng/L-ko kontzentrazioa esposatuak egon ziren arren, 3.3 atalean ikusi den moduan, lehenengo 3 egunetan, lupiak 4 EDCetara esposatuak egon ziren eta ondorengo egunetan, badirudi BPA izan zela uretan disolbaturik zegoen konposatu bakarra.

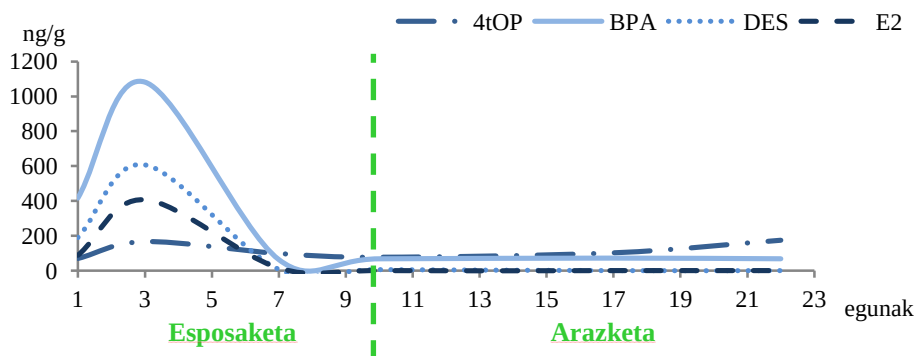
Analitoen metaketa behazunaren

Arrainaren behazunaren 1. egunetik aurrera aztertutako 4 EDCak metatzen hasi ziren (3. irudia) esperimentuko 3. egunera arte, non aztertutako 4 konposatuentzako maximo bat ikusten den. 7. egunetik aurrera ez zen konposatuen inolako metaketarik ikusi eta hemendik aurrerako egunetan ere ez zen inolako konposaturik antzeman. Lehenago aipatu den moduan, 7. egunetik aurrera lortu zen likidoa, behazuna ez zelako susmoa geneukan, eta CHL izan zitekeela uste zen. Hala ere, argi geratzen da arrainaren organismo barruan aldaketak gertatu zirela. Wu eta lankideek (Wu et al., 2016) heldugabeko karpak (*Cyprinus carpio*) BParen kontzentrazio desberdinetara (0,1-1.000 µg/L) esposatu ondoren, gibelaren metabolismoa kaltetu zelako susmoa zuten, analitoen kanporatzea oztopatuz. Gure kasuan, lupiak BParen esposatuak izateaz gain, beste hiru

EDCra esposatuak izan dira. Konposatuena nahasketari esposatuak izan diren arrainen kalteak handiagoak direla kontuan edukita, suposa daiteke BPAk, DES-ak, E2-ak eta 4tOP-ak kalteak sortu zituztela giblean eta, ondorioz, behazunean metatzen diren kontzentrazio-mailan eragina eduki zutela.

BPA da maila altuenean metatu zen konposatua, gero DES, E2 eta metatzeko joera gutxien zuen konposatua 4tOP da (3.irudia). Aipatu beharra dago, BPA izan dela uretan era askean egon den konposatu bakarra, eta hori izan daitekeela BPA kontzentrazio altuenean ikusteko arrazoietakoa bat.

3. irudia. Arrainen behazunean ikusitako metaketa ng/g-tan. 1-10 egunak esposizio garaia dagozkie eta 11-22 egunak arazketa garaia.

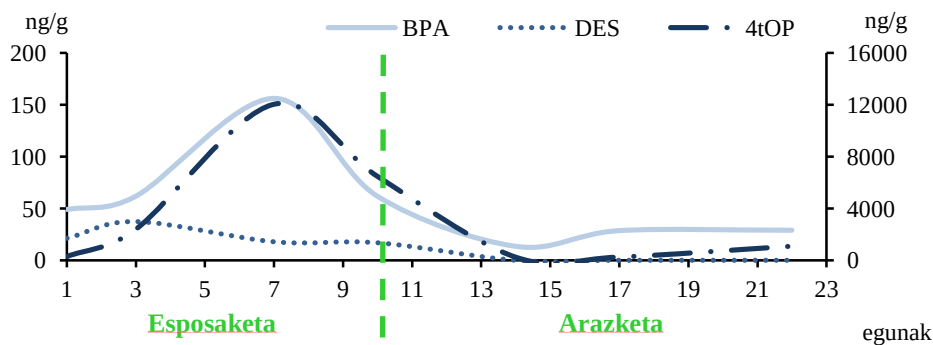


Analitoen metaketa giblean

Gibel laginei dagokienez, DES analitoak metatze maximoa 3. egunean erakutsi zuen bitartean 4tOPk eta BPAk esposizio 7. egunean izan zuten maximoa (4. irudia). Badirudi gibelaren mekanismoa kaltetuz zihoala egunetan zehar eta konposatuak metabolizatu eta behazunaren bidez kaleratu beharrean, giblean metatzen hasi zirela. Hori ikusita, ondoriozta daiteke, EDCen eraginez, gibelaren itxura fisikoa aldatzeaz gain, gibelaren metabolismoa guztiz kalteturik egon zitekeela, eta ondorioz ez zen gai konposatuak hidrolisatzen jarraitzeko.

Arazketa garaia erreparatzen badiogu, konposatuak 14. egunean zuten metatze txiki horrekin, gibelaren metabolismoa apur bat hobetu zelaren susmoa egon daiteke, hala ere, hipotesi hori baieztatu ahal izateko, azterketa gehiago egin behar dira. Gernhoför eta lankideen arabera (Gernhöfer et al., 2001), EDC desberdinetara esposatutako arrainek, 3 hilabete behar izan zituzten arazketa garaian gibela eta giltzurrunaren erabateko berreskurapena lortzeko.

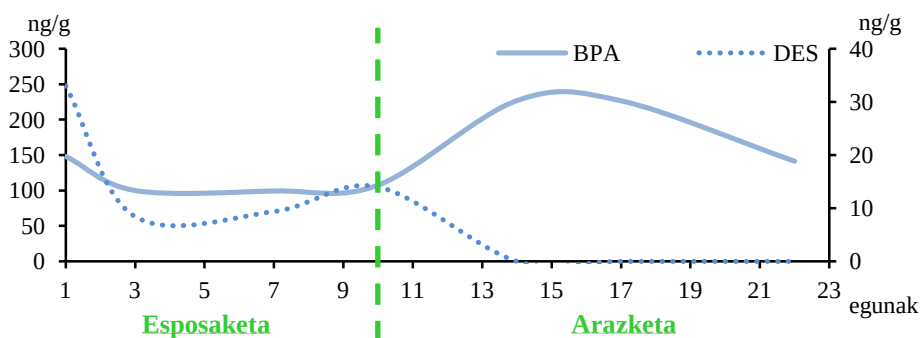
4. irudia. Arrainen giblean ikusitako metaketa ng/g-tan. 4tOP analitoa eskumako Y ardatzean dago irudikaturik eta DES eta BPA ezkerreko Y ardatzean. 1-10 egunak esposatutako garaia dagozkie eta 11-22 egunak arazketa garaia.



Analitoen metaketa plasman

Plasma laginei erreparatzen badiegu (5. irudia), BPA eta DES izan ziren antzemandako EDC bakarrak eta BPA izan zen kontzentrazio altuenean zegoen konposatua. Konposatu horren metaketa esposizioeko lehenengo egunetik hirugarrenera jaitsi egin zen arazketa-garaia heldu arte konstante mantentzeko. Arazketa-garaian, BPAREN kontzentrazioa plasman igo egin zen eta oso astiro jaitsi zen hasierako balioetara heldu arte. DESaren konportamendua antzekoa izan zen esposizio-garaian baina arazketa hasi zenean konposatua metodoaren detekzio muga balioetatik behera zegoen, BPA ez bezala.

5. irudia. Arrainen plasman ikusitako metaketa ng/g-tan. BPA analitoa ezkerreko Y ardatzean dago irudikatuta eta DES eskumako Y ardatzean. 1-10 egunak esposatutako garaia dagozkie eta 11-22 egunak arazketa garaia.



4. Ondorioak

Disruptore endokrinoak diren 4 konposaturen metaketa aztertu zen heldugabeko lupien atal desberdinetan (behazuna, gibela eta plasma). Nahiz eta erabilitako kontzentrazioa baxua izan, askotan ingurumenean aurkitzen denaren parekoa, badirudi nahikoa izan zela aztertutako arrainetan hainbat kalte eragiteko. Posiblea da erabilitako konposatuen nahasketak toxikotasuna handitu izana eta, nahiz eta kontzentrazio baxuak izan, nahikoa izatea heldugabeko arrainetan kalteak eragiteko. Kalte horien ondorioz, badirudi arrainek defentsa mekanismoa martxan jarri zutela konposatu arrotzak gorputzetik kanporatzeko. Esperimentuaren hasieran (1-3. egunak) arrainaren mekanismoak behar bezala funtzionatu zuen konposatuak behazunetik kanporatuz. Egunak aurrera joan ahala, ohiko mekanismoa kaltetzen joan zen eta konposatuak giblean metatu ziren nagusiki. Azkenik, gibelaren mekanismoa are gehiago kaltetzearekin batera, giblean zegoen BPA guztia plasmara igaro delako susmoa dago. Azken finean, konposatu arrotzak kanporatzeko ohiko bideak ez badu funtzionatzen, arrainak beste mekanismo batzuk bilatu behar ditu.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetan lortu diren emaitzak ikusita, argi geratzen laborategiko esperimenduak burutu behar direla ingurumenean gertatzen dena hobeto ulertu ahal izateko. Beraz, etorkizuneko lana, ingurumenean dauden arrainen azterketa egtea ziango litzateke laborategiko esperimenduan lortu dugun informazioaz baliatuz.

6. Erreferentziak

Bergman, Å.; Heindel, J.J.; Jobling, S.; Kidd, K.A.; Zoeller, R.T. (2012): State of the science of endocrine disrupting chemicals. - An assessment of the state of the science of endocrine disruptors prepared by a group of experts for the United Nations Environment Programme (UNEP) and WHO. *World Health Organization*.

Álvarez-Muñoz, D.; Rodríguez-Mozaz, S.; Maulvault, A.L.; Tediosi, A.; Fernández-Tejedor, M.; Van den Heuvel, F.; Kotterman, M.; Marques, A.; Barceló, D. (2015): Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe. *Environ. Res.* 143, Part B, 56-64.

Bizarro, C.; Ros, O. ; Vallejo, A.; Prieto, A.; Etxebarria, N.; Cajaraville, M.P.; Ortiz-Zarragoitia, M.(2014): Intersex condition and molecular markers of endocrine disruption in relation with burdens of emerging pollutants in thicklip grey mullets (*Chelon labrosus*) from Basque estuaries (South-East Bay of Biscay). *Mar. Environ. Res.* 96, 19-28.

Brack, W.; Ait-Aissa, S.; Burgess, R.M.; Busch, W.; Creusot, N.; Di Paolo, C.; Escher, B.I.; Mark Hewitt, L.; Hilscherova, K.; Hollender, J.; Hollert, H.; Jonker, W.; Kool, J.; Lamoree, M.; Muschket, M.; Neumann, S.; Rostkowski, P.; Ruttkies, C.; Schollee, J.; Schymanski, E.L.; Schulze, T.; Seiler, T.-B.; Tindall, A.J.; De Aragão Umbuzeiro, G.; Vrana, B.; Krauss, M. (2016): Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments-An in-depth overview. *Sci. Total Environ.* 544, 1073-1118.

Ferreira-Leach, A.M.R. ; Hill, E.M. (2001): Bioconcentration and distribution of 4-tert-octylphenol residues in tissues of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mar. Environ. Res.* 51, 75-89.

Gernhöfer, M.; Pawert, M.; Schramm, M.; Müller, E.; Triebkorn, R. (2001): Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *J. Aquat.Ecosys. Stress Recov.* 8, 241-260.

Gibson, R.; Tyler, C.R.; Hill, E.M. (2005): Analytical methodology for the identification of estrogenic contaminants in fish bile. *J. Chromatogr. A* 1066, 33-40.

Guardiola, F.A.; Dioguardi, M.; Parisi, M.G.; Trapani, M.R.; Meseguer, J.; Cuesta, A.; Cammarata, M.; Esteban, M.A. (2015): Evaluation of waterborne exposure to heavy metals in innate immune defences present on skin mucus of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Shellfish Immunol.* 45, 112-123.

Martínez-Gómez, C.; Lamoree, M.; Hamers, T.; van Velzen, M.; Kamstra, J.H.; Fernández, B.; Benedicto, J.; León, V.M.; Vethaak, A.D. (2013): Integrated chemical and biological analysis to explain estrogenic potency in bile extracts of red mullet (*Mullus barbatus*). *Aquat. Toxicol.* 134-135, 1-10.

Mortazavi, S.; Riyahi Bakhtiari, A.; Sari, A.E.; Bahramifar, N.; Rahbarizade, F. (2012): Phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in Anzali Wetland, Iran: Elevated concentrations of 4-nonylphenol, octylphenol and bisphenol A. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 1067-1073.

Ros, O. (2016): Metodo analitikoaren garapena disruptore endokrinoen biokontzentrazioa arrainetan determinatzeko. Kimika Analitikoa saila. Euskal Herriko Unibertsitatea.

Ros, O.; Aguirre, J.; Prieto, A.; Olivares, M.; Etxebarria, N.; Vallejo, A. (2015a): Simultaneous enzymatic hydrolysis and extraction of endocrine-disrupting chemicals in fish bile using polyethersulfone polymer. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 7413-7423.

Ros, O.; Vallejo, A.; Blanco-Zubiaguirre, L.; Olivares, M.; Delgado, A.; Etxebarria, N.; Prieto, A. (2015b): Microextraction with polyethersulfone for bisphenol-A, alkylphenols and hormones determination in water samples by means of gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Talanta* 134, 247-255.

Ros, O.; Vallejo, A.; Olivares, M.; Etxebarria, N.; Prieto, A. (2016): Determination of endocrine disrupting compounds in fish liver, brain and muscle using focused ultrasound solid-liquid extraction and dispersive solid phase extraction as clean-up strategy. *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 5689-5700.

Salgueiro-González, N.; Concha-Graña, E.; Turnes-Carou, I.; Muniategui-Lorenzo, S.; López-Mahía, P.; Prada-Rodríguez, D. (2012): Determination of alkylphenols and bisphenol A in seawater samples by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry for compliance with environmental quality standards (Directive 2008/105/EC). *J. Chromatogr. A* 1223, 1-8.

Stasinakis, A.S.; Mermigka, S.; Samaras, V.G.; Farmaki, E.; Thomaidis, N.S. (2012): Occurrence of endocrine disrupters and selected pharmaceuticals in Aisonas River (Greece) and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 1574-1583.

Stellaard, F.; von Bergmann, K.; Sudhop, T.; Lütjohann, D. (2016): The value of surrogate markers to monitor cholesterol absorption, synthesis and bioconversion to bile acids under lipid lowering therapies. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*

Tang, J.Y.M.; McCarty, S.; Glenn, E.; Neale, P.A.; Warne, M.S.J.; Escher, B.I. (2013): Mixture effects of organic micropollutants present in water: Towards the development of effect-based water quality trigger values for baseline toxicity. *Water Res.* 47, 3300-3314.

Wang, B.; Dong, F.; Chen, S.; Chen, M.; Bai, Y.; Tan, J.; Li, F.; Wang, Q. (2016): Phenolic endocrine disrupting chemicals in an urban receiving river (Panlong river) of Yunnan-Guizhou plateau: Occurrence, bioaccumulation and sources. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 128, 133-142.

Wu, M.; Pan, C.; Yang, M.; Xu, B.; Lei, X.; Ma, J.; Cai, L.; Chen, J. (2016): Chemical analysis of fish bile extracts for monitoring endocrine disrupting chemical exposure in water: Bisphenol A, alkylphenols, and norethindrone. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 182-190.

Yang, J.; Li, H.; Ran, Y.; Chan, K. (2014): Distribution and bioconcentration of endocrine disrupting chemicals in surface water and fish bile of the Pearl River Delta, South China. *Chemosphere* 107, 439-446.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Espainiako Zientzia eta Berrikuntzako ministerioak eta Europako Garapen Eskualdeko diru-laguntzaz (ERDF) finantzatua izan da CTM2014-56628-C3-1-R proiektuaren bidez. O. Rosek eskerrak eman nahi dizkio Euskal Herriko Unibertsitateari doktore aurreko laguntzagatik. Lan hau “metodo analitikoen garapena disruptore endokrinoen biokontzentrazioa arrainetan determinatzeko” tesiaren eratorria da (Ros, 2016).

Epoxi erretxina/Poli (ϵ -kaprolaktona) itsasgarri itzulkorra

Oihane Llorente, Alba González, Lourdes Irusta

POLYMAT, Polimeroen Zientzia eta Teknologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea
UPV/EHU, Kimika Fakultatea, Manuel de Lardizabal paseabidea 3, 20018, Donostia
oihane.llorente@ehu.eus

Laburpena

Lan honetan, propietate itsasgarri itzulkorrak dituen material polimeriko adimendu baten sintesia, karakterizazioa eta aplikazioa gauzatzeko hainbat teknologia ikertu eta garatzea proposatzen da. Horretarako, bi osagaien nahaste fisikoan oinarritutako proportzio ezberdinetako formulazioak sintetizatuko dira. Osagaiak, propietate itsasgarriak dituen material termoplastiko erdikristalino eta itsasgarriari propietate mekaniko eta estrukturalak emango dizkion erretxina termoeonkor bat izango dira.

Hitz gakoak: Polimero adimendua, itsasgarria, itzulgarria, fusio-tenperatura

Abstract

In the present work, smart polymers were used in order to develop different technologies for the synthesis, characterization and application of reversible adhesives using the characteristic transitions that take place in polymers. For this, different formulations were synthesized based on the physical mixture of two components. The adhesive consists on a semi crystalline thermoplastic that has adhesive properties and a epoxy resin, whose function is to give to the adhesive mechanical and structural properties. Consequently, the material is both a rigid and a reversible adhesive.

Keywords: Smart polymer, adhesive, reversible, melting point

1. Sarrera eta motibazioa

Polimeroen arloan gehien suspertzen ari den gaietako bat kanpo-estimuluei erantzuteko gai diren material polimeriko sintetikoena da. Polimero hauei polimero adimendun (smart polymers) deritze, eta nahiz eta aspalditik ezagutzen diren, batez ere azken urteetan propietate kontrolagarriak dituzten polimeroen sintesi eta diseinuaren ikerkuntzak garapen eta hobekuntza ugari jasan ditu (Liu eta Urban, 2010).

Gure lanaren motibazioa kontzeptu hau itsasgarri itzulkorren garapenean erabiltzea izan da. Azken urteetan itsasgarrien teknologiak jasan duen gorakadari esker, orain arte erabiltzen ziren aingura mekanikoak itsasgarriekin ordezkatu dira. Nahiz eta itsasgarrien alorrean hobekuntza ugari egin diren, erronka garrantzitsua da eskariaren arabera itsasgarri baten sorrera, hau da, erabiltzailearen nahiaren arabera egoera itsasgarri batetik ez-itsasgarri batera pasatzearena. Horregatik, garatutako itsasgarriak aplikazio industrial zuzena eduki dezake (Kamperman eta Synytska, 2012).

Lan honetan, tenperaturarekiko sentikorrak diren propietate itsaskor itzulgarriak dituzten material polimeriko adimenduen sintesi eta karakterizaziorako metodologia desberdinen ikasketa eta garapena proposatzen da, sistema polimerikoetan gertatzen diren fase trantsizioak direla medio.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Polimero adimendunak kanpo-estimuluei edo inguruneke aldaketei erantzuteko gai diren polimeroak dira. Material hauek tenperatura, pH edo erradiazio elektromagnetikoa bezalako kanpo-estimulu edo inguruneke baldintzak aldatzen direnean morfologiaz aldatzeko berezitasuna daukate, hau da, "estimulu-erantzun" portaera daukate. Erantzunak fisikoak edo kimikoak izan daitezke eta estimulu askok erantzun bakarra sor dezakete edo estimulu bakarrak erantzun asko. Orain arte garatutako lanek, polimero disoluzioen, gelen, gainazalen, interfaseen

eta solido polimerikoen portaera ikertu dute eta honi esker “estimulu-erantzun” portaerak bioteknologia edo biomedikuntza bezalako arloetan aplikazio berrien garapena sustatu du.

Zentzu honetan, azkenaldian asko dira itsasgarri itzulgarriak sintetizatzeke helburuarekin egin diren ikerketak, ingurune aldaketa edo kanpo-estimuluekin aktibatu eta desaktibatzeke gaitasuna dutenak.

Argiarekin aktibatzen diren sistemen barruan, presioarekiko sentikorrak diren itsasgarri kommutagarriak (PSA edo pressure-sensitive adhesive) azpimarratzen dira (Chivers, 2001; Webster, 1999). Argiarekin kontaktuan saretu egiten dira eta kimikoki modifikatu egin dira desitsaspena errazteko. Nabarmentzekoak dira fase akuosoan dauden itsasgarriak, ingurune pH-a aldatuz aktibatu eta desaktibatu daitezkenak. Beste itsasgarri batzuk fluido magnetorreologikoak erabiltzen dituzte eta kanpo-eremu magnetiko baten pean itsasteko ahalmena dute. Hala ere, beste itsasgarri batzuekin konparatuz sistema hauen fabrikazio prozesua konplexua izateak eskala handietan aplikazioa murrizten du.

Itsasgarri itzulkorrek lortzeko beste metodo erraz bat polimero termoplastiko erdikristalinoak termoeogonkorrekin nahastea da (Chen eta Chang, 2001; Luo et al., 2010; Remiro et al., 2002; Vanden Poel et al., 2005). Polimero termoeogonkorrearen saretzeak fase-banaketa eragiten du, non polimero termoplastikoa fase jarraia eta termoeogonkorra fase dispartsoa izango diren. Material bifasikoa polimero termoplastikoaren fusio-puntua baino altuagoa den tenperatura batera berotzerakoan, materialak gainazalera migratuko du eta horri esker hozterakoan materialak kontaktuan dituen gainazalak itsatsiko ditu. Lan honetan estrategia hau erabiliko da itsasgarri itzulgarriak sintetizatu eta eskala handian prozesu erraz, ekonomiko eta lehiakorra izateke helburuarekin.

Helburua, ohiko itsasgarriek ez bezala, egoera urtuan zurruntasun handia mantenduko duen eta eskakizunpean aska daitekeen itsasgarri baten lorpena da. Garrantzitsuak dira itsasgarriak itsaspen gainazalean aztarnarik ez uztea eta ziklo kopuru anitzetan berrerabiltzeko gaitasuna. Ezaugarri hauek lehengai eta baliabideen erabileraren efikazian eragin nabarmena izan dezakete. Helburua lortzeko, ondorengo helburu espezifikoak planteatu ditzakegu:

- 1) Itsasgarriaren lorpena
- 2) Lortutako itsasgarrien karakterizazio kimiko eta fisikoa
- 3) Lortutako materialen propietate itsasgarrien neurketa

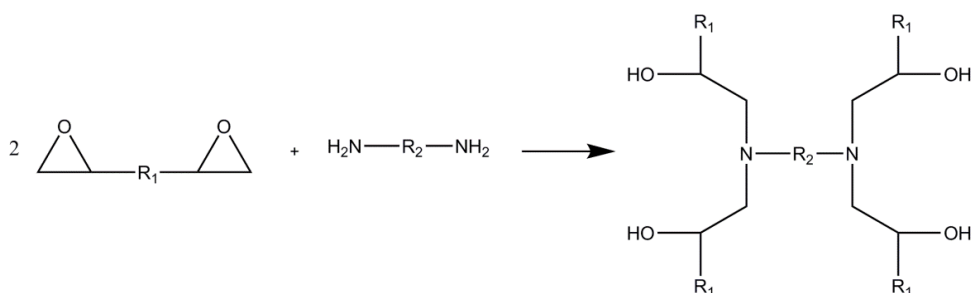
3. Ikerketaren muina

3.1 Alde esperimentalak

Materialak. Poli (ϵ -kaprolaktona) (PCL) (Perstorp), Bisfenol A Diglizidil etera (DGEBA) (Sigma Aldrich) eta 4,4'-diaminodifenil sulfona (DDS) (Sigma Aldrich) erabili dira.

Erreakzioa. DGEBA/PCL arteko proportzio desberdineko nahasteak sintetizatu eta karakterizatu dira. Sintesia burutzeko erreaktorean Bisfenol A diglizidil etera (DGEBA) eta poli (ϵ -kaprolaktona) (PCL) 120 °C-tan eta irabiatze-abiadura konstantepean (200 rpm) nahastu dira. Ondoren, tenperatura 140 °C-tara igotzen da, saretze-agentearen disolbagaritasuna handitzeko asmoz, eta proportzio egokia 4,4'-diaminodifenil sulfona (DDS) gehitzen da. Nahaste homogeneoa lortutakoan, 120 °C-tan desgasifikatu egiten da irabiatzeak sortu ditzakeen aire-burbuilak ezabatzeko eta bukatzeko tefloizko moldeetan 180 °C-tan labean sartzen da saretze-erreakzioa gerta dadin. Saretzean OH taldeak sortzen dira DGEBA-ren eraztun epoxidikoen irekieraren ondorioz. 1.irudian DGEBA eta DDS-ren arteko erreakzioaren eskema ikus daiteke:

1. irudia. DGEBA eta DDS-ren arteko saretze-erreakzioa



Teknikak. Saretze-prozesuaren jarraipena espektroskopia infragorriarekin (FTIR) egin da, erabateko erreflektantzia indargabetua (ATR) erabiliz Nicolet 6700 FTIR aparatu batean.

Propietate termikoak ekorketa kalorimetria diferentzialaren (DSC, TA Instruments Q2000) eta termogravimetriaren (TGA, TA Instruments Q500) analisiaren bidez aztertu dira. DSC bidez trantsizio termikoetan formulazioak eta saretzeak PCL-ren fusio (T_m) eta kristalizazio tenperaturaren (T_c) duen eragina aztertu dira, $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ -ko berotze-abiadura eta nitrogenozko atmosferan -20 eta $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ artean bi ekorketa eginez. TGA-rekin laginen egonkortasun termikoa aztertu da laginaren masa galera tenperaturaren aurrean irudikatuz. Kasu guztietan laginak giro-tenperaturatik $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tara berotu dira $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ -ko berotze-abiadura batekin nitrogeno atmosferapean.

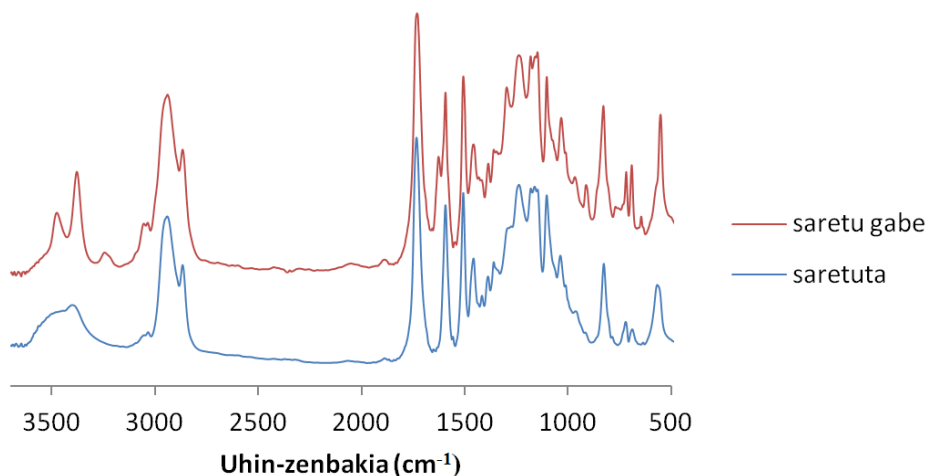
Morfologiaren analisia ekorketako mikroskopia elektroniko (SEM) bidez Hitachi S-2700 ekipoa egin da. Gainazala aztertzeko laginak kriogenikoki hautsi dira eta nahasteen proportzioak eta saretzeak morfologian duen eragina aztertu dira.

Itsaskortasuna PosiTest AT-A aparatuarekin neurtu da. Saretutako laginak altzairuzko xafla baten gainean eta $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tan ordu batez itsatsi ondoren neurketak giro-tenperatura egin dira.

3.2 Emaitzak eta eztabaida

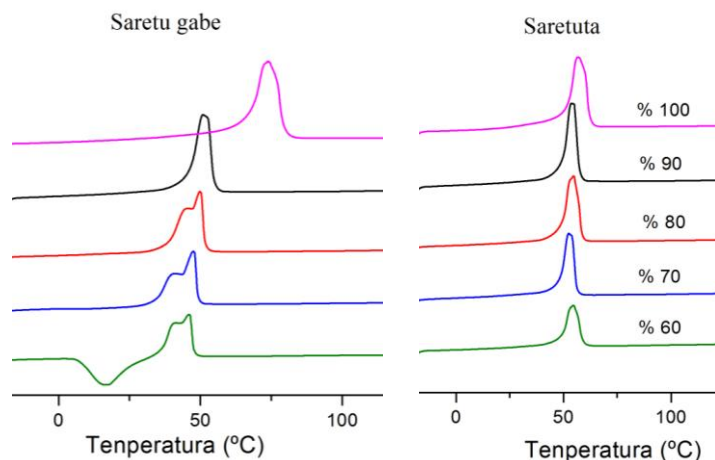
Espektroskopia infragorria (FTIR). 2.irudian ikus daitezkeen espektroak saretu gabeko eta saretutako laginei dagozkienak dira. Erreakzioaren ondorioz NH taldeari ($3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$, 1631 cm^{-1}) eta oxirano taldeari dagozkion bandak desagertu (915 cm^{-1}) edo txikitu (831 cm^{-1}) egiten dira eta $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ uhin-zenbakian OH taldeari dagokion banda zabala agertzen da.

2. irudia. Saretzearen jarraipena infragorritz

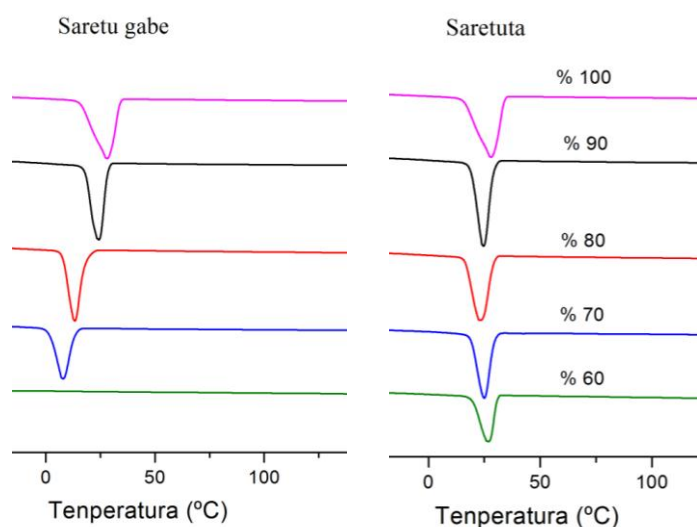


Ekorketa kalorimetria diferentziala (DSC). 3 eta 4. irudietan saretu gabeko eta saretutako nahasteen termogramak ageri dira (lagina berotu eta hozterakoan).

3. irudia. PCL proportzio desberdineko laginen urtzea



4. irudia. PCL proportzio desberdineko laginen kristaltzea



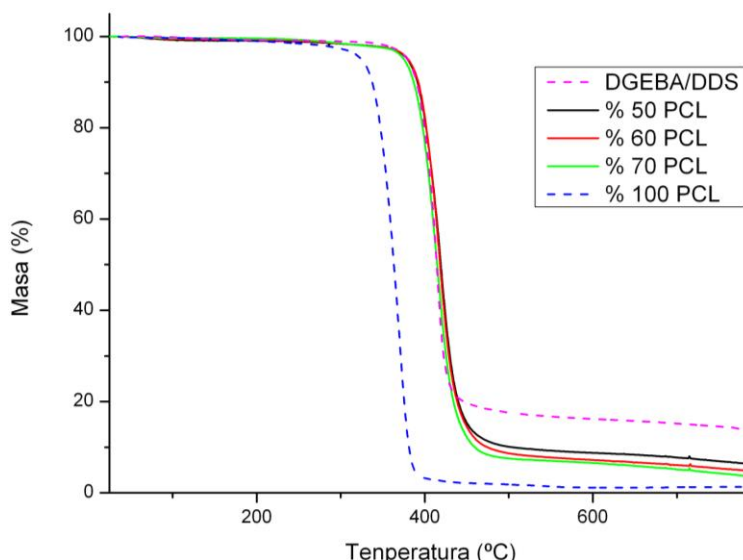
Nahasteak berotzerakoan PCL-ren kristaltasunari dagokion endoterma bat azaltzen da eta hozterakoan ordea, kristaltasunari dagokion exoterma bat.

Trantsizio hauen tenperaturari dagokionez, saretu gabeko laginetan fusio-tenperatura (T_m) handitu egiten da nahastearen PCL kantitatea handitu ahala; saretutako laginetan T_m -ren balioak ez du aldaketarik jasaten, konstante mantentzen da. Honek, saretutako laginetan fase banaketa gertatzen dela adierazten du. Saretu gabeko laginetan argi ikusten da DGEBA-k PCL-ren kristalizazioa eragozten duela geroz eta tenperatura baxuagoetan agertzen baita fusioa.

Kristalizazioa lagina hozterakoan gertatzen da piko exotermikoa agertzen baita, % 60 PCL duen laginean izan ezik (piko exotermikoa berotzean). Saretu gabeko laginetan, kristalizazio-tenperatura PCL kantitatearekin handitzen dela ikus daiteke, DGEBA-ren eragozpena txikiagoa delako. Saretutako laginen kasuan, kristalizazioa PCL puruaren tenperatura berdinean agertzen da, desberdintasun bakarra piko exotermikoaren azalera dago, PCL kantitatearekin handitu egiten dela. Datu hauek saretze-erreakzioak fase banaketa eragiten duela baieztatzen dute, nahasteen DGEBA/PCL kantitateak saretu gabeko laginetan bakarrik eragiten baitu.

Termograbimetria (TGA). 5.irudian nahasteen eta osagai puruen termogramak ageri dira. PCL puruaren egonkortasun termikoa nahasteen eta saretutako epoxiaren egonkortasuna baino txikiagoa dela ikus daiteke.

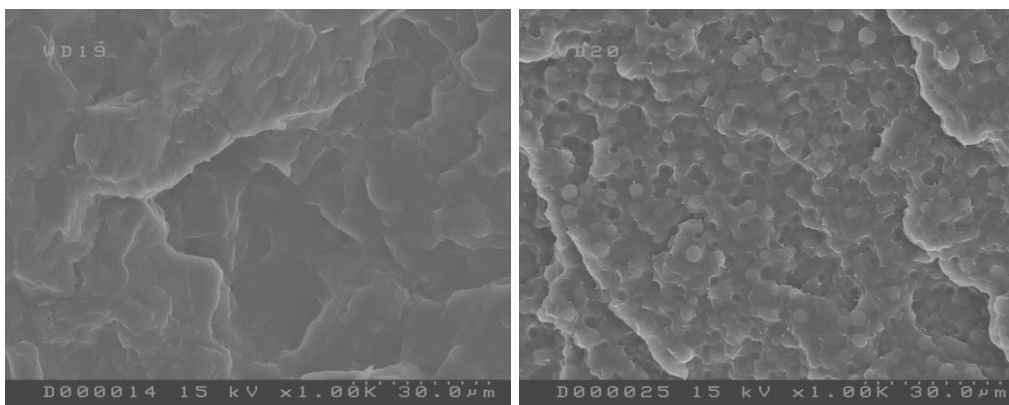
5. irudia. Osagai puruen eta nahasteen termogramak



800 °C-tan dauden hondakinen portzentaia PCL kantitatearekin txikitu egiten da, hondakin hau saretuta dagoen epoxiari dagokiolako.

Ekorketako mikroskopia elektronikoa (SEM). 6.irudian saretu gabeko eta saretutako % 60 PCL duen laginaren irudiak ageri dira.

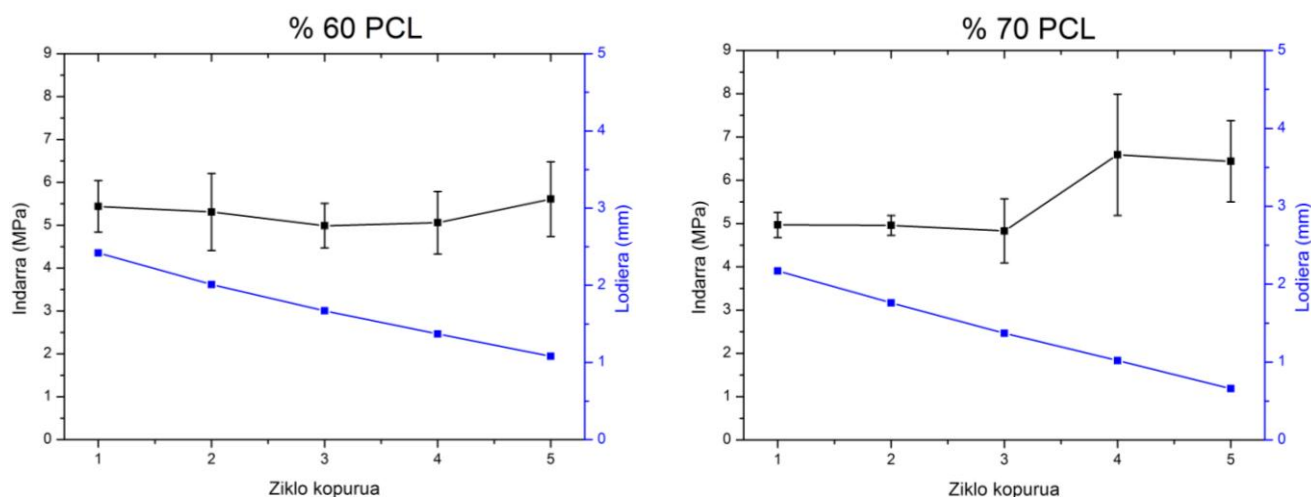
6. irudia. Saretu gabeko (ezkerrekoa) eta saretutako (eskuinekoa) laginen SEM irudiak



Saretu gabeko irudian, nahaste nahaskor bati dagokionez, ezin dira PCL eta DGEBA faseak bereizi. Saretze-erreakzioak fase banaketa eragiten duenez faseak identifika daitezke: matrizea PCL-z osatuta dago eta esferak DGEBA dira.

Itsaskortasuna. % 60 eta 70 PCL duten formulazioen itsaskortasuna neurtu da. Neurketa egiteko laginak altzairuzko xafla baten gainean labean 120 °C-tan 60 minutuz eduki dira. Itsasgarriak ziklo desberdinak jasateko duen ahalmena eta ziklo bakoitzean duen lodiera neurtu dira, emaitzak 7.irudian laburbiltzen dira:

7. irudia. Ziklo desberdinetan % 60 eta 70 PCL duten laginen itsaskortasun-indarra



% 60 PCL laginean ziklo batetik bestera itsaskortasun-ahalmena oso gutxi aldatzen dela ikus daiteke, laginaren lodiera ordea, ziklo kopuruekin txikitzen da. Ondorioz, itsasteko gaitasuna ez dago laginaren lodieraren menpe.

% 70 PCL daukan laginaren kasuan aldiz, lehenengo 3 zikloetan aurreko portaera berdina ikus daiteke, baina ziklo kopurua handitu ahala, desbiazio estandarra asko handitzen da, lodiera asko txikitzen baita eta datua ez-fidagarri bilakatzen da.

4. Ondorioak

Espektroskopia infragorriarekin eraztun epoxidikoaren irekiera eta NH taldeen desagerpenaren jarraipena egin da. Polimerizazio-erreakzioak DGEBA eta PCL-aren arteko fase banaketa eragiten du, hasieran nahaskorrak ziren nahaste batetik abiatuz bi fase nahastezin lortu baitira. Fase banaketa hau DSC eta SEM bidez baieztatu da. Lehenengo kasuan, proportzio desberdineko nahasteen T_m eta T_c -ren datuei esker egin da eta bigarreanean gainazaleko morfologia aztertuz. TGA bidez ikusi da saretutako epoxiaren presentziak nahastearen egonkortasun termikoa handitzen duela. Itsaskortasunarekin neurketekin egiaztatu da PCL-ak itsasteko gaitasuna duela, PCL %60 eta 70 duten laginek itsaste-indar antzekoa eta laginaren lodiera kritikoa denean bakarrik garrantzia duela ikusi da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Itsasgarriaren aplikazio industrialaren garapena egiteko, itsaskortasun neurriak gainazal desberdinetara, itsasgarrien itzulgarritasun mailaren zehaztapena eta lortutako materialen industri-erabilerako gaitasunaren azterketa egitea planteatzen da etorkizunerako lan bezala.

6. Erreferentziak

- Chen, J. L. eta Chang, F.C. (2001), Temperature-dependent phase behavior in poly (ϵ -caprolactone)-epoxy blends, *Polymer*, 42, 2193-2199.
- Chivers, R. A. (2001), Easy removal of pressure sensitive adhesives for skin applications, *International Journal of Adhesion & Adhesives*, 21, 381-388.
- Kamperman, M. eta Synytska, A. (2012), Switchable adhesion by chemical functionality and topography, *Journal of Materials Chemistry*, 22, 19390-19401.
- Liu, F. eta Urban, M. W. (2010), Recent Advances and challenges in designing stimuli-responsive polymers, *Progress in Polymer Science*, 35, 3-23.

- Luo, X. et al. (2010), A thermally responsive, rigid and reversible adhesive, *Polymer*, 51, 1169-1175.
- Remiro, P. M. et al. (2002), The effect of crosslinking and miscibility on the thermal degradation of an uncured and an amine-cured epoxy resin blended with poly (ϵ -caprolactone), *Polymer Degradation and Stability*, 78, 83-93.
- Vanden Poel, G. et al. (2005), Reaction induced phase separation in semycrystalline thermoplastic/epoxy resin blends, *Polymer*, 46, 10758-10771.
- Webster, I. (1999), The development of a pressure-sensitive adhesive for trauma-free removal, *International Journal of Adhesion & Adhesives*, 19, 29-34.

7. Eskerrak eta oharrak

Egileek Eusko Jaurlaritza (IT618-13) eta Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU (UFI 11/56) eskertu nahi dituzte lan hau aurrera eramateko jasotako diru-laguntzagatik.

Angelman Sindromearen oinarriak ikertzen: Zein da UBE3Aren biktima?

Elu N.¹, Ramirez J.¹, Lectez B.¹, Osinalde N.², Mayor U.¹.

¹*Biokimika eta Biologia Molekularra saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV-EHU, 48940 Leioa, Bizkaia*

²*Biokimika eta Biologia Molekularra saila, Farmazia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV-EHU, 01006 Gasteiz, Araba*
nagoelu@gmail.com

Laburpena

UBE3A proteinak berebiziko garrantzia dauka garunaren garapen eta funtzionamenduan, eta berau falta denean Angelman Sindromea (AS) deritzon gaitz latza garatzen da. UBE3A-ren betebeharra proteinei ubikuitina deitzen den molekula txiki bat txertatzea da. UBE3A-ren biktima edo ituak diren proteina gutxi batzuk identifikatuta dauden arren, oraindik ez dira egiaztatu. Ikerketa honetan proteina horietako bat – DDII – UBE3A-ren substratu dela ziurtatu da. Bestalde, UBE3A-ren aurkako funtzioa burutuz DDII deubikuitinatzeaz arduratzen diren lau proteina kandidatu identifikatu dira. Lan honek etorkizunerako ikerketa bide berriak irekiko ditu, gaixotasunaren oinarria hobeto ulertzen laguntzen baitu.

Hitz gakoak: Angelman Sindromea, ubikuitinazioa, substratua, UBE3A.

Abstract

The UBE3A protein is a critical enzyme required for appropriate brain development and function, whose lack in the brain causes the Angelman Syndrome (AS). The role of UBE3A consists on adding ubiquitin molecules to target proteins. Although some proteins have been identified as UBE3A substrates, none of them have been validated yet. In this research, one of those proteins – DDII – has been validated as a UBE3A substrate. Additionally, four UBE3A counteracting proteins have been identified as putative DDII deubiquitinases. This study will open new research lines, as it helps to understand the basis of the disease.

Keywords: Angelman disease, ubiquitination, substrate, UBE3A.

1. Sarrera eta motibazioa

Angelman Sindromea (AS) adimen urriko gaixotasun neurologiko bat da, autismoaren antza daukana. Gaixotasun arraroen taldean dago sailkatua, izan ere bere intzidentzia 1:20,000koa baita. Gaixoek epe-luzeko zaintza behar izaten dute eta momentuz gaitz honek ez dauka sendabiderik eta sintomak arintzeko tratamenduak murrizak dira.

Gaixotasun honen ezaugarrien artean, garapenaren atzerapena, mugimendu eta orekaren asaldura eta hitz egiteko zailtasunak aurkitzen dira. Azpimarratu behar da sindrome hau duten hurrek oso ordu gutxi egiten dituztela lo, eguneko 4 edo 5 ordu soilik (Angelman Sindromearen Elkarteko gurasoen komunikazio pertsonala), gurasoentzako eta zaintzaileentzako presio handia suposatzen duelarik.

Angelman Sindromearen jatorria UBE3A proteina kodetzen duen genean dago. Garunean gene honen aitaren aleloa inaktiboa da, hortaz, amaren aleloa falta denean edota mutaturik dagoenean, UBE3A proteina aktiboaren maila behar baino baxuagoa da eta gaixotasuna garatzen da (Kishino et al., 1997; Matsuura et al., 1997).

UBE3A-ren funtzioa proteinei ubikuitina deitzen den tamaina txikiko proteina bat gehitzea da. Prozesu honi ubikuitinazio deritzo eta proteinen hainbat aspektu erregulatzen ditu, besteak beste degradazioa eta aktibitatea. Bistakoa da UBE3A-k garunean betetzen duen funtzioak berebiziko garrantzia duela kontuan izanda bere gabeziak sortzen duen gaitzaren larritasuna. Hala ere, oraindik argitzeko dago UBE3A-ren galerak nola eragiten duen garunaren funtzioan.

UBE3A-ren jarduera estuki erregulatuta dago beste proteina ezberdinekin dituen elkarrekintzen ondorioz (Kuhnle et al., 2011; Mortensen et al., 2015). Hau da, UBE3A eta bere kontrako jarduera burutzen duten deubikuitinasak, DUB bezala ere ezagunak, elkarrengandik gertu aritzen dira modu koordinatuan proteinen ubikuitinazio-maila erregulatuz. Alabaina, oraindik ez da ezagutzen zeintzuk diren UBE3A-k *in vivo* ubikuitinatzen dituen proteinak (UBE3A-ren substratuak), ezta proteina horiek deubikuitinatzeaz arduratzen diren DUB-ak zeintzuk diren ere.

Zeluletan oinarritutako ikerketetan hainbat proteina proposatu dira UBE3A-ren substratu gisa (Sell eta Margolis, 2015). Are gehiago, gure laborategian garatutako metodologia masa espektrometria analisiekin uztartuz, hainbat proteina UBE3A-ren substratu gisa identifikatu ditugu *Drosophila melanogaster* eulian (Lee et al., 2014; Ramirez et al., 2015). Hala ere, identifikatutako proteina horiek benetan UBE3A-ren substratu direnzentz ez da oraindik egiaztatu.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Aurrez esan bezala, AS sendabiderik ez duen gaixotasuna da eta bere sintomak arintzeko tratamenduak oso urriak dira. Gaixotasunaren eragilea UBE3A-ren gabezia dela jakina den arren, oraindik ez dago argi zer gertatzen den garunean. AS-arekin erlazionatutako garuneko proteinak identifikatuz eta ikertuz, hain latza den gaixotasun honen tratamendurako edota sintomak arintzeko bide berriak ireki daitezkeelakoan gaude.

Ikerketaren helburuetako bat gure taldean bertan UBE3A-ren substratu gisa identifikatutako proteina bat, zehazki DDI1 delakoa, benetan UBE3A-ren substratua dela egiaztatzea da. Proteina honek zein prozesutan parte hartzen duen jakinez gero, tratamendu posible baterako aukerak emendatuko lirateke.

Bigarren helburua UBE3A-ren substratu gisa identifikatutako DDI1 proteinari ubikuitina kentzen dion deubikuitinasa edo DUB-a zein den identifikatzea da. UBE3A ez daukaten gaixoetan DUB hori inhibituz, beraien substratua den proteinaren ubikuitinazio-maila berrezarriko litzateke neurri batean behintzat. Hori horrela izanik, hein batean gaixotasunaren sintomak arindu litezkeelakoan gaude.

3. Ikerketaren muina

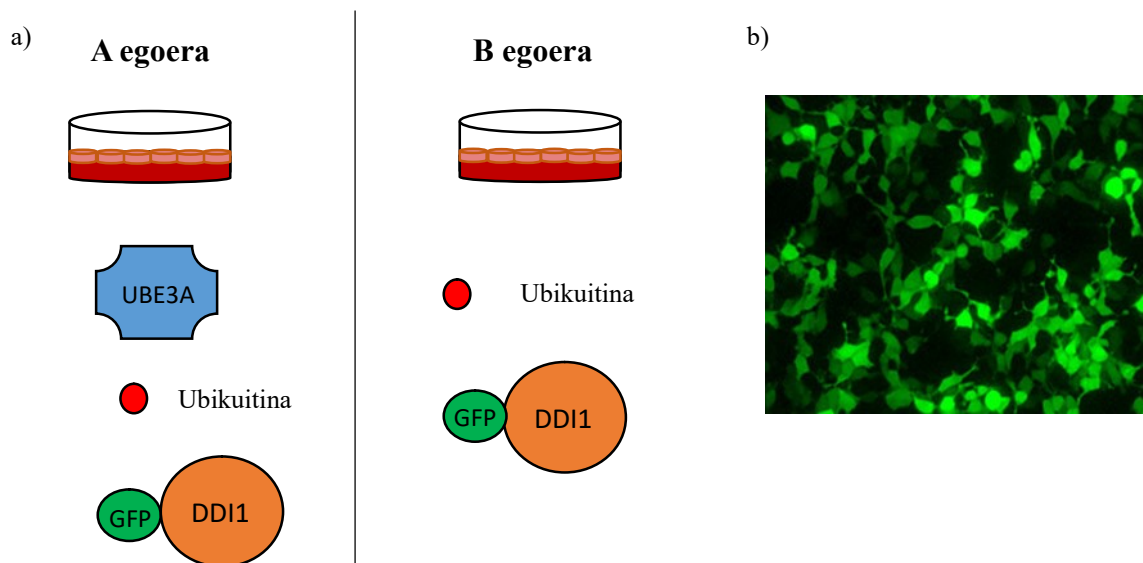
A. Identifikatutako UBE3A-ren substratu baten egiaztapena

Angelman Sindromeari aurre egiteko tratamendu berriak diseinatzeko bidean, UBE3A-ren substratuak zeintzuk diren identifikatu eta egiaztatzea ezinbestekoa da sistema bere osotasunean ulertu ahal izateko. Aurreko ikerketa batean gure taldeak UBE3A-ren substratu posible batzuk identifikatu zituen *Drosophila melanogaster* eulian (Ramirez, 2015). Alabaina, beste teknika bat erabiliz egiaztatu behar da substratuaren identifikazioa zuzena dela.

Egiaztapen horretarako jarraian azaltzen den **ubikuitinazio-entsegua** erabili dugu. Metodo hau substratuaren ubikuitina kantitatea (ubikuitinazio-maila) neurtzean oinarritzen da. Proteina bat UBE3A-ren substratu baldin bada, UBE3A-k ubikuitinak gehituko dizkio, eta beraz, bere presentzian ubikuitinatuago egongo da. Aldiz, proteina hori ez bada UBE3A-ren substratua, UBE3A-rekin nahiz UBE3A-rik gabe proteina horren ubikuitinazio-maila berdina izango da.

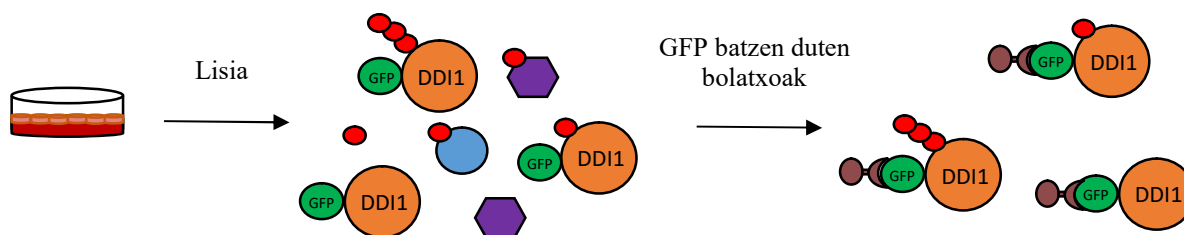
Hau horrela izanik, ubikuitinazio-entsegua bi egoera ezberdin aztertzen dira (1.a irudia): batean zelulek UBE3A kantitate gehiago dute eta bestean berriz ez. Gainera, bi egoeretan ubikuitina eta egiaztatu nahi den proteina (kasu honetan DDI1) adierazten dira zeluletan. DDI1 proteina honek molekula bat du atxikituta, GFP deiturikoa (green fluorescent protein). Molekula hau fluoreszentea denez, esperimentuaren hasieran mikroskopia bidez ikusi daiteke zelulek egiaztatu nahi dugun proteina hori adierazten dutela (1.b irudia).

1. irudia. Ubikuitinazio-entsegua burutzeko planteatutako bi egoerak eta mikroskopia fluoreszentez ikusi daitekeen substratuaren adierazpena.



Behin zelulek dagozkien proteinak adierazten dituztela frogatuta (1.b irudia), DDI1en ubikuitinazio-maila aztertzeke nolabait “arrantzatu” egin behar da. Horretarako, bi egoeretako zelula multzoak liseritu egiten dira, hots, mintza apurtzen zaie zelulako proteina guztiak kanporatzeko (2. irudia). Proteina multzo handi horretan, DDI1 proteinak (2. irudia, laranja) bakarrik dauka GFP atxikituta (2. irudia, berdez), molekula hau ez baita ugaztun zeluletan azaltzen. Horregatik, espezifikoiki GFP-rekin batzen diren bolatxoak (2. irudia, marroiz) erabiltzen dira intereseko proteina “arrantzatzeko”. Bolatxoaren eta intereseko proteinaren GFP-aren artean sortzen den lotura oso sendoa da. Horri esker hainbat garbiketa zorrotz eginez, gainerako proteina ez-espezifiko guztiak (2. irudia, urdinez eta moreaz) baztertzen dira. Jarraian, lagina irakinez bolatxoaren eta GFP molekulen arteko loturak apurtzen dira eta intereseko proteina (DDI1-GFP) isolatzea lortzen da. Aipatu beharra dago proteinek ubikuitina (2. irudia, gorri) bat baino gehiago lotzeko gaitasuna dutenez, DDI1en forma ubikuitinatu guztiak (ubikuitina batekin, birekin, hirurekin...) isolatu daitezkeela prozedura honekin.

2. irudia. Substratua isolatzeko erabilitako metodologiaren urratsak.

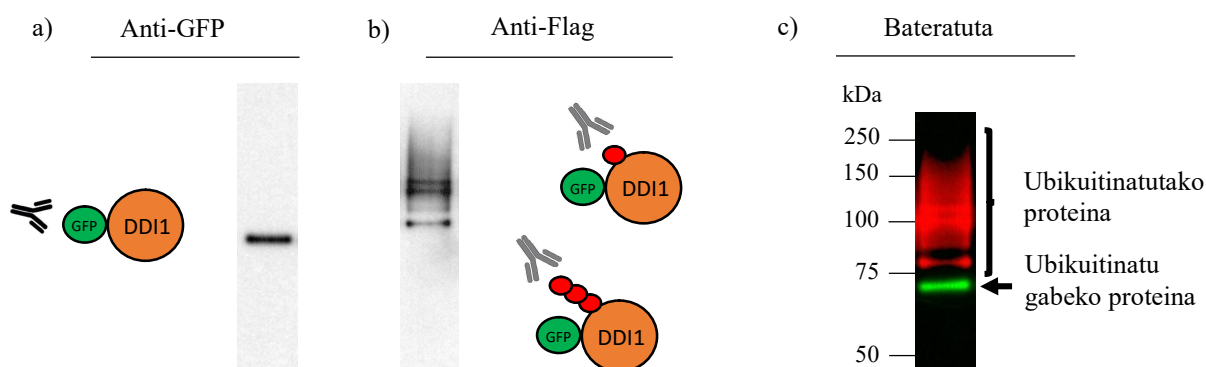


Behin DDI1 arrantzatuta, bai detektatzeko, baita bere ubikuitinazio-maila aztertzeke, antigorputzak erabiltzen dira, hots, proteina konkretuak oso modu espezifikoan ezagutzen dituzten molekulak (3. irudia). Horretarako, proteinak beraien pisu molekularren arabera banatzen dira mintz batean eta mintz hori antigorputzekin inkubatzen da. Antigorputzak ezagutzen duten proteinari batzen direnean, eta errektibo jakin bat gehitzean, argia emititzen dute. Errebelatzeko mintzak erabiliz, argi

horrek arrasto beltz bat uzten du proteina dagoen lekuan (3.a eta 3.b irudiak) eta seinale hori begi bistaz ikusi daiteke (oinarria argazkiak errebelatzeko metodologiaren berdina da).

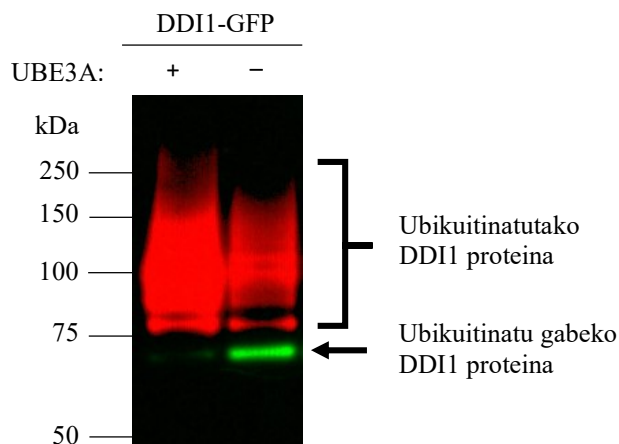
Batetik, GFP molekula ezagutzen duen antigorputz bat (anti-GFP) erabiltzen da lagin guztietan substratua badagoela ziurtatzeko. Zelulako substratu gehiena ubikuitinatu gabe dagoenez, antigorputz honekin tamaina konkretu bateko banda bakarra detektatzen da (3.a irudia). Bestalde, substratuaren ubikuitinazio-maila detektatzeko ubikuitina ezagutzen duen antigorputza erabiltzen da (anti-Flag, zehazki ubikuitinak itsatsita daukan Flag etiketa ezagutzen duelako). Arestian aipatu bezala, proteinekin, hala nola DDI1ek, hainbat ubikuitina izan ditzakete (bakarra, bi, hiru etab). Ondorioz, forma horietako bakoitzari dagokion banda guztiak detektatu daitezkeenez, tamaina ezberdin askotako bandez osatutako arrasto luze bat detektatzen da antigorputz honekin (3.b irudia). Anti-GFP eta anti-Flag bidez lortutako irudi biak gainjarri egin daitezke, bakoitzari kolore bat emanez; gorriz, detektatutako ubikuitinaren arrastoa ikusten da, eta berdez, ubikuitinatu gabeko proteina (3.c irudia).

3. irudia. Substratuaren eta bere ubikuitinazio-patroiaren detekzioa antigorputzen bidez.



Prozedura hau guztia UBE3A gainadierazten duten eta ez duten zelulekin gauzatu da (1.irudia). Laburki, kasu bietan DDI1 intereseko proteina isolatu da GFP-ari lotzen diren bolatxoak erabiliz eta antigorputzen bidez DDI1en ubikuitinazio-maila neurtu da. 4. irudian ikus daitekeen bezala, UBE3A gainadierazten den kasuan detektatutako ubikuitinaren arrastoa askoz intentsoagoa da UBE3A-rik adierazi ez den laginarekin konparatuz. Ondorioz, DDI1en ubikuitinazioa UBE3A-ren menpekoea denez, **DDI1 UBE3A-ren substratu dela** kontsideratu daiteke.

4. irudia. DDI1en ubikuitinazio patroia UBE3A-rekin (+) eta UBE3A-rik gabe (-).



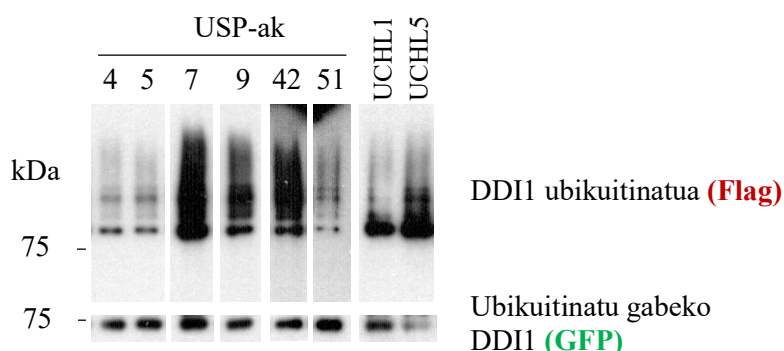
B. Egiaztatutako DDI1 substratuarekin interakzionatzen duen DUB-a aurkitzea

DDI1 proteina UBE3A-ren substratua dela egiaztatuta, hurrengo urratsa DDI1 proteinari ubikuitina(k) kentzen di(zki)on deubikuitinasa(k) (DUB-a) aurkitzea da. Zelulan DDI1 proteina ubikuitinatua kantitate egokia egon behar da, ubikuitinatutako proteina horrek funtzio konkretu bat izango baitu. AS-dun pazienteetan UBE3A kantitate oso gutxi dagoenez, DDI1en ubikuitinazio-maila oso baxua izango da, bere funtzioan eraginez eta zelula barneko oreka hautsiz. DUB-a(k) aurkitzea garrantzitsua izango da, hau(ek) inhibituz DDI1 ubikuitinatua maila mantendu ahal izango baita, zelularen barneko oreka berreskuratuz.

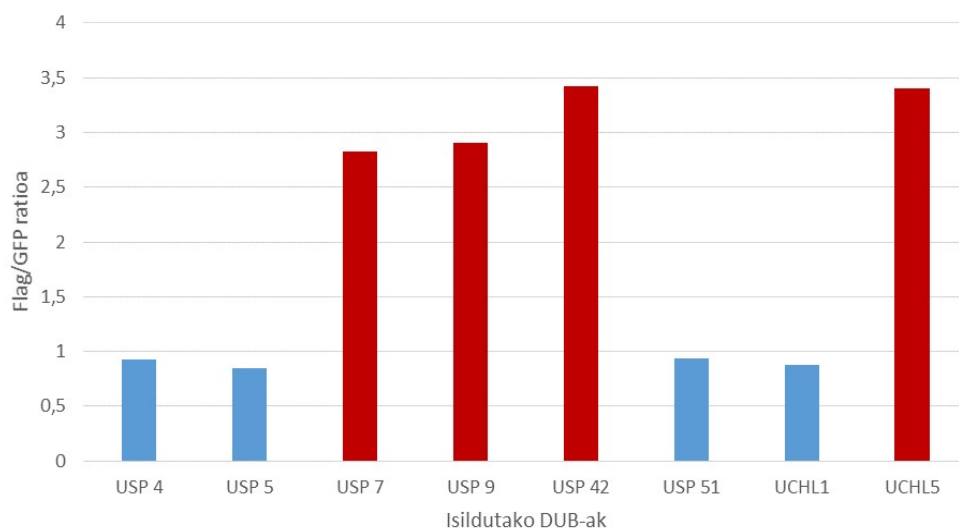
Ildo horretatik eta aurreko metodologian oinarrituz, beste ikerketa bat burutu da. DDI1en deubikuitinazioa gauzatzen duen DUB-a aurkitzeko, zelulan existitzen diren DUB ezberdinak banaka isilarazi dira eta horrek DDI1en ubikuitinazio-mailan nola eragiten duen aztertu da. DDI1 deubikuitinatzeaz arduratzen den DUB-en bat isilaraziz gero, DDI1en ubikuitinazio-maila handitu egingo dela aurre ikusi daiteke. Aldiz, DDI1-i eragiten ez dion DUB-en bat isilduz gero, DDI1en ubikuitinazio-mailan ez da aldaketarik espero.

Giza zeluletan familia ezberdineko ia 100 DUB deskribatu dira (USP, OTUD, UCHL...) eta momentuz horietako 38 isilarazi ditugu zeluletan. Arestian azaldutako metodologia erabiliz DDI1-GFP eta bere ubikuitinazio-maila detektatu dira anti-GFP eta anti-Flag antigorputzen bidez, hurrenez hurren (5. irudia).

5. irudia. DUB ezberdinak isilaraziz, anti-GFP eta anti-Flag bidezko DDI1en eta bere ubikuitinazio-mailaren detekzioa, hurrenez hurren.



1. grafika. DDI1en ubikuitinazioaren kuantifikazioa, giza DUB ezberdinak isilaraziz eta lau aldaketa nabarmenenak gorritz markaturik.



Antigorputzen bidezko detekzioarekin lortutako emaitzak (5. irudia) kuantifikatu egin dira eta lau emaitza esanguratsuenak errepresentatu dira (1. grafika – barra gorriak), inolako aldaketarik erakusten ez duten beste lau kasurekin batera (1. grafika – barra urdinak). Ikusten da **USP7**, **USP9**, **USP42** eta **UCL5** deubikuitinasak isilarazi direneko kasuetan DDIIen ubikuitinazioa nabarmen emendatu dela (5.irudia eta 1. grafika – barra gorriak). Hortaz, oraindik egiaztatzeaz dauden emaitza hauen arabera, lau deubikuitinasa hauek lirarteke UBE3A-ren aurkako funtzioa izanik DDII deubikuitinatzeaz arduratuko lirartekeenak.

4. Ondorioak

Ikerketa honen bidez DDII proteina UBE3A-ren substratu dela egiaztatu da. Honek etorkizunean burutu daitezkeen hainbat ikerketa lerro zabaltzen ditu, UBE3A-ren gabeziak Angelman Sindromea sortzen duela jakina den arren, horretarako mekanismoetako bat DDIIen erregulazioa izan baitaiteke. Bestalde, DDIIen ubikuitinazio-maila aldatzen duten lau DUB (**UCL5**, **USP7**, **USP9** eta **USP42**) kandidatu identifikatu dira. UBE3A, DDII eta DUB hauen artean lotura bat ezartzea oso garrantzitsua izango da, etorkizunean tratamendu posible baterako bideak irekiko baititu.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Angelman Sindromearen mekanismo molekularrak ulertzera bidean DDII proteina UBE3A-ren substratua dela egiaztatzea aurrerapauso handia da. Jakina da UBE3A-ren gabeziak sortzen duela gaixotasuna, baina oraindik ez da ezagutzen gabezia horrek nola sortzen duen gaixotasunaren koadro klinikoa.

Aurrez aipatu bezala, DDII identifikatu izanak hurrengo ikerketetarako bideak irekitzen ditu. Orain badakigu UBE3A-ren funtziotako bat DDII ubikuitinatzea dela. Ubikuitinazio hori degradazio-seinale bat izan daiteke, baina ubikuitinazio-kate motaren arabera, beste hainbat funtziotarako marka ere izan daiteke. Beraz, pentsatzekoa da UBE3A falta denean DDII ez dela ubikuitinatuko, eta posible dela bete beharko lituzkeen funtzio batzuk bete ezin izatea, neuronetan arazoak sortuz. Ideia horretatik abiatuz, ubikuitinatutako DDII proteinak zein bide jarraitzen duen aztertuko da etorkizunean (degradatu egingo den, seinalizazio bideak aktibatuko dituen...). Horrez gain, DDII proteina karakterizatuko da (kokapena, sortzen diren ubikuitinazio kate-motak...) izan ere honek guztiak gaixotasunaren mekanismo molekularra argitzen lagunduko baitigu. Bestalde, DDII deubikuitinatzen duten DUB kandidatuak identifikatu diren arren, aldaketa nabarmenenak erakutsi dizkiguten DUB-ak (1. grafika, gorriz) egiaztatu egin behar dira. Horretarako, alderantzizko estrategia erabiliko da; DUB-a isilarazi beharrean, gainadierazi egingo da. DDII deubikuitinatzeaz arduratzen den DUB-a baldin bada, DDIIen ubikuitinazio-maila jaitsi egingo da, ubikuitinak kenduko baitizkio. Efektu hau gainerako DUB-ekin gertatzen ez bada, DDIIekiko espezifikoa den DUB-a aurkituko da.

UBE3A-ren aurkako funtzioa betetzen duen DUB-a identifikatzea interesgarria da etorkizunean drogen itua gisa erabili baitaiteke. Angelman Sindromea UBE3A-ren gabeziaren ondorioz sortzen da, entzima honen substratuak ez direlako behar bezala ubikuitinatzen. Pentsa liteke, substratu hauen ubikuitinazio-maila areagotuz gaixotasun honen sintomak baretzea ekarriko lukeela. Printzipioz hori lortzea posible litzateke UBE3A-ren kontrako funtzioa betetzen duen DUB-a isilaraziz. UBE3A-rik ez duten saguetan DUB jakin bat inhibitu eta azaltzen duten portaera eta sintomatologia aztertzea litzateke hurrengo pausua. Guzti honek oraindik urrun dagoen tratamendu posible baterako bideak irekiko dituela uste dugu.

6. Erreferentziak

Kishino T., Lalande M., Wagstaff J. UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. (1997). *Nat Genet.* 15(1):70-3.

- Kühnle S., Kogel U., Glockzin S., Marquardt A., Ciechanover A., Matentzoglou K., Scheffner M. Physical and functional interaction of the HECT ubiquitin-protein ligases E6AP and HERC2. (2011). *J Biol Chem.* 286(22):19410-6.
- Lee S.Y., Ramirez J., Franco M., Lectez B., Gonzalez M., Barrio R., Mayor U. Ube3a, the E3 ubiquitin ligase causing Angelman syndrome and linked to autism, regulates protein homeostasis through the proteasomal shuttle Rpn10. (2014). *Cell Mol Life Sci.* 71(14):2747-58.
- Matsuura T., Sutcliffe J.S., Fang P., Galjaard R.J., Jiang Y.H., Benton C.S., Rommens J.M., Beaudet A.L. De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome. (1997). *Nat Genet.* 15(1):74-7.
- Mortensen F., Schneider D., Barbic T., Sladewska-Marquardt A., Kühnle S., Marx A., Scheffner M. Role of ubiquitin and the HPV E6 oncoprotein in E6AP-mediated ubiquitination. (2015). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112(32):9872-7.
- Ramirez J., Martinez A., Lectez B., Lee S.Y., Franco M., Barrio R., Dittmar G., Mayor U. Proteomic Analysis of the Ubiquitin Landscape in the Drosophila Embryonic Nervous System and the Adult Photoreceptor Cells. (2015). *PLoS One.* 10(10):e0139083.
- Sell G.L. eta Margolis S.S. From UBE3A to Angelman syndrome: a substrate perspective. (2015). *Front Neurosci.* 9:322.

7. Eskerrak eta oharrak

Eskerrak nire taldekide guztiei lan honetan emandako laguntza guztiagatik. Mila esker Josean Rodriguez eta Ane Olazabal DUB-en isilarazpenerako materiala uzteagatik eta zuen aholku guztiengatik. Azkenik, eskertu baita Euskal Herriko Unibertsitateari eta Eusko Jaurlaritzari, doktoretza programa batean parte hartzeko eta lan hau burutzeko aukera emateagatik.

Piriniotako muturluzearen (*Galemys pyrenaicus*) ekologia espazial eta trofikoa: kontserbaziorako funtsezko faktoreak

Esnaola A¹, González-Esteban J², Elozegi A³, Aihartza J¹

¹ Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU, Sarriena z.g., Leioa, Euskal Herria, ² DESMA Estudios Ambientales, Sunbila, Nafarroa, Euskal Herria, ³ Landareen Biologia eta Ekologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU, Sarriena z.g., Leioa, Euskal Herria
amaiur.esnaola@ehu.eus

Laburpena

Piriniotako muturluzea edo ur-satorra Euskal Herriko animaliarik berezietakoa da. Satorren familiako intsektiboro urtarra da eta azken hamarkadetan gainbehera nabarmenean dago bere banapeneremu osoan. Gainbehera horren balizko arrazoiak metapopulazioen zatiketa, habitataren andeaketa eta bazka-eskasia dira. Ingurumen ezaugarriek espeziearen kontserbazioan luketeen garrantzia argitzeko, Artikutza eta Leitzarango ur-satorren populazioa aztertzen ari gara, batez ere ehiza-habitataren eta dietaren hautespenari begira. Irrati-igorlez markatutako animaliek hautespen gogorra erakutsi dute ur-lasterren alde ehiza-habitata gisa. Gorotzen genomikaren bitartez dieta ere aztertzen ari gara, eta errekotako ornogabeen eskuragarritasunarekin alderatzen. Emaitez espezie honen kudeaketarako garrantzi handia izan dezakete.

Hitz gakoak: muturluzea, Ur-satorra, *Galemys pyrenaicus*, dieta, habitat hautespena, kontserbazioa

Abstract

The Pyrenean desman is the most special animal in the Basque Country. It is an aquatic insectivore mammal from the same family of the mole and in last ten decades is in a state of regression in most of its distribution area. The possible reasons of its regression are the division of the metapopulations, the habitat damage and the scarcity of forage. In order to assess the weight of environmental factors in the conservation of the species, we are studying the desman populations in Artikutza and Leitzaran, focusing on the foraging habitat and diet selection. Captured animals tagged with radio-transmitters revealed a very strong positive selection to rapids as foraging habitat. We are studying its diet also thanks to faeces genomics and comparing it with the aquatic invertebrate availability in those rivers. The results may be very important for the management of this species.

Keywords: desman, Galemys pyrenaicus, diet, habitat selection, conservation

1. Sarrera eta motibazioa

Piriniotako muturluzea edo ur-satorra, *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811), ugaztun intsektiboro erdi-urtarra da, talpidoen familiakoa, Iberiar Penintsulako iparraldean eta Pirinioen iparraldeko isurialdean endemikoa dena (1. irudia). Mendiko erreka eta ibaietan bizi da eta ornogabe urtarak ditu elikaduraren oinarri. Bere bitxitasun morfologiko eta taxonomikoengatik aspaldidanik ezaguna den arren, populazioen dentsitate baxuak eta ezkutuko bizimoduak, kontserbaziorako funtsezko diren bere biologiaren aspektu ugari ezezagunak izatea dakar. Azken hamarkadetan %50a baino gehiago murriztu da muturluzearen banaketa-eremua penintsulan eta Pirinioen iparraldean (MAGRAMA, 2013; Charbonnel, 2015) eta horrek espezie mehatxatuen katalogo eta zerrenda gorri ezberdinetan (IUCN, 2015) barneratzea ekarri du. Harrigarria dena zera da, itxuraz denborarekin kontserbazio egoera hobea lortu duten ibaietan ere populazioaren murrizketa behatu dela. Ez dago kausen diagnostiko argi bat eta horrek kudeaketa plan eraginkorren diseinua eragozten du. Balizko kausen artean, metapopulazioen zatiketa, habitataren andeaketa eta bazka-eskasia daude (Nores, 2012).

1. irudia. Leitzaranen harrapatutako Piriniotako muturluzea (*Galemys pyrenaicus*) (Argazkia: Amaiur Esnaola).



Ikerketa honen helburua Piriniotako muturluzearen ekologia espazial eta trofikoa aztertzea da, espezie mehatxatu honen kudeaketarako interes zientifiko handia duten gaiak direlako. Mikrohabitat mailan animalia honen lur-eremuaren erabilera zerk baldintzatzen duen eta bere dieta jeneralista edo espezialista duen aztertu nahi da. Horretarako, hurbilketa ezberdinak konbinatu dira: harrapaketa, aleen irrati-telemetria bidezko jarraipena, ehiza-mikrohabitaten karakterizazio espaziala, dietaren analisi molekularra (NGS bidezko gorotzetako DNA-renak) eta bazka eskuragarritasuna (makroornogabe bentonikoak) mikrohabitat bakoitzean. Ikerketa Urumea (Elama errekan, Nafarroa) eta Leitzaran ibaiaren arroetan (Gipuzkoa) gauzatu da, LIFE+ IREKIBAI proiektua aprobetxatuz.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

2.1 Aurrekariak

Animalia honen muturra da animaliaaren egitura anatomikorik bereizgarriena, tronpa zanpatuaren itxura baitu. Biluzia da egitura hori eta sudur zuloak honen amaieran irekitzen dira, alde dortsalean. Gorputza borobiltsua du eta isatsa luzea, ebaketa borobildukoa, ezkataduna eta alde distalean lateralki zapaldua. Gorputzadarrak atzapar sendoz horniturik daude urpeko sustratura ongi eusteko. Aurrehankak laburrak dira, mintz interdigital txikidunak. Atze-hankak ordea luzeak eta handiak dira, barnealderantz okertuak eta mintz interdigital handidunak, igeriketa funtzioarekin. Azken hauek azal ezkatatsuz estalirik daude eta ile luze, sendo eta konpaktodun zerrenda bat beha daiteke kanpo ertzean. Gorputzaren kolorea arrea da baina urpean brontzezko edo zilarrezko distira metalikoak islatzen ditu, ile mota bereziari esker. Gorputzadarrak belzkarak dira eta isatsa haragi kolorekoa.

Muturluzea ur garbi eta ondo oxigenaturiko mendiko erreketan bizi da, Iberiar Penintsulako iparraldean eta Pirinioen mendebaldean. Bizitzeko funtsezko zaion faktore nagusia urte guztian zeharreko ur-fluxu erregularra da eta horregatik klima mediterrarearrak baino ozeanikoak ditu nahiago. Bere presentzia altitudeak baino ibaien maldak, sakonerak eta korrontearen abiadurak baldintzatzen dago. Bizimodu gautarra duen animalia honen bizi eremua 450 eta 600 metroko luzerakoa dela estimatzen da (Nores, 2012).

Araldia urtarila eta maiatza artean ematen da eta kumatze garaia apiriletik abuztu erdialdera arte luzatzen da (Richard, 1976). Kumaldiak 1 eta 5 kume artekoak izaten dira, 4ko moda batekin (Peyre, 1956). Emee kumaldi osteko estroa dute eta horregatik kumaldi bat baino gehiago izan dezakete urtean zehar. Litekeena da heldutasun sexualera urte bateko heldutasunarekin heltzea.

Gorotzetako hondakinen azterketa morfologikoan oinarrituta behatu denez, erlatiboki tamaina handia eta esklerifikazio maila baxua duten makroornogabe bentonikoez elikatzen da, gehien bat trioptero (gorotzen *visuzko* identifikazioan %94a), plekoptero (%39a) eta efemeropteroen larbez (8%a) (Bertrand, 1993). Mugitzeko gaitasun murrizta eta biomasa handia duten makroornogabeez elikatzen da orokorrean (triopteroak), baina baita tamaina txikiagoa izan arren ugariak diren beste

batzuez ere (efemeroptero larbak) (Casti n eta Gos lbez, 1995). Harrapakinen artean kutsadurarekiko sentikorrak diren espezieak dira nagusi eta, hortaz, erresistenteagoak diren espezieen eskuragarritasuna handiagoa izan arren, hauek garrantzi txikia dute muturluzearen dietan (Santamarina, 1993). Horrek aditzera ematen du animalia honen kutsadurarekiko sentikortasuna bere harrapakinenaren arabera dela batez ere, berezkoa baino gehiago.

Nores et al.-ek (1992) egindako habitataren analisiak muturluzeak ubide estuak (1m baina estuagoak eta ur gutxikoak) saihesten dituela frogatu zuen. Nahiago ditu ibai handiagoak, baina 70 cm baina sakonagoak diren ubideak ere saihestu egiten ditu. Horrez gain, ur kutsatuak ere saihesten dituela frogatu zuen Santamariak (1995), nahiz eta kutsadura maila baxuak jasateko gaitasuna izan. Muturluzearen habitatean nagusiago izaten dira substratu lodiak (bereziki uharri eta harritzarrak) finak baino eta nekez behatzerik izango da buztinak nagusi diren gunetan.

Populazioen zatiketa, urtegi eta zentral elektrikoen presentzia, kanalizazioak eta obra zibilak, mendietako hiri gunetako giza populazioak handitzeak, bentosaren andeatzea, uraren desbideratzeak, ibai-ertzen eta ibar basoen suntsipenak, ibaien kutsadura kimiko eta organikoak, uretako kirolak eta agregakinen erauzketak dira animalia honen mehatxu faktore nagusiak (Nores, 2007).

Toulouseko Unibertsitatean bi doktoretza tesi irakurri dira berriki, Frantziako Pirinioetako muturluzearen biologiaren inguruan. Ana s Charbonnel-en tesiak (2015) eskala handiko espeziearen banaketa azaltzen duten faktoreak aztertu ditu; Fran ois Gillet-enak (2015), gorotzen analisi genetikoetan oinarrituz, populazioaren genetika ikertu du. Bi tesi horiek ondorioztatu dute Frantziako muturluzearen beharokada ezin zaiola klima aldaketari eta lurren erabileraren aldaketari egotzi eta muturluzearen dieta zabala dela. Ezezaguna zaigu ordea zeintzuk diren mikrohabitat eskalan animalia honen lur-eremuaren erabilera baldintzatzen duten faktoreak eta bere dieta jeneralista edo espezialista ote den. Alderdi horiek gako dira espeziaren kudeaketarako, zeinak ezinbestean ibaiko eskalan zentratua egon beharko duen.

2.2 Ikerketaren helburuak

Ibaiaren baitan Piriniotako muturluzearen ekologia espazial eta trofikoa baldintzatzen duten faktore gakoak argitzea da ikerketaren helburu orokorra. Horretarako, batetik, mikrohabitat mailako espazioaren erabilera eta hautespena zehaztu nahi dira. Bestetik, dieta eta harrapakinen hautespena ezagutu nahi dira, maila taxonomikoen eta ezaugarri biologikoen arabera. Azkenik, mikrohabitaten hautespena eskuragarritasun trofikoaren arabera edo bestelako faktoreen arabera den aztertu nahi da. Gainera, ikusi nahi da zentral hidroelektrikoek ura erauzteak zein eragina duen honetan guztian.

2.3 Hipotesiak

Piriniotako muturluzeak dieta eta habitataren erabilera bertan topatzen dituen baliabideen eskuragarritasunaren arabera optimizatuko dituela espero da. Baliabide horiek trofikoak (harrapakin potentzialak) zein animalari segurtasuna eskein diezaioketen bestelako baliabide fisikoak (babesleku potentzialak) izan daitezke. Espero genezake habitataren aberastasun ekologikoak paper garrantzitsua jokatzeko guzti horretan.

Azken batean, animaliak mugatzaile dituen gutxieneko baliagaien eskuragarritasunak baldintzatuko du Piriniotako muturluzearen kontserbazioa. Baliagai mugatzaile horien identifikazioa ezinbestekoa da espeziearen kontserbazioa helburu duen edozein kudeaketa egitasmo egikaritzeko.

3. Ikerketaren muina

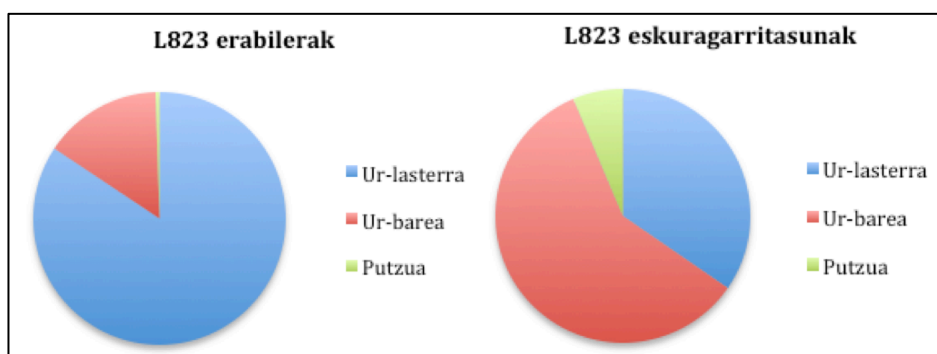
3.1 Habitat hautespenaren analisia

Mikrohabitat mailako habitaten erabilera eta hautespena aztertzeko muturluzeak harrapatu eta jarraitu genituen 2016ko iraila eta urria, Leitzaran (Oria ibaiaren arroa, Gipuzkoa) eta Elama (Urumea ibaiaren arroa, Nafarroa) ibaietan. Leitzaran ibaia egoera ekologiko onean dago, baina zentral hidroelektriko ugariren eragin nabarmena jasaten du, bere agorraldiko emaria emari naturala baino askoz baxuagoa izanik. Elama erreka, bestalde, Euskal Herrian hobekien kontserbatutakoen artean dago, azken ia ehun urtetan apenas izan baita giza-ekintzarik haren arroan. Muturluzeak nasekin harrapatu ziren, horrela, bizirik eta kalterik gabe mantentzen baitira (Gonzalez-Esteban et al., 2003).

Jarraitu beharreko animaliei, sexuaren eta adinaren datuak hartzeaz gain, irati-igorgailu txikiak (< 2 g) itsatsi zitzaizkien ilajeen harrapaketa unean (Stone, 1987). Bizpahiru gauez harrapaketak burutu ostean, denera 31 muturluze jarraitu ziren (15 Artikutzan eta 16 Leitzaranean), bakoitza 3-5 gauez. Irrati-telemetria bidezko jarraipenak atsedendiko (habiak, denboraldiko babeslekuak) eta aktibitateko guneak identifikatzea ahalbidetu zuen. Horrez gain, ehiza-habitataren erabilera aztertu zen.

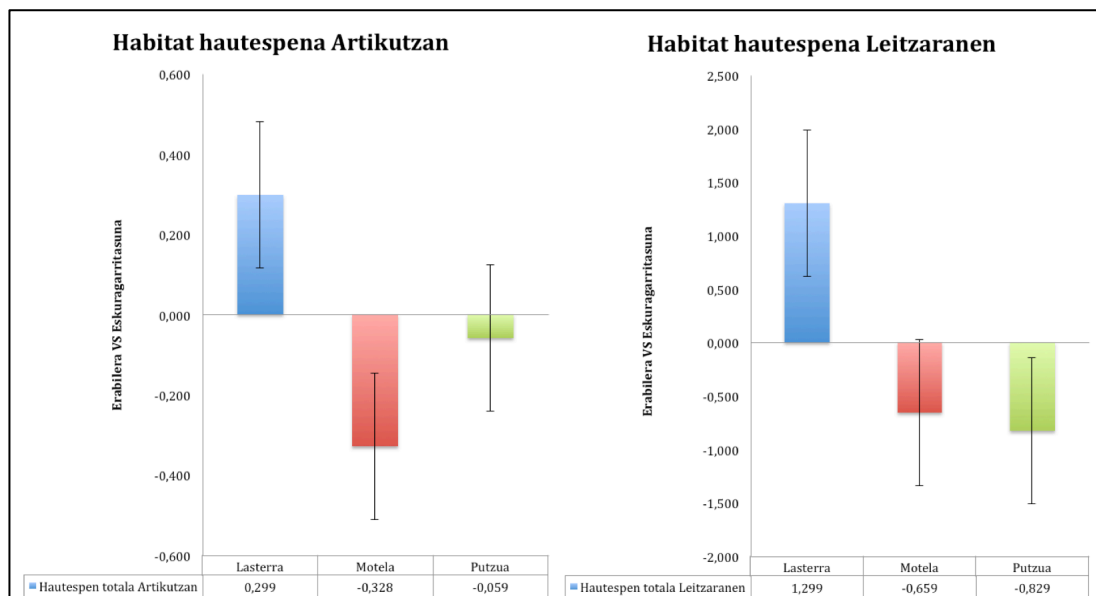
Markatutako animaliek erabilitako eremuaren mikrohabitat eskuragarritasunaren mapa eraiki zen, hiru mikrohabitat (ur-lastera, ur barea, putzua) bereizi genituelarik bertan, fluxuaren arabera. Habitataren hautespena zehazteko, gauean zeharreko 5 minutuko jarraipen puntuen kokapenak aztertu eta GIS datu base bat eraiki zen (QGIS 2.8, 1991 Free Software Foundation, Boston, USA). Muturluzeek mikrohabitat mota bakoitzean aktibo igarotako denboraren arabera eta mikrohabitat bakoitzaren ugaritasun erlatiboaren arabera habitataren araberrako lehentasunak zehaztu eta hautespena aztertu ziren (2. irudia).

2. irudia. Adibidea: Leitzarango L823 muturluzearen habitataren erabileraren eta honen bizi-eremuko habitaten eskuragarritasunen grafikoak. Kasu honetan hautespena positiboa zen ur-lasterrekiko (1,439) eta negatiboa ur bare (-0,743) zein putzuekiko (-0,921).



Habitataren hautespenak positiboak ziren ur-lasterren kasuan bai Elaman eta baita Leitzaranean ere. Leitzaranean kasuan hautespen hori selektiboagoa zen (Hautespen indizea Elaman = 0,299; Hautespen indizea Leitzaranean = 1,299) (3. irudia).

3. irudia. Muturluzeen habitataren hautespen balioak Artikutzan eta Leitzaranean.



4. Ondorioak

Habitat hautespenaren behin-behineko analisiek iradokitzen dute ur-satorrak aktibo dagoen denboran ur-lasterren aldeko hautua egiten duela ur bareen eta putzuen alloan. Hautespen horrek animalia zaurgarri honen biziraupena bermatzeko ur-lasterren kopurua faboratu behar dela adieraziko luke. Aipatzekoa da hautespen-indizeak balio handiagoa ageri duela Leitzaranean Elaman baino, eta honek iradokitzen du Leitzaranean orokorrean baldintzak okerragoak direla.

Elamako eta Leitzarango ibaien arteko diferentziak ubidearen ezaugarriekin loturik leudeke. Elamako arroak kontserbazio-egoera bikaina du, baso helduz dago estalita, eta ibilguetan ez da ia giza-eraginik nabari. Leitzaranean, ordea, baso-ustiapen eta mendi-pista ugari dago, eta horiek errekari ekartzen dioten kaltea areagotu besterik ez dute egiten zentral hidroelektrikoek kentzen dioten ura, agorraldian emari osoaren %90etik gorakoa izan daitekeena. Emaria gutxitzeak azalera unitateko ur-lasterren kopurua murriztea dakar (Arroita et al., 2017), eta horren aurrean, ikerketa honetako emaitzek adierazitakoaren arabera, ur-satorraren ekologia espazialean eragiten da.

5. Etorkizunerako planteatzeko den norabidea

Habitat-hautespena ezagututa, dieta hautespena ezagutzea izango da ikerketaren ondorengo helburua. Piriniotako muturluzearen dieta ezagutu ostean baliabide mugatzailea zehazterik izango da eta honela animalia honen kudeaketarako funtsezko izango diren norabideak zehazteko aukera izango da.

5.1 Habitat-hautespena

Habitat-hautespenaren arloan sakontzen jarraitzea izango da ikerketaren lehenengo helburua, analisi estatistiko ezberdinekin. Ur-emarien aldaketek modelizazioan duten eragina ezagutzeko azterketak ere burutuko dira horrekin batera.

5.2 Dietaren analisisa

Bazka eskuragarritasuna zehazteko, 1 mm-ko porodun Surber sarearen bidez makroornogabeak lagindu ziren 2016ko iraila eta urrian, ibai bakoitzeko habitat mota bakoitzean 10 erreplika bilduz. Laginak etanolaz finkatu ziren, laborategira eramanez, bereizi, identifikatu eta indibiduo guztiak neurtzeko. Taxoi bakoitzaren biomasa zehaztea izango da helburua, publikatutako datuetan edo berezko tamaina-pisua erlazioetan oinarrituz.

Jarraipenekin batera, ibai bakoitzean 100 gorotz fresko baino gehiago bildu ziren ikerketa eremu guztian zehar, ahalik eta muturluze kopuru handienaren dieta islada zezaten. Analisi molekularren bidez gorotzetan agertzen diren harrapakinak identifikatu nahi dira. Horretarako, muturluzearen gorotzen analisi molekularren azterketa pilotua burutu da aldezturik, DNA-ren erauzketa-, amplifikazio- eta sekuentziazio-metodoak optimizatzeko. Horretarako, berariaz ikerketa taldeak aldezturik bildutako laginez baliatu da. Lagin hauen DNA erauzi, eta bertatik COI genearen zati txiki identifikagarri ezberdinak amplifikatzeko autore ezberdinek artropodoen identifikaziorako erabiliko 7 primer konbinazio erabili dira: LepF1 eta EPT-long-univR (Hajibabei et al., 2011); mlCOIintF eta jgHCO2198 (Leray et al., 2013); Uni-MinibarF1 eta Uni-MinibarR1 (Meusnier et al., 2008); ZBJ-ArtF1c eta ZBJ-ArtR2c (Zeale et al., 2011); LepF1 eta MLepF1_Rev (Brandon-Mong et al., 2015); ArF1, ArF2, ArF5, ArR3, ArR5 eta ArR9 (Gibson et al. 2014); eta mlCOIintF, ArR3, ArR5 eta ArR9, guk proposatutako konbinazio berria. Ondoren, amplifikazio horien emaitzen sekuentziazio masiboa eginez, primer konbinazio horiek muturluzeak kontsumitutako harrapakinaren detekziorako duten eraginkortasunak konparatuko dira. Horretarako, dagozkien MOTU-ak (Molecular Operational Taxonomic Units) lortzeko analisi bioinformatikoez lortutako sekuentziak tratatuko dira, Arrizabalaga-Escudero et al. (2015) protokoloari jarraiki. Lortutako MOTU-ak BOLD eta GenBank-en eskuragarri dauden COI-en sekuentziei esleituko zaizkie (Hebert et al., 2003).

Segidan, azterketa pilotuaren emaitzak hobetsitako primer konbinazioak erabiliko dira ikerketa eremuetan jasotako gorotzen lagin nagusiak aztertzeko (guztira 200 lagin inguru, 100 lagin ibai bakoitzean). Beharrezko kasuetan, datu-baseetan erdietsitako harrapakin eskuragarrien sekuentziak agertzen ez direnetan, ikerketa arean eskuragarri dauden harrapakin potentzialen COI-a erauzi, amplifikatu eta sekuentziatuko da. Dietaren emaitzak harrapakin mota bakoitzaren gertaera maiztasun gisa azalduko dira.

Eskuragarri zegoen harrapakin komunitatea ezagutuz eta gorotzen analisi molekularren emaitzak haintzat hartuz, hauen harteko konparazioa burutuko da maila taxonomikoan eta trait morfologiko, ekologiko zein funtzionalen mailan garatuz, ikertutako ibai bakoitzerako.

5.3 Habitat hautespenaren eta dietaren arteko erlazioaren analisisa

Mikrohabitat mailako hautespen patroiek bertako harrapakinen eskuragarritasunari edo bestelako ingurune faktoreei (babesleku eskuragarritasuna, faktore hidrologikoak, fisikoak, etab) jarraitzen dioten zehaztuko da. Oraingoan ditugun behin-behineko datuek iradokitzen dute mikrohabitaten artean ez dagoela diferentziarik ornogabeen dentsitateari dagokionez. Horrek iradokitzen du bazka-eskuragarritasuna ez dela habitaten hautespenaren eragile nagusia. Eragile hori zein izan daitekeen oraindik ezin dugu zehaztu, baina litekeena da korrontea izatea, korronte apal eta sakonera handiko lekutan muturluzeak arazoak baititu hondoan bazka-bila mantentzeko. Korronte handiko lekutan, berriz, hondoko harriei eusten die bere atzapar zorrotzei esker, eta horrela lortzen du han mantentzea. Hau horrela balitz, hidroeletrikek egindako kaltea handia litzateke, ura errekatik kendu ahala murriztu egiten baita ur-lasterren kopurua, eta honekin batera, habitat optimoen eskuragarritasuna.

6. Erreferentziak

- Arrizabalaga-Escudero, A., Garin, I., Garcia-Mudarra, J. L., Alberdi, A., Aihartza, J. eta Goiti, U. (2015): Trophic requirements beyond foraging habitats: The importance of prey source habitats in bat conservation. *Biological Conservation*, 191: 512-519.
- Arroita, M., Flores, L., Larrañaga, A., Martínez, A., Martínez-Santos, M., Pereda, O., Ruiz-Romera, E., Solagaistua, L. eta Elozegi, A. (2017): Water abstraction impacts stream ecosystem functioning via wetted-channel contraction. *Freshwater Biology*, 62 (2): 243-257.
- Bertrand, A. (1993): Strategies alimentaires du Desman des Pyrénées *Galemys pyrenaicus* dans un cours d'eau des Pyrénées Françaises, in: *Proceedings of the Meeting on the Pyrenean Desman*. Serviço de Parques, Reservas e Conservação da Natureza – Museu Nacional de Historia Natural, Lisboa, Portugal.
- Brandon-Mong, G. J., Gan, H. M., Sing, K. W., Lee, P. S., Lim, P. E., eta Wilson, J. J. (2015): DNA metabarcoding of insects and allies: an evaluation of primers and pipelines. *Bulletin of entomological research*, 105 (6): 717-727.
- Castián E. eta Gosálbez, J. (1995): Diet of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in the North of the Iberian Peninsula. *Netherlands Journal of Zoology*, 45(3-4): 422-430.
- Charbonnel, A. (2015): *Influence multi-échelle des facteurs environnementaux dans la répartition du Desman des Pyrénées (Galemys pyrenaicus) en France*. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP-T), Université de Toulouse, Doktorego Tesia, 260 or.
- Gibson, J., Shokralla, S., Porter, T. M., King, I., van Konynenburg, S., Janzen, D. H., Hallwachs, W. eta Hajibabaei, M. (2014): Simultaneous assessment of the macrobiome and microbiome in a bulk sample of tropical arthropods through DNA metasystematics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111 (22): 8007-8012.
- Gillet, F. (2015): *Génétique et biologie de la conservation du desman des Pyrénées (Galemys pyrenaicus) en France*. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier), Université de Toulouse, Doktorego Tesia, 228 or.
- Gonzalez-Esteban, J., Villate, I., eta Castien, E. (2003): A comparison of methodologies used in the detection of the Pyrenean desman. *Mammalian Biology*, 68: 387-390.
- Hajibabaei, M., Shokralla, S., Zhou, X., Singer, G. A. C. eta Baird, D. J. (2011): Environmental barcoding: A next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river bents. *PLoS ONE* 6 (4): e17497.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. eta de Waard, J. R. (2003): Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of The Royal Society B Biological Sciences*, 270: 313-321.
- Hooge, P. N. eta Eichenlaub, W. M. (1999): *Animal Movement Extension to ArcView*. Alaska Biological Sciences Center, Anchorage.
- IUCN (2015): *The IUCN Red List of Threatened Species* [<http://www.iucnredlist.org>]. 2015-3 bertsioa.
- Leray, M., Yang, J. Y., Meyer, C. P., Mills, S. C., Agudelo, N., Ranwez, V., Boehm, J. T. eta Machida, R. J. (2013): A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology*, 10 (1): 34.
- MAGRAMA (2013): *Estrategia para la conservación del desmán ibérico (Galemys pyrenaicus) en España*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, 36 or.
- Meusnier, I., Singer, G. A. C., Landry, J-F., Hickey, D. A., Hebert, P. D. N. eta Hajibabaei, M. (2008): A Universal DNA Mini-barcode for Biodiversity Analysis. *BMC Genomics*, 9 (1): 214.
- Nores, C., Ojeda, F., Ruano, A., Villate, I., González, J., Cano, J. M. eta García Álvarez, H. E. (1992): *Aproximación a la metodología y estudio del área de distribución. estatus de población y*

- selección de hábitat del desmán (Galemys pyrenaicus) en la Península Ibérica. Informe inédito.* ICONA – Universidad de Oviedo, Asturias. 103 or.
- Nores, C. (2007): *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1811), in: Palomo, L. J., Gisbert, J. eta Blanco, J. C. (arg.). *Atlas y libro rojo de los mamíferos terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad – SECEM – SECEMU, Madrid. 96-98.
- (2012): Desmán ibérico – *Galemys pyrenaicus*, in: Salvador, A. eta Cassinello, J. (arg.). *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org>. 20 or.
- Peyre, A. (1956): Ecologie et biogeographie du desman (*Galemys pyrenaicus* G.) dans les Pyrénées françaises. *Mammalia*, 20: 405-418.
- Richard, P. B. (1976): Determination de l'âge et de la longévité chez le desman des Pyrénées (*Galemys pyrenaicus*). *Terre Vie*, 30: 181-192.
- Santamarina, J. (1993): Trophic resources of *Galemys pyrenaicus* (Geoffroy, 1811) in relation with water quality, in: *Proceedings of the Meeting on the Pyrenean Desman*. Serviço de Parques, Reservas e Conservação da Natureza – Museu Nacional de Historia Natural, Lisboa, Portugal.
- (1995): Distribución de algunas especies de vertebrados terrestres en la cuenca del río Ulla (Galicia) en relación con la calidad de las aguas. *Ecología*, 9: 353-365.
- Stone, R. D. (1987): The social ecology of the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) (Insectivora: Talpidae), as revealed by radiotelemetry. *Journal of Zoology*, 212: 117-129.
- Zeale, M. R. K., Butlin, R. K., Barker, G. L. a, Lees, D. C. eta Jones, G. (2011): Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. *Molecular Ecology Resources*, 11:236-44.

7. Eskerrak eta oharrak

Eskerrak eman nahi dizkiegu Egoitz Salsamendiri, Aitor Arrizabalagari, Inazio Garini, Aitor Larrañagari, Miren Atristaini eta Maite Arroitarri mendiko lanetan emandako laguntzarengatik. Eskerrak Artikutzako langileei eta Diputazioko guardei mendiko lanak errazteagatik. Proiektu hau LIFE IREKIBAI Proiektuak (LIFE 14 NAT/ES/00186), Donostiako Udaleko Ingurumen Zuzendaritza Sailak, Eusko Jaurlaritzako Ingurumen eta Lurralde Politika Sailak (156P/2016 Espedientea), eta UPV/EHU Euskal Herriko Unibertsitateak finantziatua izan da. Eusko Jaurlaritzaren Doktoratu Aurreko Programak eta Euskal Herriko Unibertsitateak (UPV/EHU) finantzatu du AE. Animalien harrapaketak eta markaketak Gipuzkoako Foru Aldundiko Ekonomia Sustapeneko, Landa Ingurunekeo eta Lurralde Orekako Departamentuak eta Nafarroako Gobernukeo Landa Garapeneko, Ingurumeneko eta Toki Administraziokeo Departamentuak (16124 espedientea) baimenduak izan dira.

Grafenoan oinarritutako Litio-ioi kondentsadorea

Maria Arnaiz,⁽¹⁾ Jon Ajuria,⁽¹⁾ Cristina Botas,⁽¹⁾ Daniel Carriazo,^(1,2) Teofilo Rojo^(1,3) eta Eider Goikolea⁽¹⁾

CICenergiGUNE (1), IKERBASQUE, Zientziarako Euskal Fundazioa (2) eta Kimika Inorganikoko Departamentua, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU (3)
marnaiz@cicenergigune.com

Laburpena

Ikerketa lan honetan grafenoan oinarritutako litio-ioi kondentsadore (LIC) sistema berri bat aurkezten da. Alde batetik, elektrodo negatiboa prestatzeko, hau da, bateria motako elektrodoa, estainuan oinarritutako nanopartikulez apainduriko grafeno oxido erreduzitua ($\text{SnO}_2\text{-rGO}$) prestatu da. Bestalde, elektrodo positiboa prestatzeko, hau da, superkondentsadore motako elektrodoa, kimikoki aktibatua eta termikoki hedaturiko grafeno oxidoa (a-TEGO) erabili da. Sistema berri hau bere superkondentsadore baliokidearekin alderatzeko a-TEGO-n oinarritutako geruza elektriko bikoitzeko kondentsadore (EDLC) bat ere eraiki da. LIC berriak EDLC kideak baino 10 aldiz energia dentsitate altuagoak meta ditzake potentzia dentsitate baxuetan (186 kW kg^{-1}) eta energia biltegitatzeko gaitasuna bikoiztu dezake sistemaren potentzia maximoko eskualdean (12 kW kg^{-1}).

Hitz gakoak: Energia metaketa, Superkondentsadore hibridoa, Litio-ioi kondentsadorea, Grafenoa.

Abstract

Herein we present a new and promising all graphene based Lithium-ion Capacitor (LIC). The negative electrode was made of a three dimensional (3D) macroporous foam formed by reduced graphene oxide (rGO) and submicron tin based particles ($\text{SnO}_2\text{-rGO}$) whereas the positive electrode was based on a chemically activated thermally exfoliated graphite oxide (a-TEGO). For comparative purposes, an Electric Double Layer Capacitor (EDLC) based on two symmetric a-TEGO electrodes was also assembled. The new LIC system shows a 10-fold increase in energy density (186 kW kg^{-1}) in the low power density region respect to its EDLC counterpart while it still doubles the energy density (12 kW kg^{-1}) in the high power density region.

Keywords: Energy storage, Hybrid supercapacitor, Lithium-ion capacitor, Graphene.

1. Sarrera eta motibazioa

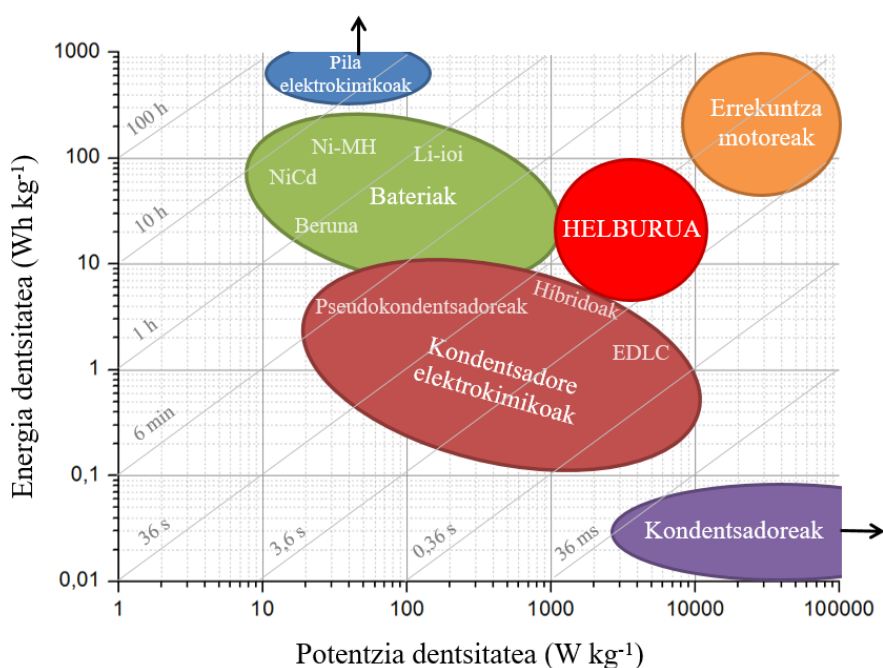
Gaur egun, erregai fosiletan oinarritutako energia kontsumoa etengabe hazten ari da eta ondorioz ingurugiro arazoak ere ugaritzen ari dira. Besteak beste, berotegi-efektuko gasen metaketa, lurrazalaren eta uraren kutsadura eta ozono-geruzaren zulatzea dira aipagarrienak. Hortaz, erregai fosiletan oinarritutako energia eredu batetik energia berriztagarrietan oinarritutako eredu energetiko batera igaro beharra dago. Eguzki-energia, energia eolikoa, hidroeletrikkoa, hidraulikoa, geotermikoa, biomasa eta bio-erregaiak bezalako energia berriztagarriek berotegi-efektuko gasak, energia hornitzearen dibertsifikazioa eta merkatu aldakor eta ez-fidagarriekiko menpekotasuna murriztea dute helburu. Hala ere, hauen zorizko jatorria eta kasu askotan eguraldiarekiko duten menpekotasunak ezegonkortu egingo lukete energia sarea, eskaera eta eskaintzaren arteko energia balantze ezegokia sortuz. Ondorioz, elektrizitatea beste energia modu batzutan bilakatu, metatu eta berriz beharrezkoa denean askatzea ezinbestekoa da. Eskema honetan, energia biltegitatzeko sistema batek, energia eskaerari berehalako erantzuna eman diezaioke, eta ondorioz, elektrizitate hornidurak malgutasuna, jarraitasuna eta errendimendu maximoa izango luke.

Energia metatze sistema hauen artean bateriak eta superkondentsadoreak dira ezagunenak. Energia altua behar den kasuetan erabilienak bateriak dira. Superkondentsadoreak (ingelesez, *Supercapacitor*, SC) edo kondentsadore elektrokimikoak, berriz, potentzia altua behar den zertarakoetan dira nagusi (Burke, 2000). Azken urteotan, energia berriztagarrien hedapen eta gailu eramangarrien ugaltzearekin batera, bateria eta SC-en erabilera esparrua ere nabarmenki areagotu da (Khomenko *et al.*, 2008).

1. irudian erakusten den moduan, SC baten energia espezifiko bat batiarena baino 10 aldiz txikiagoa da, aldiz, 10-100 aldiz handiagoak diren potentzia espezifikoak aurkezten dituzte (Simon eta Gogotsi, 2008). Hala ere, beste parametro garrantzitsu batzuk ere kontutan izan behar dira teknologia bat edo bestea aukeratzeko orduan, hala nola, karga/deskarga denborak, bizi iraupena, segurtasuna edota lan-tenperatura.

Zenbait erabilerarako bi sistema hauen tarteko propietateak aurkezten dituzten sistemak izango lirateke egokienak. Izan ere, bateriek ez dira ziklo-bizitza nahikorik jasateko gai eta oso potentzia balio baxuak aurkezten dituzte. SC-ak aldiz, oso potentzia altuak emateko gai izan arren energia dentsitate baxuak aurkezten dituzte bateriekin alderatuta. Amatucci-k eta bere taldeak 2001ean lehenengo aldiz superkondentsadore hibrido bat aurkeztu zuten: Litio-ioi kondentsadorea (ingelesez, *Lithium-ion Capacitor*, LIC). LIC-a bateria motako eta superkondentsadore motako elektrodoak konbinatzen dituen sistema da. Elektrodo konbinaketa honen ondorioz, LIC-ek, litio-ioi bateria (ingelesez, *Lithium-ion Battery*, LIB) eta SC-en arteko energia eta potentzia balioak eta bizi iraupen altua aurkezten dituzte (Naoi, 2010). Orain arte lorturiko emaitzak direla eta, azken urte hauetan LIC sistemak interes handia piztu dute bai komunitate zientifikoan baita industrian ere.

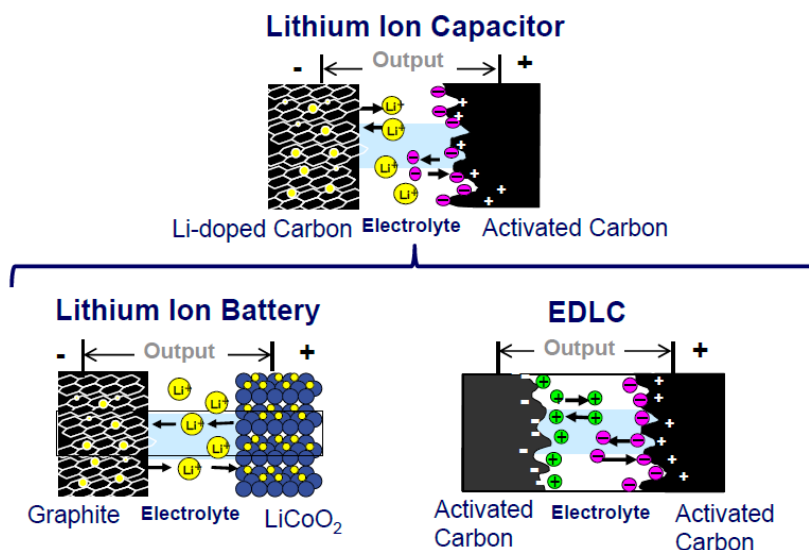
1. irudia. Ragone Diagrama.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Karga metaketari dagokionez, LIC batek mekanismo ezberdinak jarraitzen dituzten bi elektrodo bateratzen ditu. 2. irudian ikus daitekeen bezala, bi mekanismo ezberdin hauek aurkezten dituzten elektrodoak LIB eta SC motako materialetan oinarritzen dira. Bateria motako elektrodoan, energia metaketa erreazio Faradaikoen bitartez gertatzen da, litio ioien interkalazioa/desinterkalazioa elektrodoaren masa osoan ematen delarik. Kondentsadore motako elektrodoan berriz, elektrolitoko ioiak elektrodoaren gainazaleko poroetan adsorbatu/desorbatzen dira. Bateria motako elektrodoan ematen den erredox erreazioa, kondentsadore elektrodoan ematen den prozesu fisikoa baino askoz motelagoa denez, askotan LIC sistema osoa bateria elektrodoak mugatzen du.

2. irudia. Litio-ioi kondentsadore, litio-ioi bateria eta geruza bikoitzeko superkondentsadore baten eredu eskematikoak (Banas, J. *et al.*, 2012).



LIB eta SC motako elektrodoetan material ezberdin ugari erabili daitezke, eta horiekin egin daitezkeen konbinaketak ere anitzak dira. Bateria elektrodoak, elektrodo negatibo bezala eta superkondentsadore elektrodoak, elektrodo positibo bezala erabili ohi dira. LIB-etan elektrodo negatibo gisa erabiltzen diren materialen artean erabiliena grafitoa da. Grafitoak kapazitate (ordu batean material gramo batek metatu dezakeen karga kopurua, mA h g^{-1}) eta egonkortasun zikliko altua aurkezten dituen arren, karga prozesuaren errendimenduak aplikatutako korrontearekiko menpekotasuna dauka. 1990tik elektrodoen gainazalaren inguruan egindako ikerketen arabera, litio ioien interkalazio prozesuan, elektrolitoaren degradazioaren ondorioz elektrodoaren gainazalean elektrodo/elektrolito interfasean (ingelesez, *Solid Electrolyte Interphase*, SEI) Li ioiak duen difusio abiadura da elementu mugatzaile garrantzitsua. Grafitoaren alternatiba moduan, superkondentsadore hibridoetan, ikatz amorfoak (Frackowiak eta Béguin, 2001), $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ (Amatucci *et al.*, 2001) edota Sn eta SnO_2 moduko materialak erabil daitezke (Botas *et al.*, 2015). Sn eta SnO_2 materialen kapazitate balioak hurrenez hurren 994 eta 782 mAh g^{-1} izanik, anodorako ordezkari oso interesgarriak dira. Aldiz, litioaren interkalazio/desinterkalazio prozesuan eztaunak jasaten duen bolumen aldaketa (%300 baino gehiago), material hauek benetako aplikazio baten erabilgarriak izateko eragozpen handia da. Arazo hau konpontzeko, propietate oso interesgarriak dituen grafenoa erabili da. Grafenoak gainazal azalera espezifiko teoriko eta eroankortasun elektriko intrintseko altuak, eta erresistentzia mekaniko eta egonkortasun kimiko oso onak ditu. Ikerketa lan honetan, Botas *et al.*-ek, 2015ean aztertutakoarekin bat eginez, SnO_2 nanopartikulak grafeno oxido xafletan ezarri dira kapazitate atxikimendu eta eroankortasun elektroniko altuko konposatu bat sortzeko. Are gehiago, modu honetan SnO_2 nanopartikulek jasaten duten bolumen aldaketak grafeno matrizeak indargetu ditzake. SC elektrodo moduan aldiz, jatorri anitzeko ikatz aktibatuak erabiltzen dira. Adibidez, petrokimika industriatik eratorritako kokea edota biomasatik eratorritako aitzindari ezberdinak. Kasu honetan aldiz, ikatz aktiboa grafeno aktiboagatik ordezkatu da.

2. Ikerketaren muina

Ikerketa lan honetan grafenoan oinarritutako materialak LIC batean integratu dira. Alde batetik, elektrodo negatibo moduan, eztaun oxidoa (SnO_2) eta grafeno oxido erreduzitua (rGO) arteko material konposatua erabili da ($\text{SnO}_2\text{-rGO}$). Elektrodo positibo moduan berriz, kimikoki aktibatua eta termikoki hedaturiko grafeno oxidoa (ingelesez, *Activated Thermally Exfoliated Graphene Oxide*, a-TEGO) erabili da.

2.1. Materialen sintesia

Hainbat modu daude $\text{SnO}_2\text{-rGO}$ sintetizatze baina lan honetan Botas *et al.* (2015)-ek erabilitako sintesi prozesua jarraitu da. Lehendabizi, grafeno oxido (GO) suspentsioa (6.5 mg ml^{-1}) prestatu da.

Horretarako Timcal (TIMREX.SFG75) konpainiako grafitoa erabiliz eta Hummers metodoan oinarrituz (Hummers eta Offeman, 1958) grafito oxidoa lortu da. Metodo honetan Hummers errektiboak darabiltzagu, NaNO_3 eta KMnO_4 , alegia. Laburbilduz, 7.5 g grafito sintetiko eta 7.5 g NaNO_3 -ko nahasteari 360 ml H_2SO_4 kontzentratu gehitu zaizkio. Ondoren, izotz bainu bat erabiliz nahasketa hoztu da eta behin hoztuta, 45 g KMnO_4 gehitu zaizkio poliki-poliki erreazio tenperatura 20°C -tan mantenduz. Soluzioa 35°C -ra berotu eta 3 orduz nahastu da. Denbora honen ostean, 1.5 L H_2O_2 (%3 pisuan) poliki-poliki gehitu da nahastearen tenperatura 98°C -ra igoz. Ondoren, ordubetez nahasten utzi eta lortutako solutua urarekin zentrifugatuz garbitu da. Azkenengo GO suspentsioa (6.5 mg ml^{-1}) ordubetez sonikatuz eta ondoren zentrifugatuz (3500 rpm , 30 min) lortu da.

SnO_2 -rGO konposatu homogeneoa lortzeko SnSO_4 eta aurretik prestaturiko GO aitzindariak erabili dira. SnSO_4 eta GO uretan nahastu eta berehala GO suspentsioa kolore marroi-horizka izatetik beltza izatera pasatu da. Honek grafeno oxidoaren erredukzio partziala gertatu dela adierazten du. Jarraian, $\text{Sn}(\text{OH})_2$ -aren prezipitazio homogeneoa bultzatzeko eta GO laminen aglomerazioa saihesteko 1 M NH_3 tanta batzuk bota dira pH-a igotzeko. Nitrogeno likidoa, GO lamina makroporotsuak eta $\text{Sn}(\text{OH})_2$ partikula makroskopikoak 3D apar monolitikoak bihurtzeko erabili da. Ondoren, hasieran GO geruzatan agertu diren talde funtzionalak eliminatzeko eta partzialki erreduzitzeko liofilizatu eta argon atmosferan berotu da 650°C arte.

a-TEGO materiala prestatzeko, grafitotik (Alfa Aesar, natural flake, 325 mesh) abiatuz GO lortu da Hummers metodoa jarraituz. Ondoren, GO-aren exfoliazio termikoa egin da. GO-a erreduzitzeko (rGO) 3-5 minutuz labe batean 300°C -tan sartu da. Ondoren, 2.85 M den KOH/metanol disoluzioaren 20 ml gehitu zaizkio 400 mg rGO-ri. Nahasketa 2 orduz irabiatu eta ondoren 100°C -tan eta hutsean lehortu da 24 orduz metanol guztia ebaporatu arte. rGO/KOH aitzindaria alumina bote batean, eta bote hau alumina tutu batean sartu ondoren, argon fluxuan (130 ml min^{-1}) 100°C -tan berotu da 15 minututan zehar. Ondoren, 5°C min^{-1} -ko berotze abiadura erabiliz 800°C -ra berotu eta ordu betez mantendu da. Azkenik azido azetikoan lehenik eta uretan ondoren garbitu da. Klechikov *et al.*-ek 2015ean egindako karakterizazio fisiko-kimikoaren arabera, material honek $\sim 3300 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ -ko azalera espezifiko eta 3 nm-ko poro tamaina dauka, hau da, oso material egokia da SC-tan erabiltzeko.

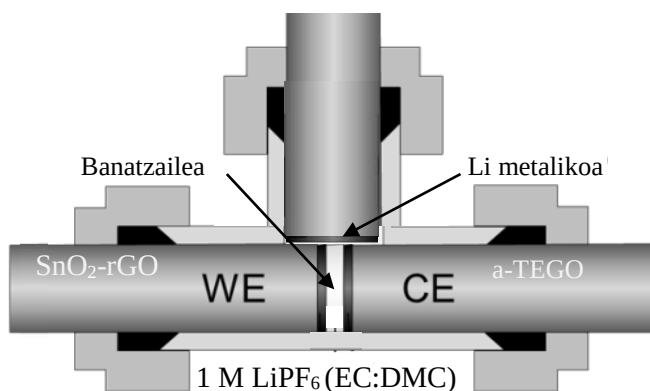
2.2. Elektrodoen prestaketa

SnO_2 -rGO elektrodoak prestatzeko, liofilizazioaren ostean lortutako aerogela laminatu eta 11 mm-ko diametroa duten elektrodoak moztu dira. Grafeno aktibozko elektrodoak prestatzeko berriz, pisuan %90 grafenoa (a-TEGO, $3300 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) eta %10 politetrafluoroetilenoa edo PTFE (%60 pisuan duen ur-dispersioa, Sigma Aldrich) etanolean nahastu dira. Ondoren, pasta hori eskuz laminatu eta hortik 11 mm-ko elektrodoak moztu dira.

2.3. Sistema hibridoaren muntaia

Superkondentsadore hibridoaren muntaiari dagokionez, 3. irudian azaltzen den T-gelaxka egitura erabili da. Elektrodo negatibo (SnO_2 -rGO) eta positiboaren (a-TEGO) portaera elektrokimikoa monitorizatzeko litio metalikozko erreferentzia elektrodo bat erabili da. Guzti hau 1 M LiPF_6 EC:DMC (etilen karbonatoan eta dimetil karbonatoan 1:1 nahastea bolumenean) (%99.9 Solvionic) elektrolitoan murgildurik. LIC sistemetan Li ioiak dituen gatz bat erabiltzea beharrezkoa da bateria-elektrodoan Li ioien interkalazioa gertatu dadin.

3. irudia. LIC baten T-gelaxka.



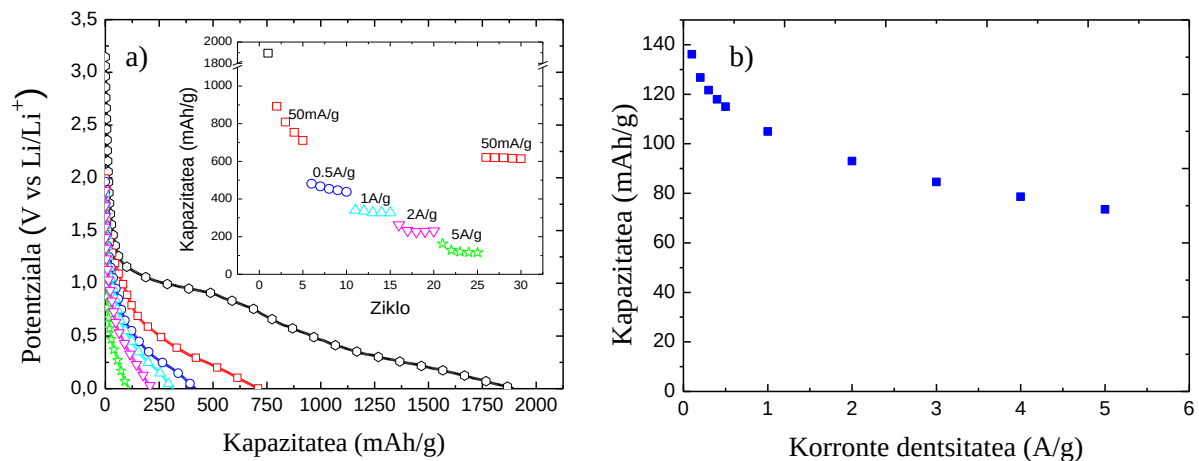
EDLC sistema berriz, bi a-TEGO elektrodo eta SC-etan ohikoa den 1 M Et_4NBF_4 ACN (azetonitriloa) elektrolitoa erabiliz eraiki da.

2.4. Karakterizazio elektrokimikoa

Neurketa elektrokimiko guztiak VMP-3 potentziostato/galbanostatoan (Bio-Logic Science Instrument, Frantzia) egin dira EC-Lab[®] software-aren laguntzaz.

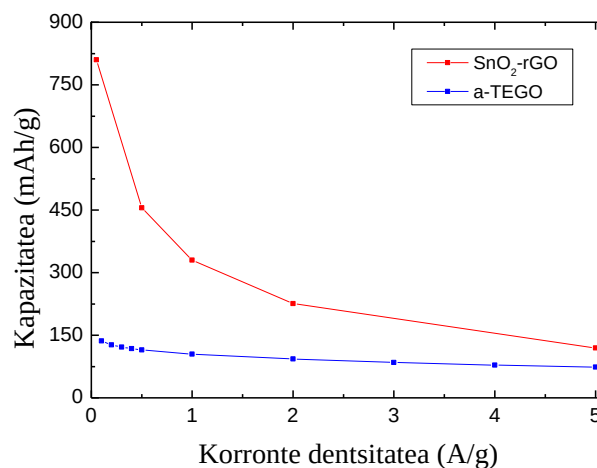
Sistema osoa aztertu baino lehen, material bakoitzaren portaera eta energia metaketa ahalmena zeintzuk diren ezagutzeko banakako karakterizazio elektrokimikoa egitea garrantzitsua da. Horretarako, 2 elektrodoko gelaxka bat eraiki da, lan-elektrodoa SnO₂-rGO eta kontra-elektrodoa (eta erreferentzia) litio metalikoa izanik. Sistema honi korrante zehatz batzuk aplikatuz 0.002 eta 2 V tartean, 4a. irudian erakusten diren kapazitate balioak lortu dira. Superkondentsadore hibrido batean materiala korrante dentsitate altuetan ondo funtzionatzea garrantzitsua da. Kasu honetan, 2 eta 5 A g⁻¹-tan 230 eta 120 mAh g⁻¹-ko kapazitate balioak lortu dira. a-TEGO-ren kasuan ere 2 elektrodoko gelaxka bat erabili da baina neurketak 1.5 eta 3.5 V potentzial leihoan egin dira. 4b. irudian erakusten den moduan 2 eta 5 A g⁻¹-tarako 93 eta 74 mAh g⁻¹-ko kapazitate balioak lortu dira.

4. irudia. a) SnO₂-rGO eta b) a-TEGO karakterizazio elektrokimikoa.



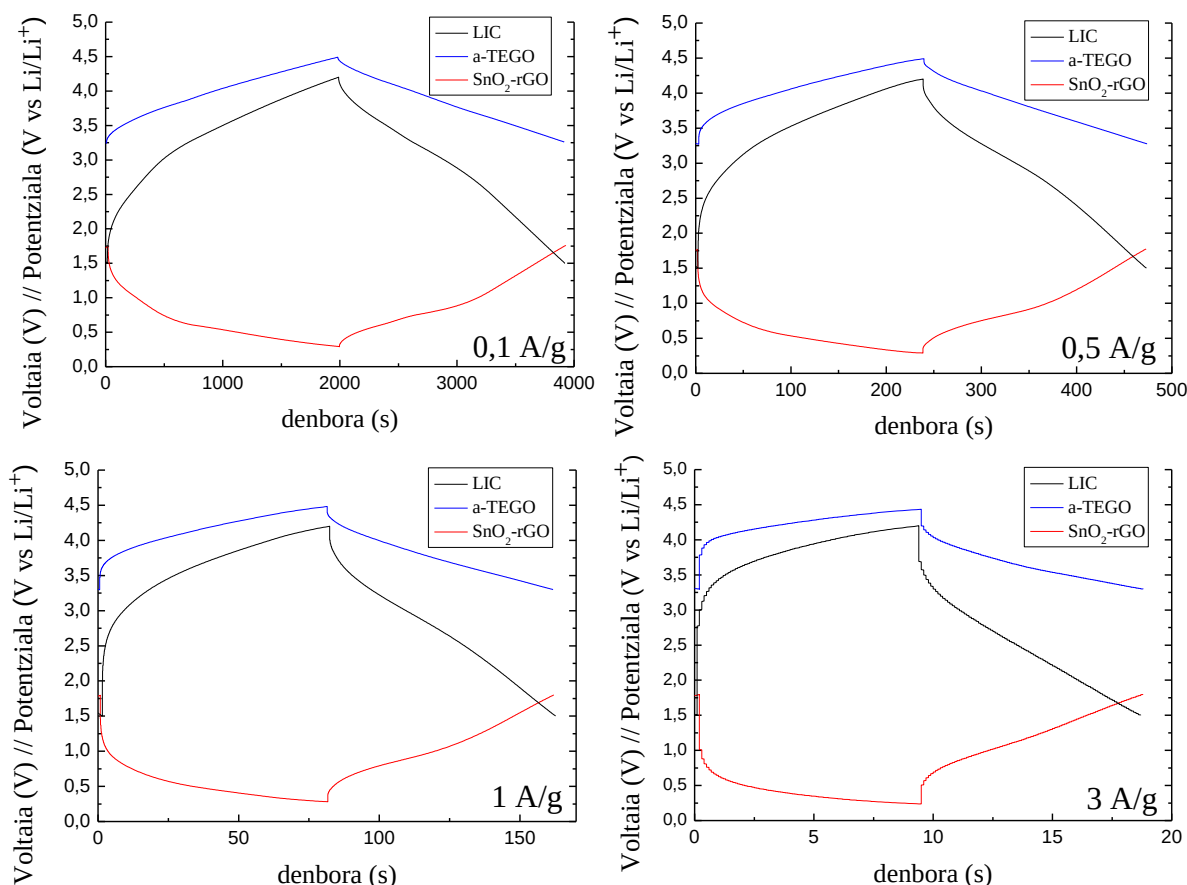
LIC baten errendimendua maximoa izateko elektrodoen arteko masa erlazio egokia definitzea beharrezkoa da. Horretarako, kontuan izan behar da elektrodo positibo eta negatibotik metatzen den karga elektrikoa berdina dela ($Q_+ = Q_-$). 5. irudian ikusten den moduan, SnO₂-rGO materialak, a-TEGO materialak baino kapazitate balio altuagoak ditu aztertutako korrante dentsitate tarte guztian. Honek sistema hibridoa eraikitzerakoan a-TEGO materiala mugatzailea izango dela adierazten du. Ondorioz, SnO₂-rGO materialaren kapazitate osoa aprobetxatzeko helburuarekin a-TEGO materialaren masa handiagotuko da.

5. irudia. SnO₂-rGO eta a-TEGO kapazitateen konparaketa.



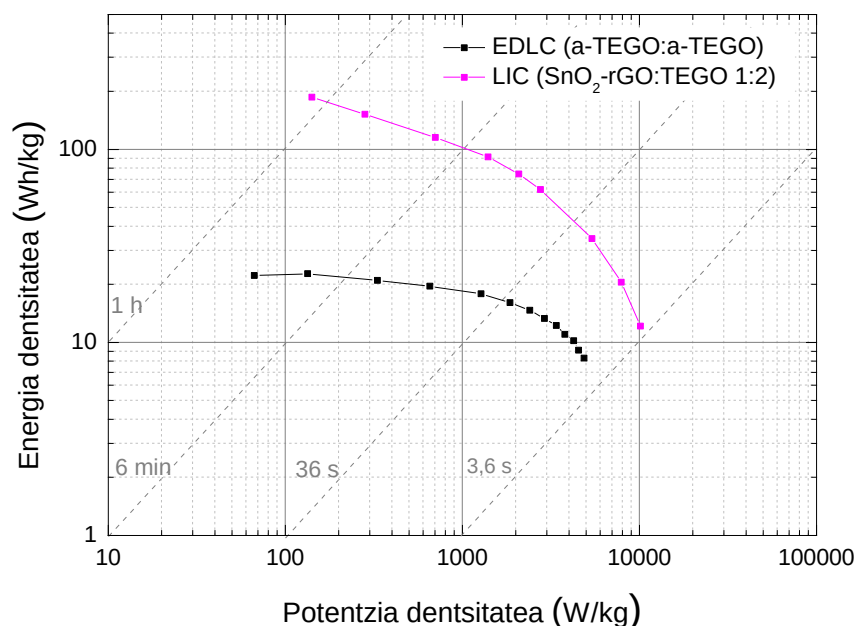
Horrela, 1:2 masa erlazioa duen $\text{SnO}_2\text{-rGO:a-TEGO}$ sistema eraiki da. 6. irudian, korrante dentsitate ezberdinetarako, sistemaren eta elektrodo positibo eta negatiboen profilak ikus daitezke. Garrantzitsua da elektrodoak 0.1 V-tik behera eta 4.5 V-tik gora ez joatea. Alde batetik, lan-tentsio oso txikietan lan egiteak Li metalikoaren deposizioa eragin dezakelako litio kristalak edo dendritak sortzea eta ondorioz, zirkuitu laburra eraginez. Beste aldetik, >4.5 V lan-tentsioetan elektrolito organikoaren oxidazioa gerta daiteke. Arazo hauek saihesteko sistema hibridoa 1.5-4.2 V lan-tentsio leihoan neurtu da. Honela, elektrodo positiboa beti 4.5 V-tik behera mantentzen da eta elektrodo negatiboa ere ez da 0.2V-tik behera joaten. Korrante dentsitatea handitzearekin batera elektrodoen, eta ondorioz, sistemaren erresistentzia handitzen da.

6. irudia. $\text{SnO}_2\text{-rGO:a-TEGO}$ 1:2 sistemaren elektrodo eta sistema osoaren profilak.



Energia metatzeko sistemen energia eta potentzia dentsitate espezifikoak Ragone diagrama deritzen grafikan aurkeztu ohi dira. 7. irudian, aztertutako LIC-a eta a-TEGO erabiliz eraikitako EDLC-arekin konparatu dira. Ragone diagramak erakusten duen moduan 142 W kg^{-1} -ko potentzia dentsitaterako sistema hibridoak 186 Wh kg^{-1} -ko energia dentsitatea ematen du. EDLC-ak berriz, 134 W kg^{-1} -ko potentzia dentsitaterako 23 Wh kg^{-1} -ko energia dentsitatea baino ez. Potentzia dentsitate balio hauetan LIC sistemak energia dentsitatearen % 820-ko gehikuntza aurkezten du. Potentzial altuagotan lan egiten den heinean LIC eta EDLC arteko ezberdintasuna txikiagotzen doa. Adibidez, 2087 W kg^{-1} potentzial dentsitatean sistema hibridoak 74 Wh kg^{-1} -ko energia dentsitatea ematen du. EDLC-ak berriz, 1866 W kg^{-1} -tan 16 Wh kg^{-1} -ko energia. Sistemen arteko erlazioa %460-ra jaitsi arren, LIC-ak aurkezten dituen energia dentsitate balioak interesgarriak izaten jarraitzen dute. Gainera, sistema honek 1000 karga/deskarga jasan ondoren % 92-ko kapazitatea mantentzen du.

7. irudia. LIC eta EDLC sistemen arteko konparaketa Ragone diagraman.



4. Ondorioak

Ikerketa lan honetan grefenoan oinarrituriko LIC-en potentziala aztertu da. SnO_2 eta grafenoz osatutako material konposatuak litio-ioi baterietako anodo moduan aztertu izan dira aurretik, baina kasu honetan, grafeno aktiboarekin konbinatuz konportamendu ezin hobea aurkezten duen grafenozko LIC-a eraiki da. Sistema honek grafenozko EDLC batekin alderatuta %450-820 tarteko energia dentsitate gehikuntza aurkezten du aplikaturiko korrante dentsitatearen arabera. Beraz, potentzia altuetan (EDLC baten moduan) eta energia altuetan (bateria baten moduan) lan egiten duen eta karga/deskarga azkarreko aplikazioetarako erabili daitekeen superkondentsadore hibridoa lortu da.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetatik abiatuta, alde batetik, interesgarria izango litzateke sistema berdina frogatzea baina ikatz aktibo batekin. Adibidez, CICenergiGUNE-n erabiltzen den oliba hezurretatik eratorritakoa (Redondo *et al.*, 2015). Beste aldetik, eroankortasun elektriko hobea duten elektrolito berrien ikerkuntza ere bultzatu beharko litzateke.

6. Erreferentziak

- Amatucci, G.G., Badway, F., Pasquier, A.D., Zheng, T. (2001): An Asymmetric Hybrid Nonaqueous Energy Storage Cell. *J. Electrochem. Soc.* 148, A930–A939.
- Botas, C., Carriazo, D., Singh, G., Rojo, T. (2015): Sn - and SnO_2 -graphene flexible foams suitable as binder-free anodes for lithium ion batteries. *J. Mater. Chem. A* 3, 13402–13410.
- Burke, A. (2000): Ultracapacitors: why, how, and where is the technology. *J. Power Sources* 91, 37–50.
- Frackowiak, E., Béguin, F. (2001): Carbon materials for the electrochemical storage of energy in capacitors. *Carbon* 39, 937–950.
- Hummers, W.S., Offeman, R.E. (1958): Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 1339–1339.
- Khomenko, V., Raymundo-Piñero, E., Béguin, F. (2008): High-energy density graphite/AC capacitor in organic electrolyte. *J. Power Sources* 177, 643–651.
- Klechikov, A., Mercier, G., Sharifi, T., Baburin, I.A., Seifert, G., Talyzin, A.V. (2015): Hydrogen storage in high surface area graphene scaffolds. *Chem. Commun.* 51, 15280–15283.
- Naai, K. (2010): “Nanohybrid Capacitor”: The Next Generation Electrochemical Capacitors. *Fuel Cells* 10, 825–833.
- Redondo, E., Carretero-González, J., Goikolea, E., Ségalini, J., Mysyk, R. (2015): Effect of pore texture on performance of activated carbon supercapacitor electrodes derived from olive pits. *Electrochimica Acta* 160, 178–184.

Simon, P., Gogotsi, Y. (2008): Materials for electrochemical capacitors. *Nat. Mater.* 7, 845–854.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan honetan parte hartu duten ikertzaileek eskerrak eman nahi dizkiete Europako Batzordeari (Graphene Flagship proiektua), Espainiako Ekonomia eta Lehiakortasun Ministerioari, Eskualde Garapeneko Europako Funtzari (MAT2015-64167-C2-2-R proiektua) eta Eusko Jaurlaritzari (Elkartek 2015 proiektua) lan hau aurrera ateratzeko jasotako finantzaketagatik. M. Arnaiz-ek eskerrak eman nahi dizkio Espainiako Hezkuntza, Kultura eta Kiroleko Ministerioari bere doktoretza aurreko FPU bekagatik.

Material zeramikoen tenperatura altuko propietate infragorriak: boro nitruro kubiko eta hexagonala

I. González de Arrieta eta G.A. López¹ R. Fuente² T. Echániz eta M.J. Tello³

¹ Fisika Aplikatua II Saila. UPV/EHU. Sarriena auzoa s/n, E-48940 Leioa, Bizkaia

² Matematika Aplikatua Saila. UPV/EHU. Urkixo zumarkalea s/n, E-48013, Bilbo

³ Materia Kondentsatuaren Fisika Saila. UPV/EHU. Sarriena auzoa s/n, E-48940 Leioa, Bizkaia

Laburpena

Metodo esperimental eta marko teoriko bat deskribatu ditugu, material zeramikoen tenperatura altuko propietate optikoak aztertzeko. Metodo honen gaitasuna erakusteko, boro nitrurozko (BN) bi materialen emisibitate infragorria neurtu dugu. Material hauen propietate optikoak espektro infragorrian ezagutzea beharrezkoak dira hainbat aplikaziotarako (pirometria eta sateliten estaldurak, adibidez). Eredu teori-koek, konposizio kimikoa eta egitura kontuan hartuz, espektro esperimentalen arteko desberdintasunak azal ditzake.

Hitz gakoak: boro nitruro, emisibitatea, erdi-infragorria, erradiazio termikoa

Abstract

We describe an experimental method and a theoretical framework for the study of the optical properties of ceramics at high temperature. We show the capability of this method by measuring and interpreting the infrared emissivity of two boron nitride (BN)-based materials. Knowledge of the infrared optical properties of these materials is necessary for several applications, from pyrometry to solar coatings in satellites. Besides, the theoretical framework can explain the differences among experimental spectra taking into account the effects of chemical composition and structure.

Keywords: boron nitride, emissivity, mid-infrared, thermal radiation

1 Sarrera eta motibazioa

Erradiazio termikoa bero-transmisioaren modu nagusia da tenperatura altuko edo huts-egoeratan. Hor-taz, garrantzia handia dauka hainbat industria-arlotan: eguzki-energia, aeronautika... (Setién-Fernández *et al.*, 2013; del Campo *et al.*, 2010). Gainera, metalurgia eta makina-erreminta industrietan ere beharrezkoa da erradiazio termikoa ulertzea termometria infragorria erabiltzeko (Pujana *et al.*, 2007). Sektore teknologiko hauek Euskal Herriko industriaren zati handia osatzen dute eta hori izan zen Leioan zehaz-tasun handiko erradiometro infragorri bat eraikitzeo arrazoietako bat (del Campo *et al.*, 2006).

Erradiazio termikoen parametro nagusia emisibitatea da: material baten eta erreferentziako gorputz beltz baten erradiazioen zatidura. Emisibitatea uhin-luzerarekin eta tenperaturarekin alda daitake. Gai-nera, aldaketa nabarmenak ikus ditzakegu material bereko bi lagin ezberdinen emisibitateen artean, gainazalen parametroak aldatzen badira (zimurtasuna, oxido geruzaren zabalera, ezpurutasunak...) (Ro-zenbaum *et al.*, 2009). Aldaketa horiek ikerketa sistematikoak eta zehatzak egitea zailtzen dute eta teoria sinpleak baliogabetzen dituzte. Beraz, ahalegin handiak egin dira azken urteotan erradiometroak eta neurketa-metodoak hobetzeko (Honner eta Honnerová, 2015).

Boro nitruro (BN) konposatu polimorfiko bat da eta karbonoaren egitura elektronikoa berdina dau-ka. Karbonoa bezala, bere egitura egonkorrena hexagonala da (h-BN), baina beste fase kubiko gogor bat dauka (c-BN). Bi fase horiek oxidazioaren eta tenperatura altuen aurka erresistentzia handia dauka-te, karbonoaren fase homologoei baino gehiago. Horregatik, oso erabilgarriak dira hainbat sektoretan: potentzia handiko mikroelektronika, makina-erreminta, espazioa, estaldura babesgarriak, etab. (Engler *et al.*, 2007; Neves Monteiro *et al.*, 2013). Lehen aipatu dugunez, aplikazio guzti hauetarako erradiazio termikoa kontuan hartzea beharrezkoa da ingeniari-tza kalkulu-etan eta tenperatura neurtzean.

2 Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Lan hau Mondragon Unibertsitateko eskaera baten ondorioz sortu zen. Errendimendu Handiko Mekanizazioa taldea boro nitruro kubikozko ebaketa-tresnak ikertzen ari zen eta haien emisibitatea jakin behar zuen kamara termografikoak erabiltzeko. Horregatik, artikuluko bilaketa bat egin genuen eta oso datu gutxi aurkitu genituen BN-aren bi faseen emisibitateari buruz. Gainera, datu urri horien arteko desadostasun nabarmenak ikusi genituen, azalpenik gabekoak.

Hortaz, ikerketa honek hiru helburu nagusi ditu:

1. Mondragon Unibertsitateak behar dituen datu esperimentalak zehaztasunez neurtzea.
2. Literaturan BN-aren emisibitateaz aurkitu ditugun datuak osatzea.
3. Espektroen arteko desberdintasunak azaltzeko eredu teorikoa deskribatzea.

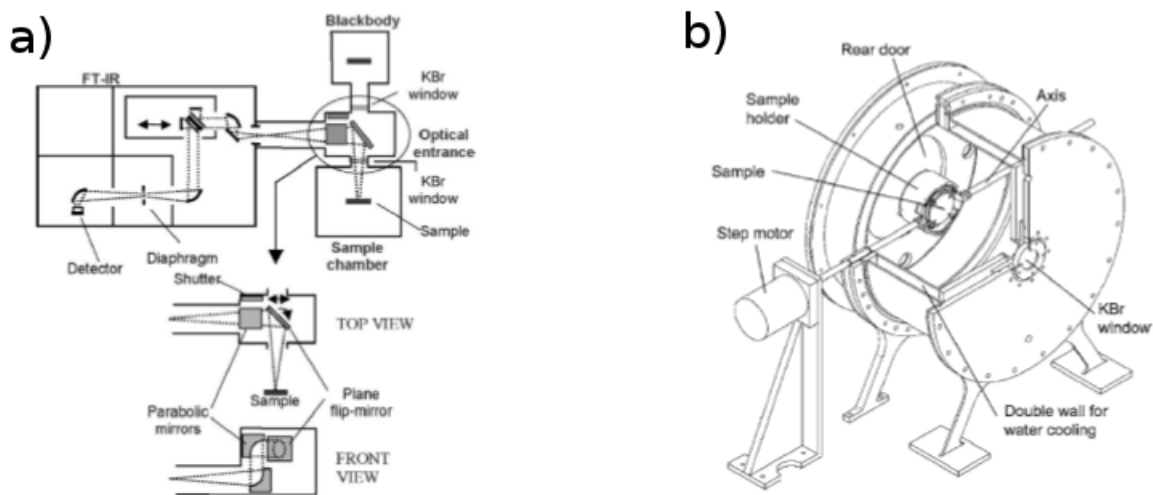
3 Ikerketaren muina

3.1 Laginen eta metodoen deskribapena

Lehen lagina c-BN/TiCN ebaketa-tresna konposatua da (%55 c-BN, TiCN-aren matrize batean). Material horri industrian PCBN (boro nitruro kubiko polikristalino) deritza eta material gogorak mekanizatzeko erabiltzen da, c-BN purua baino apurkor gutxiago baita. Bigarren lagina boro nitruro hexagonalezkoa da (h-BN) eta pirolisis metodo batekin sintetizatu zen, grafito-oinarri baten gainean. Sintesi-metodogatik, lagin mota horri boro nitruro pirolitiko (pBN) deitzen diote. Laginen egitura X izpien difrakzioaren eta SEM mikroskopiaren bidez aztertu genituen, eta grafitozko irlak lagin osoan zehar ikusi genituen. Laginen konposizioa eta egitura jakitea beharrezkoa da propietate optikoak zuzentasunez azaltzeko.

Lagin hauen emisibitatea EHUn eta Orléanseko CEMHTIn neurtu genituen elkarlanean. Bi kasuetan, neurtzeko metodoa berbera da: lagina eta erreferentziako gorputz beltz bat berotzen ditugu eta haien erradiazio termikoa FTIR espektrometro batekin neurtzen ditugu (del Campo *et al.*, 2006; De Sousa Meneses *et al.*, 2015). Laginaren emisibitatea bi erradiazio termikoen zatidura da. EHUKo neurtzeko tresnaren irudi eskematikoa ikus daiteke 1. irudian.

1 Irudia: EHUKo neurtzeko tresna (a) eta laginen kamararen (b) irudi eskematikoak.

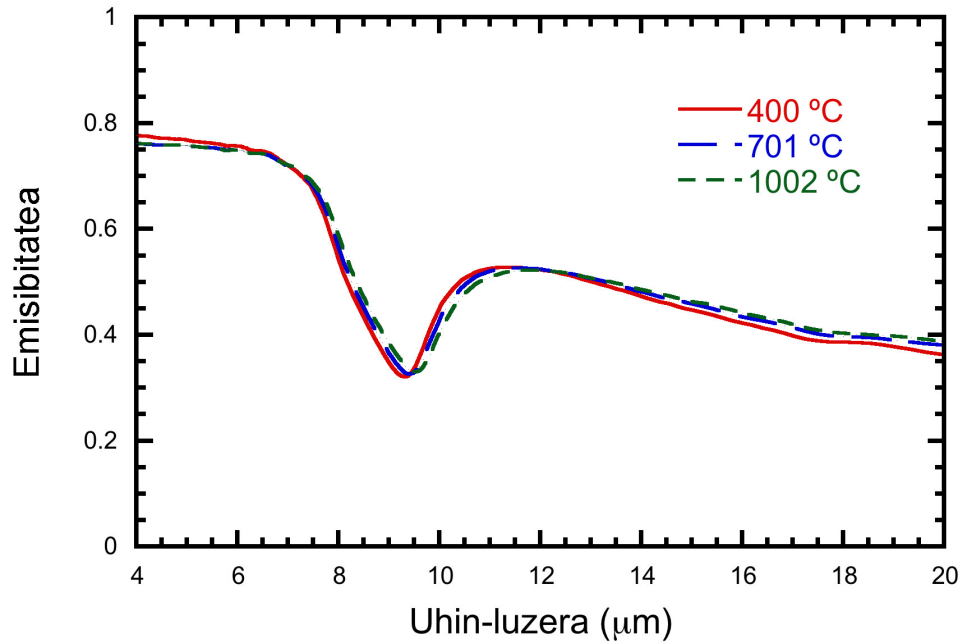


Bi laborategien artean hainbat desberdintasun daude: tenperatura-tartea, tenperatura neurtzeko metodoa, detektagailuak, atmosfera, etab. Hala ere, bi tresnen oinarritzko ezaugarriak berdinak dira eta lan honetan detektagailu eta tenperatura tarte berdinak erabili ditugu, neurketak baliokideak izan daitezkeen.

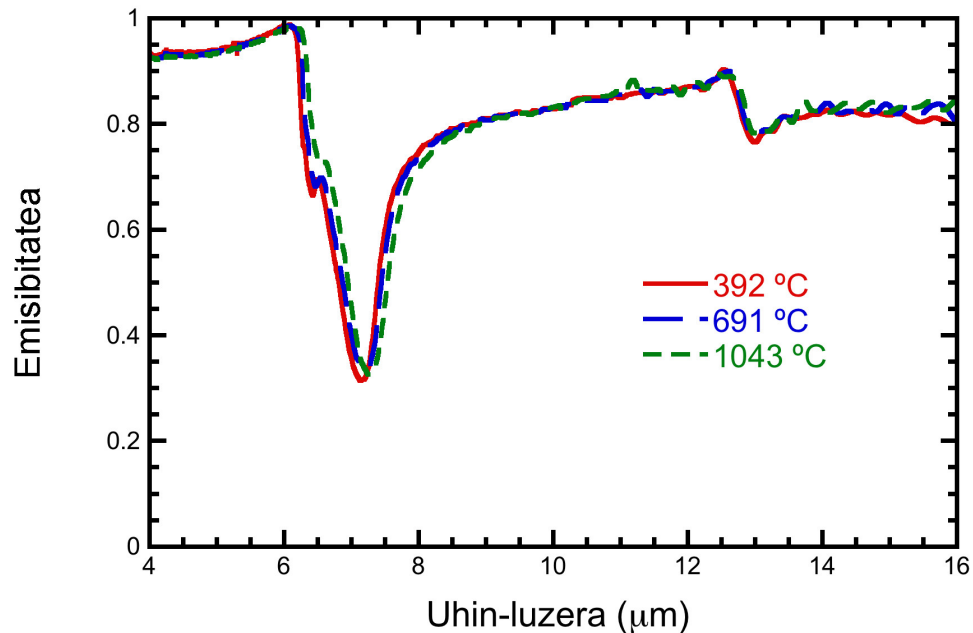
3.2 Emisibitate-neurketak eta interpretazio teorikoa

1. irudiak PCBN-aren emisibitate espektroak erakusten ditu hiru tenperaturatan. Espektroek minimo lokalak dauzkate $9\text{ }\mu\text{m}$ -en inguruan (materialaren bibrazio-moduekin lotuta dagoena), c-BN puruak bezala (Kutsay *et al.*, 2010). Hala ere, espektroaren joera orokorra beherantz doa, metal baten antzera. Material konposatu (c-BN/TiCN) honen espektroa, beraz, konposatua da: material zeramikoaren minimo lokal bat eta metalen itxura orokorra erakusten baititu.

2 Irudia: PCBN ebaketa-tresnaren emisibitate espektrala hiru tenperaturatan.



3 Irudia: pBN-aren emisibitate espektrala hiru tenperaturatan.



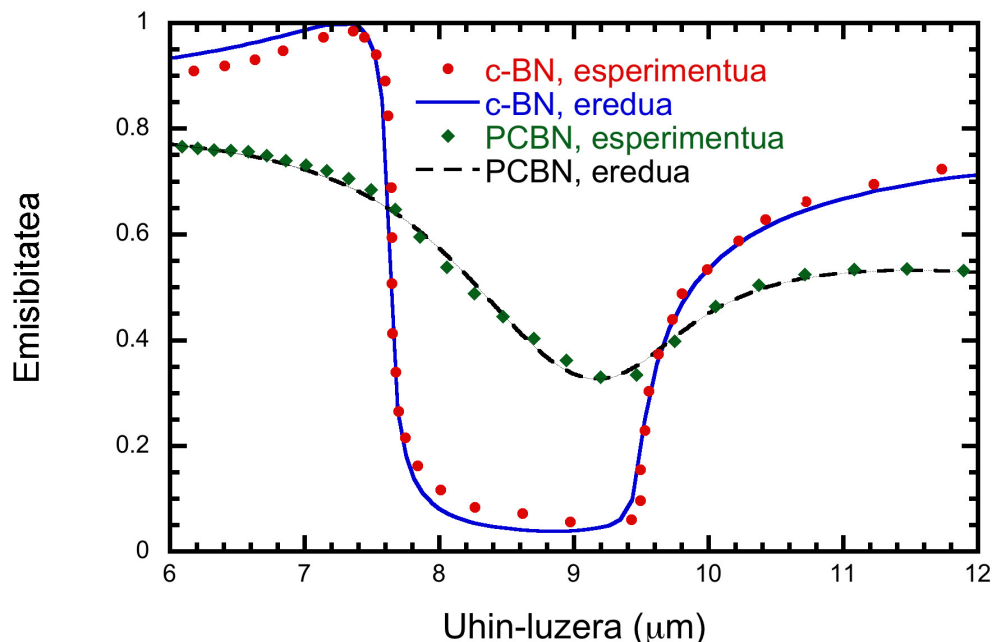
pBN-aren emisibitatea erakusten dugu 2. irudian hiru tenperaturatan, CEMHTIn neurtutakoa. Bi minimo lokal ikus ditzakegu, $6 - 8 \mu\text{m}$ eta $12 - 14 \mu\text{m}$ tartean, eta gailur txiki bat $6.4 \mu\text{m}$ -tan. Ezau-garri horiek literaturako lagin pirolitikoaren antzekoak dira (De Sousa Meneses *et al.*, 2016). Hala ere, hainbat desberdintasun ikus dezakegu beste lagin-hexagonal mota desberdinen artean. Desadostasun hauek sintesi-metodo ezberdinetan dute jatorria (pirolisia, prentsa beroa, haziera orientatua, etab.).

Aipatu dugunez, hainbat desadostasun aurkitu ditugu gure emaitzen eta literaturako datuen artean. Desberdintasun horiek laginen konposizio kimikoarekin eta egiturarekin lotuta daude. PCBN-zko ebaketa-tresnaren kasuan, desadostasunaren arrazoi nagusia TiCN-aren presentzia da. Zeramikoa izan arren, TiCN materialak nahiko erresistibitate elektriko baxua dauka ($\sim 50 \mu\Omega\text{m}$, grafitoen antzekoa) eta horrek beheranzko joera metalikoa azal dezake. pBN-aren kasuan, kristalak hexagonalak dira eta bi norabide optikoak daukate, bakoitza modu normal batekin lotuta dagoena. Sintesi-metodoen arabera, kristalak orientatuta ala desorientatuta egon daitezke eta modu bakarra ala biak ikus ditzakegu. Lagin prentsaturak ordenatuta hazten dira (presio uniaxialen eraginpean daudelako), baina lagin pirolitikoaren haziera librea da. Gainera, ikusi ditugun grafitozko ezpurutasunen eragina kontuan hartu behar da.

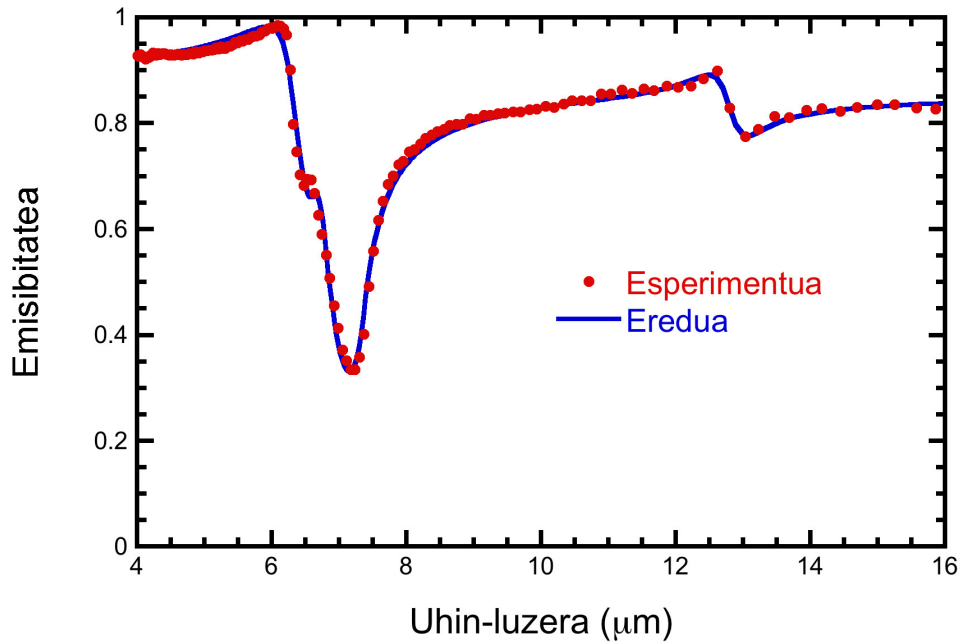
Desberdintasun horiek azaltzeko, Kurosawaren eredua erabili dugu. Ereduek honen moduen arteko interekintza deskribatzen du bi parametro fenomenologikoen bidez eta moduen maiztasunak kalkulatzeko balio du. Gainera, beste zenbait ereduekin konbinatu dezakegu propietate fisiko desberdinak kontuan hartzeko. Horrela, emisibitate neurketen eta materialen propietate elektrikoaren (erresistibitatea) eta egiturazko-propietateen (ordena, grafito ezpurutasunak) arteko lotura ikus dezakegu. Oinarri teorikoa eta kalkulu metodoa argitaratu ditugun artikuluetan azalduta daude (González de Arrieta *et al.*, 2016, 2017).

3. eta 4. irudietan datu esperimental eta eredu teorikoen arteko konparaketak erakusten ditugu. Aipatu ditugun hipotesiak erabili ditugu ereduaren (TiCN-aren erresistibitatea, pBN-aren kristalen orientazioa eta grafito ezpurutasunak). PCBN-aren kasuan, konparaketa hori literaturako c-BN lagin batentzat ere egiten dugu, TiCN matrizeak sortu dituen desberdintasunak hobeto ikusteko. Ereduek oso ondo erreplikatzeko dituzten datu esperimentalak kasu guztietan, beste artikuluetakoak baino hobeto (De Sousa Meneses *et al.*, 2016).

4 Irudia: PCBN ebaketa-tresnaren ($T = 400 \text{ }^\circ\text{C}$) eta literaturako c-BN puruaren ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$) espektro esperimentalak eta eredu teorikoen iragarpenak.



5 Irudia: pBN-aren emisibitate espektro esperimental (T = 691 °C) eta eredu teorikoak egiten duen iragarpena.



4 Ondorioak

Boro nitruroaren bi fasezko materialen emisibitate infragorria neurtu dugu 1000 °C-ra arte. Material hauek oso erabilgarriak dira temperatura altuko aplikazio askotan eta haien erradiazio termikoa kontuan hartzeak garrantzi handia dauka industrian. Bi faseen emisibitateaz datu gutxi eta desberdinak daude literaturan. Lan honetan egoera hori hobetzen saiatu gara datu esperimental zehatzak lortuz eta hauen interpretazio teorikoen bidez. Eredu teorikoak oso ondo erreplikatzeko emaitza esperimentalak eta gure hipotesiak baieztatzen ditu. PCBN-aren kasuan, desadostasunaren arrazoia TiCN-aren presentzia da, eta pBN-aren kasuan, kristalen ordena eta grafito ezpurutasunak.

5 Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Boro nitruroaren bi faseak gero eta gehiago erabiltzen ari dira temperatura altuko aplikazio desberdinetan. Aplikazio hauetan emaitza zehatzak eta sistematikoak neurtzea beharrezkoa da. Horregatik, BN familiaren beste materialen neurketak prestatzen ari gara: c-BN purua, h-BN prentsaturak, beste konposizio duten ebaketa-tresnak...

Erreferentziak

- DE SOUSA MENESES, D., M. BALAT-PICHELIN, O. ROZENBAUM, L. DEL CAMPO, eta P. ECHEGUT. 2016. Optical indices and transport scattering coefficient of pyrolytic boron nitride: a natural thermal barrier coating for solar shields. *Journal of Materials Science* 51.4660–4669.
- , P. MELIN, L. DEL CAMPO, L. COSSON, eta P. ECHEGUT. 2015. Apparatus for measuring the emittance of materials from far infrared to visible wavelengths in extreme conditions of temperature. *Infrared Physics and Technology* 69.96–101.
- DEL CAMPO, L., R.B. PÉREZ-SÁEZ, X. ESQUISABEL, I. FERNÁNDEZ, eta M.J. TELLO. 2006. New experimental device for infrared spectral directional emissivity measurements in a controlled environment. *Review of Scientific Instruments* 77.113111.
- , R.B. PÉREZ-SÁEZ, L. GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, X. ESQUISABEL, I. FERNÁNDEZ, P. GONZÁLEZ-

- MARTÍN, eta M.J. TELLO. 2010. Emissivity measurements on aeronautical alloys. *Journal of Alloys and Compounds* 489.482–487.
- ENGLER, M., C. LESNIAK, R. DAMASCH, B. RUISING, eta J. EICHLER. 2007. Hexagonal boron nitride (hBN) - applications from metallurgy to cosmetics. *CFI-Ceram Forum Int* 84.49–53.
- GONZÁLEZ DE ARRIETA, I., T. ECHÁNIZ, R. FUENTE, L. DEL CAMPO, D. DE SOUSA MENESES, G.A. LÓPEZ, eta M.J. TELLO. 2017. Mid-infrared optical properties of pyrolytic boron nitride in the 390 - 1050 °C temperature range using spectral emissivity measurements. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* (onartuta).
- , T. ECHÁNIZ, R.B. PÉREZ SÁEZ, eta M.J. TELLO. 2016. Thermo-radiative and optical properties of a cutting tool based on polycrystalline cubic boron nitride (PCBN). *Materials Research Express* 3.045904.
- HONNER, M., eta P. HONNEROVÁ. 2015. Survey of emissivity measurement by radiometric methods. *Applied Optics* 54.669–683.
- KUTSAY, O., C. YAN, Y.M. CHONG, Q.YE, I. BELLO, W.J. ZHANG, J.A. ZAPIEN, Z.F. ZHOU, Y.K. LI, V. GARASHCHENKO, A.G. GONTAR, N.V. NOVIKOV, eta S.T. LEE. 2010. Studying cubic boron nitride by Raman and infrared spectroscopies. *Diamond and Related Materials* 19.968 – 971.
- NEVES MONTEIRO, S., A.L. DIEGUES SKURY, M. GIARDINIERI DE AZEVEDO, eta G. SERGUEEVITCH BOBROVNITCHII. 2013. Cubic boron nitride competing with diamond as a superhard engineering material an overview. *Journal of Materials Research and Technology* 2.68 – 74.
- PUJANA, J., L. DEL CAMPO, R.B. PÉREZ-SÁEZ, M.J. TELLO, I. GALLEGU, eta P.J. ARRAZOLA. 2007. Radiation thermometry applied to temperature measurement in the cutting process. *Measurement Science and Technology* 18.3409–3416.
- ROZENBAUM, O., D. DE SOUSA MENESES, eta P. ECHEGUT. 2009. Texture and porosity effects on the thermal radiative behavior of alumina ceramics. *International Journal of Thermophysics* 30.580–590.
- SETIÉN-FERNÁNDEZ, I., T. ECHÁNIZ, L. GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, R.B. PÉREZ-SÁEZ, E. CÉSPEDES, J.A. SÁNCHEZ-GARCÍA, L. ÁLVAREZ-FRAGA, R. ESCOBAR GALINDO, J.M. ALBELLA, C. PRIETO, eta M.J. TELLO. 2013. First spectral emissivity study of a solar selective coating in the 150-600 °C temperature range. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 117.390–395.

6 Eskerrak eta oharrak

Lan hori I. González de Arrietaren tesiaren kapitulu bat izango da. Bi artikulutan agertu dira emaitza hauek (González de Arrieta *et al.*, 2016, 2017).

EHUko ikerkuntza programak partzialki finantzatu du proiektu hau. T. Echániz eskerrak ematen dizkio EHUri doktorego osteko bekagatik. I. González de Arrieta eskerrak ematen dizkio CEMHTIko Radiative and Transport Properties Group-ari (CNRS Orléans) bere laguntzagatik.

Argiaren lokalizazio azpinanometrikoa eta elektroien energia-galera metalezko nanopartikuletan: deskribapen klasikoa vs kuantikoa

Mattin Urbiet^{1,2,3}, Marc Barbry^{1,2}, Yao Zhang^{1,2}, Peter Koval^{1,2},

Daniel Sánchez-Portal^{1,2}, Javier Aizpurua^{1,2} eta Nerea Zabala^{1,2,3}

¹ Materialen Fisika Zentroa (CFM), CSIC-UPV/EHU Zentro Mixtoa, Manuel Lardizabal Pasealekua 5, 20018 Donostia (Gipuzkoa)

² Donostia International Physics Center (DIPC), Manuel Lardizabal Pasealekua 4, 20018 Donostia (Gipuzkoa)

³ Elektrizitate eta Elektronika Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU, Sarriena auzoa, z/g 48940 Leioa (Bizkaia)

Laburpena

Nanopartikula metalikoen espektroskopia optikoa eta elektroien energia-galeraren espektroskopia (EELS) klasikoki aztertu ohi diren arren, eskala nanometrikoan eremu hurbilen deskribapen kuantitatiboa lortzeko partikularen geometriaren ezaugarri atomistikoaren garrantzia erakutsi dute mekanika kuantikoa darabilten azken ikerketek. Deskribapen klasikoaren mugak aztertu ditugu, sodiozko kluster eta dimeroen erantzun optikoa eta elektroien energia-galera kalkulatzeko mugako elementuen metodoa (BEM) eta dipolo diskretuen hurbilketa (DDA) bidez, eta emaitzak denboraren menpeko dentsitatearen funtzionalaren teoriarekin (TDDFT) alderatuz. Orokorrean, antzeko joerak behatzen dira emaitzetan, hutsartea 0.6 nm baino txikiagoa duten dimeroen izan ezik, elektroien uhin-izaerak garrantzia hartzen baitu.

Hitz gakoak: Nanofotonika, nanoplasmonika, erantzun optikoa, EELS, eremu hurbilen lokalizazioa, metalezko nanopartikulak

Abstract

The study of the optical spectroscopy and the electron energy loss spectroscopy (EELS) of metallic nanoparticles has traditionally relied on classical approaches. Nevertheless, recent quantum mechanical studies have shown the importance of the atomistic features of the particle geometry for a quantitative description of the near fields at the nanometer scale. We have studied the limits of the classical approaches, by using the boundary element method (BEM) and the discrete dipole approximation (DDA), to describe the optical response and electron energy loss probability of sodium clusters and dimers, and comparing them with time dependent density functional theory (TDDFT). Similar trends are observed except for dimer gaps below 0.6 nm, where the wave nature of the electrons comes into play.

Keywords: Nanophotonics, nanoplasmonics, optical response, EELS, near-field localization, metallic nanoparticles

1 Sarrera eta motibazioa

Nanoteknologiaren alorrean eginiko aurkikuntzek nanopartikula metalikoak eskala nanometrikoan eta azpinanometrikoan kontrolatzea ahalbidetu dute (Kern *et al.*, 2012; Ward *et al.*, 2010). Aurrerapenok aukera berriak sortu dituzte aplikazio berriak garatzeko, besteak beste, eremu hurbileko mikroskopia, eguzki-panelen energia xurgapenaren areagotzea, zirkuitu optoelektronikoak, biolomolekulen nano-sentsoreak, tumoreen lokalizazioa edo termo-terapia ez-inbaditzaileak medikuntzan. Nanopartikula metalikoetan balentziako elektroien oszilazio kolektiboak (plasmoidak) kitzika daitezke argiarekin edo elektroien-sorta baten bidez. Nanopartikula plasmonikoen ezaugarri eta aplikazio interesgarrienetakoak beren erantzun optikorekin moldagarritasunean, eta eremu elektromagnetikoak indartzeko eta eskala nanometrikoan lokalizatze

gaitasunean oinarritzen dira. Halako lokalizazio izugarria partikulek izan ditzaketen punta zorrotzei edo partikulen arteko hutsarte txikiei esker lor daiteke.

Bestalde, mikroskopia elektronikoaren alorrean eginiko aurrerapenei esker metalezko nanopartikulak bereizmen espazial azpinnanometrikoarekin azter daitezke, modu plasmoniko ezberdinak karakterizatzeko bide alternatibo bat eskainiz (Koh *et al.*, 2009; Kadhodazadeh *et al.*, 2014), elektroien sorta erasotzailearen ibilbide ezberdinekin kitzikatuz. Ikerketa teoriko gehienetan partikula txikien forma esferikotzat jo izan da sinpletasunaren hobe beharrez, nahiz eta elektroien energia-galeraren espektroak objektuaren formarekiko menpekotasun handia duen. Gainera, partikula txikien kasuan, deskribapen klasikoek zentzua gal dezakete, nanopartikulen egitura atomistikoa eta elektroien izaera kuantikoa dela eta.

2 Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken urteetan, zenbait lanek (Barbry *et al.*, 2015) 1-2 nm-ko neurria duten metalezko nanopartikulen eta dimeroen erantzun optikoa aztertu dute, denboraren menpeko dentsitatearen funtzionalaren teoria (ingelesez *Time Dependent Density Functional Theory*, TDDFT) erabiliz, egitura atomistikoa eragina neurtzeko asmoz. Efektu kuantikoek garrantzia duten eskala honetan, erakutsi dutenez, eremu hurbilak kuantitatibokiko deskribatzeko beharrezkoa da egitura atomistikoa kontuan hartzea. Azaltzen dutenez, posible da plasmoiak nanopartikula baino txikiagoa den espazio azpinnanometriko batean lokalizatzea edota konfinatzea, partikularek ertzetan eta, bereziki, erpinetan. Lan gehienetan, nanopartikulak esferikotzat jo dira teorikoki elektroien energia-galerako probabilitatea kalkulatzeko orduan, baina honek nanopartikularen formarekiko menpekotasuna du, argi geldituko den bezala.

Lan honetan, literaturan ohikoak diren eredu ezberdinek dituzten muga eta indarguneak aztertu ditugu, simetria ikosaedrikoa duten Na_{380} klusterren eta dimeroen erantzun optikoa eta elektroien energia-galera kalkulatzeko. Erabilitako tresnak ondorengoak dira: i) TDDFT (Runge eta Gross, 1984; Parr eta Yang, 1989), ii) mugako elementuen metodoa (ingelesez, *Boundary Element Method*, BEM) (García de Abajo eta Howie, 2002) eta iii) dipolo diskretuen hurbilketa (ingelesez, *Discrete Dipole Approximation*, DDA) (Jensen *et al.*, 2001; Jensen eta Jensen, 2008, 2009; Chen *et al.*, 2015). Eremu hurbilen handiagotzean eta lokalizazioan jarri dugu arreta berezia. Sodiozko nanopartikulak eredu bezala hautatu dira, baina ondorioak parametro egokiak dituzten beste metaletara hedatu daitezke. Nanopartikulon geometria ikosaedrikoak bereziki ahalbidetzen du eremua partikulen ertzetan eta erpinetan edo bi partikulen arteko hutsarteetan lokalizatzea.

3 Ikerketaren muina

Lan honetan simetria ikosaedrikoa duten sodiozko nanopartikulen erantzun optikoa eta elektroien energia-galera probabilitatea teorikoki aztertu ditugu, eredu ezberdinetatik abiatuz. Erantzun optikoa kalkulatzeko ondorengo tresnak erabili dira: i) TDDFT, egitura atomistikoa kontuan hartzen duen *ab initio* eredu kuantikoa; ii) BEM, Maxwell-en ekuazioak klasikoki ebazten dituen metodoa, zeinean partikula eta bere ingurunea homogeneotzat eta gainazal batek bereiziak jotzen diren; eta iii) DDA eredu atomistiko klasiko, zeinean nanopartikulako atomo bakoitzari materialaren arabera polarizabilitatea ezartzen zaion, dipolo baten portaera izan dezan.

Nanopartikula deskribatzeko funtzio dielektrikoa eta dipoloen polarizabilitatea kalkulatzeko orduan Druderen eredu erabili da. Gainera, partikulen tamaina, $r = 18.5 \text{ \AA}$ erradioko esferaren neurrikoa, sodioan elektroiek duten batez besteko ibilbide askea baino txikiagoa denez, ikuspuntu klasiko batetik, elektroiek partikularek gainazalarekin talka egiten dutela kontuan izan da, zeina funtzio dielektrikoan moteltze gehigarri baten gisan adierazten den, partikularek neurriaren eta formaren arabera.

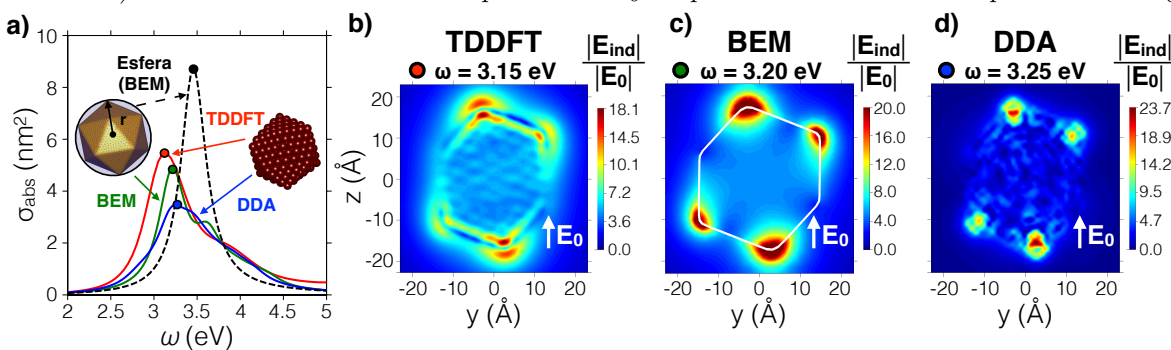
Aurretik azaldutako hiru metodoak erabiliz lorturiko emaitzak konparatu ditugu. Lehenik, isolatutako nanopartikulen erantzun optikoa aztertu dugu, eta ondoren dimeroen kasura hedatu dugu gure ikerketa, hutsartearen aurpegi-aurpegi morfologiarentzat. Azkenik, partikula isolatutako nanopartikuletan elektroien energia-galera probabilitatea aztertu dugu.

3.1 Partikula ikosaedriko bakartuen erantzun optikoa

Sodiozko nanopartikulen xurgapeneko sekzio eragilea eta eremu hurbilak simulatu ditugu, kanpoko argi kitzikatzailaren eremu elektrikoaren polarizazioaren eta nanopartikularen arteko orientazio ezberdinen-

tzat. TDDFT erabiliz eginiko *ab initio* kalkulu atomistikoentzat 380 Na atomoz osaturiko kluster bat erabili dugu 1a irudian ageri den bezala. Egitura hau simetria ikosaedriko global minimoa duen kluster handiena da.

1 Irudia: a) Partikula ikosaedrikoen xurgapeneko sekzio eragileak, TDDFT (lerro gorria), BEM (lerro berdea), eta DDA (lerro urdina) erabiliz kalkulatuak. Lerro eten beltzak $r = 18.5 \text{ \AA}$ erradioko esferaren kasuari dagozkio. TDDFT eta DDA erabiliz eginiko kalkuluetan erabilitako kluster atomistikoa, 380 atomoz (dipoloz) osatua, eta BEM-en erabilitako egitura jarraitua irudikatu dira erreferentzia gisa. b)-d) Induzitutako eremu hurbilaren handiagotzearen mapak nanopartikula baten kasurako b) TDDFT, c) BEM eta d) DDA erabiliz erresonantzia dipolarrean. E_0 kanpoko eremua z ardatzean polarizatuta dago.



Hiru ereduak erabiliz lorturiko xurgapeneko sekzio eragileak ageri dira 1a irudian. Bai TDDFT-ren (lerro gorria) zein DDA-ren (lerro urdina) kasuan gailur bakarra ikus dezakegu, zeina plasmoi dipolarren (DP) dagokion, 3.15 eV eta 3.25 eV-eko energiaren, hurrenez hurren. TDDFT-ri dagokion kurban lepo bat ageri da 3.8 eV-etan. BEM-en (lerro berdea) kasuan aldiz, plasmoi dipolarren eta plasmoi kuadrupolarren (QP) dagozkien bi gailur ageri dira 3.2 eV eta 3.6 eV-etan. Hiru ereduak emandako DP-en energien arteko ezberdintasunak txikiak dira oso, handiagoak dira aldiz intentsitateari dagokionez, bereziki DDA-ren kasuan. TDDFT eta DDA-n erabilitako geometria bera denez, DDA-ri dagokion ezberdintasunak dipoloentzat aukeratutako polarizabilitatearen ondorio izan litezke edo, areago, ereduaren beraren mugen ondorio. BEM-en kurba, bestalde, gehiago hurbiltzen da TDDFT-ren kasuan DP-arentzat lortzen den intentsitatera, zeinak partikularen tamainarekiko menpekotasuna duen. Horrez gain, geometria leundu ahala, DP-a nagusituz doa QP-aren intentsitatea txikituz doan heinean. Portaera honek, neurri batean, TDDFT-ren kasuan ageri den lepoaren ordez BEM-en ageri den bigarren gailurraren agerpena azaltzen du.

BEM erabiliz kalkulaturako partikula esferikoaren espektroa etendako lerro beltzez adierazi da 1a irudian. Kurba honetan DP-ari dagokion gailur bakarra ageri da 3.45 eV-etan. Intentsitateari dagokionez, partikula ikosaedrikoarekin alderatuta ezberdintasuna nabaria da, eta arrazoien artean, bi nabarmendu genitzake: alde batetik, esferaren kasuan ordena altuagoko modurik ez kitzikatzea, eta, bestetik, funtzio dielektrikoan sartutako moteltzea geometriarekiko menpekota izatea (txikiagoa esferaren kasuan).

Sodiozko partikula ikosaedriko bakar baten inguruko eremu hurbilen mapak irudikatu ditugu 1b-d irudietan, argi erasotzailearen eremu elektrikoaren polarizazioa (E_0) z ardatzarekiko paraleloa izanik, hiru ereduak erabiliz kalkulatuak. Kasu guztiak erresonantzia dipolarren dagokion energiaren irudikatu dira. Datuak nanopartikula erditik ebakitzen duen (y, z) planoan irudikatu dira. TDDFT (1b) eta DDA-ren (1d) kasuetan egitura atomistikoa nabarmendu daiteke, baina ez BEM-en (1c) kasuan. Izan ere, ingurune jarraitutzat hartu dugu partikula. Irudietan ikusten denez, orokorrean eremu hurbilak nanopartikulen ertzen eta bereziki erpinen inguruan lokalizatzen eta indartzen dira, “puntu-bero” (ingelesez “hot-spot”) deritzenak sortuz hiru ereduaren. Alegia, posible da eremuen lokalizazio azpimanometrikoa lortzea erlatututako partikula atomistikoetan (TDDFT eta DDA) eta baita gainazal leuneko eta ingurune jarraituko partikuletan (BEM) ere.

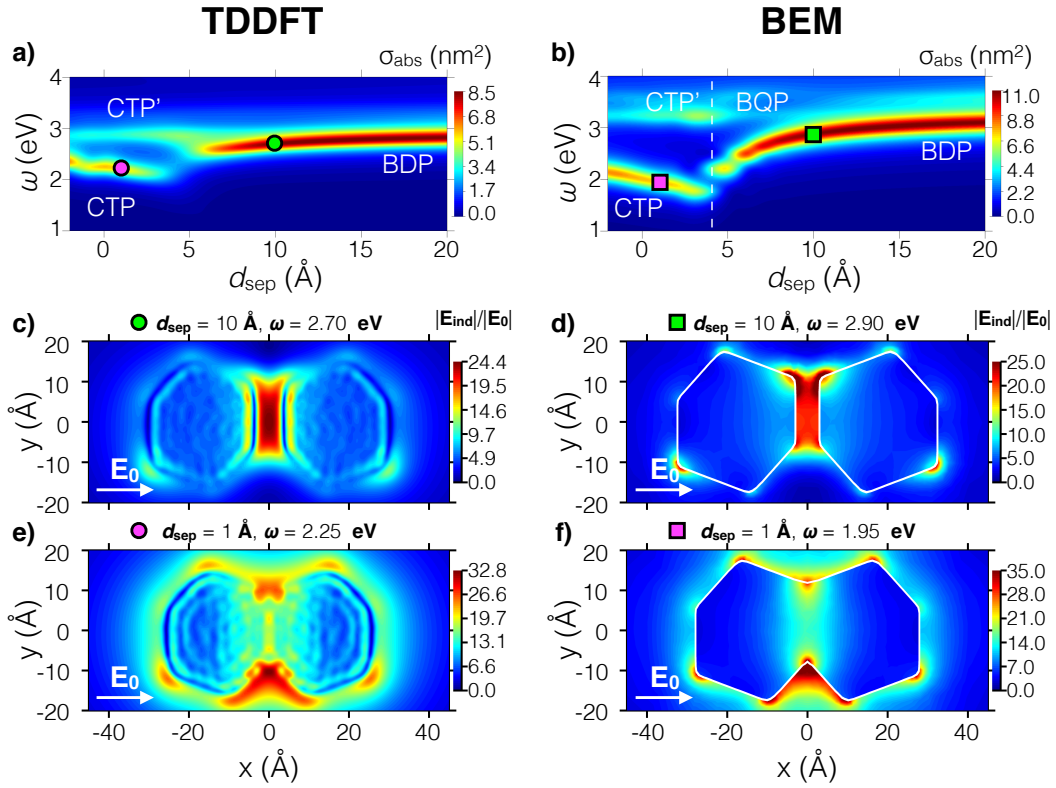
Ezaugarri geometriko hauetan pilatzen den kargak, “tximistorratz efektua” (ingelesez “lightning rod effect”) bezala ezaguna denak, sortzen du eremuaren bereizmen azpimanometrikoa hau. Frogatu dugunez, fenomeno honek jatorri klasikoa du eta geometria zorrotzekiko menpekotasuna du, egitura atomistikoa

kontuan hartzeko beharrik gabe.

3.2 Dimero ikosaedrikoen erantzun optikoa

Aurreko ataleko ikerketa elkarrengandik oso gertu dauden bi Na_{380} nanopartikulez osatutako dimeroen kasura hedatu dugu. Sistema honek partikulen artean sortzen den hutsartearen eragina eta partikulen arteko elkarrekintza aztertzeko bidea ematen digu. Partikulen arteko hutsartearen morfologiaren hiru kasurentzat egin dira kalkuluak: aurpegi-aurpegi, erpin-aurpegi, eta erpin-erpin morfologientzat. Lan honetan aurpegi-aurpegi morfologiaren kasuan lortutako emaitzak aurkeztu dira. DDA-ren kasua ez da bertan aurkeztu, eredu klasiko eta kuantikoen arteko konparaketa ulergarriagoa eta argiagoa izan dadin.

2 Irudia: TDDFT erabiliz (a), eta BEM erabiliz (b), kalkulaturako xurgapeneko sekzio eragileak, aurpegi-aurpegi hutsartea duen dimero ikosaedriko batentzat, d_{sep} partikulen arteko distantziaren funtzio gisa. c)-f) Induzituriko eremuaren mapak (y, z), planoan geometria berarentzat TDDFT erabiliz (ezkerreko zutabea) eta BEM erabiliz (eskuineko zutabea). Hautaturiko distantziak $d_{\text{sep}} = 10 \text{ \AA}$, c-d panelak, eta $d_{\text{sep}} = 1 \text{ \AA}$, e-f panelak, dira. Energiak, distantzia bakoitzarentzat indartsuenak diren erresonantzienak hautatu dira.



Partikulen arteko $d_{\text{sep}} = 20 \text{ \AA}$ distantziatik hasita, partikulak gerturatuz joan gara elkar gainezarri arte. TDDFT-ren kasuan, elektroien uhin-izaera dela eta, ez da posible zehatz-mehatz elektroihodeien gainezarmena zein distantzian gertatzen den auresatea, beraz, hurbilen dauden bi atomoak, kluster ezberdinetakoak izanik, gainezarritako dauden kasua definitu da $d_{\text{sep}} = 0 \text{ \AA}$ bezala, nahiz eta elektroien uhin-funtzioak lehenago (d_{sep} handiagoetarako) gainezartzen diren. BEM-en kasuan aldiz, konparaketa ahalik eta egokiena egin asmoz, $d_{\text{sep}} = 4 \text{ \AA}$ ezarri dugu gainezarmen distantzia bezala, klasikoki sodio-atomo bat $r_{\text{Na}} \sim 2 \text{ \AA}$ erradiko esfera bezala kontsideratuz.

Argi erasotzailearen polarizazioa dimeroaren ardatzarekiko perpendikularra da, 2c irudian ageri den bezala. Sistema honen eremu urruna azertu dugu 2a irudian, non partikulen arteko distantziaren menpe hiru ereduak kalkulaturiko xurgapeneko sekzio eragileak konparatzen diren. Banaketa-distantziak handiak direnean ($d_{\text{sep}} > 6 \text{ \AA}$) hiru kasuetan lortzen diren emaitzak oso antzekoak dira. Partikula isolatuen

plasmoi dipolarrak (DP) hibridatu egiten dira dimeroen lotura-plasmoia (ingelesez *Bonding Dimer Plasmon*, BDP) deritzona sortuz, zeinak partikula bakar baten DP moduak baino energia baxuagoa duen. Kalkulaturiko BDP moduen energiak bateragarriak dira hiru ereduentzat lorturiko DP moduen energiek. Partikulak gerturatu ahala, BDP modua gorriarantz lerratzen da hiru ereduetan, eta $d_{\text{sep}} < 6 \text{ \AA}$ distantzientzat ereduen arteko ezberdintasunak nabarmentzen hasten dira.

TDDFT-ren kasuan, BDP modua gorriarantz lerratzen da partikulen arteko distantzia murriztu ahala, eta $d_{\text{sep}} = 6 \text{ \AA}$ distantzia baino txikiagoa denean desagertu egiten da; alegia, erregimen kuantikora iritsi gara. Bertan, karga-transferentziaren plasmoia (ingelesez *Charge Transfer Plasmon*, CTP) azaltzen da energia baxuagoetan (2 eV inguru). Izan ere, sistemaren izaera kuantikoaren ondorioz, kluster ezberdinetako elektro-dentsitateen gainezarmena dugu, tunel efektua deritzona ahalbidetuz; funtsean, karga-transferentzia izan daiteke bi partikulen artean, elkar ikutu gabe ($d_{\text{sep}} \sim 5 \text{ \AA}$). Horrez gain, ordena altuagoko karga tranferentziaren-plasmoiak (ingelesez, *higher-order charge transfer plasmon*, CTP') kitzikatzen dira.

BEM-en kasuan, TDDFT-ren kasuan ez bezala, partikulak gainezarri arte ez da desagertzen ($d_{\text{sep}} \sim 4 \text{ \AA}$, lerro zuri etenez adierazia) BDP modua. Gainera, gorriarantzko lerrakuntza handiagoa du BDP moduak TDDFT-en baino, zeina banako partikularene ordena altuagoko moduen akoplamenduak orekatzeko duen; besteak beste, kuadrupoloen lotura plasmoiak (ingelesez *bonding quadrupolar plasmon*, BQP). Jokabide hau gainerako hutsarte morfologietan eta esferez osaturiko dimeroen kasuan ere behatu da. Bestalde, BEM eredu klasikoak denez, gainezarrita dauden partikulentzat ($d_{\text{sep}} < 4 \text{ \AA}$) soilik kitzikatzen da CTP modua, eredu honetan ez baita tunel efekturik gehitu modu efektiboan, nahiz eta hala egitea posible den kuantikoki zuzendutako ereduaren (ingelesez, *quantum-corrected model*, QCM) bidez.

Emaitza kuantikoekin alderatuta, CTP modua gorriarantz lerratuta ageri da, eta oro har, bai energiak eta bai intentsitateak bi partikulak lotzen dituen lepoaren geometriarekiko menpekotasun handia dute. Horrez gain, gainezarmena handitu ahala, banako partikularene portaera berreskuratzen dugu. Oro har, TDDFT eta BEM ereduak lorturiko emaitzen artean desberdintasunak $2 \text{ \AA} < d_{\text{sep}} < 6 \text{ \AA}$ tartean nabarmentzen dira, non elektro-hodeia partikularene gainazalaz gaindiko hedapena eta tunel efektua barnebiltzen dituen TDDFT-ek, baina ez BEM-ek.

Xurgapeneko sekzio eragileaz gain, aurpegi-aurpegi geometriaren kasuan lorturiko eremu hurbilen handiagotzea eta konfinamendua aztertu ditugu. Eremuen mapak 2 irudian aurkeztu dira TDDFT (ezkerraldea, c eta e) eta BEM (eskuinaldea, d eta f) ereduentzat. Elkarrekintza ertaina gertatzen den distantziarako, $d_{\text{sep}} = 10 \text{ \AA}$ (erdiko errenkada, c-d) eta karga-transferentzia gertatzen den distantziarako, $d_{\text{sep}} = 1 \text{ \AA}$ (beheko errenkada, e-f), kalkulatu dira eremuak. Eredu bakoitza erabiliz distantzia bakoitzerako kitzikaturiko modurik indartsuenaren energiako irudikatu dira eremuak. TDDFT-ren kasuan, $d_{\text{sep}} = 10 \text{ \AA}$ denean, BDP da alde handiz kitzikaturiko modurik indartsuena ($\omega = 2.70 \text{ eV}$, borobil berdez adierazia 2a irudian), eta, 2c irudian ikusi bezala, eremua hutsartean lokalizatu da, handiagotzea izugarria izanik. BEM-en kasuan ere BDP da kitzikaturiko modurik indartsuena ($\omega = 2.90 \text{ eV}$, karratu berdez adierazia 2b irudian) eta 2d irudian ikusten diren eremuen portaera oso beretsua da, hauen banaketa ia TDDFT-ren (2c irudia) bera izanik partikularene inguruan.

Distantzia txikiagoa denean, hots, $d_{\text{sep}} = 1 \text{ \AA}$, TDDFT erabiliz gero elektroien uhin-funtzioak gainezarri egiten dira hutsartean, partikulen arteko karga-transferentzia posible eginez; CTP dugu kitzikaturiko modurik indartsuena ($\omega = 1.95 \text{ eV}$, borobil magentaz adierazia 2e irudian). BEM-en kasuan, partikulen gainezarmen fisikoa dugu ($d_{\text{sep}} = 1 \text{ \AA}$), eta beraz, karga-transferentzia gertatzen da; kasu honetan ere CTP dugu kitzikaturiko modurik indartsuena ($\omega = 2.25 \text{ eV}$, karratu magentaz adierazia 2f irudian). BDP-ren kasuan ez bezala, 2e-f irudietan argi bereizi daiteke eremua ez dela bi partikulen artean kontzentratzen. Izan ere, partikulen artean sorturiko karga-transferentziak, hots, korronteak, eremua bi partikulak lotzen dituen lepotik kanpora bidaltzen du, eremuen banaketa beretsua lortuz bi ereduetan.

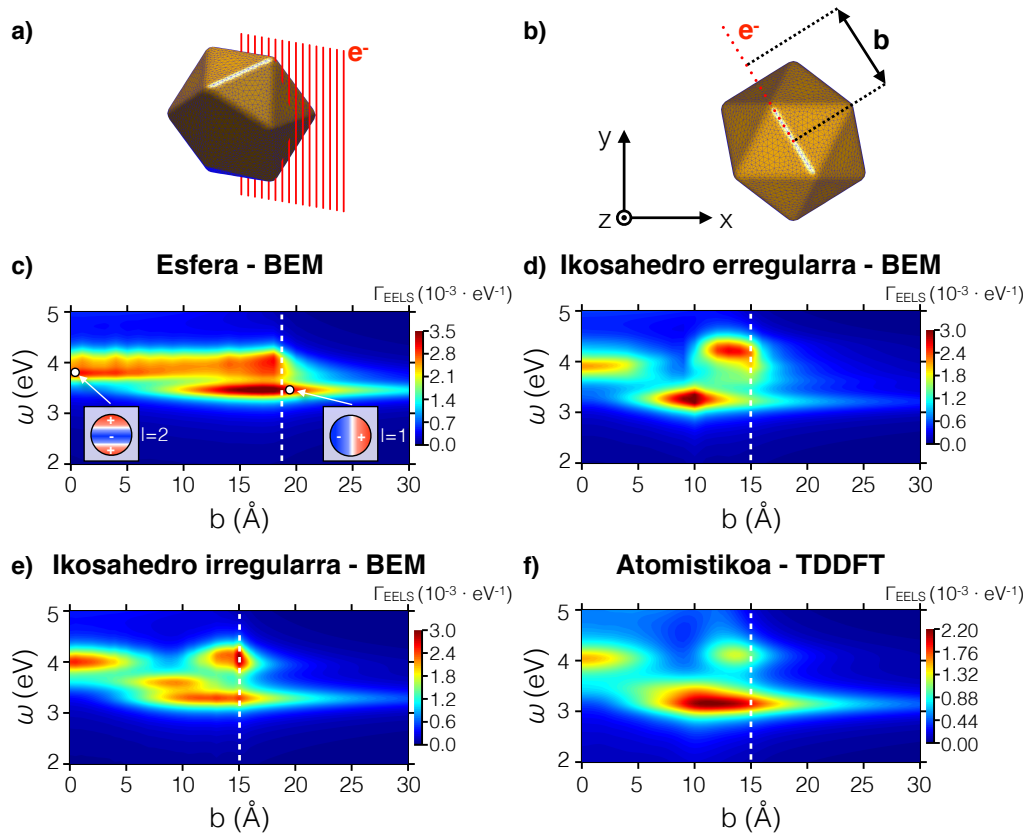
3.3 Elektroien energia-galerako probabilitatea partikula ikosaedriko bakartuetan

Sarreran adierazi bezala, plasmoiak, argiaz gain, elektroiak erabiliz kitzika daitezke. Funtsean, egitura metaliko baten ondotik edo egituran zehar pasaz gero, elektroiak sorturiko eremuak karga-dentsitatearen oszilazioak (plasmoiak) indusitzen ditu egituran, zeintzuek, era berean, eremu bat sortzen duten. Indusituriko eremu honek balaztatze-indar bat eragiten du elektroiarengan, bere energia-galera eraginez. Azken honen maiztasunarekiko menpekotasuna energia-galeraren probabilitatearen, Γ_{EELS} , bidez azter

daiteke.

Atal honetan elektroien energia-galerako probabilitatea aztertu dugu sodiozko nanopartikula esferikoetan eta ikosaedrikoetan. Elektroien ibilbideen talka-parametro (b bezala adierazita $3b$ irudian) ezberdinentzat egin dira kalkuluak, ibilbideak z ardatzarekiko paraleloak izanik, 3 a-b irudietan eskematikoki azaldu bezala. Esferaren kasuan, simetria azimutala dela eta norabidearekiko independentea izango da elektroien energia-galera probabilitatea, $3c$ irudian aurkeztua. Partikula ikosaedrikoen kasuan, bai d)-e) jarraituetan zein f) atomistikoetan, partikularen erdigunetik hasita, goiko ertzak zehazten duen norabidea jarraituz, handitu da talka-parametroa ibilbide ezberdinentzat. Marra eten zuriek partikularen gainazalari dagokion distantzia adierazten dute. Kasu guztietan elektroien erasotzaileen energia $E = 100$ keV da. Aztertutako d) ikosaedro erregularra eta f) egitura atomistikoa, aurreko ataletako egitura berak dira; e) ikosaedro irregularra, aldiz, egitura atomistikotik eratorritako gainazala da, ahalik eta geometria nanopartikula atomistikoaren antzekoena lortzeko asmoz.

3 Irudia: ikosaedro erregularraren eta elektroien ibilbideen (gorriz) a) irudikapena 3 dimentsiotan eta b) honen proiektzioa xy planoan, b talka-parametroa delarik. Elektroien energia-galerako probabilitatea ondorengo geometria duten egitura jarraituentzat BEM erabiliz: d) ikosaedro erregularra, e) ikosaedro irregularra, eta c) esfera; eta f) egitura atomistikoarentzat TDDFT erabiliz. Esferaren kasuan, sinpleena izaki, kitzikatutako modu nagusiak eskematikoki irudikatu dira: modu dipolarra ($l = 1$) eta modu kuadrupolarra ($l = 2$).



Geometria sinpleena izaki, esferaren kasua aztertu dugu lehenik. Argi ikusten denez, plasmoi dipolarra kitzikatzen da talka-parametroa $b = 30$ Å denean (elektroi sortak ez du partikula zeharkatzen). Izan ere, elektroitik urrun (partikularen gainazalean) elektroiak sorturiko eremua uhin lau baten modukoa da, eta aurreko atalean ikusi dugunez, DP-a kitzikatzen da kasu horretan. Talka-parametroa txikiagotu ahala, hots, elektroiak partikulatik gertuago igaro ahala, ordena altuagoko moduak kitzikatzen dira. Besteak beste, $b = 19$ Å denean, modu hauen energiak elkarrengandik oso gertu daudenez (gero eta gertuago moduen ordena handitu ahala), ez da posible modu ezberdinei dagozkien gailurrak elkarrengandik

bereiztea.

Bestalde, elektroien ibilbideak partikula zeharkatzen duenean, talka-parametroa txikitu ahala DP-ren intentsitatea murriztuz doa, QP-a ($l = 2$) eta ordena altuagoko zenbait moduren intentsitatea handitzen direlarik. Izan ere, partikulak txikiak direnez, elektroierasotzaileak karga dentsitate bera aurkitu behar du esferaren bi aldeetan, partikularen elektroierasotzaileak ez baitu oszilatze denborarik (t_p) elektroierasotzaileak partikula zeharkatzen duen tartean (t_e). Alegia, $t_p \sim 1 \text{ fs} > t_e = 2 \cdot r/v_e \sim 0.02 \text{ fs}$, $r = 18.5 \text{ \AA}$ partikularen erradioa eta $v_e \sim 1.5 \cdot 10^8 \text{ m/selektroien abiadura izanik}$. Horrez gain, elektroiak partikula erdigunetik zeharkatuz gero simetria azimutala dugu ($m = 0$), eta DP moduak ezin ditzake bi baldintzak batera bete. Beraz, $m = 0$ eta $l = 2n$ duten ordena altuagoko moduak soilik kitzika ditzake elektroiak $b = 0 \text{ \AA}$ denean, QP-tik hasita. DP ($l = 1$) eta QP ($l = 2$) moduen karga densitateak eskematikoki adierazi dira 3c irudian.

Partikula ikosaedrikoen kasuan, 3d-f irudietan agertu bezala, oro har, aurreko kasuaren antzeko portaera dugu hiru egituretan elektroiak partikula ez duenean zeharkatzen ($b > 15 \text{ \AA}$). Talka-parametro handientzat DP-a kitzikatzen da, eta partikularen gainazalera gerturatu ahala ordena altuagoko moduak kitzikatzen dira. Hala ere, partikulatik oso gertu daudenean d) ikosaedro erregularrak ordena altuagoko modu gehiagoren kitzikapena eta gailurren arteko bereizmen handiagoa du, e) ikosaedro irregularrak eta f) egitura atomistikoak baino. Horrez gain, partikula zeharkatzen duten ibilbideentzat ($b < 15 \text{ \AA}$) antzekotasunak nabariak dira hiruren artean, batez ere, bai energian eta baita talka-parametroarekiko menpekotasunean. Hiru kasuentzat, esferarekin konparatuta portaera bera errepikatzen da partikularen erdigunetik gertu igarotzen diren ibilbideentzat, DP-rik ez da kitzikatzen.

Funtsean esan dezakegu, egitura atomistikoarekiko menpekotasuna baino, gainazalaren geometriarekiko menpekotasuna duela elektroien energia-galerak, eta posible dela, modu efektiboan, tresna klasikoak erabiliz arrazoizko emaitzak lortzea nanometro gutxi batzuetako partikulentzat, nahiz eta dekrribapen kuantikoa dela eta badauden zenbait ezberdintasun.

4 Ondorioak

Na_{380} klusterren eta hauen dimeroen erantzun optikoa eta elektroien energia-galera aztertu ditugu hiru eredu ezberdin erabiliz: TDDFT, zeinak egitura atomistikoaren deskribapen kuantikoa ahalbidetzen duen eta bi eredu elektrodinamiko klasiko, egituraren deskribapen jarraitua egiten duen BEM eta deskribapen etomistikoak egiten duen DDA. Erantzun optikoari dagokionez, egitura atomistikoak ez du aparteko eraginik eremu-urrunean (xurgapeneko sekzio eragile bezala aztertuta) isolatutako nanopartikulentzat. Dimeroen kasuan ere, distantzia handientzat ($d_{\text{sep}} > 6 \text{ \AA}$) ez du aparteko eraginik. Distantzia horretatik behera, ereduaren izaera kuantiko edo klasikoaren arabera dira ezberdintasun nagusiak, egitura atomistikoak edo jarraitua kontuan hartzearenak baino. Eremu hurbilei dagokionez, argi ikusten da menpekotasun hadia dutela inguruko egiturekiko, baina, erakutsi bezala, posible da hurbilketa klasikoak erabiliz banaketa eta balio beretsuak lortzea nanopartikulen ezaugarri geometrikoak soilik kontuan hartuz. Alegia, eremuen lokalizazio azpnanometrikoa egitura geometrikoaren ezaugarrien arabera da eta efektiboki hurbil daiteke eredu klasikoak erabiliz.

Elektroien energia-galerari dagokionez, nabarmenagoa da geometriarekiko menpekotasuna eta zailagoa hurbilketa klasikoaren bidez eredu kuantiko atomistikoaren moduko emaitzak lortzea. Gainera, egituraren izaera kuantikoak eta efektu ez-lokalek garrantzi berezia hartzen dute elektroien ibilbideak partikulatik gertu igarotzean eta hau zeharkatzean. Hala ere, posible da eredu klasikoak erabiliz, eta geometriari arreta berezia jarritz, emaitza beretsuak lortzea, eredu kuantikoekin lortzen diren emaitzen ulermena erraztuz, eredu klasikoaren sinpletasuna dela eta.

5 Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Metalezko nanopartikulen erantzun optikoaren azterketari dagokionez, lorturiko emaitzek elementu konplexuagoz osaturiko nanopartikulen azterketarako asmoak hauspotzen dituzte. Interes berezia izango luke, besteak beste, zilarraren kasuak, d orbitaleko elektroiek erantzun optikoan duten eragina aztertzeak.

Elektroien energia-galeraren azterketari dagokionez, elektroien ibilbide sorta ezberdinen kasuak aztertzea aurreikusten da etorkizun hurbilean, kitzikatutako moduek geometriarengan duten menpekotasuna zehazteko asmoz. Horrez gain, dimeroen kasuak konplexutasun maila igoko luke, partikulen arteko elka-

rrekintza dela eta. Gainera, erantzun optikoren kasurako ikusi bezala, tunel efektuaren eragina azter liteke hutsartearen tamainaren arabera. Etorkizun urrunera begira, zilarrezko nanopartikulekin prozedura bera jarraitzeko aukera legoke aurretik lorturiko emaitzen arabera.

Erreferentziak

- BARBRY, M., P. KOVAL, F. MARCHESIN, R. ESTEBAN, A. G. BORISOV, J. AIZPURUA, eta D. SÁNCHEZ-PORTAL. 2015. Atomistic near-field nanoplasmonics: Reaching atomic-scale resolution in nanooptics. *Nano Lett.* 15.3410–3419. PMID: 25915173.
- CHEN, X., J. E. MOORE, M. ZEKARIAS, eta L. JENSEN. 2015. Atomistic electrodynamics simulations of bare and ligand-coated nanoparticles in the quantum size regime. *Nat. Commun.* 6.
- GARCÍA DE ABAJO, F. J., eta A. HOWIE. 2002. Retarded field calculation of electron energy loss in inhomogeneous dielectrics. *Phys. Rev. B* 65.115418.
- JENSEN, L., P. O. ÅSTRAND, eta K. V. MIKKELSEN. 2001. An atomic capacitance–polarizability model for the calculation of molecular dipole moments and polarizabilities. *Int. J. Quantum Chem.* 84.513–522.
- JENSEN, L. L., eta L. JENSEN. 2008. Electrostatic interaction model for the calculation of the polarizability of large noble metal nanoclusters. *J. Phys. Chem. C* 112.15697–15703.
- , eta —. 2009. Atomistic electrodynamics model for optical properties of silver nanoclusters. *J. Phys. Chem. C* 113.15182–15190.
- KADKHODAZADEH, S., J. R. DE LASSON, M. BELEGGA, H. KNEIPP, J. B. WAGNER, eta K. KNEIPP. 2014. Scaling of the surface plasmon resonance in gold and silver dimers probed by eels. *The Journal of Physical Chemistry C* 118.5478–5485.
- KERN, J., S. GROSSMANN, N. V. TARAKINA, T. HÄCKEL, M. EMMERLING, M. KAMP, J. S. HUANG, P. BIAGIONI, J. C. PRANGSMA, eta B. HECHT. 2012. Atomic-scale confinement of resonant optical fields. *Nano Lett.* 12.5504–5509. PMID: 22984927.
- KOH, A. L., K. BAO, I. KHAN, W. E. SMITH, G. KOTHLEITNER, P. NÖRDLANDER, S. A. MAIER, eta D. W. MCCOMB. 2009. Electron energy-loss spectroscopy (eels) of surface plasmons in single silver nanoparticles and dimers: Influence of beam damage and mapping of dark modes. *ACS Nano* 3.3015–3022. PMID: 19772292.
- PARR, R. G., eta W. YANG. 1989. *Density-functional theory of atoms and molecules*, volume 16. Oxford university press.
- RUNGE, E., eta E. K. U. GROSS. 1984. Density-functional theory for time-dependent systems. *Phys. Rev. Lett.* 52.997–1000.
- WARD, D. R., F. HUSER, F. PAULY, J. C. CUEVAS, eta D. NATELSON. 2010. Optical rectification and field enhancement in a plasmonic nanogap. *Nat. Nanotechnol.* 5.732–736.

6 Eskerrak eta oharrak

Sinatzaileok ondoko proiektuen babesa eskertu nahi genuke: Eusko Jaurlaritzako Industria Saileko ETORTEK IE14-393 NANOGUNE14, eta Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Saileko eta UPV-EHU-ren IT-756-13 Zb. Laguntza. M.U. UPV-EHU-ko PIF15/237 beka eta CFM eta DIPC-ren laguntza; M.B, P.K., eta D.S.P. sinatzaileok ANR-ORGAVOLT proiektua eta Euroregion Aquitaine-Euskadi programa; M.B. Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza Sailaren laguntza doktoretzako beka bezala, Euskampus eta DIPC; eta P.K. Gipuzkoako Foru Aldundiaren Fellows Gipuzkoa programaren babesa, eskertu nahi dituzte.

Burmuinaren eta gonadaren arteko harremanak ugalketaren eraenketan: gene esangarrien transkripzio-aldaketak Pasaiaiko *Chelon labrosus* korrokoien gametogenesian

Ainara Valencia, Josu Andrieu, Anthony Nzioka, Ibon Cancio, Maren Ortiz-Zarragoitia.

ZBIT ikerketa taldea, Plentziako Itsas Estazioa (PiE-UPV/EHU) eta Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Euskal Herria

ainara.valencia@ehu.eus

Laburpena

Hipotalamo-guruin Pituitario-Gonada ardatza (HPG ardatza) ugalketa eta gametogenesiaren arduraduna da ornodunetan. Gene ugari dira ardatzean parte hartzen dutenak; horietako batzuk aukeratu ziren *Chelon labrosus* espezieko korrokoi ar eta emeen ziklo gametogenikoan duten transkripzio-patroia aztertzeko: *kiss2*, *gpr54*, *gnrh1*, *gtha*, *lhβ*, *fshβ* eta *lhr*. Ar eta emeen arteko desberdintasunak ikusi ziren transkripzio-mailetan; emeetan gametogenesiaren zeharreko beste arrain espezetan deskribaturiko patroia ezagunak ikusi zirelarik. Arretan aldiz, ikusitako transkripzio-aldaketak ez ziren hain nabariak izan, batez ere gonadotropinetan, eta kutsadura bezalako kanpo eragile baten efektua izan zitekeela proposatzen da.

Hitz gakoak: burmuina, guruin pituitario, gonada, hormonak, ugalketaren kontrola, *Chelon labrosus*

Abstract

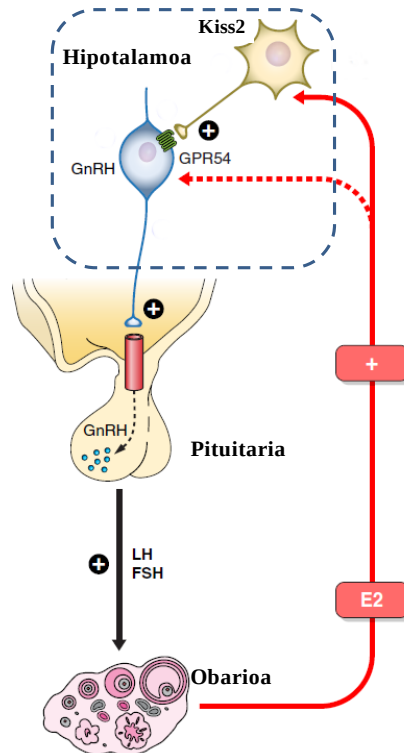
*The hypothalamus-pituitary-gonad axis (HPG axis) controls reproduction and gametogenesis in vertebrates. Several genes are involved coordinately in the axis; Transcription patterns of *kiss2*, *gpr54*, *gnrh1*, *gtha*, *lhβ*, *fshβ* and *lhr* were analyzed along the gametogenesis of female and male *Chelon labrosus* thicklip grey mullets. Differences between males and females were observed. Females showed transcription patterns in accordance with those previously described for other teleosts. However, males showed different transcription profiles, genes not being so strongly regulated along spermatogenesis. Thus, we suggest that environmental factors such as exposure to environmental contaminants may be involved.*

Keywords: Brain, pituitary, gonad, hormones, reproduction control, Chelon labrosus

1. Sarrera / momentuko egoera

Ornodunetan burmuinak agintzen ditu gonada-mailako gertaerak, inguruneko kinadak eta portamolde indibidualari zein sozialari loturiko keinuak, ugalketa-prozesuekin integratuz. Honetan oso garrantzitsuak dira hipotalamoa eta guruin pituitarioa, zenbait prozesuen turrusta agintzen dutelarik osatzen duten hipotalamo-guruin pituitario-gonada ardatzaren (HPG ardatza) baitan. HPG ardatza osatzen duten organoen arteko komunikazioa (1- irudia) etengabekoa da; bai organoak osatzen dituzten zelulen artean, zein organoen artean. Modu horretan, ardatzaren osagai guztiak sinkronizatuta daude organismoaren bizi-ziklo osoan zehar. Arrainen garapenean ere garrantzi handia du HPG ardatzak. Ardatzaren funtzionamenduan parte hartzen duten geneen transkripzio-eredua arrainen bizi-zikloan eta ugalketa-zikloan zehar aldatuz doa, bakoitzak momentu konkretu batean burutuko baitu bere funtzioa. Kanpoko faktoreek, horien artean hartu-eman sozialek, fotoperiodoak, tenperatura aldaketak, elikagaien eskuragarritasunak zein kutsatzaileen presentziak ere, organo desberdinekin elkarrekintzak sortzen dituzte, ardatzaren funtzionamendua eraenduz edota oztopatuz; edozein fasetan ematen den aldaketak ugalketan desoreka sor dezakeelarik.

1. irudia: Hipotalamo-guruin Pituitario-Gonada (HPG) ardatza. Hipotalamoak kanpo eta barne kinaden aurrean erantzuten du kisspeptina moduko seinale molekulak askatuz. Hauek GPR54 hartzaileak dituzten zeluletan GnRH sortzearen erantzuleak dira. GnRH neuropeptidoak guruin pituitarioa kitzikatzen du LH eta FSH gonadotropinak sortu eta zirkulazio sistemara askatu ditzan. Gonadotropinek gonadaren garapena eta gametoen heltzea bultzatzen dute. Gonadan sintetizatzen diren sexu-esteroideek zirkulazio sistemaren bitartez *feedback* erantzunak (positiboak zein negatiboak) sortzen dituzte HPG ardatzean. (irudia Pinilla et al. 2012tik eraldatua).



Azken urteotan HPG ardatzaren osagai desberdinen azterketa burutu da hainbat arrain espezieetan. Guruin pituitarioan sintetizatzen diren gonadotropina hormonon garrantzia jakina da aspalditik, baina beste hainbat osagaien funtzio zehatzak ezezagunak ziren arrainetan orain dela gutxira arte. Inguruneko kinadak hipotalamoan integratzen dira. Bertan, kisspeptinak deritzen neuropeptidoen sistemak pubertaro eta ugalketaren kontrol neuroendokrinoan paper garrantzitsua du (Mechaly et al., 2012; Roa et al., 2008; Zohar et al., 2010), baina arrainetan sistemaren funtzionamendu zehatzaren ezjakintasuna dago oraindik. Kisspeptinen eta beraien hartzaileen arteko elkarrekintzek eragina dute hipotalamoan dauden neurona gonadotropina hormona askatzaileengan (GnRH) eta gerora guruin pituitarioan gertatuko den gonadotropinen jariaketan. Izan ere, askatutako GnRHa guruin pituitarioa iristen da, non gonadotropinen sintesia aktibatuko den. Uste da kisspeptinen sistema inguruneko kinada fisikoen eta seinale metabolikoen arteko bitartekaria dela ugal ziklo bakoitzean (Tena-Sempere, 2006). Gainera, arrainetan kisspeptina eta GnRHren arteko lotura argia ikusi da orain arte aztertuak izan diren espezieetan (Zohar et al., 2010), beraz, kisspeptinak izango lirarteke ugal ziklo bakoitzean ematen den gonadogenesisirako gertakizunen turrustako lehen partaideak.

Bi motako gonadotropinak daude: hormona luteinizatzailea (LH) eta hormona folikulu estimulatzailea (FSH). Bakoitza bi azpiunitatez osatuta dago, komunean duten alfa azpiunitatea (*gtha*) eta bakoitzarentzako espezifikoa den beta azpiunitatea (*lhβ* eta *fshβ*). Gonadotropinak zirkulazio-sisteman zehar guruin pituitariotik gonadetaraino iristen dira, obarioa zein testikuluak kitzikatuz. Izan ere, beharrezkoak dira gametoen eraketaren hastapenerako eta amaierako heltze-prozesua emateko. Gametoen inguruko zelula laguntzaileetan daude kokatuak gonadotropinen hartzaileak: arretan, lh hartzailea (*lhr*)

Leydig-zeluletan dago eta fsh hartzailea (*fshr*) Sertoli-zeluletan; emeetan, *lhr* granulosa-zeluletan dago eta *fshr* aldiz, teka-zeluletan.

Gonadetan azkenik hormona esteroideen sintesia gertatzen da; arretan gonadotropinek 11-ketotestosteronaren sintesia estimulatu dute eta emeetan berriz, 17 β -estradiolarena (Swanson et al., 2003). Esteroideak gonadetan gametogenesia eragiteaz gain gonadetatik burmuinera ere garraiatzen dira, izan ere, guruin pituitario zein hipotalamoan estrogeno eta androgenoen hartzaile ugari daude (Zohar et al., 2010ean berrikusita). Sexu-estatusaren adierazle izatea da hormona hauen funtzioetako bat; hau da, burmuinari organismoaren sexu-garapenari buruzko informazioa ematen diote eta bertan gertatu beharreko aldaketen eragileak ere badira. Beraz, *feedback* eragina dute HPG ardatzean, gametogenesiaren hasierako faseetan positiboa eta azken faseetan aldiz negatiboa (Levavi-Sivan, 2010).

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Chelon labrosus espezieko korrokoikiak interesezkoak dira ingurumen-toxikologiaren arloan, izan ere, kutsaduraren espezie zentinelak modura erabili daitezke (Ortiz-Zarragoitia et al., 2014). Hau horrela, azken 10 urteetan euskal kostaldeko korrokoiki-populazio desberdinetan azterketak burutu dira (Bizarro et al., 2014; Diaz de Cerio et al., 2012; Puy-Azurmendi et al., 2013; Sardi et al., 2015; Valencia et al., 2016) eta xenoestrogenoen esposizioaren ondorioz feminizaturiko korrokoikien populazioak aurkitu izan ditugu, Pasaian, Bilboko itsasadarrean, Gernikan zein Ondarroan. Xenoestrogenoen efektu nabarmenena ar intersexen agerpena da. Arren gonadetan obozitoen agerpenari deritza intersex egoera, obozitoak hodi espermatikoetan barrena daudelarik. Intersex egoeraren bilakaeran zehar ematen diren aldaketa molekularrak ez dira guztiz ezagutzen oraindik.

Orain euskal kostaldeko korrokoikien ziklo gametogenikoaren karakterizazioa burutzen ari gara, Pasaiaiko populazioa erreferentziatzat hartuta, gametogenesiaren urrats ezberdinetan parte hartzen duten geneen transkripzioa neurtuz. Beraz, ikerketa honen helburua *Chelon labrosus* espezieko korrokoikien HPG ardatzean maila desberdinetan parte hartzen duten geneen transkribapena aztertzea da, horretarako ugalketa ziklo osoan zeharreko aldaketak aztertuz. Horretarako, *kiss2* kisspeptina, *gpr54* (*kiss1* genearen hartzailea), *gnrh1*, LH eta FSH hormonaren α eta β azpiunitateak eta *lhr* kodetzen dituzten geneen azterketa burutu da. Eme eta arren gametogenesian zehar ematen diren geneen transkripzio aldaketak ulertzeak ar intersexen bilakaeran eman behar izan diren aldaketak ulertzea ahalbidetuko du, beraz, lan honen luzera begirako helburua ar intersexetan aurretik ar eta emeetan aztertutako geneen transkripzio mailak neurtzea da.

3. Ikerketaren muina

3.1 Itu-geneen sekuentzien lorpena

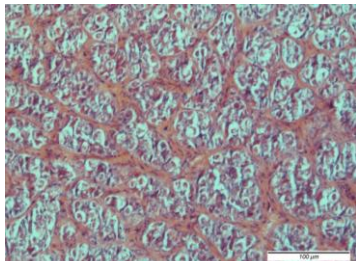
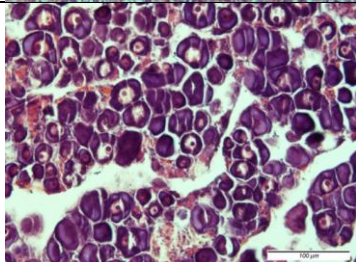
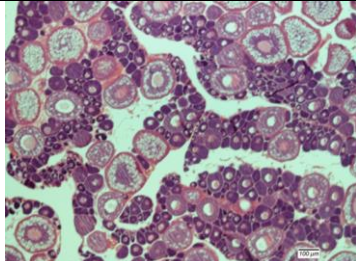
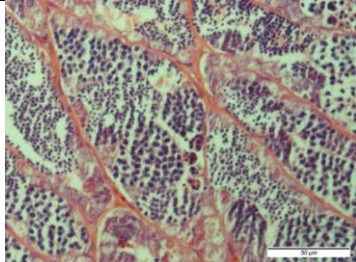
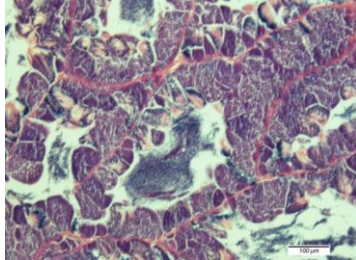
Korrokoikien genoma sekuentziatu gabe egonik, interesezko geneen sekuentziak banaka lortu behar izan genituen. Interesezko geneen sekuentziak lortzeko hasle ez espezifikoa erabili ziren, filogenetikoki gertu dauden beste arrain-espezie batzuen sekuentziak erreferentziatzat erabilita. Hasle horiek korrokoikien laginen gainean PCR arruntak egiteko erabili ziren, ondorioz gure interesezko sekuentzien zatien amplifikazioa lortu zelarik. Behin gene bakoitzaren sekuentzia zehatza lortuta, hasle espezifikoak diseinatu ziren qPCR bidezko transkripzio-analisiak burutu ahal izateko.

3.2 Laginen aukeraketa, sailkapena eta prestaketa

Korrokoikiak Pasaiaiko portuan arrantzatu ziren gametogenesi ziklo oso batean zehar (azaroa-urtarrila). Tokian bertan burmuina, guruin pituitarioa eta gonada disezionatu ziren, zuzenean izoztu eta -80°C-tan mantendu ziren.

Korroko bakoitzaren sexua eta fase gametogenikoa zehaztu zen gonadaren azterketa histologikoa burutuz (2. irudia). Ondoren, sexu desberdineko eta fase gametogeniko desberdineko indibiduen laginetatik RNA erauzi, cDNA sintetizatu eta itu-geneen transkripzio-maila neurtu zen qPCR bidez.

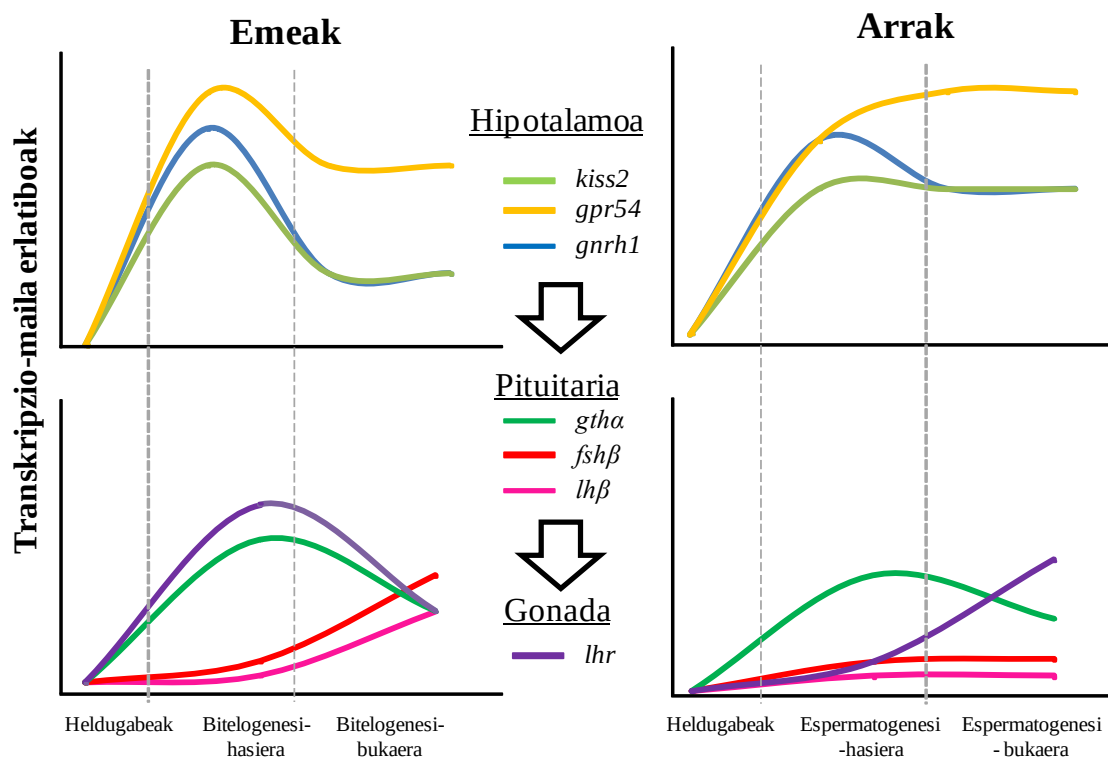
2.irudia. Aztertutako korrokiak histologikoki sailkatzeko erabili ziren irizpideak eta aurkitutako fase gametogeniko bakoitzeko ebaki histologiko adierazgarriena.

Heldugabeak	Zelulen garapen goiztiarra de la eta, ezin dira ar edo eme bezala sailkatu	
Emeak	Bitelogenesi hasiera Obozito prebitelogenikoak bereiz daitezke	
	Bitelogenesi fase aurreratua Bitelogenesian aurrera egin dute eta obozito handiek bitelogenina pikorrak ditzte barruan	
Arrak	Espermatogenesi hasiera Folikuloetan espermatogoniak eta espermatozitoak nagusi dira	
	Espermatogenesi amaiera Folikuluaren erdialdean espermatozoide dentsitate handia ikusten da	

3.3 Itu geneen transkripzio-aldaketa ar eta emeen gametogenesisian zehar

Emeen kasuan, burmuineko *kiss2*, *gpr54* eta *gnrh1* geneek antzeko transkripzio-patroia aurkeztu zuten gametogenesisian zehar (3. Irudia). Maila altuenak bitelogenesiaren aurretik deskribatu ziren, ondoren jaitsiz eta konstante mantenduz bitelogenesiaren amaieran. Transkripzio-patroi hau beste arrain espezie batzuetan deskribatu da eta ondorioztatu daiteke kisspeptinaren eta bere hartzailearen beharra dagoela ugal-ziklo berri bakoitzean obogenesi-prozesua abiarazteko. Guruin pituitarioan, *gtha* transkripzio-mailak bitelogenesiaren hasiera-fasean agertu ziren altuen, *lhβ* eta *fshβ*-ri dagokienez aldiz, transkripzioaren emendioa bitelogenesiaren hasieratik bukaerara detektatu zen (3. irudia). Bitelogenesi-prozesuan aurrera egin eta obozitoen haztea burutu ahal izateko LH eta FSH hormonak guztiz beharrezkoak direnaren seinale. Salmonidoetan LHren maila altuenak obogenesiaren amaieran ematen direla ikusi da, obozitoen azken heltze prozesurako beharrezkoa izanik (Levavi-Sivan et al., 2010). Aldiz, salmonidoetan ere, bitelogenesian zeharreko odoleko FSH-mailen handipena gertatzen da, azken heltze-fasean jaitsiera bortitza gertatuz (Levavi-Sivan et al., 2010). Lan honetan aztertutako korrokoi emeak bitelogenesiaren fase aurreratuan zeuden, baina artean ez zituzten gameto guztiz helduak, beraz, *fshβ* mailak oraindik pilatze-fasean zeuden. LHren hartzaileak obogenesiaren hasieran, LH emendioa eman aurretik, izan zituen transkripzio-maila altuenak aztertutako korrokoi emeetan (3. irudia). Ondorioz, emeetan gonadotropinen bi geneetan joera berdina ikusi zen, obogenesia aurrera egin ahala, gonadotropinen geneen transkripzio mailen emendioa gertatu zelarik.

3.irudia. Itu-geneen transkripzio-mailaren joera korrokoi emeen eta arren gametogenesisian. Geneak bi taldetan banatu dira: HPG ardatzaren hasieran (hipotalamoa-burmuina) kokatuta dauden *kiss2*, *gpr54* eta *gnrh1*, eta ardatzaren hurrengo urratsetan (guruin pituitarioa eta gonada) kokatuta dauden *gtha*, *fshβ*, *lhβ* eta *lhr* (lau grafikoak eskala berdinean daude).



Korrokoï arretan (3. irudia), geneen transkripzio-mailen joerak emeen desberdinak izan ziren. Espermatogenesian zehar ikusitako aldaketak ez ziren hain nabariak izan, batez ere guruin pituitarioko geneetan. *gnrh1* transkripzio-mailak espermatogenesiaren hasieran emendatu ziren, gero behera egin zuten eta konstante mantendu ziren espermatogenesi amaieran. *kiss2* eta *gpr54* geneek ere goraka egin zuten hasierako fasean, baina ez emeetan bezain nabarmen, ondoren transkripzio-mailak konstante mantendu ziren. Guruin pituitarioko gonadotropinei dagokienez, *gth α* -k emeetan ikusitako joera berdina erakutsi zuen, non espermatogenesiaren hasieran igo eta ondoren jaitsi egiten zen, baina bi β azpiunitateek ez zuten ia aldaketarik jasan eta konstante mantendu ziren fase guztietan zehar. *Lhr*-aren gainespresioa espermatogenesi hasieratik amaierara eman zen testikuluetan, hau ere emeekiko desberdina izanik. Salmonidoekin alderatuz, korrokoiek gonadotropinen transkripzio patroï desberdina erakutsi zuten. Orokorrean FSH mailak espermatogenesian zehar igotzen dira, LHa espermatogenesi amaieran beharrezkoa den bitartean, espermatozoideen heltzea eta kanporatzea gerta daitezten (Levavi-Sivan et al., 2010). Lan honetan, eta arestian esan bezala, ez ditugu lortu guztiz helduak zeuden indibiduoak, eta beraz gonadotropinen maila maximoak agian detektatu gabe geratu dira. Aztertuak izan diren arrain espezieen artean gonadotropinen espresioari dagokionez, patroï desberdinak daudela ikusi da (Li et al., 2005ean berrikusia) eta ez litzateke arraroa izango espeziaren ezaugarrien arabera gonadotropinen transkripzio-patroia desberdinak izatea. Hala ere, eta kontutan izanik Pasaia leku kutsatua dela eta bertan intersexak diren korrokoïak detektatu direla, kutsatzaile kimikoek arren gametogenesian izan dezaketen eragina ezin dugu alboratu. Sardi eta laguntzaileek (2015), Pasaia korrokoïetan esteroidogenesiko geneen transkripzioa apaltzen zela deskribatu zuten, bertako kutsadura-mailen eragina azpimarratuz. Hortaz, HPG ardatza ere arretan kaltetuta egon daitekeela kontutan hartu beharko genuke. Berriki, Pasaia korrokoï arren espermaren mugikortasuna eta morfologia ikertzen hasi gara eta lortuko diren emaitzak lagunduko dute arren espermatogenesia kaltetuta ote dagoen argitzen.

4. Ondorioak

Chelon labrosus espezieko korrokoïen gametogenesian zehar HPG ardatzaren parte-hartzaile diren hainbat geneen transkripzio-mailak neurtu ondoren, hurrengo ondorioetara iritsi gara:

- 1) Emeetan eman ziren transkripzio-mailen aldaketak arretan eman zirenak baino nabariagoak izan ziren.
- 2) *kiss2*, *gpr54* eta *gnrh1* geneen transkripzioaren emendioa gametogenesiaren hasierako fasean eman zen bi sexutan, gene hauek gametogenesi goiztiarrean duten kontrola nabarmenduz.
- 3) Emeetan *lh β* eta *fsh β* geneen gorakada bitelogenesi prozesuan zeharrekoa izan zen, orain arte beste arrain espezieetan deskribatu denaren antzera.
- 4) Arretan ez zen *lh β* eta *fsh β* geneen aldaketa nabarmenik ikusi. Honek eta *lhr*-ren emendio berantiarrek kanpo faktoreek eragindako efektuak islatu ditzake.

5. Etorkizunerako planteatutako norabidea

Chelon labrosus espezieko korrokoïen gametogenesiaren ezagupena hobetzeko, HPG ardatzaren parte diren beste hainbat generen azterketa burutuko da (adibidez, *vasa*, *foxl2*, *dmrt1*). Baita ere, korrokoï intersexen azterketa burutuko da arretan, ikusi diren gene transkripzioen joerak hobeto ulertzeko baliagarri izango dena, eta batez ere, kutsatzaileen efektuak zein diren ikustarazteko aukera emango duena.

6. Erreferentziak

- Bizarro, C., Ros, O., Vallejo, A., Prieto, A., Etxebarria, N., Cajaraville, M.P., Ortiz-Zarragoitia, M. (2014). Intersex condition and molecular markers of endocrine disruption in relation with burdens of emerging pollutants in thicklip grey mullets (*Chelon labrosus*) from Basque estuaries (South-East Bay of Biscay). *Mar. Environ. Res.* 96, 19-28
- Diaz de Cerio, O., Rojo-Bartolomé, I., Bizarro, C., Ortiz-Zarragoitia, M., Cancio, I., (2012). 5S rRNA and accompanying proteins in gonads: powerful markers to identify sex and reproductive endocrine disruption in fish. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7763-7771.
- Levavi-Sivan, B., Bogerd, J., Mañanós, E. L., Gómez, A., & Lareyre, J. J. (2010). Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165(3), 412-437.
- Li, C. J., Zhou, L., Wang, Y., Hong, Y. H., & Gui, J. F. (2005). Molecular and expression characterization of three gonadotropin subunits common alpha, FSHbeta and LHbeta in groupers. *Mol Cell Endocrinol.* 233, 33-46.
- Mateos, J., Mananos, E., Martinez-Rodriguez, G., Carrillo, M., Querat, B., & Zanuy, S. (2003). Molecular characterization of sea bass gonadotropin subunits (alpha, FSHbeta, and LHbeta) and their expression during the reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 133, 216-232.
- Mechaly, A. S., Vinas, J., & Piferrer, F. (2012). Sex-specific changes in the expression of kisspeptin, kisspeptin receptor, gonadotropins and gonadotropin receptors in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) during a full reproductive cycle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 162(4), 364-371.
- Ortiz-Zarragoitia, M., Bizarro, C., Rojo-Bartolomé, I., Diaz de Cerio, O., Cajaraville, M.P., Cancio, I., (2014). Mugilid fish are sentinels of exposure to endocrine disrupting compounds in coastal and estuarine environments. *Mar. Drugs* 12, 4756-4782.
- Pinilla, L., Aguilar, E., Dieguez, C., Miller, R.P., Tena-Sempere, M. (2010). Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.* 92, 1235-1316.
- Puy-Azurmendi, E., Ortiz-Zarragoitia, M., Villagrasa, M., Kuster, M., Aragón, P., Atienza, J., Puchades, R., Maquieira, A., Domínguez, C., López de Alda, M., Fernandes, D., Porte, C., Bayona, J.M., Barceló, D., Cajaraville, M.P. (2013). Exposure and effects of endocrine disruptors in thicklip grey mullet (*Chelon labrosus*) from the Urdaibai Biosphere Reserve (Bay of Biscay). *Sci. Total. Environ.* 443, 233-244.
- Roa, J., Aguilar, E., Dieguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M., (2008). New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Front. Neuroendocrinol.* 29, 48-69.
- Sardi, A.E., Bizarro, C., Cajaraville, M.P., Ortiz-Zarragoitia, M., (2015). Steroidogenesis and phase II conjugation during the gametogenesis of thicklip grey mullet (*Chelon labrosus*) from a population showing intersex condition. *Gen. Comp. Endocrinol.* 221, 144-145.
- Swanson, P., Dickey, J.T., Campbell, B. (2003). Biochemistry and physiology of fish gonadotropins. *Fish Physiol. Biochem.* 28, 53-59.
- Tena-Sempere, M., (2006). KiSS-1 and reproduction: focus on its role in the metabolic regulation of fertility. *Neuroendocrinology* 83, 275-281.
- Valencia, A., Rojo-Bartolomé, I., Bizarro, C., Cancio, I., Ortiz-Zarragoitia, M. (2016). Alteration in molecular markers of oocyte development and intersex condition in mullets impacted by wastewater treatment plant effluents. *Gen Comp Endocrinol (argitaratzeaz)*
- Zohar, Y., Munoz-Cueto, J. A., Elizur, A., & Kah, O. (2010). Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *Gen Comp Endocrinol.* 165(3), 438-455.

7. Eskerrak eta oharrak

- Ikerketa hau, Espainiar MINECO (SEXOVUM AGL2012-33477; ATREoVO ALG2015-63936R), Eusko Jaurlaritza (Doktoretza aurreko beka A.V.-ri, Ikerketa Talde Finkatuak IT-810-13) eta UPV/EHU (UFI 11/37) ikerketa proiektuen bitartez finantzatua izan zen.

Eugiko Munizio Fabrika Errealeko bi burdinazko balen karakterizazioa

Zalakain Iñaki^(1,2), Berlanga Carlos^(1,2), Álvarez Lucas^(1,3), Asa Luis Enrique⁽³⁾, Labé Paco⁽⁴⁾,
Rivero Pedro José^(1,2), eta Rodríguez Rafael^(1,2)

(1) Nafarroako Unibertsitate Publikoa (NUP), Mekanika, Energia eta Materialen Ingeniaritza, Arrosadia Kanpusa z/g, 31006, Nafarroa.

(2) Institute for Advanced Materials (InaMat), Nafarroako Unibertsitate Publikoa (NUP), Arrosadia Kanpusa z/g, 31006, Nafarroa.

(3) Fagor Ederlan Group, Ctra. Zaragoza, z/g, 31300, Tafalla.

(4) Arkeologo teknikaria

Kontakturako e-posta: inaki.zalakain@unavarra.es

Laburpena

Lan honetan, Eugiko Munizio Fabrika Errealean aurkituriko bi burdinazko balen analisi konparatiboa egin zen. Bala hauek, fabrikaren azken produkzio garaikoak dira (1766-1850). Hainbat teknika erabili ziren bi balen manufaktura metodoa identifikatzeko asmoz. Mikroegituraren analisiak fase ezberdinak erakutsi zituen. Analisi kimikoak moldekatze prozesuaren zehar giro oxidatzaile baten pean labearen tenperaturaren ezberdintasunak zeudela iradokitu zuen. Mikroegortasunaren analisiak diametroaren zehar ezberdintasunak erakutsi zituen. Ezaugarri fisikoetan eta lortutako emaitzetan oinarrituz, baletako bat metralla moduan eta bestea ribadolkinetan jaurtitzeko bala moduko erabilerak zituztela pentsa daiteke.

Hitz gakoak: Arkeometalurgia; burdinurtua; ledeburita; fosforoa; proiektilak; esteadita.

Abstract

A comparative analysis of two iron bullets found in The Royal Ammunition Factory of Eugi in Navarra was performed, belonging to the last years of the factory production (1766-1850). Several techniques were used in order to identify the manufacturing process of the two bullets. The analyses of the microstructures showed different phases. The variation found in the chemical analysis could suggest that the foundry temperature under oxidizing environment varied during the casting. The microhardness analyses carried out revealed hardness differences along the diameter. Based on the physical characteristics of the bullets and on the obtained results, it can be concluded that one of the bullets could have been used as a grapeshot projectile and the other one as a bullet for ribauldequins.

Keywords: Archaeometallurgy; Cast iron; Ledeburite; Phosphorous; Projectiles; Steadite

1. Sarrera eta motibazioa

16. mendearan zehar, Espainia, munduko potentzia bezala, itsas bideen segurtasuna bermatu behar zuen bere nagusitasuna mantentzeko. Artilleriak garrantzi handia izan zuen itsas gerretan, eta horren ondorioz, kalitate oneko artilleria piezak lortze arren Espainiak inbertsio handiak egin behar izan zituen [1]. Burdinurtuzko munizio ekoizpena Espainiar monarkiarentzat garrantzi estrategikoa eduki arren, bere produkzioa urria zen. 16. mende erdialdean artilleria errealearentzat burdinazko kanoi bolen produkzioarako galdategiak, beste leku batzuren artean, Ezkurra eta Eugi (Nafarroa) eraiki zituzten. Hala ere, galdategi hauek ez zituzten labe garaiak erabiltzen eta ondorioz, ez zituzten monarkiaren eskaerak asetzen. 18. mendean Borboien industria politika zela eta, produktuen kalitatea eta kantitatea sustatzeko asmoz estatuko lantegi errealak sortu zituzten. Borboien akzio eremuetako bat lantegi militarrek izan ziren eta lantegi militar sare bat sortu zuten. Hori dela eta Estatuak kanoi eta munizioen manufaktura handitu zuen. Burdinurtuzko kanoi eta munizio lantegi pribatu garrantzitsuenak pribatizatu zituzten, Lierganes eta Cavada (Kantabria) 1769. urtean eta Eugi 1766. urtean esate baterako.

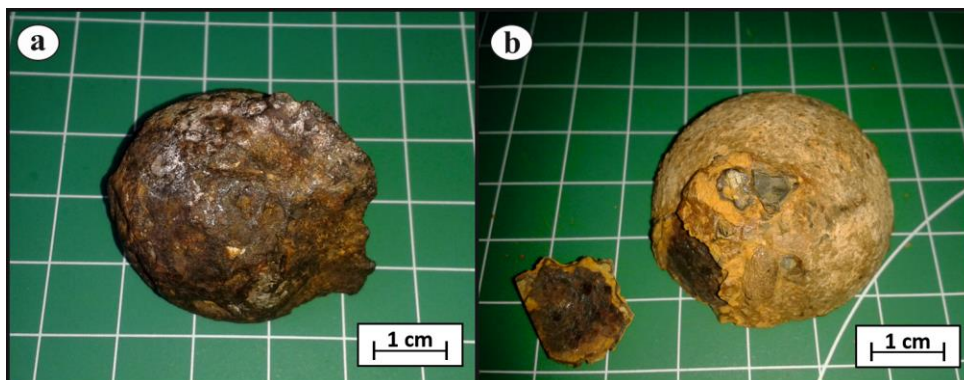
18. eta 19. mendeko jaurtigaien ezagutza handitu nahian, munizio lantegi bateko bi bala aztertu ziren lan honetan. Bi balak lantegiko tailerrean aurkitu ziren, ikatza eta eroritako paretetako harriz lurperaturik. Balen tamaina txikiak eta bibliografian aurkitutako informazioak [1], balak metralla moduan edo *ribaldokin* izeneko arma batean erabiltzeko eginak zirela iradokitzen dute.

2. Ikerketaren helburuak

Eugiko Munizio Fabrika Errealeko bi bala karakterizatzea da helburu nagusia. Mikroskopia optikoa, ekorketa mikroskopia elektronikoa (SEM) eta X izpien dispersio energiaren espektroskopia (EDX) erabili dira balen mikroegitura, inklusioak eta konposizio kimikoa aztertzeko. Diametroarekiko homogeneitatea grafito kantitatea eta gogortasuna neurtuz aztertu da.

3. Emaitzak eta eztabaida

E1 balak 40 mm-ko diametroa eta 379 g pisua erakutsi zuen eta E2 balak 30 mm eta 190 g zituen. 1. irudian ikus daitekeen bezala bi balek itxura esferikoa zuten. Moldearen bateratzearen ondorioz elkartze lerroan ageritako metalaren presentziak, balak hondar bidezko moldaketaz egin zirela adierazi zuen. Lotura zirkularraren presentziak, balak erabili aurretik mekanizatu beharra zeudela adierazi zuen.



1. irudia. E1 eta E2 balen irudiak, hurrenez hurren.

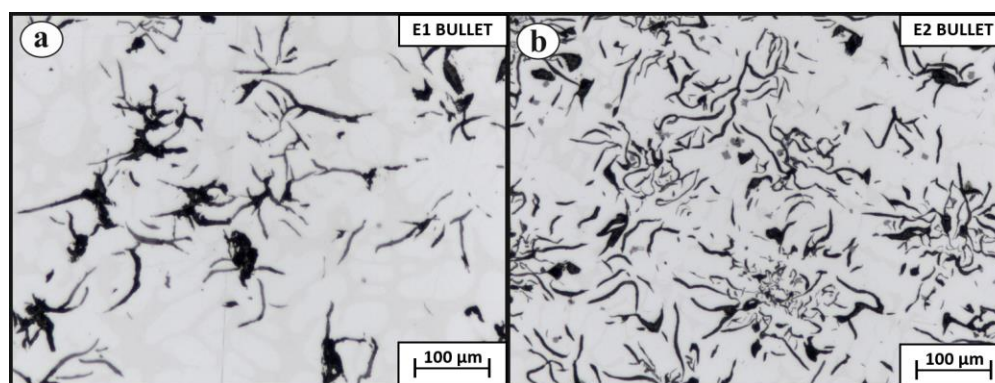
Lorturiko mikroegiturekin erlazionatzeko asmoz, bi balen analisi kimikoa egin zen. Lorturiko emaitzak hurrengo taulan (1. taula) erakusten dira:

1. taula. E1 eta E2 balen konposizio kimikoa.

Konposizio kimikoa (% pisan)										
	C	Si	Mn	P	S	V	Ti	Ni	As	Fe
E1 BALA	3.59	-	0.18	1.53	0.03	0.08	0.01	0.01	0.02	94.54
E2 BALA	3.53	1.63	0.58	0.11	0.66	0.06	0.01	0.01	0.02	93.38

Karbono kopurua pisuan %3,59 eta %3,53 izan zen E1 eta E2 baletan, hurrenez hurren. Eduki hauek kontutan izanik bi balak burdinurtu hipoeutektiko bezala sailka daitezke. Beste elementu kimikoak kontutan hartuz, bi balek ezberdintasun nabarmenak aurkeztu zituzten, batez ere silizio eta fosforoari dagokionez. E2 balak pisuan %0,113 eta %1,63-ko edukia erakutsi zuen fosforo eta silizioari dagokionez. Beraz, burdinurtu grisatzat har daiteke. Aldiz, E1 balak ezohiko fosforo kantitate bat erakutsi zuen, pisuan %1,526, eta ez zuen siliziorik erakutsi. Beste elementu kimikoei batzuei dagokienez, bi baletan Mn, Ti eta V aurkitu ziren kantitate txikitan.

E1 eta E2 balen mikroskopio optiko bidezko miaketak grafito orritsuaren presentzia erakutsi zuen, erroseta eran banatuta (2. irudia). Burdinurtuaren azken mikroegituran bi faktore nagusik eragiten dute, grafitizatze elementuen presentziak eta solidotze prozesuko hozte abiadurak [2-3]. E1 balaren kasuan, bere konposizioan siliziorik egon ez arren, fosforo kantitatea dezente handia zen grafito eraketan eragina eduki ahal izateko. E2 balak antzeko egitura bat erakutsi zuen baina grafito orritsu kopuru altuagoarekin. Kasu honetan, grafitoaren eraketa errazagoa litzake bere konposizio kimikoak erakutsitako silizio eduki altuaren ondorioz. Silizioak grafitizatze ahalmen handiagoa dauka fosforoak baino [4].



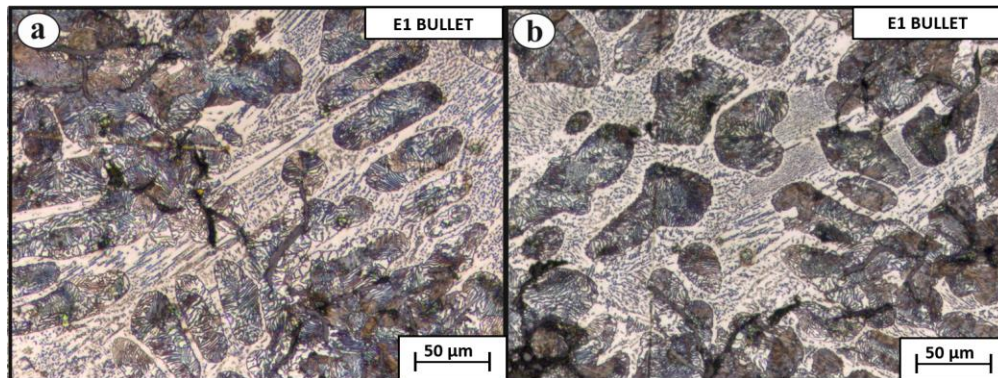
2. irudia. E1 eta E2-ren gainazaleko mikroskopio optikoko irudia grafito banaketa erakutsiz.
Handitzea 100x.

Beste alderdi garrantzitsu bat laginek aztertutako zonaldearen arabera grafito eduki ezberdina erakutsi zutela zen. Laginen kanpo zonaldean grafito eduki txikiagoa zen barne zonaldean baino. Mikroskopio bidezko grafito kuantifikazioak emaitza hauek baieztatu zituen (2. taula). Joera hau galdaketan solidotze prozesuan emandako hozte abiadurari egokitu daiteke. Normalean hondar bidezko moldaketan, moldeak metal likidoari hozte abiadura gradiente bat sortarazten dio, hau da, temperatura ez da uniforme pieza osoan. Hozte abiaduraren ezberdintasun honek metal likidoaren deskonposizioan eragin zuzena du, karbonoa zementitan edo grafitoan bilakatzen delarik. Hozte abiadura mantsoek grafitoaren formazioa eragiten dute. Balaren kasuan, barnealdea denbora luzeagoz berotan mantentzen zenez kanpoaldea baino, barnealdean grafito eraketa indutitzen zen [3, 5].

2. taula. Zonalde ezberdinetan aurkitutako grafito kopuru E1 eta E2 balentzat.

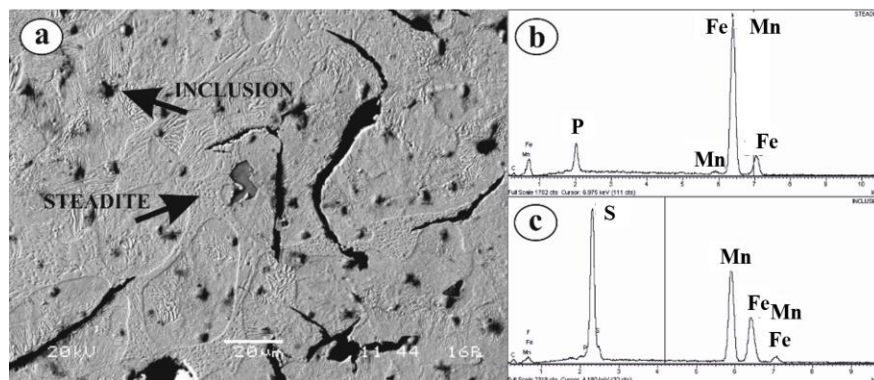
	Zonaldearekiko % grafito gainazala		
	Kanpoaldea	Erdialdea	Barnealdea
E1 bala	0,8	2,5	3,9
E2 bala	6,0	7,6	7,8

Azido bidezko erasoaren ondoren, E1 balaren azterketa metalografikoak mikroegitura anitzez sorturiko burdinurtu txuria erakutsi zuen (3. irudia). Azterketa zonalde ezberdinetan burutu da emaitzen errepikortasuna ziurtatzeko. E1 bala (3a eta 3b irudia) ledeburitaz osaturiko matrize eutektiko bat, zementita eta grafito horri meheak, eta esteadita kopuru altua azaldu zuen. Esteadita honen presentziak eragin handia du bukaerako propietateetan, burdinurtua hauskorra bilakatzen baitu [4, 6-7].



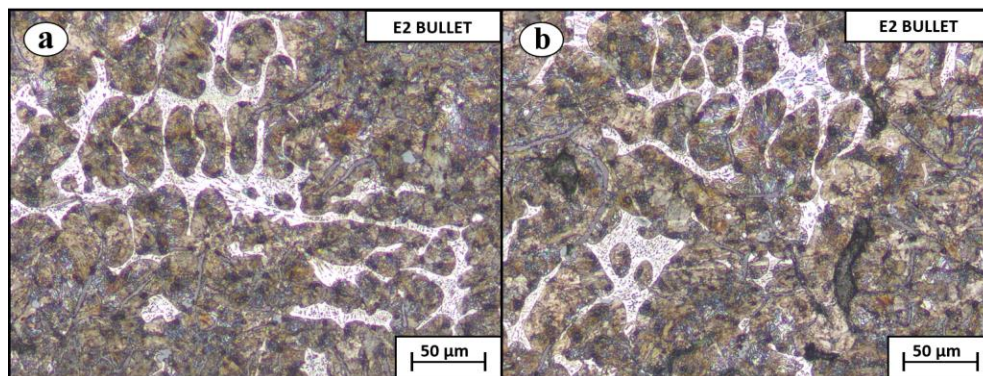
3. irudia. E1 balarentzat azido erasoaren ondoren mikroskopia optikoz lorturiko irudiak bi zonalde ezberdinetan. Handitzea 50x.

SEM eta EDX teknikak matrizea eta inklusioen natura kimikoa identifikatzeko erabili ziren (4. irudia). E1 balarentzat, EDX espektroak Fe, Mn eta P osaturiko matrizea erakutsi zuen. SEM mikrografiek (4a irudia) burdin fosfato eduki altuko matrize ledeburitikoaren presentzia baieztatu zuen, esteaditaren presentzia baieztatuz. Bestalde, inklusio poligonalaren EDX bidezko azterketak Mn, P eta S presentzia erakutsi zuen (4c irudia). Honek hauspeakinak manganeso sulfitoz osaturikoak zirela iradokitu zuen [8-10].



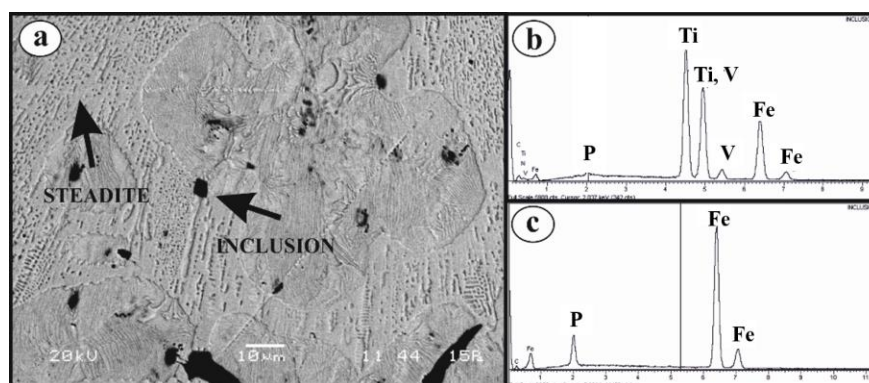
4. irudia. E1 balaren matrizearen SEM mikrografia (a) eta EDX espektroa (b), eta inklusioen EDX espektroa (c).

E2 balaren irudi metalografikoek egitura ezberdin bat erakutsi zuten. Azterketa zonalde ezberdinetan burutu da emaitzen errepikortasuna ziurtatzeko. Mikroskopia optikoaren irudiek burdinurtu grisa erakutsi zuten, matrize perlitikoz, esteaditaz osaturiko zonalde txuriak eta grafito laminazko inklusioz osaturikoa (5a eta 5b irudiak). E2 balak E1 balak baino perlita eta grafito fase kopuru altuagoa eta esteadita kopuru txikiagoa erakutsi zuen.



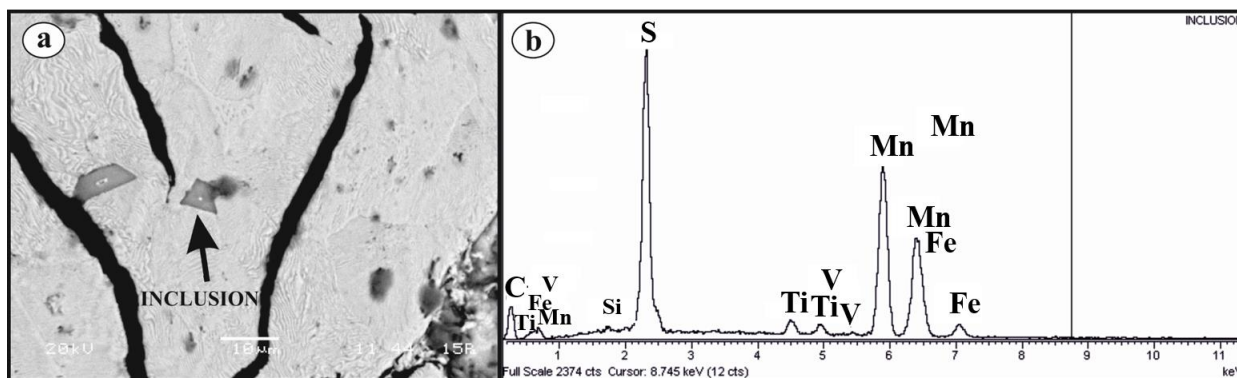
5. irudia. E2 balarentzat azido erasoaren ondoren mikroskopia optikoz lorturiko irudiak zonalde ezberdinetan. Handitzea 50x.

E2 gainazala SEM eta EDX bitartez aztertu zen ere inklusioak eta zonalde txuriak identifikatzeko (6. irudia). Inkluso esferikoen analisiak manganeso eta sufrean presentzia (6b eta 6c irudiak) baieztatu zuen, inklusio hauek MnS partikulez osaturik zeudela adieraziz. Zonalde txuriak fosforo kantitate nabarmena erakutsi zuten, E1 balaren kasuan gertatu zen bezala, esteditaren presentzia baieztatuz.



6. irudia. E2 balaren matrizearen SEM mikrografia (a) eta EDX espektroa (b), eta inklusioen EDX espektroa (c).

E2 balak geometria ezberdineko beste motatako inklusio batzuk erakutsi zituen (7. irudia). Inklusio hauek laginaren kanpoaldean aurkitu ziren. EDX espektroak adierazten zuenez, inklusio hauek titanio eta banadioz osaturik zeuden. Elementu hauek nitrogenoarekin erreakzio dezakete titanio edo banadio karbinitruoak emanez.



7.irudia. E2 balaren aurkituriko inklusio mota berrien SEM mikrografia (a) eta EDX espektroa (b).

Aztertutako mikroegiturek proiektilaren efizientzia bere beteko garrantzia dauka. Burdinurtu bat matrize perlitiko edo ferritiko-perlitiko, eta grafito-fasea (orokorrean burdinurtu grisak) aurkezteak, bala mota hauen zailtasuna hobetzen du, leherketa garaian hauskortasuna murriztuz. Aldiz, bala batek matrize ledeburitiko eta zementita (orokorrean burdinurtu txuria) erakusten badu, gogorra eta hauskorra da. Honen ondorioz, E1 balaren mikroegitura kontutan izanik, seguraski bala hau metrala moduan erabiltzeko prestatu zen. Aldiz, E2 balak esteadita kopuru txikia erakutsi zuenez, honen zailtasuna altuagoa izango zen, bala hauek *ribaldokin* izeneko armetarako munizio bezala erabiliz.

Aurretik esan bezala, silizioak eta fosforoak garrantzi handi dute balen azken propietateetan. Bi balen artean ikusiriko silizio eduki ezberdintasun handiak, moldekatze baldintza ezberdinetan lortu zirela adieraz dezake. Giro oxidatzaile baten pean, labe garaia piztutzerakoan, tenperatura ez da egokiena. Baldintza hauetan, silizioa normalean oxidatu egiten da eta zepan harrapatuta gelditzen da. Ondorioz, kasu honetan burdinurtuaren silizio edukia baxua litzake [11]. Izan liteke E1 bala baldintza hauetan lortua egona. Aldiz, E2 balaren silizio eduki altuak, labe garaia tenperatura E1 kasuan baino altuagoa zela iradokitzen du. Hortaz, bi balak moldekatze denbora momentu ezberdinetan lortu zirela pentsa daiteke.

Mikrogogortasunaren testa bi baleei egin zitzairen diametroaren zehar homogeneitatea aztertzeko. Testa kanpoaldetik barnealdera gauzatu zen. Lorturiko mikrogogortasunaren emaitzak 3. taulan erakusten dira.

3. taula. Sakoneraren arabera mikrogogortasunaren emaitzak.

	Gogortasuna (HV)	
	Barnealdeak	Kanpoaldeak
E1 bala	529 ± 23	498 ± 10
E2 bala	370 ± 18	330 ± 15

Lorturiko emaitzak bat datoz mikroegituretan lorturiko emaitzekin. E1 balak E2 balak baino gogortasun altuago erakutsi zuen, 500 Hv inguru. Literaturan ikusi da fosfuro eutektikoaren batezbesteko gogortasuna 482 HV-koa dela eta 252 HV perlitarena [12]. Hortaz, E1 balaren gogortasuna esteadita duen burdinurtuari egokitu daiteke. E2 balak matrize perlitiko bat, esteadita eta grafitoarekin erakutsi zuen. Lorturiko gogortasunaren balioa, 350 HV inguru, esteaditak eta grafitoak matrize perlitikoari eragindako gogortze efektuaren ondorioa litzake.

4. Ondorioak

Azterturiko bi balak hondar bidezko moldaketaz lortu ziren burdinurtua erabiliz. E1 balak matrize perlitiko bat, esteadita eta grafitoa erakutsi zuen bitartean, E2 balak, matrize perlitikoa, grafitoa eta esteadita fase kopuru txikian erakutsi zuen. Bi kasutan, grafito kopurua kanpoaldean barnealdean baino baxuagoa zela ikusi zen, balen manufakturaren zehar hozte abiadura uniformea ez zela adieraziz. Lorturiko konposizio kimikoak eta mikroegituren emaitzek, bi balak moldekatze garai ezberdinetan lortu zirela iradokitzen dute. Silizio eta fosforo edukian ezberdintasunak moldekatze garaian baldintzak ezberdinak zirela adieraz dezakete. Bai balen ezaugarri fisikoek bai mikroegitura, konposizioak eta gogortasunak, bi balen azken erabilera ezberdina zela adieraz dezakete.

6. Erreferentziak

- [1] Reales fábricas de municiones de Eugui y Orbaiceta en Navarra. A. Rabanal. Colección Marte. Madrid: Servicio de publicaciones del estado mayor del ejército (1990) 30-33.
- [2] Characterization of a 12-pdr wrought-iron cannonball from the Akko 1 shipwreck. D. Cvikel, D. Ashkenazi, A. Stern, Y. Kahanov, Mat. Charact. 83 (2013) 198-211.
- [3] Casting techniques of cannonballs from the Akko 1 shipwreck: archaeometallurgical investigation. D. Cvikel, E.D. Mentovich, D. Ashkenazi, Y. Kahanov, J. Min. Metall. Sect. B-Metall. 49 (1) B (2013) 107-119.
- [4] Characterization of a historical cannonball from the fortress of San Juan de Ulúa exposed to a marine environment. M. Hernández, M. Hernandez-Escampa, C. Abreu, J. Uruchurtu, M. Bethencourt, Archaeometry DOI: 10.1111/arc.12194.
- [5] What ship? Who fired the cannonballs at wall in Akko? An archaeometallurgical and historical study. Y. Kahanov, E. Stern, A. Stern, R. Ronen, D. Cvikel, D. Ashkenazi, Hist. Metall. 46(2) (2012) 98-110.
- [6] Microstructure evolution and mechanical properties of drop-tube processed, rapidly solidified grey cast iron. O. Oloyede, T.D. Bigg, R.F. Cochrane, A.M. Mullis, Mater. Sci. Eng. A 654 (2016) 143-150.
- [7] The physical metallurgy of cast iron I. Minkoff, Wiley, Chichester (1983).
- [8] The influence of sulfur on the machinability of gray cast iron FC25. A.A. Pereira, L. Boehs, W.L. Guessier, J. Mater. Process. Technol. 179 (2006) 165-171.
- [9] Failure analysis of a crankshaft made from ductile cast iron. O. Asi, Eng. Fail. Anal. 13 (2006) 1260-1267.
- [10] Effect of oxidation temperature on the oxidation process of silicon-containing steel. B. He, G. Xu, M. Zhou, Q. Yuan. Metals 6 (137) (2016) 1-9.

Noingo oilategi-konpostagailua, etxeko soberakin organikoak aprobetxatzeko ikerkuntza partehartzailea

Ibarguren, Ania; Arizmendiarieta, Joseba; Usanoz, Monica* eta Irigoien, Ignacio.
Nafarroako Unibertsitate Publikoa. natxo.irigoien@unavarra.es

Agenda 21. Noingo Udala*

Laburpena

Bio-hondakinak lekuan bertan tratatzea ahalbidetzen duen konpostatze sistema berritzaile bat aurkezten da: Oilategi-Konpostagailua. Oilategi baten egitura du, eta konpostagailu bat edo gehiago eduki ditzake barnean, parte-hartzaileek etxean sortzen duten bio-hondakina konpostatzeko. Oiloek, moko eta atzaparren akzioa dela eta, konpostatze prozesua azkartzen dute. Noingo Zentzumenen Parkean (Nafarroan) aurkitzen den oilategi-konpostagailuaren 30 hilabetetako jarraipen emaitzak aurkezten dira. 30 familiak haien soberakinak eraman dituzte, datuak jaso dituzte eta trukean arrautzak, konposta eta egun batez oiloen zaintzaile izatearen esperientzia jaso dute. Ikerkuntza parte-hartzaile honetan datu gehienak familiek beraiek neurtu dituzte.

Hitz gakoak: Prebentzioa, bio-hondakina, konposta, arrautzak, oiloak.

Abstract

A new Home Community Composting system is presented: the Composting-Henhouse. That is a henhouse which includes several compost bins inside, where citizens dispose their food scraps for composting. Due to the action of the hen's beak and claws scraps are rapidly composted. A community pilot project was settled in the Sense's Park in (Navarre) where 30 volunteers families have participated in this collaborative research, by suppling their scraps and by recording technical data during a period of 30 months. As payment they received compost, eggs and the experience of being a hen keeper for one day. This work presents the successful technical results recorded by citizens in this collaborative research.

Keywords: Prevention, biowaste, compost, eggs, hens.

1. Sarrera eta motibazioa

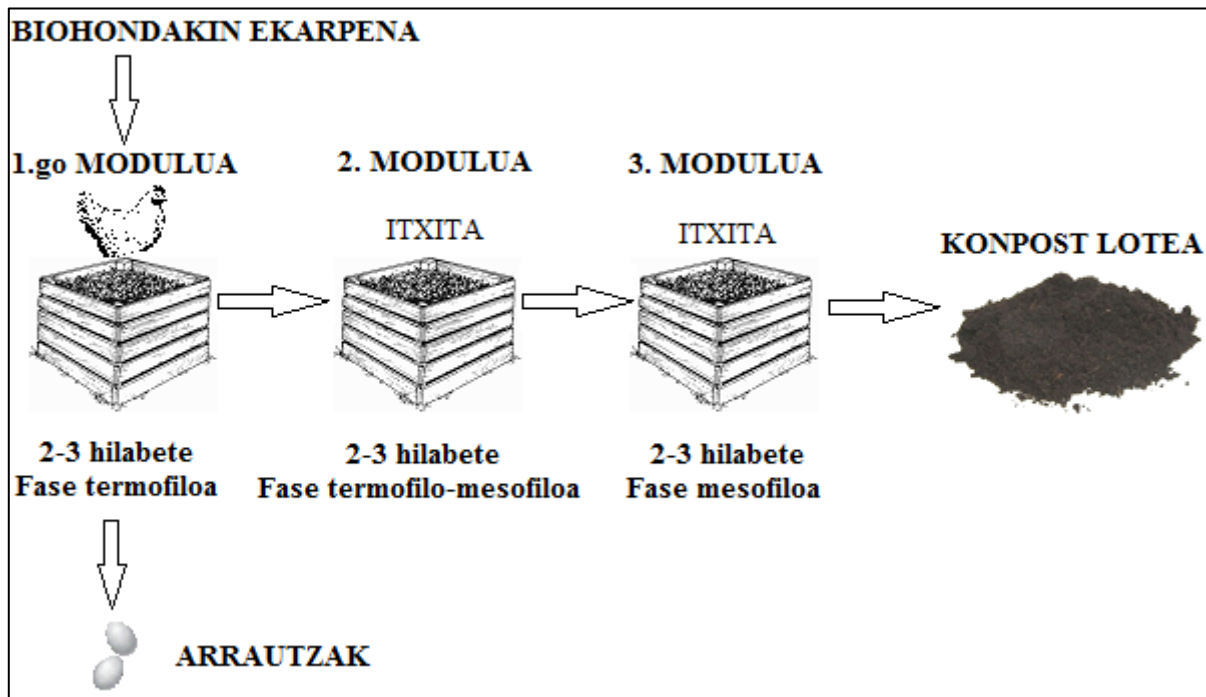
Egun bizi garen gizarte honen kontsumo ereduaren ondorioz sortzen den hondakin kantitatea geroz eta nabarmenagoa eta kezkarriagoa da. Nafarroan esaterako, 2015. urtean 411 kg etxeko hondakin eta hondakin komertzial sortu ziren biztanleko (MAPAMA, 2016). Aipatzekoa da gaur egun edukiontzi mistoan biltzen den zabor poltsaren osagai nagusia hondakin organikoa izatea. Orokorrean, orain arteko hondakin organikoen kudeaketa ez da oso eraginkorra izan, Europar Batasunean onartu den Ekonomia Zirkularrari buruzko legedia eta berriki Nafarroako Gobernuak onartu duen Nafarroako Hondakinen Plana 2017-2027 bete nahi badira, behintzat.

Parte-hartzaileen bio-hondakinak tokian bertan kudeatzen dituen sistema berritzaile bat aurkezten da lan honetan: oilategi-konpostagailua, 1200L-ko 3 modulu dituen auzo konpostagailua izateaz gain, 10-12 oilo ingururen bizitokia ere badena. Bizilagunek etxean sortutako materia organikoa bertan konpostatu ahal izateak garraio eta tratamenduaren kostu ekonomiko eta energetikoak murrizten ditu. Eskala txikiko proiektu deszentralizatua izaki, ez du teknologia handirik behar eta, ondorioz, ekonomikoki ez du inbertsio handirik eskatzen. Gainera, bizilagunengan elikagaiak xahutzearekiko ardura eta ingurugiroarekiko konpromisoa areagotzen laguntzen du.

Bizilagunek konpostagailuan botatuko materia organikoaz elikatu ahal dira oiloak eta beraien atzapar eta mokoekin konposta irauli eta aireztatzean prozesua azkartzen da. Guneak 30 familia boluntarioen etxeko soberakinak kudeatzen ditu (100 bat pertsona) eta hilean behin familia bateko kide bat izaten da, egunean errundako arrautzen trukean, bizilagunek utzitako soberakinen poltsen ekarpena egingo duena 1.go konpostagailuan (ekarpena egiteko irekita dagoen konpostagailu modulu bakarra, gainontzekoak itxita aurkitzen baitira) dagokion egituratzaile kantitatearekin batera. Konpostatze prozesua loteka antolatzen da (1. Irudia): 1. konpostagailuaren edukiera bio-hondakinez betetzean, 3. konpostagailuko konposta hustu egiten da, 2. konpostagailukoa 3. konpostagailura lekualdatzen da eta 1. konpostagailukoa, berriz, 2. konpostagailura. Modu honetan, lehenengo konpostagailua hutsik geratzen da, soberakinen ekarpena egiten jarraitu ahal izateko. Ondutako konpostaren bahetze lanak erraztu asmoz, 3. konpostagailutik ateratzen den konposta eguzkiari esker

materiala ber-higienizatzen duen solarizadore batera sartzen da. Sistema honekin, materia organikoaren zikloa itxiz bertako lurra ongarritzen dituen konposta lortzeaz gain, parte-hartzaileen artean arrautzak banatzea eta animaliekin kontaktuan egotea boluntarioren inplikazioa sustatzeko pizgarri eraginkorra izan da.

1. Irudia: Oilategi konpostagailuaren lote sistemaren antolakuntza



Bio-hondakinak kudeatzeko oiloen ekoizpena eta konpostatze prozesua uztartzen dituen hainbat proiektu jarri izan dira jada martxan. Estatu Batuetako Vermont Compost Company enpresak, esaterako, sortzaile handien 400 tona bio-hondakin konpostatzen ditu urtean 1200 oiloz baliatuz, ondoren konposta eta arrautzak merkaturatuz. Noingoa eredutzat harturik, oso antzekoak diren beste oilategi-konpostagailu batzuk ere eraiki dira (Nafarroan, Araban, Katalunian, Belgikan,..).

Oilategi-konpostagailua Noingo Lorenea Zentzumenen Parkean aurkitzen da. Noingo udalerriak azken 10 urteetan aldaketa urbanistiko baten aldeko apustu egin du, eta politika horien bidetik ireki zituen ateak 2006 urtean Lorenea Parkeak. Berrikuntza eta ingurugiro heziketarako ekimen eredugarri aunitz burutzen ditu. Hori dela eta, Zentzumenen Parkeak 14 sari jaso ditu (autonomikoak eta estatalak) eta NBE-ren bi izendapen ere izan zituen Dubaiko Praktika Egokien Sarirako. Egoera honetaz baliatuz, oilategi-konpostagailua bezalako proiektu bat eraikitzeke toki aproposa zela pentsatu zen eta 2013ko urtarrilean jarri zen martxan oilategi-konpostagailua Noainen.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ikerketaren helburua Lorenea Zentzumenen Parkeko oilategi-konpostagailuaren 30 hilabetetako funtzionamendua ebaluatzea izan da, ikuspuntu teknikitik, batik bat. Ebaluazioa egiteko datozen alderdietan sakontzea lehenetsi da:

- Konpostatze prozesuaren eta konpostaren eboluzioa.
- Kudeatutako bio-hondakin kantitatea.
- Arrautza kantitatea, kalitatea eta oiloen osasun maila.

Nabarmentzekoa da funtzionamendua ebaluatzeko kontrolatutako aldagai gehienak soberakin organikoak eraman dituzten familiak beraiek neurtu dituztela, beraz ikerkuntza parte-hartzailea izan da.

3. Ikerketaren muina

3.1. Kudeatutako bio-hondakin kantitatea eta lortutako konpostaren kantitatea

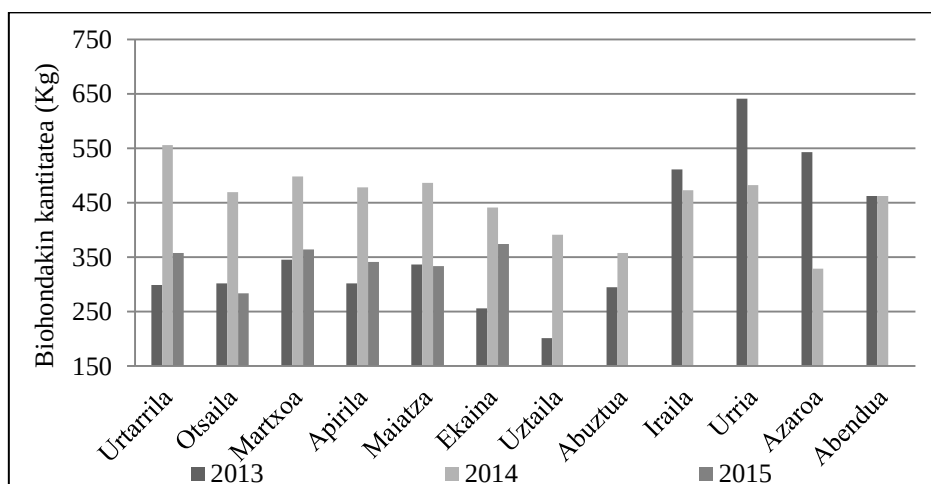
Parkearen sarreran aurkitzen den orrian bizilagunek jasotako informazioari esker jakin izan da oilategi-konpostagailuan konpostatutako bio-hondakin kantitatea. Guztira, 2013ko urtarriletik 2015eko ekainera bitartean 11.148 kilogramo bio-hondakin konpostatu dira (1. Taula), 2.082 kilogramo egituratzailerekin batera. Honen ondorioz, 4.478 kilogramo konpost sortu dira. Bataz bestekoz 858 kilogramo hondakinez osatutako 14 lote ezberdin konpostatu dira 30 hilabeteetan. Etekinari dagokionez, 100 kilogramo bio-hondakin botatzen den bakoitzean (dagokion egituratzaile kantitatearekin) 60 kilogramo konpost sortzen dela neurtu da, balore hau eskala industrialeko konpostatze planten baloreen antzekoa delarik (Huerta et al., 2010). Bio-hondakin ekarpen kantitatea aldakorra izan da familia edota garaia araberak (2. Irudia), baina orokorrean familia bakoitzak egunean 0,48 kg bio-hondakin gehitu dituela kalkulatu da, beraz, urtean familia bakoitzeko 175 kilogramo bio-hondakin tratatu dira. Oro har, udako hilabeteetan bildutako bio-hondakin kantitatea baxuagoa izan ohi da beste hilabeteekin alderatuta.

Konpostagailura bota diren bio-hondakinen izaera oso desberdina izan da, etxean sor daitezkeen hondakin organiko oroz osatuak baitaude. Hondakin nagusiak fruitu eta barazki gordinak edota prestatutakoak izan dira. Hala ere, oso ohikoak izan dira haragi eta arrain hondakinak, arrautza azalak, sukaldeko papera, hezurak, fruitu lehorren azalak eta oskol ezberdinak. Egituratzaile motari dagokionez, material ezberdinak erabili izan dira (txirbila, ezipal txikitua eta birzirkulatutako ezipal txikitua). Materia organikoa ez diren gaien edota inpropioen presentzia hutsala izan da, partaideek etxeetan bio-hondakina beste frakzioetatik modu egoki batean bereizi dutenaren adierazgarri.

1. Taula: Konpostatutako materia organiko kantitatea eta prozesu amaieran lortutako konposta

	Bio-hondakin ekarpena loteka (kg)	Bio-hondakin ekarpena eguneko (kg)	Bio-hondakin ekarpena familia eta eguneko (kg)	Egituratzaile kantitatea (kg)	Prozesu bukaeran jasotako konpost kantitatea (Kg)	Pisu freskoaren murrizketa (%)	Etekinaren pisu lehorrean (%)
Guztira	11.148			2.082	4.478		
Bataz bestekoa	858	14	0,48	149	373	53	61
Minimoa	481	10	0,32	75	224	19	32
Maximoa	1.252	19	0,64	210	452	77	82

2. Irudia: Konpostatu den bio-hondakin kantitatea urtean zehar



3.2. Animalia-ekoizpena

Partaideek egunero egindako bio-hondakin ekarpena izan da oiloen elikagai nagusia. Hala ere, sostengu bezala pentsu ekologikoa ere izan dute, nahieran. Nahiz eta egunean soilik 22,7 gramo pentsu kontsumitu oilo bakoitzak bataz bestekoz, ez dute nutrizio eskasiaren sintomarik azaldu eta beren osasun maila egokia izan da. Hastapenetatik eguneroko jarraipen bisuala egin zaio talde osoari eta luma dentso eta distiratsuak izateaz gain, gandor koloretsua eta aurikula biziak erakutsi dituzte. Aspektu horiek oiloen osasuna neurtzeko erabiltzen dira.

Partaideen artean banatu diren 4.562 arrautza jaso dira guztira 30 hilabeteetan, 5-6 arrautza eraman izan dituelarik partaide bakoitzak hilean behin etxera, arduradun izatea tokatu izan zaionean. Oilo kopurua kontutan hartuta, oilo bakoitzak 2 egunetik behin arrautza bat sortu duela kalkulatu da. Hala ere, azpimarratu behar da produkzioa aldakorra izan da oiloen errute zikloaren baitan.

Lehenengo sei hilabeteetan egindako ikerketaren arabera (Zalba, 2013) arrautza bakoitzak 65 gramoko pisua du bataz bestekoz; beraz, L kategorian sailkatuko lirake. Arrautzen kalitateari dagokionez, ikerketa berean egindako analisi mikrobiologikoetan *Salmonella* absentsia frogatu zen.

3.3. Konpostatze prozesuaren eta konpostaren eboluzioa

1.go konpostagailuan bio-hondakin bolumen minimo bat izatean, konpostatze prozesuak tenperatura igoera nabarmen bat jasan izan du, fase mesofilatik termofilora (konpostaren tenperatura 45°C baino altuagoa denean) igarotzen delarik. Azpimarratzekoa da konpostagailu batetik bestera konpost loteak lekualdatzeko momentuan konpostatze tenperatura jaitsi egiten dela, baina lekualdaketarekin konposta oxigenatu egiten denez, materia organiko labila baldin bada, denbora gutxira tenperatura igoera oso bortitzak antzematen dira.

Konpostean gizakiontzat kaltegarriak diren mikroorganismoen presentziari dagokionez, prozesu amaieran lortutako konposta patogenorik gabea eta ongarri bezala erabiltzeko guztiz segurua dela baieztatu daiteke. Lote guztietako konpostatze prozesuetan emandako fase termofiloei esker (loteko 33 egun bataz bestekoz) konpostak higienizazio prozesu bat izan duela baieztatzen da, amaitutako konpost loteei egindako analisietan patogeno presentzia guztiz murrizten baita amaitu gabeko konpostekin alderatzen bada. Amaitutako konpostari egindako analisien emaitza guztiak merkaturatzen diren Ongarriei buruzko 506/2013 Errege Dekretuak ezarritako limitearen azpitik aurkitzen dira (1000 *Salmonella* kolonia eratzaile unitate baina gutxiago gramoko eta *Escherichia coli* absentsia 25 gramotan).

Konpostaren parametro fisiko-kimikoei dagokienez (2. Taula), eroankortasun elektriko altuko konposta dela esan behar da, bio-hondakinetatik eratorritako konpostetan ohikoa den bezala. Hasierako bio-hondakinen izaerak eta kuantifikatu ez diren oilo zirin ekarpenak prozesu amaierako konposta pH altua izatea baldintzatu du. 445 g/dm³-ko dentsitatea duen konposta da, baina esan behar da konposta garatzen joan den heinean bere hezetasun maila ere baxuagoa izan dela, eta ondorioz, itxurazko dentsitatea ere murrizten joan dela. Lortzen den konposta egonkorra, heldua eta ongi ondua dagoela esan daiteke (Solvita VI, Dewar V), biltegitatu edota baratze zein lorategietan erabiltzeko guztiz egokia. Konposta marroi ilun kolorekoa da, lur usain atsegina duena eta gai ezegokien presentziarik gabekoa.

2. Taula: Konpostaren parametro fisikoak

	pH-a	Eroankortasun elektrikoa (mS/cm)	Dentsitatea (g/dm ³)	Hezetasuna* (g H ₂ O/ 100 g pisu fresko)	Autoberotze edo Dewar testa	Solvita Indizea
Bataz bestekoa	8,6	2,2	445	47	V	VI
Minimoa	6,8	1,3	321	29	V	IV
Maximoa	9,5	2,9	618	63	V	VII
Metodoa	TMECC Method, 2002	TMECC Method, 2002	Ansorena, 1994	TMECC Method, 2002	Brinton et al., 1995	Brewer eta Sullivan, 2003

*Dentsitatea neurtu zen momentuko hezetasun maila da, ez konpostatze prozesukoa.

Konposizio kimikoaren ikuspuntutik, amaierako konposta beste konpost batzuen estandarren antzekoa dela esan daiteke (3. Taula). Hala ere, ezin daiteke premisa hori baieztatu potasio eta kaltzioaren kasuan. Baliteke oilo zirin ekarpenak amaierako konpostaren izaera kimikoa baldintzatu izatea, izan ere Noaingo oilategi-konpostagailuaren konposta bio-hondakinetatik eratorritako konposten (Sarratea, 2010) eta oilo-zirinetako konposten tartean aurkitzen da (García-Menacho Osset eta García Romero, 2012). Orokorrean, konposizio kimiko aberatsa izateaz gain eroankortasun elektriko altua ere baduen, ez da lur edo substratu bezala bera bakarrik erabiltzeko aproposa, baina lurra ongarrizteko edota substratu osagai bezala erabiltzeko (ea. turbaren orde) oso gomendagarria da.

3. Taula: Konpostaren konposizio kimikoa

	C_{org}/N_{tot}	C_{org} (g.l.n.%) **	N_{tot} (g.l.n.%) **	P_2O_5 (g.l.n.%) **	K_2O (g.l.n.%) **	CaO (g.l.n.%) **	MgO (g.l.n.%) **
Bataz bestekoa	10,7	26,1	2,5	1,8	2,5	10,2	0,7
Minimoa	8,4	17,6	1,6	1,2	1,6	4,5	0,3
Maximoa	20,5	31,9	3,2	3,1	3,4	17,7	1,0
Biohondakinetatik eratorritako konposten konposizio estandarra (*)	14,9	25,8	2,1 (N_{org})	1,3	1,5	8,6	0,8

(*) Huerta et al., 2010.

(**) g.l.n.: gai lehorrean neurtuta

Nahiz eta konpostatze prozesuan bolumen murrizketa eman, ez da metal astunen kontzentrazioa areagotu (4. Taula). Amaitutako konpost lote guztiak metal astun kantitate oso baxuak erakutsi dituzte eta 506/2013 Errege Dekretuak A klase bezala sailkatzen duen kategorian kokatzen dira, limitetik oso urrun. Azpimarratzekoa da, oilo-zirinetik eratorritako konpostetan ohikoa den bezala, oilategi-konpostagailuaren konpostean ere metal ugariak kobrea eta zinka izan direla.

4. Taula: Konpostaren metal astun kontzentrazioa

	Cd (ppm)	Cu (ppm)	Ni (ppm)	Pb (ppm)	Zn (ppm)	Cr (ppm)
Bataz bestekoa	0,3	33	7	6	98	21
Minimoa	0,2	13	3	2	36	10
Maximoa	0,6	53	14	11	145	36
506/2013 Ongarri buruzko Errege Dekretua (A Klasea)	0,7	70	25	45	200	70

4. Ondorioak

Oilategi-konpostagailua esperientzia arrakastatsua izan dela esan daiteke hainbat ikuspuntutatik aztertuta. Aspektu teknikoari dagokionez, konpostatze prozesuaren eta oilategiaren garapenaren emaitzak positiboak izan dira, eta apenas kosturik gabe 11 tona kudeatu dira, kalitatezko 4,4 tona konpost eta 4.562 arrautza errun berri lortuz prozesu amaieran. Ikuspegi ekonomikotik, hasierako inbertsio minimo bat eskatzen du eta gainera mantentze kostuak (pentsu kontsumoa) oso baxuak dira. Hala ere, funtzionamendu egoki bat bermatzeko boluntarioen partaidetza beharrezkoa da. Azpimarratzekoa da parte hartu duten bizilagunentzako ekimen positiboa izan dela eta proiektuan parte hartuko luketen bisitari ezberdin asko erakarri dituela. Gainera, erabiltzaileen ingurumen eta nutrizio inguruko baloreen interesa zabaltzeko balio izan du.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunean beste lekuetara zabaltzea da erronka, betiere leku bakoitzeko baldintza eta beharretara egokituz. Izan ere parte hartzen duten biztanleen kopurua edota instalazioaren tamaina guztiak moldagarria dira.

Sistema honekin lortzen den konposta baratza edota degradatutako esparruetan txertatzea interesgarria litzake.

6. Erreferentziak

- Ansorena, J. (1994): *Sustratos: Propiedades y caracterización*. Mundi-Prensa, Madril.
- Brewer, L. J. eta Sullivan, D. M. (2003): Maturity and stability evaluation of composted yard trimmings. *Compost Science and Utilization*, 11 (2), 96-112.
- Brinton, J., Evans, E. eta Droffner, M. (1995): Standardized test for evaluation of compost self-heating. *BioCycle*, 36 (11), 64-68.
- Ekainaren 28ko 506/2013 Ongarri buruzko Errege Dekretua. BOE, 2013ko uztailaren 10a, 164. zbk., 51119-51207. Espainia.
- Garcia-Menacho Osset V. eta Garcia Romero C. V. (2012): *Avicultura ecológica de puesta*. Editorial Agrícola Española. Madril
- Huerta, O.; López, M.; Soliva, M. eta M. Zaloña (2010): *Compostaje de Residuos Municipales: Control del proceso, rendimiento y calidad del producto*. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. ISBN: 978-84-693-3036-4.
- Irigoyen I., Storino F., Zalba R., Morales D. eta Plana R. (2013): Integració d'un galliner i un compostador per al tractament de la fracció orgànica dels residus municipals (FORM): sis mesos d'experiència de l'Avi-Compo a Noain (Navarra). *Quaderns Agraris* (Institució Catalana d'Estudis Agraris), 36 (2014ko ekaina), 65-98.
- MAPAMA (2016): *Generación de residuos domésticos y comerciales*. Nafarroako Gobernua.
- Sarratea E. (2010): Experiencia piloto de compostaje comunitario en la Comarca de Pamplona. Ingurumen Agrobiologia Masterra. NUP.
- TMECC (Test Methods for the Examination of Composting and Compost) (2002). The United States Composting Council. EUA.
- Zalba, R. (2013). Evaluación de seis meses de funcionamiento del gallinero-compostador situado en el Parque de los Sentidos (Noáin, Navarra). Ingurumen Agrobiologia Masterra. NUP.

7. Eskerrak eta oharrak

Eskerrak luzatu nahi dizkiegu proiektu honetan parte hartu duten guztiei:

- Francesco Storino, Edurne Azkona, Raquel Zalba (UPNA), Ramon Plana (Maestro Compostador), David Morales (Vermican), Angel Gaston (Elkarkide), Iñaki Goikoetxea (Varazdin), Mikel Baztan eta Monika Usanoz (Noain).
- Bereziki ekimen honetan hiru urtez parte hartu duten Noaingo 30 familiei eta bere udalari.

Minbiziaren aurkako jomuga garrantzitsua: I Topoisomerasa

Martin-Encinas, E., Alonso, C., Rubiales, G. eta Palacios, F.

*Kimika Organika I Saila, Farmazi Fakultatea eta Lascaray ikergunea, Euskal Herriko Unibertsitatea (EHU), Unibertsitate Ibilbidea 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, Araba, Euskal Herria.
endika_690@hotmail.com*

Laburpena

Minbiziaren kontrako hautagai berriak topatu nahian, zenbait 1,2,3,4-tetrahidrokinolina eta kinolina berrien serieen sintesia aurkezten dugu hemen. Sintetizatutako produktu gehienek I Topoisomerasa inhibitzeko gaitasuna erakutsi dute. Are gehiago, produktuen azpimultzo batek giza giltzurruneko minbizian (HEK-3), giza birikako adenokartzinoman (A-549) eta giza obulutegiko kartzinoman (SKOV3) zitotoxizitate efektu bat erakutsi dutela frogatu du “in vitro” azterketak.

Hitz gakoak: minbizia, entzima, inhibizioa, I Topoisomerasa, Kanptotezina, kinolina.

Abstract

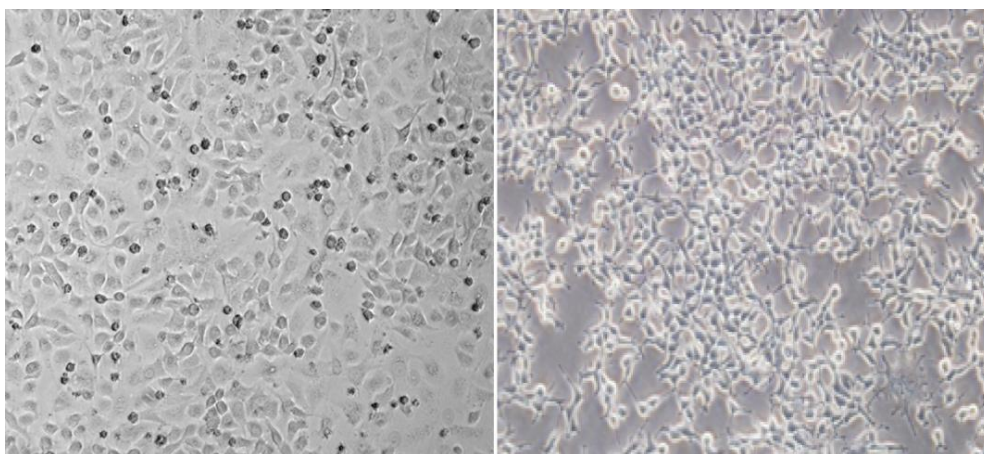
In an effort to establish new candidates with improved anticancer activity, we report here the synthesis of various series of 1,2,3,4-tetrahydroquinolines and novel quinolines. Most of the products which were synthesized were able to inhibit Topoisomerase I activity. Moreover, in vitro testing demonstrated that a subset of the products exhibited a cytotoxic effect on cell lines derived from human kidney cancer (HEK-3), human lung adenocarcinoma (A-549), or human ovarian carcinoma (SKOV3).

Keywords: cancer, enzyme, inhibition, Topoisomerase I, Camptothecin, quinoline.

1. Sarrera eta motibazioa

Minbizi hitzak hainbat eritasun barne hartzen ditu, guztiak tumore gaizto baten zelula multzoen hazkuntza, zatiketa eta hedatzearekin erlazionatuta (Avendaño eta Menéndez, 2008). Ehun horien gehiegizko hazkuntzari neoplasia deritzo (Willis, 1952), eta era berean, neoplasia tumore ere deitzen zaio hizkuntza medikoan (Kumar, Abbas eta Fausto, 2008). Oso ohikoa da (minbiziagatik heriotzen %90ean) tumore hori gorputzeko beste atal batzuetara hedatzea, metastasia bezala ezagutzen den prozesu baten bidez (Avendaño eta Menéndez, 2008). Gaur egun, munduko heriotzen %13aren arduraduna da minbizia.

1. irudia. Bi minbizi-zelulen hazkuntzen argazkiak: ezkerrean, birikako minbizi zelulak (A-549); eskubian, giltzurruneko minbizi zelulak (HEK-3).



Tumore guztiek, onberak izan ala gaiztoak izan, oinarritzko bi ehun-osagarri dituzte: parenkima alde batetik, zelula neoplasikoz osatua, eta sostengu-estroma bestetik, neoplasia elikatzen duten odol-hodiak eta ehun konektiboz osatua (Kumar, Abbas eta Fausto, 2008).

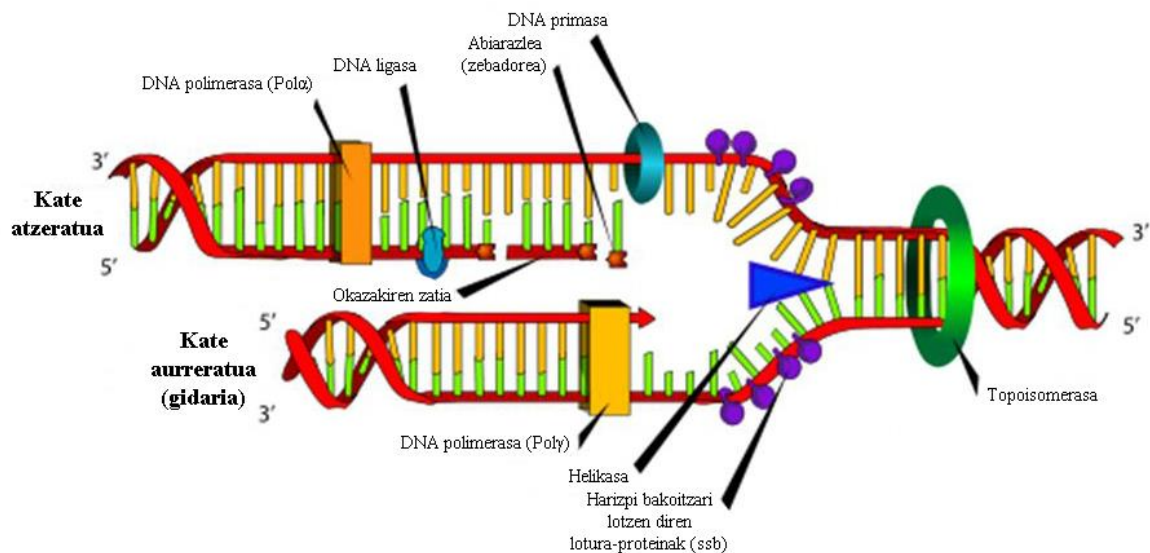
Minbiziaren aurkako tratamenduan diziiplina ezberdinek hartzen dute parte, eta gaur egun erabiltzen direnak honakoak dira (Neidle, 2008):

- Kirurgia: minbiziaren aurreko uneetan zein garatua dagoenetan tumorearen erauzketan datza.
- Radioterapia: eritasunaren garapenaren arabera indarrarekin X izpiak bidaltzen dira tumorea suntsitzeko.
- Kimioterapia: heriotz zelularra eragiteko gaitasuna duten 20 edo 30 bat konposatu kimioterapeutiko erabili daitezke.

Agente kimioterapeutikoen artean Topoisomerasaren inhibitzaile deritzen entzimak daude. Tumorearen hazkuntza gauzatzeko DNAREN erreplikazioan parte hartzen dute topoisomerasek, DNA den helize bikoitzaren harizpietako batekin (I Topoisomerasa) edo birekin (II Topoisomerasa) jokatzuz (Avendaño eta Menéndez, 2008; Lauria, Ippolito eta Almerico, 2007). Hauen inhibitzaileek erreplikazioa oztopatuko dute, hala tumorearen hazkuntza saihestuz.

Lan honetan I Topoisomerasaren inhibitzaileengan zentratuko gara. I Topoisomerasa entzima 765 aminoazidok osatzen dute eta hauek 4 eremutan banatzen dira: N-terminalaren eremua, Oinarrizko eremua, Lokailua eta C-terminalaren eremua (Leppard eta Champoux, 2005). Azken honetan, DNAREkin elkartzen den puntua dago (Tesauro et al., 2010; Pommier, 2009; Koster et al., 2005; Redinbo et al., 1998; Stewart et al., 1998; Stewart et al., 1996). Horretarako, lehenik eraso nukleofilikoa deritzon prozesua eragiten du eta gero, puntu hori lokailu hartuta, DNAREkin konplexu bat osatzen du, erreplikazioa martxan jarritz. Behin bere betebeharra bete duenean, bigarren eraso bat gertatzen da, DNA eta I Topoisomerasa askatu eta azken hau hurrengo DNA zatiaren bila joan ahal dadin (Neidle, 2008).

2. irudia. DNA heliziearen bi harizpiak banandu eta erreplikazioa hasten da. Bertan Topoisomerasa eta SSB proteinak ikus daitezke bi harizpiak bananduta mantentzeaz arduratzen.

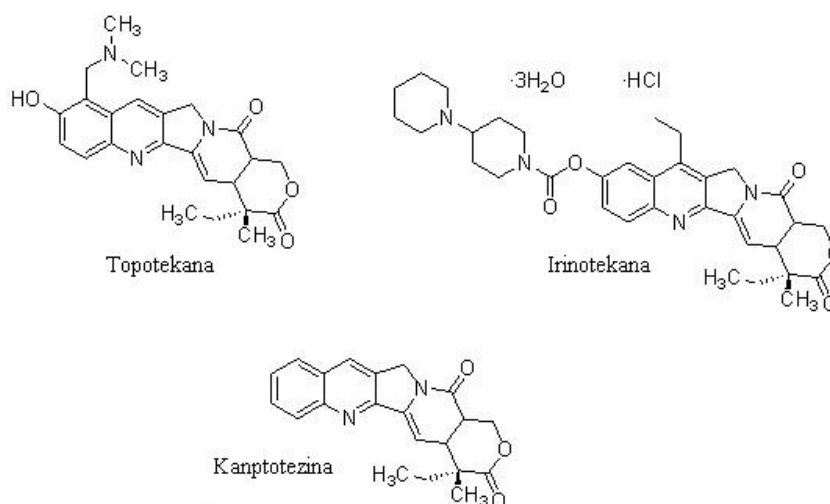


Erreplikazioan duen funtsezko aktibitatea dela eta, I Topoisomerasak edozein ziklo zelularretan duen garrantzia ukaezina da, baina are garrantzi handiagoa du minbizia prozesuetan, I Topoisomerasa kontzentrazioa askoz handiagoa baita minbizidun ehunetan ehun osasuntsuetan baino. Horrela, bere inhibizioaren azterketa oso garrantzitsua da tumoreen aurkako tratamendua hobetzeko (Khadka eta Cho, 2011).

Bere inhibizioa eraso nukleofiliko-mailan edota konplexu osaera-mailan eragin daiteke. Aipatutako bigarren eraso nukleofilikoa gauzatzen ez bada, DNA eta I Topoisomerasa bateratuta geratzen dira, eta honek sortzen duen tentsioagatik, heriotz zelularra gertatzen da. Erlaxazio hori gauzatzen uzten ez duten molekulak I Topoisomerasaren pozoin bezala ezagutzen dira (Neidle, 2008).

Inhibitzailearik ezagunena Kanptotezina da, zuhaitz txinatar batetik lor daitekeena (Wall et al., 1966). Dituen ezaugarriengatik, hau eta beregandik deribatutako molekulak dira erabilienak. Baina pozoin honek ere badu bere “antidotoa” (Neidle, 2008), eta dituen ahuleziak konpentsatu nahian, Kanptotezinatik deribatuak ez dauden beste I Topoisomerasa inhibitzaile batzuk garatu dira, Topotekana eta Irinotekana besteak beste (Cinelli et al., 2009; Stein eta Pardee, 2004; Vermeulen, Van Bockstaele eta Berneman, 2003; Khadka eta Cho, 2011).

3. irudia. Topotekana, Irinotekana eta Kanptotezinaren egitura kimikoak.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ameriketako Estatu Batuetako Osasun eta Giza Zerbitzu Sailak “Sendagai eta Elikagaien Administrazioa” deritzon erakundea kudeatzen du, eta honen helburua janari eta sendagaien erabilera segurua kontrolatzea da. I Topoisomerasaren inhibitzaileak diren bi farmakok bakarrik lortu dute erakunde honen onspena; biak Kanptotezinaren deribatuak dira (Thomas, Rahier eta Hecht, 2004).

Lehen aipatu den bezalaxe, Kanptotezinak eta bere deribatuek badituzte bere mugak (Teicher, 2008; Schaeppi, Fleischman eta Clooney, 1974), hortaz Kanptotezinatik deribatuak ez diren molekulen ikerketa puri purian dago (Nagarajan et al., 2004). Bide horretatik, onartzeko bidean dauden bi farmako berri garatu dira (Peterson et al., 2011; Pommier eta Cushman, 2009; Antony et al., 2007), eta beraien egituragatik aurrekoak baino aktiboagoak direla frogatu da (Begouin eta Hesse, 2006; Kumar et al., 2010).

Hori dela eta, Kanptotezinatik deribatuak ez diren molekula zehatz batzuen diseinua planteatzen da lan honetan, Kanptotezinak dituen ahuleziak gailentzen dituztenak eta I Topoisomerasaren inhibitzaile bezala ondo lan egin lezaketenak. Ideia horrekin eta konposatuek komunean dituzten ezaugarri batzuetan oinarrituta, konposatu zehatz batzuk sintetizatzeke erabilera anitzeko metodo erraz bat

bilatzea da beste helburuetako bat. Horretarako, “Povarov” izeneko erreazio mota batzuek jarraitzen duten sintesi eskema jarraituko da.

Laburbilduz, honako hauek dira lan honen helburuak:

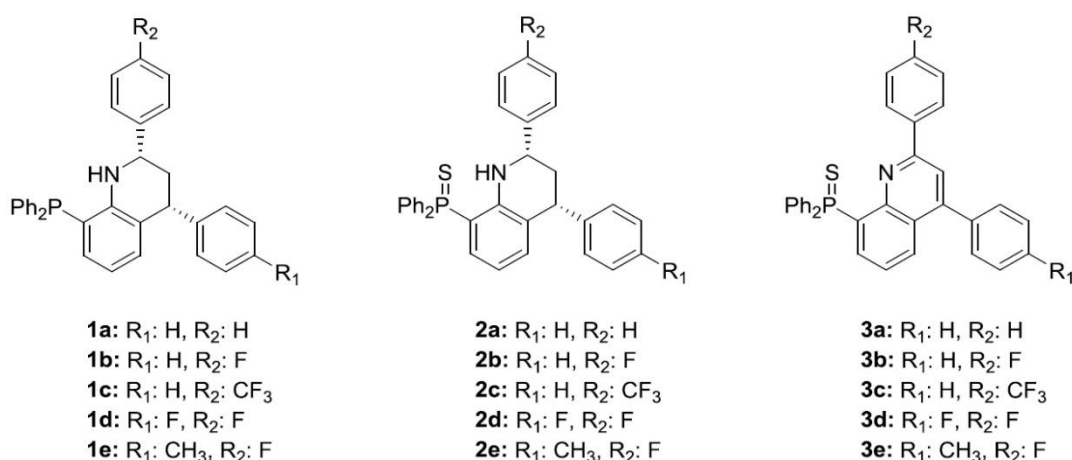
1. Kanptotezinatik deribatuak ez diren konposatuek dituzten egituren antzeko konposatuen erreaktivitatea aztertzea.
2. Ezaugarri zehatz batzuk dituzten konposatuak sortzea.
3. Aurrekoen aktibitate biologikoa aztertzea “in vitro” (laborategiko esperimentazioa) egoeretan.

3. Ikerketaren muina

Kanptotezinatik deribatuak ez diren I Topoisomerasaren inhibitzaileak lortzearekin hasi zen prozesua. Beraien ezaugarriengatik 1,2,3,4-tetrahidrokinolina eta kinolina berriak deritzen motako produktuak lortu ziren. 3. irudian ikus daitezkeen irudikapen grafikoetan argi ikusten da konposatu hauek, berdin berdinak ez diren arren, egitura oso antzekoak direla.

Modu erraz batean ulertzeko, erreazioa puzzle bat bezala ulertu behar da. R_1 eta R_2 muturretan hainbat elementu edo molekula jarri daitezke eta hala, konbinazio anitzak sortu. Kasu honetan, muturretan Hidrogenoa (H), Fluorra (F), Trifluorometil molekula organofluoratu (CF₃) eta metiloa (CH₃) dertitzen molekula organikoak txertatu dira. Bi muturretan jarritakoaren arabera produktu ezberdinak sortu dira (Ikus 3. irudiaren beheko zatia).

4. irudia. Erabilitako produktuen irudikapen grafikoak eta konbinazioak.



Datozen lerroetan esperimentazio atalaren azalpena aurki daiteke; laburpena 1. taulan.

Lehenik zítotoxizitate frogak egin dira, hau da, lortutako produktuek zein gaitasun duten minbizidun zelulak hiltzeko. “IC₅₀” bezala ezagutzen den neurketa sistema erabili da horretarako, hau da, produktuaren zenbat kantitate behar den, kasu honetan, lagineko minbizi-zelulen %50a hiltzeko. Produktu bakoitzaren kantitate berak laginaren zein portzentai hiltzen duen aztertu da, Otik 50erako balioak erabili direlarik horretarako.

Ikerketa honetan hiru esperimentazio eremu erabili dira: giza giltzurruneko minbizi (HEK-3) zelulak, giza birikako adenokartzinoma (A-549) zelulak eta giza obulutegi kartzinoma (SKOV3) zelulak. Kontuan izan behar da kasu honetan, DNAREN eta honek dakarren zelulen bikoizketa ekiditea dela helburua, tumorea handitu ez dadin. Beraz, gero eta zítotoxizitate maila altuagoa izan orduan eta hobe izango da molekula minbiziaren aurkako farmako bezala.

Artikuluaren lehen ataletan azaldutako ezaugarriengatik Kanptotezina da erreferentetzat hartzen dena. Bere zitotoxizitate maila, lehen esan bezala, altua dela kontuan izanda, 0,001ekoa da, gutxi gorabehera, hiru minbizi ehunetan. Birika adenokartzinomaren kasuan, disolbagarritasun arazoengatik erreakzioak gauzatu ez diren produktuak kenduta (2e eta 3e), gainontzekoek emaitza hobea erakutsi dute, eta kasu batzuetan (3a, 3b, 3c eta 3d) askoz hobea, 50 baino gehiagokoa. Giltzurrun minbiziaren eta obulutegi kartzinomaren kasuetan sintetizatutako produktu guztiek lortu dute 50 baino balio handiagoa zitotoxizitatean.

Bestalde I Topoisomerasa inhibitzeko gaitasuna duten ala ez ere aztertu da. Horretarako, entsegu enzimatikoak erabili dira. Elektroforesia deritzon teknika baten bidez, azterketa kualitatibo bat egin daiteke eta inhibizio maila ezberdinak interpretatu.

Kasu honetan ere egoera ezberdinak planteatu dira:

1. egoera: Aurreinkubaziorik gabe
2. egoera: DNArekin aurreinkubazioa 15 minutuz.
3. egoera: I Topoisomerasarekin aurreinkubazioa 15 minutuz.

Produktu bakoitza hiru egoeretan aztertu da, eta bere inhibizio-gaitasuna neurtu da 4 une ezberdinetan: 15 segundu, 45 segundu, minutu 1 edota 3 pasa bezain pronto. Kanptotezinak errendimendu oso ona erakutsi du hiru egoeretan, bereziki lehen hiru uneetan. 2e eta 3e produktuek disolbagarritasun arazoak izan dituztenez, ez dute froga hau gainditu.

1. egoeran, aurreinkubaziorik gabekoan, 2c konposatuak ez du erreakzionatu eta 3a-k, lehen faseetan ondo edo nahiko ondo inhibititu duen arren, amaierarako ez du gehiegi inhibititu. Gainontzeko 11 konposatuek inhibizio maila altuak edo oso altuak erakutsi dituzte, Kanptotezina bera baino handiagoak, izatez.

2. egoeran, 15 minutuz DNArekin aurreinkubatuz, 3a produktuak ez du erreakzionatu eta 1 d-k ia ere ez. 1a, 1e, 2d, 3b eta 3d produktuek lehen uneetan errendimendu oso ona adierazi duten arren, 3 minutu pasa ostean, beraien inhibitzeko gaitasuna desagertu egin da. 1b eta 2b denboran zehar modu berdintsu batean inhibititu dute, baina beti maila nahiko kaxkarrean. Azkenik, 1c, 2a, 2c eta 3c produktuek oso inhibizio maila altua erakutsi dute I Topoisomerasaren aurrean, Kanptotezinarena baino hobea.

3. egoeran, 15 minutuz I Topoisomerasarekin aurreinkubatuz 2a produktuan hasieran errendimendu izugarria izan duen arren, hurrengo uneetan gaitasun hori guztiz desagertu da, eta 2b produktuak inhibizio maila konstante baina baxua erakutsi du. Gainontzeko 11 konposatuek inhibizio maila altua edo oso altua erakutsi dute, Kanptotezinak emandako emaitza gailenduaz.

Produktu berdinek egoera ezberdinetan lortutako emaitzei begiratuta, 15 minutuz DNArekin aurreinkubatua edukitzeak eman ditu emaitza kaxkarrenak orohar, eta aurreinkubazio ezak edota 15 minutuko I Topoisomerasaren aurreinkubazioak, aldiz, emaitza oso oparoak eman ditu.

Orokorrean, fluordun konposatuek inhibizio gaitasuna erakutsi dute, baina, mutur bakarra bete beharran bi betetzen zituztenean, emaitzak hobeak izan dira (bereziki lehen uneetan). Trifluorometilari dagokionez, orokorrean emaitzarik onenak eman ditu (emaitzarik eman ez duen kasua kenduta) egoera guztietan. Metiloa eta fluorra txertatuta zeuden serieetan berriz, egituretako batean emaitza nahiko onak eman dituen arren, beste bietan disolbagarritasun arazoak eman ditu.

1. taula. Esperimentazio atala: Zitotoxitatea eta I-h Topoisomerasaren inhibizioa.

Konposatua	Zitotoxizitatea			I-hTopoisomerasaren inhibizioa											
	A-549	VK-O3	HEK-3	Aurreinkubaziorik gabe				DNArekin aurreinkubazioa 15min				ITop-rekin aurreinkubazioa 15min			
				15 s	45 s	1 min	3 min	15s	45s	1min	3min	15s	45s	1min	3min
Kanptotezina	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-5}$	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-5}$	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-3}$	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+
1a	0.60 ± 2.1	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	+++	+	+	++++	++++	++++	++++
1b	0.57 ± 3.2	>50	>50	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	++++	++++	++++	++++
1c	16.2 ± 4.9	>50	>50	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++++	++++	++++	++++
1d	0.08 ± 0.01	>50	>50	++++	++++	++++	+++	+	-	-	-	++++	++++	++++	++++
1e	0.25 ± 0.12	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
2a	0.16 ± 0.01	>50	>50	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-
2b	0.27 ± 0.05	>50	>50	++++	++++	++++	++++	++	++	++	++	++	++	++	+
2c	0.22 ± 0.01	>50	>50	-	-	-	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++
2d	0.03 ± 0.02	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
2e	Ez d.	>50	>50	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.
3a	>50	>50	>50	+++	++	++	-	-	-	-	-	++++	+++	+++	++
3b	>50	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
3c	>50	>50	>50	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3d	>50	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
3e	Ez d.	>50	>50	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.

Ez d.: Ez disolbagarria.

4. Ondorioak

“Povarov” erreakzioaren bidez, laborategian egitura zehatz baten fluordun eta fosforodun deribatu batzuek aktibitate biologiko handia erakutsi dute I Topoisomerasaren inhibitzaile bezala. Lortutako konposatu batzuek inhibizio entseguetan Kanptotezinak berak baino I Topoisomerasa inhibititzeko gaitasun handiagoa dutela erakutsi dute.

Bestalde, zitotoxizitate entseguetan Kanptotezinak berak baino gaitasun handiagoa dutela erakutsi dute konposatu batzuek. Dena den, konposatu horien herenak bakarrik lortzen du hain aktibitate indartsua Kanptotezinaren kontzentrazio beretsuan; besteek kontzentrazio handiagoa behar dute efektu hori lortzeko.

5. Etorkizunerako planteatzan den norabidea

Ordenagailuzko zein laborategiko azterketen bidez, lortutako konposatuen egituren aldaera ezberdinekin zitotoxizitate eta inhibizio frogak egitea, lortutako emaitzak hobetzea helburu.

6. Erreferentziak

- Antony, S., Agama, K. K., Miao, Z.-H., Takagi, K., Wright, M. H., Robles, A. I., Varticovski, L., Nagarajan, M., Morrell, A., Cushman, M. eta Pommier, Y. (2007). Novel Indenoisoquinolines NSC 725776 and NSC 724998 Produce Persistent Topoisomerase I Cleavage Complexes and Overcome Multidrug Resistance, *Cancer Research*, 67, 10397- 10405.
- Avendaño, C., eta Menéndez, J. C. (2008). *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevier, Holanda.
- Begouin, A. eta Hesse, S. (2006): Synthesis of novel benzoannelated eight -membered heterocycles: easy access to benzo[f][1,4]oxazocin-1-ones, J. A. Seijas, eta M. P. Vázquez-Tata (arg.), *10th Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, MDPI, Suitza, CD-ROM formatuan argitaratua.
- Cinelli, M. A., Cordero, B., Dexheimer, T. S., Pommier, Y. eta Cushman, M., (2009). Synthesis and Biological Evaluation of 14-(Aminoalkyl-aminomethyl)aromathecins as Topoisomerase I Inhibitors: Investigating the Hypothesis of Shared Structure-Activity Relationships, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 7145-7155.
- Khadka, D. B., eta Cho, W.-J. (2011). 3-Arylisoquinolines as novel topoisomerase I inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, 724-734.
- Koster, D. A., Croquette, V., Dekker, C., Shuman, S. eta Dekker, N. H. (2005). Friction and torque govern the relaxation of DNA supercoils by eukaryotic topoisomerase IB, *Nature*, 434, 671-674.
- Kumar, R. S., Rajesh, S. M., Perumal, S., Banerjee, D., Yogeewari, P. eta Sriram, D. (2010). A Facile Synthesis and Discovery of Highly Functionalized Tetrahydro-pyridines and Pyridines as Antimycobacterial Agents, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58, 602-610.
- Kumar, V., Abbas, A. K. eta Fausto, N. (2008). *Robbins Patología Humana*, Elsevier, Espainia
- Lauria, A., Ippolito, M. eta Almerico, A. M. (2007). Molecular docking approach on the Topoisomerase I inhibitors series included in the NCI anti -cancer agents mechanism database, *Journal of Molecular Modeling*, 13, 393-400.
- Leppard, J. B. eta Champoux, J. J. (2005). Human DNA topoisomerase I: relaxation, roles, and damage control, *Chromosoma*, 114, 75-85.
- Nagarajan, M., Morrell, A., Fort, B. C., Meckey, M. R., Antony, S., Kohlhagen, G., Pommier, Y. eta Cushman, M. (2004). Synthesis and Anticancer Activity of Simplified Indenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors Lacking Substituents on the Aromatic Rings, *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 5651-5661.
- Neidle, S. (2008). *Cancer Drug Design and Discovery*, Elsevier, Erresuma Batua.
- Peterson, K. E., Cinelli, M. A., Mowell, A. E., Mehta, A., Dexheimer, T. S., Agama, K. K., Antony, S., Pommier, Y. eta Cushman, M. (2011). Alcohol -, Diol-, and Carbohydrate-Substituted Indenoisoquinolines as Topoisomerase I Inhibitors: Investigating the Relationships Involving Stereochemistry, Hydrogen Bonding, and Biological Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 4937-4953.

- Pommier, Y. (2009). DNA Topoisomerase I Inhibitors: Chemistry, Biology, and Interfacial Inhibition, *Chemical Reviews*, 109, 2894-2902.
- Pommier, Y. eta Cushman, M. (2009). The indenoisoquinoline noncamptothecin topoisomerase I inhibitors: update and perspectives, *Molecular Cancer Therapeutics*, 8, 1008-1014.
- Redinbo, M. R., Stewart, L., Kuhn, P., Champoux, J. J. eta Hol, W. G. J. (1998). Crystal structures of human topoisomerase I in covalent and noncovalent complexes with DNA, *Science*, 279, 1504-1513.
- Schaeppli, U., Fleischman, R. eta Clooney, D. W. (1974). Cancer Chemotherapy Reports, 58, 25-36.
- Stein, G. S. eta Pardee A. B. (2004). *Cell Cycle & Growth Control*, John Wiley & Sons, Ameriketako Estatu Batuak.
- Stewart, L., Ireton, G. C., Parker, L. H., Madden, K. R. eta Champoux J. J. (1996). Biochemical and Biophysical Analyses of Recombinant Forms of Human Topoisomerase I, *Journal of Biological Chemistry*, 271, 7593-7601.
- Stewart, L., Redinbo, M. R., Qiu, X., Hol, W. G. J., eta Champoux J. J. (1998). A model for the mechanism of human topoisomerase I, *Science*, 279, 1534-1541.
- Teicher, B. A. (2008). Next generation topoisomerase I inhibitors: Rationale and biomarker strategies, *Biochemical Pharmacology*, 75, 1262-1271
- Tesauro, C., Fiorani, P., D'Annessa, I., Chilleni, G., Turchi, G. eta Desidari, A. (2010). Erybraedin C, a natural compound from the plant *Bituminaria bituminosa*, inhibits both the cleavage and religation activities of human topoisomerase I, *Biochemical Journal*, 425, 531-539.
- Thomas, C. J., Rahier, N. J. eta Hecht, S. M. (2004). Camptothecin: current perspectives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 1585-1604.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R. eta Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer, *Cell Proliferation*, 36, 131-149.
- Wall, M. E., Wani, M. C., Cook, C. E., Palmer, K. H., McPhail, A. T., eta Sim, G. A. (1966). Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a Novel Alkaloidal Leukemia and Tumor Inhibitor from *Camptotheca acuminata*, *Journal of the American Chemical Society*, 88, 3888-3890.
- Willis, R. A. (1952). *The Spread of Tumors in the Human Body*, Butterworth & Co, Erresuma Batua.

MCT1 genearen T1470A polimorfismoaren eragina metabolismo anaerobikoan oinarritutako kirol jardueran

Julen Diaz Ramirez¹, Jon Larruskain¹, Arkaitz Castañeda², Iker Muñoz³, Adrian Odriozola¹

¹Universidad del País Vasco/ Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), ²Kirolene,

³Universidad Europea del Atlántico

julen2692@gmail.es

Laburpena

Genomak kirolaren errendimenduan izan dezakeen garrantzia asko ikertu da azken urteotan. Nekearekin erlazionatuta dagoen jarduera fisikoaren mugatzaileetako bat odolaren laktato kontzentrazioaren igoera da. *Monocarboxylate transporter 1* (MCT1) genearen T1470A polimorfismoak (rs1049434) laktatoaren garraioa eta oxidazioa emendatzen ditu. Horregatik, Wingate Anaerobic Test (WAnT) esfortzu proban polimorfismo honek izan dezakeen eragina 55 triatleta euskaldunetan aztertu da. AA eta AT genotipoak, TT genotipoarekin alderatuz, WAnT proban lortutako Potentzia maximo (PM) eta Batezbesteko potentzia (BP) handiagoarekin erlazionatu ziren. Ondorioz, AA eta AT genotipoak metabolismo anaerobikoan oinarritutako kirolekin erlazionatu daitezke.

Hitz gakoak: Genetika, Wingate, MCT1, potentzia, anaerobikoa

Abstract

Recently, the relevance of genetics in sports performance has increased considerably. One of the limiting factors of physical exercise is the accumulation of blood lactate. The T1470A polymorphism of the Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) gene (rs1049434) improves blood lactate transport and oxidation. Therefore, the association of this polymorphism with Wingate Anaerobic Test (WAnT) performance was studied in 55 Basque triathletes. The AA and AT genotypes were associated with higher Peak Power (PP) and Mean Power (MP) compared to the TT genotype. In conclusion, the AA and AT genotypes might be related to anaerobic sports performance.

Keywords: Genetics, Wingate, MCT1, power, anaerobic

1. Sarrera eta motibazioa

Asko dira kirol errendimenduaren aldakortasunari erantzun bat ematen saiatzen ari direnak. Izan ere, lasterketa batean lehen postuak baldintzatuko dituzten faktoreak aldeztu aurretik xehetasunez ezagutzea oso interesgarria izan daiteke. Azterketa honen ondorioa, ordea, berdina da kasu guztietan: kirolari profesionalen fenotipoa oso konplexua da. Entrenamenduak eta genetikak kirol errendimenduan izan dezaketen pisuari elikadura eta alderdi sozialarena gehitu behar zaio.

Azken hamarkadan, genetikak kirolean daukan eragina neurtzen saiatu diren ikerketen zenbakia izugarri handitu da. Genetikak giza aldakortasunean duen zeresana ulertzeko, nukleotido bakarreko polimorfismoak (SNPak ingelesez) derrigorrez aipatu behar dira. Hau da, giza banakakoen arteko genomatan topatzen diren aldaketa oso txikiak. SNPak gaixotasun ezberdinen erantzuleak izan daitezkeen arren, kirolean abantaila suposatu dezaketela ere argitaratu da (Ahmetov eta Fedotovskaya, 2015). DNA katean jatorria duten eta errendimenduan onura eragiten duten aldaketa txiki hauen azterketa da kirol genomikaren xedea.

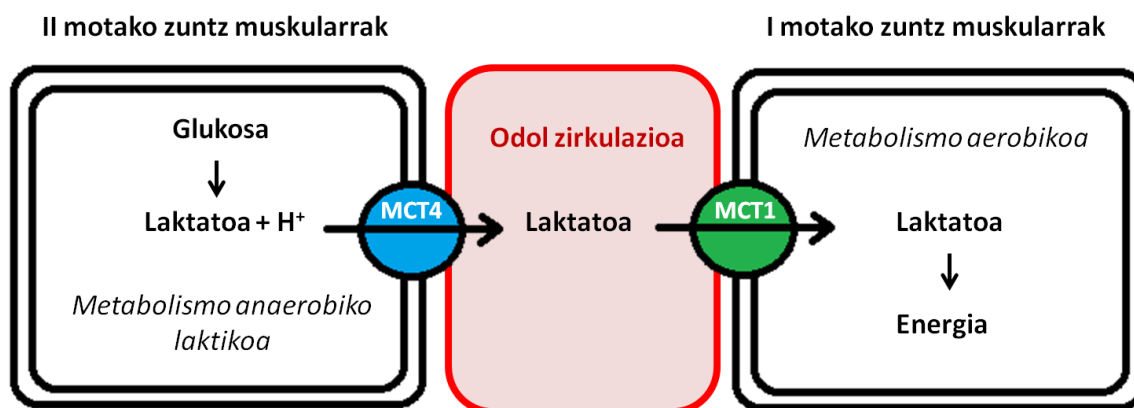
Jarduera fisikoari erreparatzen diogunean, metabolismo anaerobiko alaktikoa, anaerobiko laktikoa edo aerobikoa izan daiteke. Horrela, burututako kirol motaren arabera, metabolismo bat edo beste martxan jartzen da. Metabolismo anaerobiko laktikoa denbora tarte txiki (2-3 minutu) batean intentsitate handiko kirolean erabiltzen da, esate baterako, helburua indar edo abiadura maximoa lortzea denean.

Errendimenduaren faktore mugatzaileetako bat muskulu ehunetan metatzen doazen laktato eta protoiak dira. Laktato eta protoi hauek ehunaren azidosia eragiten dute eta honek jarduera

fisikoaren intentsitatearen jaitsiera dakar. Giza gorputzak produktu metaboliko hauek neurri batean neutralizatzeko ahalmena dauka, horretarako Cori zikloaz eta monocarboxylate transporter 1 (*MCT1*) geneaz baliatu daitekeelarik. Cori zikloan, muskulu zeluletan askatutako laktatetik glukosa sintetizatzen da bide anaplerotikoa jarraituz, ondoren glukosa hau muskulu ehunera bueltatzen da substratu moduan. Dena dela, Cori zikloaren balantze energetikoa negatiboa da eta organismoak ezin du denbora mugagabea mantendu. Horregatik, denbora jakin baten buruan laktato kontzentrazioa handituz doa eta hau nekearen adierazletzat erabiltzen da maiz.

MCT1 sarkolemako laktato/protoi kogarriatzaile bat da eta zuntz muskular oxidatzaileetan aurki daiteke. I motako zuntz muskularretarako laktato/protoi garraioaren bitartez, errekupeazioan eta jardura aerobikoan zeharreko laktatoaren oxidazioa emendatzen duela pentsatzen da (1. irudia) (Dubouchaud et al., 2000; Pilegaard et al., 1999). *MCT1*eko T1470A polimorfismoak (rs1049434) aminoazido kateko 490 posizioan azido aspartikoa azido glutamikoarekin ordezkatzeari dakar (Merezhinskaya et al., 2000; Sasaki et al., 2015). T aleloaren eramaileen laktato garraio indizea %30-40ean geldoagoa dela ikusi da (Merezhinskaya et al., 2000) eta T aleloarekin kirola praktikatu ondorengo laktato kontzentrazioa altuagoa dela ere ezagutarazi da (Cupeiro et al., 2012).

1. irudia Kirol jardura intentsiboaren zeharreko monocarboxylate transporter proteina familiaren funtzioa.



*MCT1*eko T1470A polimorfismoa jardura fisiko mota ezberdinekin erlazionatu nahi izan denean emaitzak oso ezberdinak izan dira. Alde batetik, errusiar erresistentzia atletak populazio orokorrarekin alderatzean, A aleloak nagusitasuna duela ikusi da (Fedotovskaya et al., 2014). Hala ere, emaitza hauek ez ziren errepikatu poloniar eta israeldar erresistentzian espezializatutako atletetan (Ben-Zaken et al., 2015; Sawczuk et al., 2015). Beste aldetik, 100 poloniar indar/sprint atleteta populazio orokorrarekin alderatzean, T aleloa nagusiagoa zela ikusi izan zen (Sawczuk et al., 2015). Dena dela, azkenengo ondorio hauek ez ziren baieztatu poloniar eta errusiar indar atletetan (Ben-Zaken et al., 2015; Fedotovskaya et al., 2014).

Argitaratu berri den ikerketa lan batean, japoniar borrokalarien artean *MCT1* genearen T1470A polimorfismoa aztertu zen. Artikuluan polimorfismoaren eragina 30 segunduko Wingate Anaerobic Test (WAnT) esfortzu proban eta laktatoaren metabolismoan ikusi nahi izan zen (Kikuchi et al., 2017). WAnT metabolismo anaerobiko laktikoaren diagnosirako erabiltzen den probarik ohikoena da. Ikerlanaren arabera, polimorfismoa laktato kontzentrazio jaitsierarekin erlazionatuta dago, bai intentsitate handiko jardura fisiko intermitentea burutzen den bitartean, bai intentsitate handiko jardura fisikoko tarte mugatu baten ondoren. Gainera, *MCT1* genearen T1470Ako AA genotipoa japoniar borrokalarietan gainespresatuta zegoela ikusi zen.

Aipatutako lanean WAnT proba burutu zuen pertsona kopurua ez da oso handia. Halaber, test mota honetan *MCT1* genearen T1470A polimorfismoa aztertzen duen ikerketa bakarra da. Horrez gain, oraindik ez dago oso argi polimorfismo honek kirol mota ezberdinetan izan dezakeen eragina. Kasu/kontrol ikerketetan ezagutzen den bibliografia nahiko nahasia da. Hortaz, gure ikerketaren helburua triatletaz osatutako lagin batean polimorfismoaren eragina 30 segunduko WAnT proban aztertzea da.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Jarduera fisikoa maila biokimikoan aztertzean, *MCT1* genearen T1470A polimorfismoak zeresan handia izan dezakeela pentsa daiteke. Polimorfismo honen inguruan egindako ikerketen emaitzak nahiko nahasiak dira eta bakar bat ezagutzen da WAnT esfortzu proba oinarritzat erabiltzen duena, lagin tamaina mugatua delarik. Ikerketa honen helburu nagusia 30 segunduko WAnT proban *MCT1* genearen T1470A polimorfismoaren eragina triatletetan ikustea da. Bide batez, beste kontsiderazio hauek argitzen saiatuko gara:

- 1) *MCT1* genearen T1470A polimorfismoak metabolismo anaerobioan duen garrantzia
- 2) Laktatoaren oxidazioa WAnT proban duen eragina

3. Ikerketaren muina

3.1 Lagina eta diseinu esperimentalak

55 triatleta amateur eta euskaldun aukeratu ziren. Ikerketaren parte izateko ezinbestekoa zen azken 3 urteetan zehar astean 5-7 egunean triatloia entrenatzea (10-14 ordu).

3.2 Wingate Anaerobic Test-a eta datu antropometrikoak

Wingate Anaerobic Test-a (WAnT) hasi baino lehen triatleten adina, pisua, altuera, gihar portzentajea eta gantz portzentajea apuntatu zen. Testa egin aurretik 5 minutuko beroketa tartea izan zuten parte-hartzaileek. WAnT-a errendimendu anaerobikoaren diagnosirako erabiltzen den esfortzu probarik ohikoena da. Gure kasuan, zikloergometro baten gainean 30 segundotan zehar egin ahal zuten esfortzu maximoa burutu behar zuten. Horrela, bi parametro neurtu ziren, testa hasi eta segundo gutxira lortutako Potentzia maximoa (PM) Watt-etan (W) eta 30 segundotan zehar eragindako Batezbesteko potentzia (BP) Watt-etan ere (W).

3.3 Genotipatzea

Kirolarien DNA hisopoekin bildutako (4N6FLOQSwab, Life Technologies) listu laginetatik lortu zen. DNA erauzketa QIAmp DNA Mini kitarekin burutu zen (Qiagen) eta fluorimetria bidez kuantifikatu zen (Qubit, Life Technologies). DNA laginak Biomark HD sisteman genotipatu ziren SNP type probak erabiliz (Fluidigm). Genotipatzea UPV/EHU-ko Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorretako (SGIker) Sekuentziazio eta Genotipo Azterketen Zerbitzuak burutu zuen.

3.4 Analisi estatistikoa

Lehenbizi, erregresio lineal sinplea erabilita, pisuaren, adinaren, altueraren, gantz portzentajearen eta gihar portzentajearen eta Wingate testean lortutako PM eta BP arteko asoziazioa ikertu zen. Jarraian, erregresio multiplea erabilita, Wingate testean lortutako potentzia PM eta BP-ren eta *MCT1* genearen T1470A polimorfismoaren arteko asoziazioa ikertu zen. Azkenengo hau, erregresio lineal sinplean erlazio adierazgarria erakutsi zuten aldagaien efektua kontuan hartuta egin zen. Analisi estatistikoa R v.3.2.3 software-aren bidez burutu zen (R Core Team 2015, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Wingate testeko emaitzak GraphPad Prism v.6.0c erabilita irudikatu ziren (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Adierazgarritasun estatistikoaren maila $p < 0.05$ -en ezarri zen.

3.5 Emaitzak

Triatleten ezaugarriak eta datu antropometrikoak genotipo bakoitzaren arabera sailkatuta daude 1. taulan.

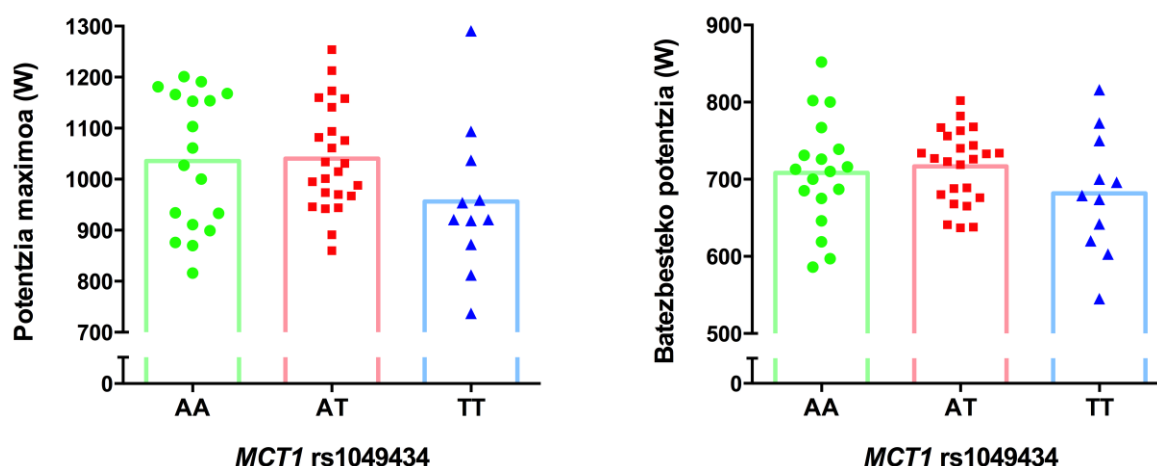
1. taula. MCT1 genearen T1470A polimorfismoaren genotipoen karakterizazioa.

Genotipoa	AA	AT	TT
Triatleta kopurua n (%)	19 (34)	24 (44)	12 (22)
Batezbesteko adina (Urteak)	40 ± 4	40 ± 7	38 ± 12
Batezbesteko pisua (Kg)	75.5 ± 8.8	69.9 ± 6.9	69.1 ± 5.9
Gantz portzentajea (%)	8.2 ± 4.8	8.5 ± 4.2	8.2 ± 2.5
Gihar portzentajea (%)	39.2 ± 4	35.6 ± 6.4	34.2 ± 3.2
Potentzia maximoa (W)	1079.4 ± 29.2	1016.1 ± 25.3	963.3 ± 32.5
Batezbesteko potentzia (W)	731.1 ± 12.9	706.2 ± 13.2	671.1 ± 19.2

Parte-hartzaileen datuak batezbestekoak ± desbiderapen estandarra dira

Kirolariak esfortzu proban ekoiztutako emaitzak 1. grafikoan beraien genotipoaren arabera irudikatuta daude.

1. grafikoa. Triatleta bakoitzak lortutako Potentzia maximoa eta Batezbesteko potentzia genotipoaren arabera sailkatuak.



Adinak ($p < 0.01$) eta gihar portzentajeak ($p < 0.01$) PMrekin erlazio adierazgarria erakutsi zuten erregresio linealean. Era berean, adina ($p < 0.01$), pisua ($p < 0.04$) eta gihar portzentajea ($p = 0.01$) BMrekin erlazio adierazgarria erakutsi zuten erregresio linealean.

WAnT proban lortutako PMren eta BPren MCT1ren T1470A polimorfismoarekiko asoziazioa ikertu zen pisuaren, adinaren eta gihar portzentajearen efektua kontuan hartuta. AA eta AT genotipoa zuten triatletek PM eta BP handiagoa lortu zuten WAnT esfortzu proban TT genotipoa zutenekin alderatuta (2. taula).

2. taula. Wingate Anaerobic Testaren eta MCT1 genearen T1470A polimorfismoaren arteko asoziazioa triatletan.

	Genotipoa	Batezbestekoa $\pm$ desbiderapen estandarra (W)	Diferentzia (% 95eko KT)	p balioa
Potentzia maximoa	AA+AT TT	1044.1 $\pm$ 19.5 963.3 $\pm$ 32.3	+69.9 (8.5 - 131.3)	0.03
Batezbesteko potentzia	AA+AT TT	717.2 $\pm$ 9.3 671.0 $\pm$ 19.2	+41.9 (9.8 - 73.4)	0.01

KT: konfiantza-tartea

4. Ondorioak

Lortutako emaitzek kasu guztietan (Potentzia maximoa zein Batezbesteko potentzia), *MCT1* genearen T1470A polimorfismoaren AA eta AT genotipoa WAnT esfortzu proban abantaila bat suposatu ahal dutela erakusten dute. Hau da, gure ikerketan AA zuten guztiek PM eta BP altuagoak zituzten. Gauzak horrela, metabolismo anaerobikoaren adierazgarri den WAnT bezalako test batean, AA genotipoa lagungarria dela dio gure ikerlanak. Hau polimorfismoak laktatoaren metabolismoan daukan eraginagatik dela pentsatzera eramán gaitzake. A aleloa laktatoaren oxidazio handiago batekin erlazionatu da. Gure kasuan, laktatoaren garraio azkarrago horrek kirolarien metabolismo anaerobikoaren efizientzia handitzen duela ondoriozta dezakegu. Ezagutzen diren kasu/kontrol azterketek emaitza kontraesankorrak izan dituzte eta AA genotipoa indarra zein erresistentzia fenotipora lotu izan da aldi berean. Kikuchi et al.-ek (2017) ez zituzten AA eta AT genotipoak WAnT-an potentzia handiagoei erlazionatu eta hori erabilitako lagin tamaina txikiagatik izan daiteke. Dena dela, guk esandakoarekin erlazionatuta, AA genotipoa zuten japoniar borrokalariak laktato kontzentrazio txikiagoak zituzten 30 segunduko WAnT probaren ondoren. Hori dela eta, AA eta AT genotipoak metabolismo anaerobikoan oinarritutako kirolekin erlazionatu daitezke.

Horrez gain, *MCT1* genearen T1470A polimorfismoaren AA genotipoa metabolismo anaerobiko alaktikoan eragina izan ahal duela ikusi dugu. Izan ere, PMren balioak aipatutako metabolismoaren menpe daude.

Genetikak kirol munduan piztu duen interesa ikaragarria da eta honen adierazle da azken hamarkadan esponentzialki argitaratzen joan diren artikulua. Edonola ere, ikerketen ondorioak antzekoak izaten dira, genetikak bere efektua izan dezake baina ez da erabakigarria. Ezin ditugu ahaztu kirolean oso garrantzitsuak diren ingurumena, dieta, entrenamenduak edota lesioak bezalako faktoreak.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

MCT1 genearen T1470A polimorfismoak laktatoaren metabolismoan eragina duela argi dago. Era berean, laktatoaren garraio eta oxidazioak kirol errendimenduan zeresan handia duen prozesua da. Horregatik, polimorfismo honek metabolismo anaerobiko alaktiko, metabolismo anaerobiko laktiko eta metabolismo aerobikoan duen eragina zehazten lagunduko duten artikulua gehiago behar dira. Horretarako, lagin tamaina handiak, genoma osoko azterketak, odoleko laktato neurketak eta jardura fisiko ezberdinak batzen dituzten ikerketak gomendatzen ditugu.

6. Erreferentziak

Ahmetov II, Fedotovskaya ON. (2015), Current Progress in Sports Genomics, *Adv Clin Chem*, 70, 247-314
Ben-Zaken S, Eliakim A, Nemet D, Rabinovich M, Kassem E, Meckel Y. (2015), Differences in *MCT1* A1470T polymorphism prevalence between runners and swimmers, *Scand J Med Sci Sports*, 25, 365–371

- Cupeiro R, Benito PJ, Maffulli N, Calderon FJ, Gonzalez-Lamuno D. (2012), MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: a pilot study, *J Sci Med Sport*, 13, 526–530
- Dubouchaud H, Butterfield GE, Wolfel EE, Bergman BC, Brooks GA. (2000), Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle, *Am J Physiol*, 278, E571–E579
- Fedotovskaya ON, Mustafina LJ, Popov DV, Vinogradova OL, Ahmetov II. (2014), A common polymorphism of the MCT1 gene and athletic performance, *Int J Sports Physiol Perform*, 9, 173–180
- Kikuchi N, Fuku N, Matsumoto R, Matsumoto S, Murakami H, Miyachi M, Nakazato K. (2017), The Association Between MCT1 T1470A Polymorphism and Power-Oriented Athletic Performance, *Int J Sports Med*, 38(1), 76-80
- Merezhinskaya N, Fishbein WN, Davis JI, Foellmer JW. (2000), Mutations in MCT1 cDNA in patients with symptomatic deficiency in lactate transport, *Muscle Nerve*, 23, 90–97
- Pilegaard H, Terzis G, Halestrap A, Juel C. (1999), Distribution of the lactate/H⁺ transporter isoforms MCT1 and MCT4 in human skeletal muscle, *Am J Physiol*, 276, E843–E848
- Sasaki S, Futagi Y, Kobayashi M, Ogura J, Iseki K. (2015), Functional characterization of 5-oxoproline transport via SLC16A1/MCT1, *J Biol Chem*, 290, 2303–2311
- Sawczuk M, Banting LK, Cieszczyk P, Maciejewska-Karlowska A, Zarebska A, Leonska-Duniec A, Jastrzebski Z, Bishop DJ, Eynon N. (2015), MCT1 A1470T: a novel polymorphism for sprint performance?, *J Sci Med Sport*, 18, 114–118

7. Eskerrak eta oharrak

J Larruskain UPV/EHU-ko Euskararen Arloko Errektoreordetzaren beka baten onuraduna da.

Erantzun Modulagarriak Cd Estresaren Pean Magurio Arruntean (*Littorina littorea*)

Denis Benito¹, Michael Niederwanger², Reinhard Dallinger², Urtzi Izagirre¹, Manu Soto¹

¹CBET Research Group, Research Centre for Experimental Marine Biology and Biotechnology (PiE-UPV/EHU), University of the Basque Country UPV/EHU, Areatza Pasalekua, 48620 Plentzia –Bizkaia, Basque Country, ²Institut für Zoologie (Abteilung Zoophysiologie), Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck, Austria.

denis.benito@ehu.eus

Laburpena

Itsas ingurunean hainbat kutsatzaileek sortutako toxizitatea sakonki izan da ikertua hainbat espezie zentinelen bidez (Moluskuak, beste batzuen artean). Ikerketa hauek, antolamendu biologikoko maila desberdinetan toxizitate mekanismoak argitzen lagundu dute, maila molekularretik, ekosistema mailaraino. Hala ere, gehiengo diseinu esperimentaletan, kutsatzaile kontzentrazioak ingurugiroan aurki daitezkeenak baino askoz ere altuagoak izan ohi dira. Ikerketa honen helburua kadmio kontzentrazio subletal (0.25 eta 1 mg Cd/l) 21 eguneko esposiziopean magurio arruntean (*Littorina littorea*) sortzen diren ondorio biologikoen determinazioa da. Hauen segida tenporala zehazteko helburuarekin, organo desberdinak (liseri-guruin/gonada konplexua eta zakatzak) diseinatu ziren 0, 4 eta 12 ordu eta 1, 3, 7, 14 eta 21 esposizio egunen ostean eta 12 eguneko detoxifikazio periodo baten ondoren. Biomarkatzaile desberdinak erabili dira maila zelularrean (metalen metaketa intralisosomikoa, aldaketa estrukturalak sistema lisosomikoan) eta ehun mailan (liseri-zelulen eta zelula basofiloen arteko proportzio erlatiboaren aldaketak, liseri-epitelio eta arnas epitelioaren aldaketa morfologikoak). Biomarkatzaileetan aldatze esanguratsuak segida tenporal desberdinetan gertatu ziren Cd esposizioaren ondorioz aipatutako erantzun biologikoetan. Honela, aldaketa histopatologiko azkarrak (egun 1) zakatzetan eman ziren, ehun mailako biomarkatzaileetan berriz beranduago gertatu ziren (7 egun). Horregatik, alerta goiztiarreko parametroa kontsideratu daiteke iragazketaz elikatzen ez diren organismoetan ere, betiere urpean mantentzen badira. Erabilitako biomarkatzaileak oso sentikorak izan dira Cd kontzentrazio ez hilgarrietara mantendutako *Littorina littorea* magurioetan eta erantzun zelularrak oso denbora tarte laburretan izan dira ikusgai (<1 egun). Espero bezala, antolamendu biologiko konplexuagoko erantzunak beranduago izan dira ikusgai (1-7 egun). Kontrol eta talde esperimentalen arteko desberdintasun esanguratsuko puntu kritikoa sistema osoan 7. egunean ezarri da.

Biomarkatzaileak, Ingurumen Toxikologia eta Kutsadura, Kadmioa, Histopatologia.

Abstract

The toxicity produced by a vast number of pollutants in marine environments has been extensively studied for many years using different sentinel species (i.e. molluscs). These works have contributed to the better understanding of the toxicity mechanisms at different levels of biological complexity, from molecular up to ecosystem level. However, the concentrations used in the majority of the experimental setups were far above environmental levels of pollutants. The aim of the present work is to determine the onset of biological effects in periwinkles (*Littorina littorea*) that were exposed to sublethal cadmium concentrations (0.25 and 1 mg Cd/l) for 21 days. In order to study the time-course effects produced by the selected Cd concentrations, different organs (digestive gland / gonad complex and gills) were dissected out after 0, 4 and 12 hours; and 1, 3, 7, 14 and 21 days of exposure and after a subsequent 12 days detoxification period. Different endpoints were measured at cell (intralysosomal metal accumulation, lysosomal structural changes) and tissue level (changes in the relative proportion of digestive and basophilic cells, morphological alterations in digestive and respiratory epithelia). Significant alterations in biomarkers occurred at different time courses after exposure to Cd for the

different organs responses. Hence, quick histopathological changes (1 d) occurred in the gills while changes in tissue-level biomarkers were later on (7 d) observed in the digestive gland/gonad complex. Therefore, gill integrity can be considered as an early warning parameter even in non filter feeder organisms but forced to be continuously immersed. The battery of biomarkers were highly sensitive to sublethal exposure concentrations of Cd in *Littorina littorea* and cell responses could be observed at very short time-courses (< 1d). As expected, responses at higher levels of biological complexity were slightly delayed (1- 7 d). The critical point of significant differentiation between the exposed groups and the control group in the whole system has been established at 7 d of exposure.

Biomarkers, Environmental pollution and toxicology, Cadmium, Histopathology.

1. Sarrera eta motibazioa

Azken hamarkadetan metalek eragindako toxizitatea zientziak sakonki ikertu duen kutsadura mota izan da. Kadmioa (Cd) metalik arriskutsuenetarikoa dugu (Eisler, 1985), ikerketa eta esperimentu asko egin dira honen toxizitate altu eta ubikuitatea direla eta, izan ere, prozesu askotan era masibo eta desegokian erabili ondoren ingurunera isurtzen da (Poon, 1984). Beraz, Cd-ak sortzen dituen efektu biologikoak oso ikertuak izan dira, horregatik, eredu-kutsatzaile kontsideratzen da (ikus berrikuspina: Marigómez 1989; Goering et al., 1995).

Biomarkatzaileak, ingurune kutsatzaileen eragin biologikoen arrisku adierazle moduan erabiltzen dira (Wu et al., 2005). Muskuilu eta magurio arruntetan (*Littorina littorea*), Cd-a, liseri guruinaren integritate orokorrean eta hau osatzen duten organo desberdinen funtzionalitatean eragiteagatik da ezaguna (Marigómez, 1989). Horretaz gain, molusku liseri-zelulen sistema lisosomikoan (Izagirre et al., 2009), liseri-epitelioko morfologian (Vega et al., 1989), zelula basofilikoen eta liseri zelulen arteko proportzioan (Zaldibar et al., 2007) eta arnas-epitelioan (Marigomez et al., 1990) eragindako aldaketak ikertu dira orokorrean moluskuetan, eta magurio arruntetan ere, eskuarki.

Littorina littorea edo magurio arrunta, ikuspuntu desberdinetatik sakonki ikertu da, kutsadura maila subletalen eragina zein den analizatzeko. Beste analisi askoren artean, gure ikerketa taldeak behaketa histopatologikoak, analisi histokimikoak, ikerketa autometalografikoak eta (mikro) analisiak egin ditu urteetan zehar, emaitza egokiak lortuz (Marigómez, 1989; Cajaraville et al., 1990; Soto, 1995; Soto et al., 1996; 2002; Marigómez et al., 2002; Zaldibar et al., 2007), Kadmioak eragindako erantzunak eta kutsadura mekanismoak zeintzuk diren aztertzeko konplexutasun biologikoko maila desberdinetan.

Jakina da moluskuak metalak metatzeko gai direla, ehunetan kontzentrazio altuak lortuz (Bryan, 1983). Hori dela eta, itsas metal kutsaduraren indikatzaile biologikotzat hartu daitezke. Gastropodoen liseri-guruina zehazki, Cd metaketa gunea da, honen akumulazio eta detoxifikazio prozesuetan inplikaturik egonik (Marigómez et al., 2002). Metal honen prozesamendu metabolikoa maila biokimiko eta zelular desberdinetako erantzun estrategia anitz (askotan aldiberekoak) aktibatuz gauzatu dezakete gastropodoek.

Orokorrean, molusku liseri-guruina tubulu itsuez osatutako organo lobulatua da. Tubulu horiek, ehun konektiboz eta muskulu zuntzez lotuak daude, eta sinu biszeraletik datorren odolez irriatuak daude. Tubuluak urdailarekin duktu bitartez konektaturik daude. Duktuen kopurua aldagarria izan daiteke espezie batetik bestera, eta tubuluetako zelula motak, orokorrean, liseri-zelulak eta zelula basofilikoak dira, baina morfologia orokorra antzekoa da molusku espezie gehienetan (Robinson, 1983). Bibalbioen kasuan ez bezala, *Littorina littorea*-ren liseri-tubuluek antzeko morfologia dute liseriketa prozesuan zehar (Marigómez, 1989). Liseri-tubuluen antolaketaren patroia estrukturala alde batera utziz, bai bibalbioetan eta gastropodoetan, liseri-zelulen altuera erreduzitu egiten dela eta zelula basofilikoen eta liseri-zelulen arteko proportzioa hazi egiten dela ingurugiroko kutsatzaileen eraginez deskribatua izan da lehenago (Vega et al., 1989; Marigómez et al., 1998; Soto et al., 2002; Zaldibar et al., 2007). Liseri-tubuluen liseri-zelulen sistema-lisosomikoaren erantzunak erlaxionatuta daude lisosomen handitzearekin eta mintz lisosomikoaren ezegonkortzearekin kutsatzailepean (Izagirre et al., 2009). Lipofuszinaren presentzia liseri-zeluletan, ingurugiroan kutsatzaileen presentzia adierazi

dezakete. Zakatzak, nahiz eta liseri-guruinarekin erlazionaturik ez egon, uretan disolbatutako Cd-arentzako sarrera puntu nagusia direla uste da (Janssen and Ertelt-Jansen, 1983), estruktura hau interesgarria egiten duena epe laburreko Cd bidezidoren analisirako.

Lan honen helburua *Littorina littorea*-n aurreko lanetan baino baxuagoak diren Cd kontzentrazio subletalek (0.25 and 1 mg Cd/l) sortzen dituzten ondorio biologikoak deskribatzea da. Denbora tarte laburrak eta luzeak kontutan hartu dira, laginak epe motzean (ordu tarteak) eta epe luzetan hartuz (21 egun arte), azkenik 12 eguneko detoxifikazio denbora ere egin zen. Ikerketaren helburua lortzeko, sistema lisosomikoaren aldaketak, liseri tubuluen zelula motaren ordezkapena, lipofuszinaren metaketa, liseri-zelulen eta zakatzaren osotasunaren galera aztertu dira. Gainera, Cd-aren barneratze-bideen analisia egin da autometalografiaren bitartez.

Kutsatzaile baten esposizioak sortzen dituen erantzun biologikoen denborak ulertzea, diseinu esperimental eta biomarkatzaileen interpretazio hobeagoetara eramanez lezake, horrela, estres eragileak populazio naturaletan edo komunitateetan sortutako kalteen ebaluazio zehatzagoak lortu daitezke. Lortuko diren emaitzak esperimentu berean lortuko diren maila molekularreko beste datuekin bateratzean, toxizitate mekanismoen ulermenaren handipena ekarriko du.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Nahiz eta kadmioak magurioetan sortutako erantzun biologikoak era integratzailean lehenago izan diren ikertuak, sortzen diren efektu biologikoak antzemateko ikuspuntu orokor bat lortzearen, epe labur eta epe luze denborak eta errekupeazio epe bat barneratzen dituen ebaluazioa beharrezkoa da. Hare gehiago, esfortzu bereziak egin beharko litzateke Cd kontzentrazio subletalaren ondorioz sortzen diren lehen orduetako efektuak argitzeko. Beraz, lan honen hipotesia efektu toxikoen hasiera *Littorina littorea*-ren itu-organoetan Cd kontzentrazio subletalaren ondorioz sortuak, denbora tarte oso laburretan determinatu daitezkeela eta detoxifikazio periodo baten ondoren desagertu ahal direla da.

Lan honen helburuak hurrengoak dira:

- 1) Konplexutasun biologiko desberdineko biomarkatzaile bateria bat aplikatzea bi Cd kontzentrazio subletalek sortutako toxizitatea ebaluatzen 21 egunetan tratatutako magurioetan.
- 2) Aztertutako parametro biologikoen errekupeazioa aztertzea 12 egunetako detoxifikazio epe baten ondoren.

3. Ikerketaren muina

Material eta metodoak:

Aste bateko aklimatazio epe baten ondoren, jatorri komertzialeko 175 magurio aukeratu ziren talde esperimental bakoitzerako, hauek kontrol taldea, CdL taldea (0,25ppm kadmiora esposatuak) eta CdH taldea (1ppm kadmiora esposatuak) izanik. Talde bakoitza 40 litroko esperimentazio edukiontzietan kokatu ziren eta ur gainazalean sare bat jarri zen magurioak uretatik ateratzea saihesteko, esposizio jarrai bat lortuz.

Itu-ehunen disezioak hurrengo esposizio denboratan egin ziren: 0 egun (D0), 4 ordu (H4), 12 ordu (H12), egun 1 (D1), hiru egun (D3), 7 egun (D7), 14 egun (D14), 21 egun (D21) eta 12 egunetako detoxifikazio epearen ondoren (DT).

Disezioaren ondoren, liseri-guruinaren, oinaren eta mantuaren alikuotak prestatu eta liseriketa azidoarekin prozesatu ziren. Laginen Cd kontzentrazioak neurtu ziren gar edo grafito labeekin, eta absortzio atomikoko espektrofotometriaren bidez, polarizatutako Zeeman bigarren planoko zuzenketa aplikatuz. Cd edukia estatistikoki analizatu zen bi bideko ANOVA-rekin eta Holm-Sidak metodoarekin.

Histopatologiarako eta autometalografiarako liseri-guruin laginak fosfato tanpoian (%4 formaldehido) fijatu ziren. Ehunen prozesamenduaren ondoren, laginak mikrotomoarekin ebaki ziren (5 μ m), hematoxilina/eosinarekin tintatu ziren histopatologiarako eta zilar kit nabarmentzaile batekin tintatu ziren autometalografiarako laginak.

Analisi histokimikoetarako laginak nitrogeno likidoan izoztu eta -80°C-tan gorde ziren. 8 μ m-ko ebaki serialak gauzatu ziren kriotomoarekin (-25°C kabinete tenperaturan) eta β -glucuronidasa aktibitatearen demostraziorako eta lipofuszinaren determinaziorako erabili ziren.

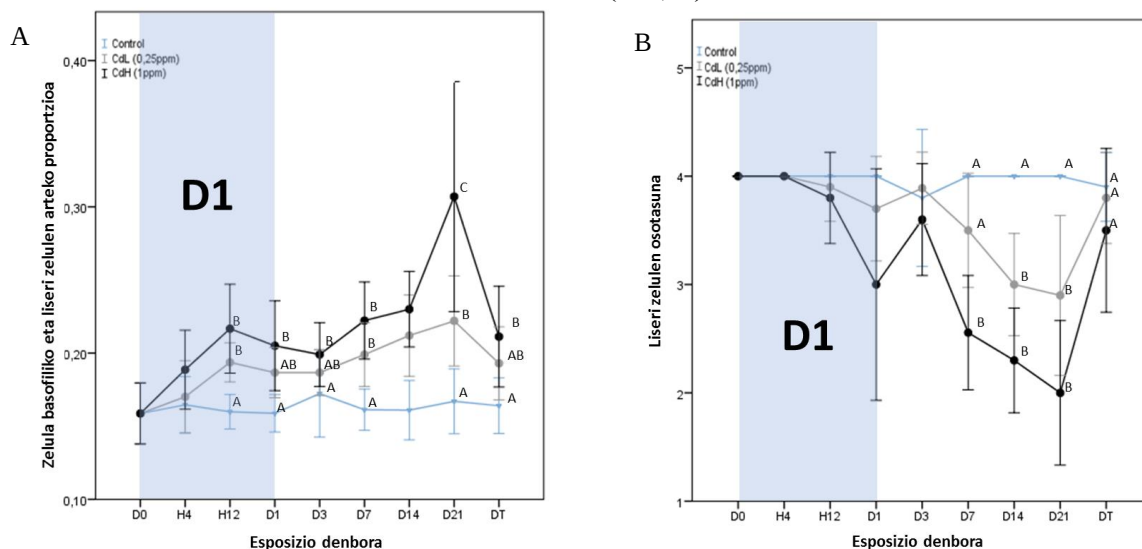
Alterazio histopatologikoak (Zelula basofiliko eta liseri-zelulen arteko proportzioaren aldaketak, liseri-zelulen eta zakatzen osotasunaren galera), analisi autometalografikoa (zilarrezko hauspeakin beltzak) eta lipofuszinaren determinazioak era semikuantitatiboan neurtu ziren eta metodo estatistiko ez parametrikoekin analizatu ziren.

Lisosomen bolumen dentsitatean (Vv) aldaketak, β -glucuronidasaren aktibitatearen demostrazioaren ondoren, BMS irudi analisi software-a erabiliz neurtu ziren: bide bateko ANOVA eta Duncan-en testa erabili ziren analisi estatistikorako.

Emaitzak eta eztabaida:

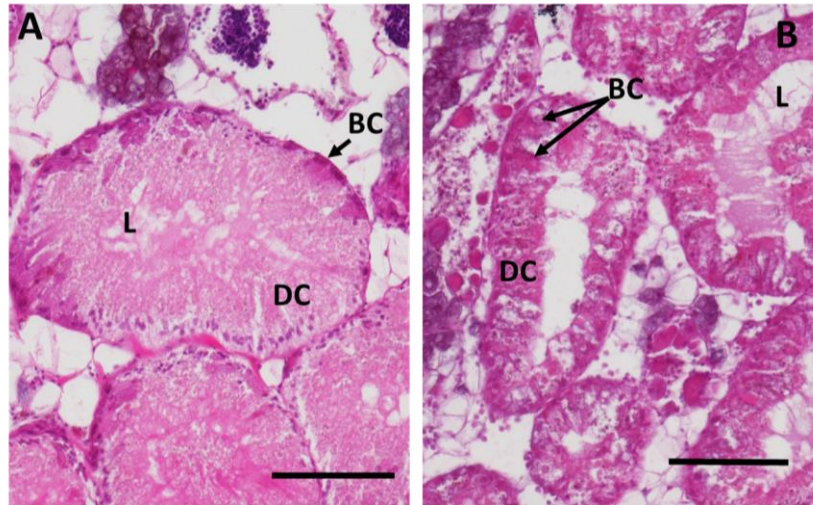
Cd-pean egondako denborak gora egin ahala, zelula basofiliko eta liseri-zelulen arteko proportzioak gora egiten du. Joera hau argiagoa da CdH taldean (1A. eta 2. Irudiak). Detoxifikazio periodoaren ondoren, desberdintasun estatistikoak bakarrik kontrol taldearen eta CdH taldearen artean aurkitu ziren, honek, CdL taldearen errekupeazioa adierazten du.

1.Irudia. A:Zelula basofiliko eta liseri-zelulen arteko proportzioa kontrol, CdL eta CdH taldeetan. B: Liseri-zelulen osotasun galera kontrol, CdL eta CdH taldeetan. Barrek desbiderapen estandarra islatzen dute. Letrek desberdintasun estatistikoak adierazten dituzte (P=0,05) .



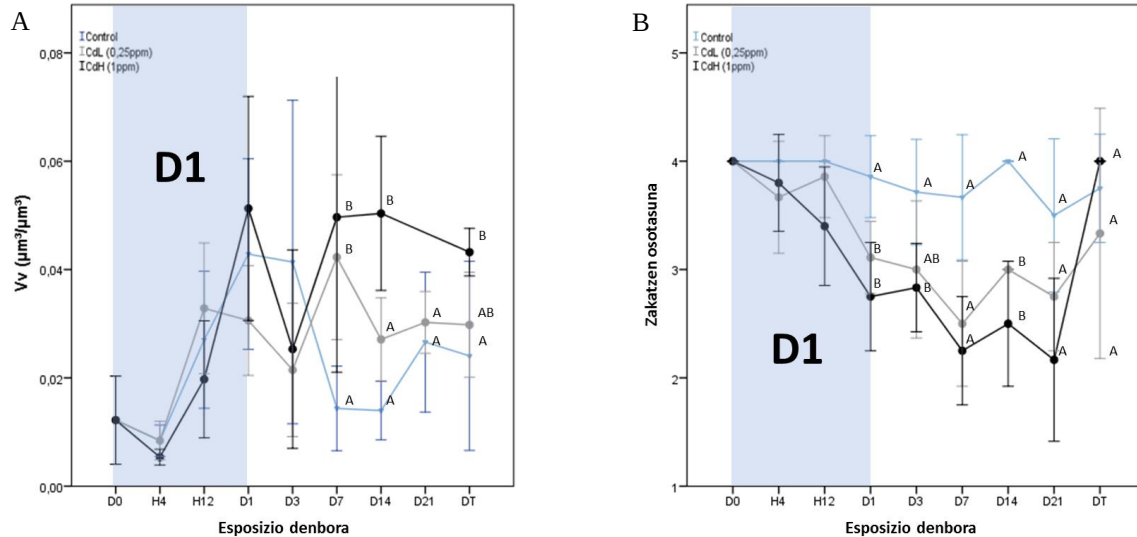
Liseri-zelulen osotasunak behera egiten du Cd dosiarekin eta esposizio denborarekin batera (1B. eta 2. Irudiak). Joera hau argiagoa da dosi altuenaren esposizioaren ondorioz. Detoxifikazio periodoaren ondoren ez dago desberdintasun estatistikorik talde esperimentalen artean, honek, neurtutako parametroaren errekupeazioa adierazten du.

2.Irudia. Kontrol magurio baten (A) eta 21. eguneko CdH taldeko magurio baten (B) Liseri-tubuluaren ebaketaren mikrografia hematoxilina-eosinarekin tintatuak. Eskala barrak: 200µm, L: lumena, DC: liseri-zelulak, BC: zelula basofilikoak.



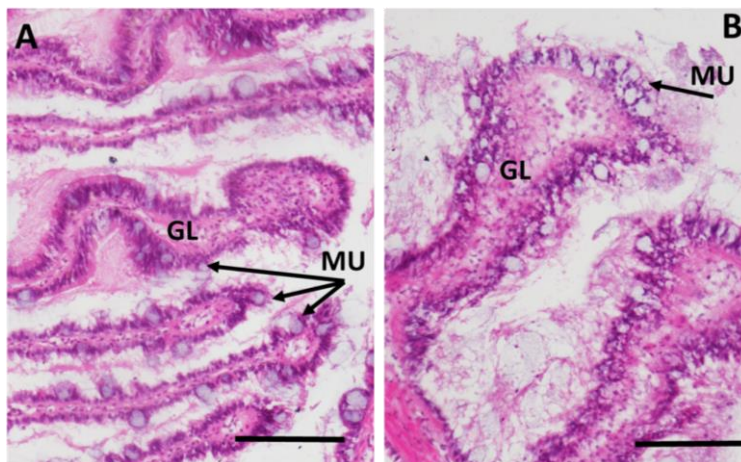
Vv lisosomikoak CdL eta CdH taldeetan ez du desberdintasun estatistikorik islatu kontrol taldearekiko 7. egunerarte (3A. irudia). Detoxifikazio periodoaren ondoren desberdintasun estatistikoak bakarrik CdH eta kontrol taldeen artean aurkitu dira, CdL taldearen errekupeazioa adieraziz.

3.Irudia. A: β -glucuronidasaren aktibitatearen demostrazioaren bidez neurtutako bolumen dentsitate lisosomikoa (Vv). B: Zakatzen osotasun galera kontrol, CdL eta CdH taldeetan. Barrek desbiderapen estandarra islatzen dute. Letrek desberdintasun estatistikoak errepresentatzen dituzte ($P=0,05$).



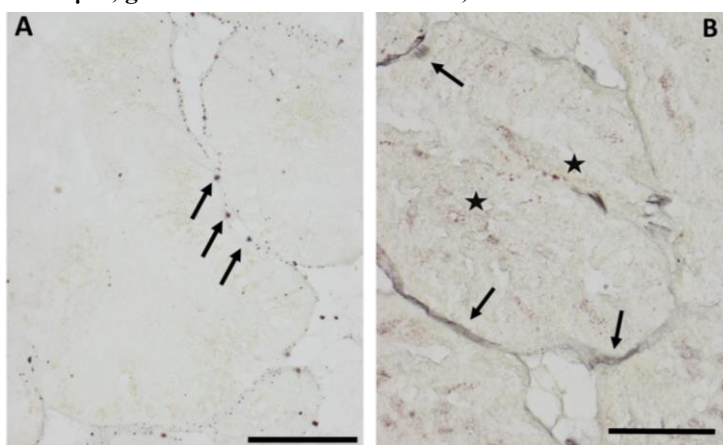
Zakatzen osotasunak behera egiten du Cd-pean egondako denborak eta dosiak gora egin ahala. Joera hau argiagoa da CdH taldean (3B. eta 4. irudiak). Parametro honen emaitzek detoxifikazio epearen 12 egunen ondoren, errekupeazioa adierazten dute.

4.Irudia. Kontrol magurio baten (A) eta 21. eguneko CdH taldeko magurio baten (B) zakatzen ebaketen mikrografia hematoxilina-eosinarekin tintatuak. Eskala barrak: 200µm, GL:Zakatz laminak, MU: Mukozitoak.



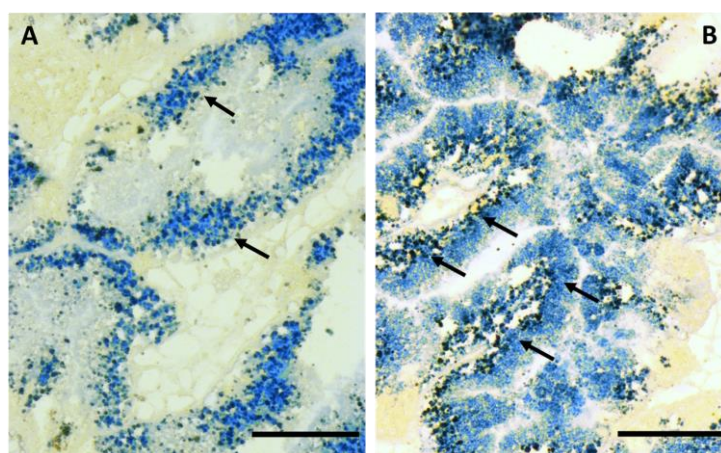
Kontrol taldeko magurioek zilarrezko hauspeakin beltzak (ZHB) zeuzkaten liseri-tubuluaren lamina basalean (5. irudia). ZHB-ak liseri-guruineko ehun konektiboan, liseri-traktuaren epitelioan eta zakatzetan banatuak agertzen ziren tratatutako animalietan. Akumulazioak gora egiten du Cd-aren denborak eta dosiak gora egin ahala.

5.Irudia. Tintaketa autometalografikoaren mikrografiak. A: kontrol taldeko banako baten lamina basaleko marka. B: Liseri-dibertiukuletako liseri-zelulen marka 21 eguneko CdH taldeko magurio batean. Eskala barrak: 200µm, geziak: ZHB lamina basalean, izarrak: ZHB liseri-zeluletan.



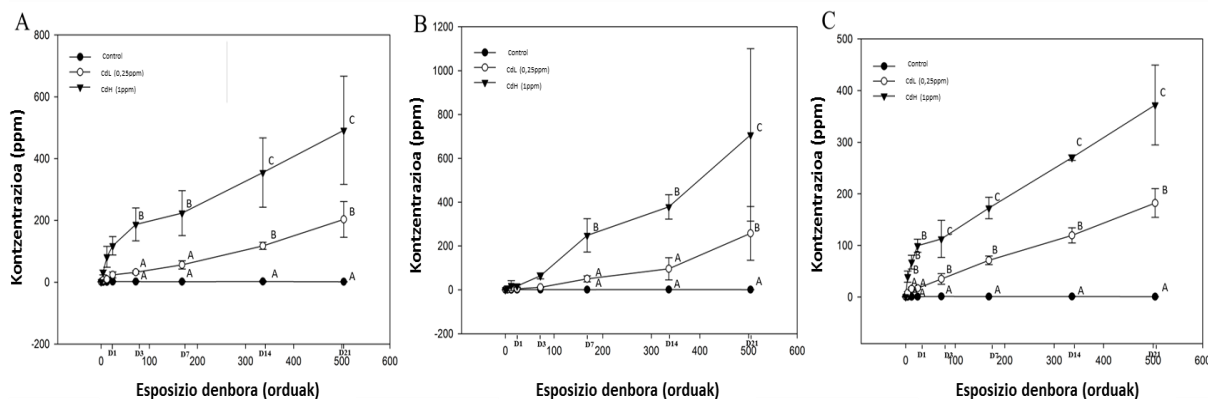
Lipofuszinaren agerpena liseri-guruinean era argi eta gradualean handitu da tratatutako animalietan, eta hare eta agerikoa da CdH taldeko animalietan (6. irudia).

6.Irudia. Lipofuszinaren tintaketaren mikrografiak. A: kontrol taldeko banako baten liseri-guruina. B: 21 eguneko CdH taldeko magurio baten liseri-guruina. Eskala barrak: 200µm, geziak: lipofuszina metaketa.



Cd metaketa garrantzitsuagoa da liseri-guruinean beste organoetan baino, nahiz eta, mantuak eta oinak ere Cd kantitate garrantzitsuak akumulatu duten, liseri-guruinak baino lehenago, gainera. Cd metaketa oso baxua da oinean (7. Irudia).

7. Irudia. Cd neurketak *Littorina littorea*-ren A: Mantuan, B: Liseri-guruinean eta C: Oinean. Barrek desbiderapen estandarra islatzen dute. Letrek desberdintasun estatistikokoak errepresentatzen dituzte ($P=0,05$). Bi bideko ANOVA-k ($P<0,001$) estatistikoki esangarriak diren desberdintasunak daudela demostratzen du denbora eta dosiaren artean aztertutako ehun guztietan.



4. Ondorioak

- 1) Magurioen liseri-guruinean eta zakatzetan kadmio kontzentrazio (0.25 eta 1 mg Cd/l) subletalaren ondorioz sortu diren efektu biologikoak denbora tarte desberdinetan determinatu dira. Efektu biologiko horiek konplexutasun biologikoaren maila desberdinetan ikusten dira tratamendu denbora tarte desberdinekin erlazionatuta.
- 2) Aldaketa histopatologikoak lehenik zakatzetan agertu dira (osotasunaren galera, sekrezio mukosoen areagotzea) eta ehun mailako aldaketak beranduago agertu dira liseri-guruinean. Zakatzen osotasuna alerta goiztiarreko parametroa kontsideratu daiteke filtratzaileak ez diren animalietan urpean egotera behartzen badira.
- 3) Egitura lisosomikoaren aldaketak, metal eta lipofusina metaketa intralisosomikoak, zelula basofiliko eta liseri-zelulen arteko proportzioaren igoerak eta liseri-zelulen osotasunaren galerak, liseri-prozesuen alterazioa adierazten dute, erreperatuak izan daitezkeenak detoxifikazio epe baten ondoren, gutxienez kontzentrazio erlatiboki baxuetan (<0.25 ppm).

Lan honen tesia *Littorina littorea*-ren itu-organoetan sortutako efektu toxikoen agerpenak determinatuak izan daitezkeela esposizio denbora oso baxuetan, Cd kontzentrazio erlatiboki baxuetan ere, ondo zehaztutako zelula eta ehun mailako biomarkatzaile bateriaren laguntzarekin, eta hau, lagungarria izan daitekeela metalek sortutako efektu biologikoen progresioaren ulergarritasuna areagotzeko.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

“Metal Metabolism in Animals II” International Journal of Molecular Sciences aldizkariko ale berezian agertuko den argitalpena prestatze prozesuan dago.

6. Erreferentziak

Bryan, G.W., 1983. Brown seaweed, *Fucus vesiculosus*, and the gastropod, *Littorina littoralis*, as indicators of trace-metal availability in estuaries. *Science of The Total Environment*. 28 (1-3), 91-104.

- Cajaraville, M.P., Marigómez, I., Angulo, E., 1990. Short-term toxic effects of 1-naphthol on the digestive gland–gonad complex of the marine prosobranch *Littorina littorea* (L.): a light microscopic study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19, 17–24.
- Eisler, R. 1985. Cadmium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. *U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report* 85.
- Goering, P.L., Waalkes, M.P., Klaassen, C.D., 1995. Toxicology of Cadmium. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 115, 189–214.
- Izagirre, U., Ruiz, P., Marigómez, I., 2009. Time-course study of the early lysosomal responses to pollutants in mussel digestive cells using acid phosphatase as lysosomal marker enzyme. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 149C, 587–597.
- Janssen, H.H., Ertelt-Jansen, V., 1983. Cytochemical demonstration of cadmium and iron in experimental blue mussel (*Mytilus edulis*). *Mikroskopie (Wien)* 40, 32–340.
- Marigómez, I., 1989. Aportaciones cito-histológicas a la evaluación ecotoxicológica de niveles subletales de cadmio en el medio marino: estudios de laboratorio en el gasterópodo prosobranquio *Littorina littorea* (L.). Doktorego Tesi Europearra. Euskal Herriko Unibertsitatea. 430pp.
- Marigómez, I., Cajaraville, M.P., Angulo, E., 1990. Cellular distribution of cadmium in the common winkle *Littorina littorea* (L.) determined by X-ray microprobe analysis and histochemistry. *Histochemistry* 94, 91–199.
- Marigómez, I., Cajaraville, M.P., Soto, M., Lekube, X., 1998. Cell-type replacement, a successful strategy of mollusks to adapt to chronic exposure to pollutants. *Cuad. Invest. Biol.* 20, 411–414.
- Marigómez, I., Soto, M., Cajaraville, M.P., Angulo, E., Giamberini, L., 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microsc. Res. Tech.* 56, 358–392.
- Poon, C.P.C. 1984. Removal of cadmium from wastewaters, *Experientia*, 40 (2), 127–136.
- Robinson, W. E., 1983. Assessment of bivalve intracellular digestion based on direct measurements. *J. Mollusc Stud.* 49, 1–8.
- Soto, M. 1995. *Simultaneous quantification of bioavailable heavy metals in molluscs by means of cellular and tissue analysis. Implications for monitoring metal pollution in water quality assessment*. Doktorego Tesi Europearra. Euskal Herriko Unibertsitatea. 330 pp.
- Soto, M., Cajaraville, M.P., Angulo, E., Marigomez, I., 1996. Autometallographical localisation of protein-bound copper and zinc in the common winkle, *Littorina littorea*: a light microscopical study. *Histochem. J.* 28, 689–701.
- Soto, M., Zaldibar, B., Cancio, I., Taylor, M.G., Turner, M., Morgan, A.J., Marigómez, I., 2002. Subcellular distribution of cadmium and its cellular ligands in mussel digestive gland cells as revealed by combined autometallography and X-ray microprobe analysis. *Histochem. J.* 34, 273–280.
- Vega, M.M., Marigómez, I., Angulo, E., 1989. Quantitative alterations in the structure of the digestive cell of *Littorina littorea* on exposure to cadmium. *Mar. Biol.* 103, 547–553.
- Wu, R.S.S., Siu, W.H.L., Shin, P.K.S., 2005. Induction, adaptation and recovery of biological responses: implications for environmental monitoring. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 623–634.
- Zaldibar, B., Cancio, I., Marigómez, I., 2007. Reversible alterations in epithelial cell turnover in digestive gland of winkles (*Littorina littorea*) exposed to cadmium and their implications for biomarker measurements. *Aquatic Toxicology* 81, 183–196.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Euskal Herriko Unibertsitatearengatik -UPV/EHU (UFI 11/37) eta Eusko Jaurlaritzarengatik, ikerketa talde kontsolidatuen bitartez (IT810-B) izan da finantziatua. Innsbruck eta Bilboren elkarlanaren parte bat Austrian Science Foundation (FWF)-ek finantziatutako I 1482-N28 (DACH) zenbakia duen proiektuaren bitartez finantziatu da.

Spin-orbita akoplamenduak eragindako elektroifonoi elkarrekintzaren ezabapena Tl/Si(111) gainazalean

Peio G. Goiricelaya eta Idoia G. Gurtubay eta Asier Eiguren^{1,2}

¹ Materia Kondentsatuaren Fisika Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea. Sarriena auzoa, z/g. 48080 Bilbo.

² Donostia International Physics Center (DIPC). Manuel Lardizabal Pasealekua 4. 20018 Donostia.

Laburpena

Spin-orbita eta elektroifonoi akoplamenduen arteko elkarreragina aztertzen dugu Tl/Si(111) gainazalean, spinaren askatasun-gradua esplizituki kontsideratuz. Schrödingerren ekuazioaren zuzenketa erlatibista eskalarrek bakarrik aintzat hartzen ditugunean, gainazal elektroifonoen eta bibrazio-modoen arteko elkarrekintza daudela aurkitzen da. Aldiz, spin-espazioa elektroien uhin-funtzioen deskribapenean barne hartzean, elektroifonoi elkarrekintza txikiagotu daiteke, baita erabat ezabatu ere, hasiera eta amaierako spin-egoeren gainezarmenaren arabera.

Hitz gakoak: elektroifonoi elkarrekintza, spin-orbita akoplamendua, gainazalen fisika, lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluak

Abstract

We study the interplay between the spin-orbit and the electron-phonon coupling considering explicitly the spin degree of freedom at the Tl/Si(111) surface. It is found that the surface states are very strongly coupled to the surface vibrational modes when only scalar relativistic corrections of the Schrödinger equation are taken into account. However, when the spin space is included in the wave-function definition, the electron-phonon interaction appears strongly modulated, or even completely suppressed, depending on the overlap of the initial and final electron spin states.

Keywords: electron-phonon interaction, spin-orbit coupling, surface physics, first-principles calculations

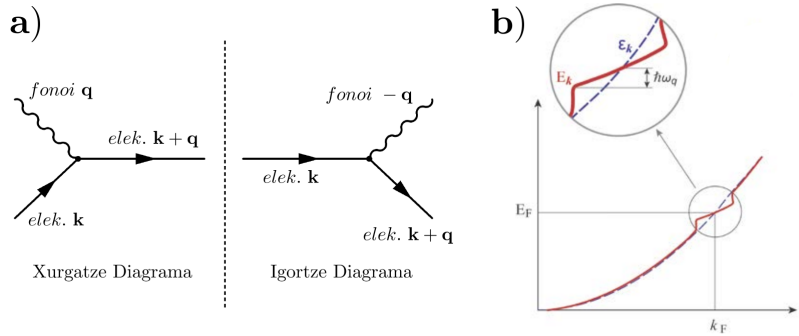
1 Sarrera eta motibazioa

Fonoiek kristal baten atomoen bibrazio kolektiboen kitzikapenak deskribatzen dituzte mekanika kuantikoaren ikuspuntutik (Ashcroft eta Mermin, 1976). Bibrazio kolektiboak, edo modu normalak, kristalaren osagaien higiduraren patroiak dira, zeinetan sistema baten partaide guztiek maiztasun berdin eta fase-erlazio finko batekin oszilatzen duten.

Fonoiek eta elektroiek elkarri eragin diezaizokete kristalean, batez ere Fermiren energiatik (E_F) gertu, non karga-eramaileak kitzika daitezkeen bibrazio moduak xurgatuz edo igorrituz (Grimvall, 1981). 1(a) Irudian fonoien xurgatze eta igortze diagramak irudikatuta daude. Gorputz-anitzen elkarrekintza honen ondorioz, bai elektroiek bai fonoiek haien ingurua aldarazten dute, partikulak eta bibrazio kolektiboak kitzikatuz. Baina aldi berean, aldaketa hauek biek paraitzen dituzten indarrak aldatzen dituzte. Hortaz, elektroifonoi akoplamenduak karga-eramaileen zein bibrazio normalen egoerak perturbatzen ditu, haien dispersio-erlazioak eta bizidunborak aldatuz (Grimvall, 1981). 1(b) Irudian ω_q energiako fonoi batek eragindako egoera elektronikoen dispersioaren birnormalizazioa erakusten da. Halaber, elektroifonoi elkarrekintzak kitzikatutako elektroien nahiz fonoi egoeren bizidunborak finituak bihurtzen ditu. Zenbat handiago izan akoplamendua, orduan eta laburragoa da bizidunbora.

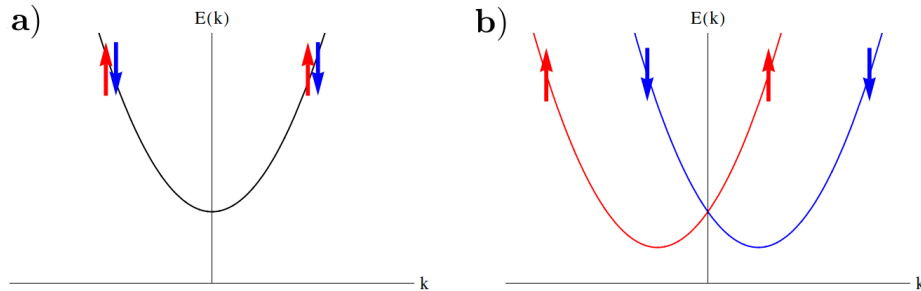
Izan ere, elektroien eta fonoiaren arteko akoplamendua ezinbestekoa dugu hainbat fenomeno fisiko ulertzeko, esate baterako, beroaren edo elektroien garraioa edo supereroankortasuna (Grimvall, 1981). Bestalde, kristalaren dimentsioa txikitzen dugunean, solidoaren barnealdean debekatuta dauden elektroien egoerak eta sareko bibrazio modu bereziak agertzen dira. Inguru berri horrek fonoiaren bitartez gauzatzen den

1 Irudia: (a) Elektroi-fonoi akoplamenduaren bidez ematen diren sakabanaketa-prozesuak. Xurgatze (ezkerrean) eta igortze (eskuinean) diagramak. $\mathbf{k}$ momentuko elektroi batek $\mathbf{q}$ ($-\mathbf{q}$) momentuko fonoia xurgatzen (igortzen) du. Bietan bai momentua bai energia kontserbatzen dira. (b) $\omega_{\mathbf{q}}$ energiako fonoia batek eragindako elektroi dispersioaren birnormalizazioa E_F -tik gertu.



elektroi-sakabanaketaren trantsizio berriak sor ditzake, eta elektroi-fonoi elkarrekintza handiagotu. Azken bi hamarkadetan, horrelako joerak gainazaletan ematen direla egiaztatu da, bai alde teorikotik, bereziki lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluei esker (Eiguren *et al.*, 2003; Giustino, 2017), zein experimentalatik, batez ere angeluz bereizitako fotoemisio (ARPES ingelesez) teknikari esker (Hufner, 1995). Beraz, elektroi-fonoi elkarrekintzak gainazaletan eragin nabarmena izan dezake. Kasurako, bere barnealdean supereroankorra ez den material bat gainazalean izan daiteke, aplikazio mundu zabal bati atea irekiz.

2 Irudia: (a) Elektroiaren dispersio erlazioa inbertsio-espazial eta inbertsio-denbora simetriak dituen inguru batean. (b) Inbertsio-espazial simetria apurtuz gero, spin-orbita akoplamenduak spin-proiekzio ezberdinak dituzten egoerak banantzen ditu.



Aldi berean, azken hamarkadatik hona, elementu astunek (zenbaki atomikoa $Z > 72$) estalitako gainazalek jakingura piztu dute spintronikan, hau da spinaren askatasun-graduan oinarritutako elektronikan (Žutić *et al.*, 2004). Spintronikak karga-eramaileen spina erabiltzen du memoria unitate bezala, eta datuak transferitzeko edo biltegitatzeko askoz eraginkorragoa da gaurko elektronikaren aldean. Spina oinarritutako partikulen berezko momentu angeluarra da eta momentu magnetikoa ematen die spindun partikulei. Halaber, kristaletan, elektroiak abiadura erlatibistetan eremu elektriko batekiko mugitzen direnez, eremu magnetiko efektibo bat sumatzen dute, zeina momentu angeluar orbitalarekin lotura duen. Argi dago eremu magnetiko hori eta elektroiaren berezko momentu magnetikoa akoplatzen direla. Elkarrekintza honi spin-orbita akoplamendua deitzen diogu (Sakurai, 1994).

2. Irudiak elektroiaren dispersio-erlazioa erakusten du. 2(a) Irudian, solidoen barnealdean inbertsio-espaziala eta inbertsio-denbora simetriak betetzen direnez, elektroi-egoerak spin-endeakaturik daude. 2(b) Irudian, haatik, inbertsio-espaziala apurtzean momentu berdina baina spin proiektzio ezberdinak dauzkatelako elektroi-egoerak bananduta daude, spin-orbita akoplamenduaren eraginez. Gainazaletan inbertsio-espaziala apurtuta dagoenez, horrelako fenomenoak ematen dira. Izan ere, gertakari hau oso interesgarria da spinean oinarritutako aplikazioetarako, kanpoko eremu magnetikorik ez dagoen arren aurkako spin-polarizazioak bereizteko gai garelako.

Spin-orbita akoplamenduak sortutako egoera-banantzea energiako eskalarik txikiena izaten da (~ 1 - 10 meV) (Ast *et al.*, 2007). Hortaz, horrek ez du eragin handirik izaten elektroi-fonoi elkarrekintza aztertzen denean. Halatan, spin-orbita terminoa aintzat hartzea ez da ohikoa izan kalkulu teorikoetan. Elementu astunek estalitako gainazaletan berriz, spin-orbita akoplamendua “erraldoia” izaten da eta fonoi-energien ordenekoa izan daiteke (~ 100 meV), edo are handiagoa. Beraz, gainazal horietan gertatzen den elektroi-fonoi elkarrekintza zeharo aztertu nahi izanez gero, spin-orbita akoplamendua esplizituki kontuan hartu behar dugu.

2 Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Lehen-printzipioetan oinarritutako lan oso gutxik izan dute interesa elektroi eta fonoiaren arteko elkarrekintzan spin-orbita akoplamenduak duen paperan (Sklyadneva *et al.*, 2013; Alcántara Ortigoza *et al.*, 2014), eta izan dutenek ez diote arreta jarri spin-espazioa esplizituki barnehartzeak duen ondorioari. Hala eta guztiz ere, Holstein eta Fröhlich hamiltondar eredu hurbilduetan oinarritzen diren lan batzuek bai ekin diote ikergai honi, baina, spin-orbita akoplamendua kontuan hartzean ere Rashba eredu sinplifikatua erabiltzen dute.

Horren harira, baldin eta Fermiren maila elektroi-banda baten muturretan badago, spin-orbita akoplamendua aintzat hartzean, elektroi-fonoi elkarrekintza areagotzen dela behatu dute (Cappelluti *et al.*, 2007). Antzerako emaitzak experimentalki ere lortu dira (Ast *et al.*, 2007). Beste lanek, ordea, spin-orbita akoplamenduak elektroi-fonoi elkarrekintza txikitzen duela egiaztatu dute, elektroi-fonoi elkarrekintza bera ere handia denean (Li *et al.*, 2011). Beraz, nahiz eta lan hauek oso esanguratsuak eta ildo honen abiapuntua izan, gaur egun ez dago argi zein den spin-orbita terminoaren eragina elektroi-fonoi elkarrekintzaren gainean. Bestalde, txosten hauek, hamiltondar eta spin-orbita akoplamendu eredu hurbilduetara mugatzen dira, eta dispersiorik gabeko fonoiak erabiltzen dituzte. Izan ere, benetako materialak irudi hurbildu horretatik oso urrun daude.

Ikerketa honen helburu nagusia benetako gainazal batean spin-orbita eta elektroi-fonoi akoplamenduen arteko elkarrekintza aztertzea da, lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluak erabiliz. Honetarako, spin-orbita akoplamendu oso handia duen Talio (Tl $Z=81$) atomoak estalitako silizio (Si $Z=14$) erdieroalearen gainazal bat aukeratu dugu.

Propietate elektroniko eta bibrazionalen azpiatalean erakusten den moduan, Tl/Si(111) gainazalak bolumenetik oso garbiki azaltzen diren elektroi zein fonoi egoerak ditu, eta, hortaz, gainazal elektroi-egoeren eta bibrazioen arteko akoplamendu handia aurreikus daiteke. Era berean, fonoirik baxuenek dituzten energiak spin-orbita elkarrekintzak sortutako egoera-banantzearen energia baino txikiagoak dira; hori dela eta, lehenago aipatu bezala, akoplamendu hori ezinbestekoa izango dugu elektroi-fonoi elkarrekintza fidagarriki aztertzeko. Beraz, Tl/Si(111) gainazala aukeratu dugu aipatutako bi akoplamenduen arteko elkarrekintza dagoen behatzeko hautagai bikaina delako. Bestalde, sistema hau, spin-orbita akoplamendua “erraldoia” eta spin-polarizazio berezia duela egiaztatu zutenetik (Sakamoto *et al.*, 2009), ikergai erakargarri bihurtu da eta berarekin lotutako publikazioen kopurua ugartu da.

3 Ikerketaren muina

3.1 Oinarri teorikoa

Detalle handitan sartu gabe, azpiatal honetan erabili dugun oinarri teorikoa aipatzen dugu. Gure kalkuluak lehen-printzipioetan oinarrituta daudenez, Schrödingerren ekuazioa erabiltzen dugu, jakinda ioi eta elektroiek elkar eragiten diotela Coulomb-en elkarrekintzaren bitartez. Hala ere, honelako problema ez da inolaz ere maneiagarria eta hainbat hurbilketa beharrezkoak dira. Horretarako, Born-Oppenheimer, Hohenberg-Kohn eta Kohn-Sham hurbilketak erabiltzen ditugu (Martin, 2004). Honela, elektroi eta ioien problemak bereiztu ahal izateaz gain, elkar eragiten dioten gorputz-anitzen problema, numerikoki ebazti daitezkeen partikula bakarraren hainbat ekuaziotan eraldatzen da. Teoria honi guztiari dentsitate funtzioanalaren teoria (DFT ingelesez) deitzen zaio. Bestalde, ioiek sortzen duten potentzial elektros-tatikoa pseudopotenzial hurbilketarekin modelizatzen dugu eta uhin-lauak erabiltzen ditugu elektroien uhin-funtzioen oinarri gisa.

Alde ionikorako, hurbilketa harmonikoa erabiltzen dugu. Problema honen matrize dinamikoa lortzeko, DFT-en bidez lortutako dentsitate elektronikoa eta potentzial efektiboa perturbatu behar dira. Ondorioz,

kristalaren propietate bibrazionalak kalkulatzeko erabiltzen dugun metodoari dentsitate funtzioanalaren perturbazio teoria (DFPT ingelesez) deitzen diogu (Baroni *et al.*, 2001).

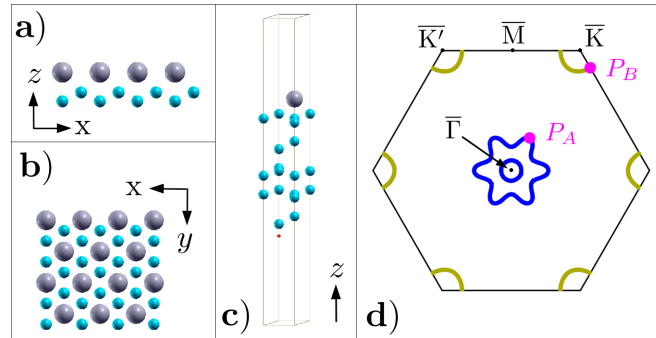
Azkenik, bi kalkulu mota egin ditugu: elektroi-fonoi elkarrekintza aztertu, alde batetik, spin-orbita akoplamendua arbuiauz, eta beste aldetik, akoplamendu hori aintzat hartuz. Gure kalkuluetan spin-orbita terminoa sartu ahal izateko, spinaren askatasun-gradua esplizituki adierazi behar dugu. Honetarako, elektroiaren uhin-funtzioak (ψ) posizio-espazioan (ϕ) nahiz bi dimentsiotako spin-momentu angeluarren espazioan (χ) definitu behar ditugu:

$$\psi = \phi \otimes \chi \quad (1)$$

Hau da, elektroiaren uhin-funtzioa eskalar (zenbaki) bat izatetik egoera bat izatera pasatzen da. Beraz, spin-espazioan gertatzen diren egoera-gainezarmenak ere kontuan izan beharko ditugu fonoiaren bidez emandako elektroi-sakabanaketa aztertzerakoan, eta, jakina, trantsizioen probabilitateak eraldatu behar dituzte.

3.2 Tl/Si(111) gainazala

3 Irudia: Tl/Si(111) gainazalaren ilustrazio eskematikoak (a) alboetik eta (b) goitik begiratuta. (c) Aztertutako sistemaren eredua: Tl geruza bat (esfera gris handia), 10 Si geruza (esfera urdin ertaina) eta H geruza bat (esfera gorri txikia). (d) Gainazalak duen gelaxka elkarriko espazioan (Gainazaleko Brillouin eremua), momentuen espazioan, alegia. Gainazal honen simetria altuko puntuak agertzen dira, baita $\mathbf{k} = P_A$ eta $\mathbf{k} = P_B$ momentuei dagozkien energia konstanteko lerroak ere.



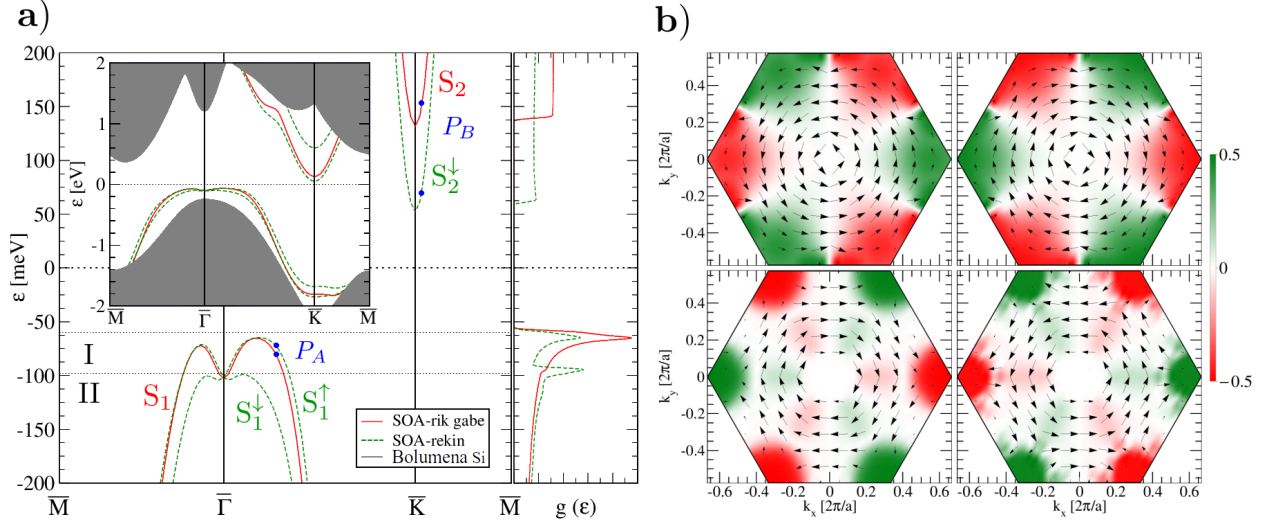
3(a) eta 3(b) Irudiek Tl/Si(111) gainazalaren alboko eta goitiko bistak erakusten dituzte, hurrenez hurren. Kristalak planoan simetria hexagonal du. 3(c) Irudian gure lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluetan erabilitako gelaxka adierazi da. Izan ere, Tl/Si(111) gainazala espazioko hiru dimentsioetan hedatzen den xafra periodiko batekin simulatu dugu. Xafra hori alde batean Tl atomo bat, barnealdean hamar Si atomo eta beste aldean hidrogeno (H $Z=1$) atomo batekin osatzen dute. Tl atomoa ez dagoen amaieragunean ezartzen dugu H atomoa, aske geratzen den Si-ren lotura elektronikoa ase dadin. Horrela, gainazal hori elektrikoki neutroa izango da. 3(d) Irudian Tl/Si(111) gainazaleko Brillouin eremua agertzen da, baita P_A eta P_B momentuei dagozkien energia konstanteko lerroak.

3.3 Propietate elektroniko eta bibrazionalak

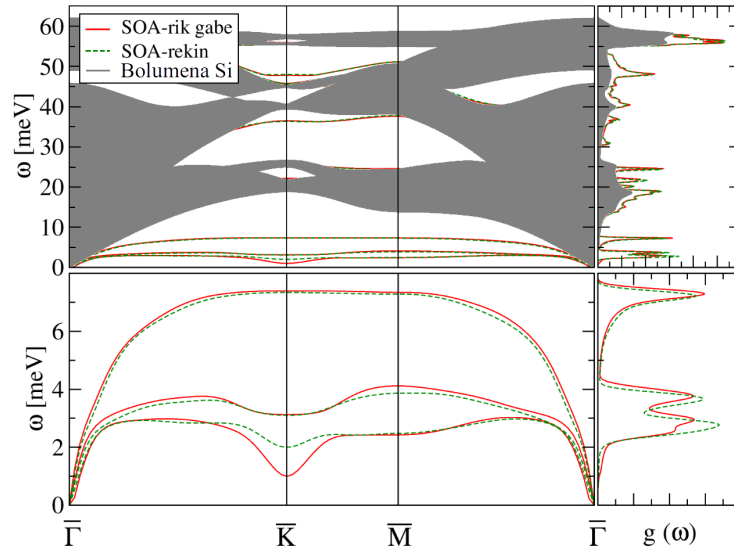
4(a) Irudiaren ezkerrean Tl/Si(111) gainazalaren elektroi-banda egitura irudikatzen dugu. Barneko panelean ikusten denez, bolumeneko Si banda-hutsartearen barruan, S_1 gainazal egoera okupatuta (Fermi mailaren azpian, $\varepsilon < 0$) eta S_2 ez-okupatuta (Fermi mailatik gora $\varepsilon > 0$) agertzen dira lerro gorri jarraituaz irudikatuta, spin-orbita akoplamenduarik gabe eta spina eskalartzat hartzen badugu. Spin-orbita terminoa eta spin-espazioa esplizituki barnehartzean, aurrekoan azaldu dugun bezala, gainazal baten spinarekiko endekapena apurtzen da, spin-banantzea gertatuz (ikus marradun lerro berdea). Lau gainazal egoera aurkitzen ditugu kasu honetan: $S_1^\downarrow$ eta $S_1^\uparrow$ okupatuta daudenak eta $S_2^\downarrow$ eta $S_2^\uparrow$ okupatuta ez daudenak. Tl/Si(111) gainazala 100 meV energiako hutsartea duen erdieroale bat dela ere behatzen dugu. Halaber, $\bar{K}$ puntuan gertatzen den spin-banda-banantzea 600 meV-koa da, eta $\bar{\Gamma}$ puntuaren inguruarena 40 meV-koa.

4(a) Irudiaren eskumaldean Tl/Si(111) gainazalaren elektroiaren egoera-dentsitatea erakusten du. Honen energia eta bolumen unitatean egoera elektroniko kopurua ematen du. Spina eskalarra den kasurako

4 Irudia: (a) Tl/Si(111) gainazalaren banda egitura elektronikoa eta dagokion egoera-dentsitatea. Barneko panelak energia tarte zabalagoa erakusten du. $\varepsilon = 0$ puntuko lerroak Fermiren maila adierazten du. Spin-orbita terminoa kontuan hartu gabe eta kontuan hartutako kalkuluak lerro jarraitu gorriaz eta marradun lerro berdeaz adierazi dira, hurrenez hurren. Gune grisak bolumeneko silizioaren banda proiektatukoak dira. (b) Spin-banandutako gainazal-egoeren spin-polarizazioa momentuaren menpe. Gezi beltzek planoko osagaia erakusten dute, kolore kodeak, ordea, planoaren osagai perpendikularra.



5 Irudia: Tl/Si(111) gainazalaren fonioen dispersio-erlazioa. Goiko panelak dispersio osoa erakusten du, behekoan aldiz, Tl atomoarekin lotutako gainazalaren bibrazio normalak bakarrik agertzen dira, spin-orbita terminoa kontuan hartu gabe (lerro jarraitu gorria) eta kontuan hartuta (marradun lerro berdea). Gune grisak bolumeneko silizioaren barnealdeko bibrazio modoen proiektzioa erakusten du. Eskuma: Ezkerreko irudiei dagozkien fonioen egoera-dentsitateak.



(lerro jarraitu gorria) maximo bat aurkitzen dugu -70 meV energian. Spin-banantzea gertatzen denean (marradun lerro berdea), bi maximo agertzen dira: -70 meV eta -100 meV energietan. Izan ere, energia hauek, elektro-egoera kopuru handiena dugu, beraz ahalik eta probabilitate handiena elektroiak sakabanatzeko fonoiak igorri edo xurgatuz. Hortaz, espero liteke ezaugarri honek elektroifonoi akoplamendua handiagotzea.

Azkenik, spin-banandutako okupatuta dauden egoera elektronikoak hartzen baldin baditugu, elektroibanda egitura bi zatitan bereiztea komeni zaigu:

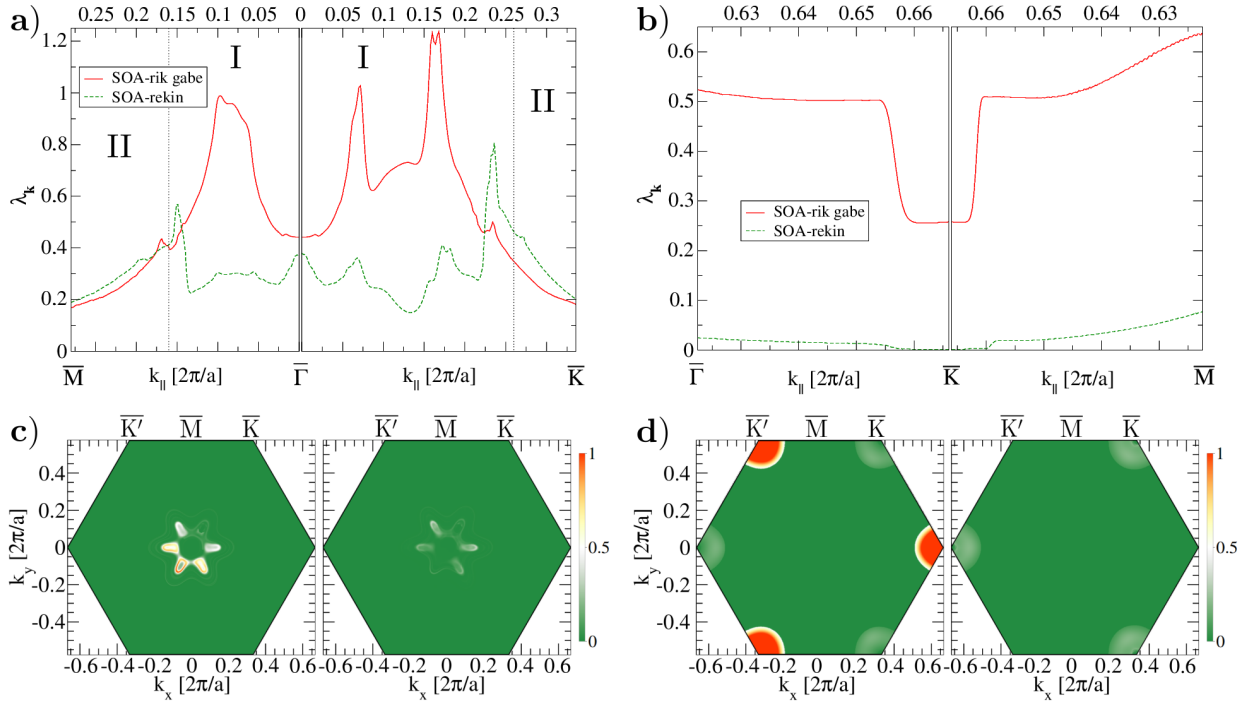
- I. zonaldea: bi banden maximoen artean (energia $\varepsilon \in [-70; -100]$ meV), non spin-banandutako banda bakarra dagoenez fonoiek erangidako elektroi-sakabanaketa banda barneko trantsizioek osatuko duten.
- II. zonaldea: egoera sakonagoetarako (energia $\varepsilon < -100$ meV), non bi bandak eskura daudenez, bai banda barneko eta bai bi banden arteko trantsizioak gertatzen diren.

4(b) Irudiak spin-banandutako gainazal-egoeren spin-polarizazioak erakusten ditu momentuaren arabera. $\bar{\Gamma}$ puntuaren inguruan, spin-polarizazioak planoan biratzen du. $\bar{\Gamma}$ -tik $\bar{K}(\bar{K}')$ -ra mugitzean spin-polarizazioak planoan duen osagaia txikitu eta osagai perpendikularra handitu egiten da, $\bar{K}$ eta $\bar{K}'$ -an spin-polarizazioa planoarekiko guztiz perpendikularra izanik. Gainera spin-polarizazioak $\bar{K}$ eta $\bar{K}'$ puntuetan aurkako noranzkoa du beti.

5 Irudiaren ezkerraldean Tl/Si(111) gainazalaren fonoien dispersioa erakusten da. Goiko panelean energia tarte handiagoan, bolumeneko fonoien bandak ikusten dira (grisa). Beheko panela, aldiz, Tl atomoaren gainazal modo normalak agertzen dira energia tarte txikiagoan. Bi bandarik baxuenek “ahultze” bat sumatzen dute $\bar{K}$ puntuan, zeina elektroi-fonoi akoplamendu handiaren azterna izan daitekeen (Kohn, 1959). Hala ere, spin-orbita akoplamendua eta spin egoerak kontsideraturik, “ahultze” hori ez da hain nabarmena emnergia txikien duen adarrarentzat (marradun lerro berdea). Hau spin-orbita akoplamenduak elektroi-fonoi elkarrekintza txikitzen duelaren seinalea izan daiteke.

3.4 Elektroi-fonoi elkarrekintza

6 Irudia: Elektroi-fonoi elkarrekintzaren $\lambda_{\mathbf{k}}$ parametroa $\mathbf{k}$ elektroi-egoeraren momentuaren menpe, spin-orbita teminoa kontuan hartu gabe (lerro jarraitu gorria) eta kontuan hartuta (marradun lerro berdea), hurrenez hurren. (a) Okupatuta dagoen bandarik altuenaren kasuan (S_1 lerro jarraitu gorria, edo $S_1^\uparrow$ marradun lerro berdea) $\bar{\Gamma}$ -ren inguruan. (b) Ez-okupatuta dagoen bandarik baxuenaren kasuan (S_2 lerro jarraitu gorria, edo $S_2^\downarrow$ marradun lerro berdea) $\bar{K}$ -ren inguruan. $\mathbf{k} + \mathbf{q}$ momentuaren menpeko ekarpenak $\lambda_{\mathbf{k}}$ parametroari Brillouin eremu barruan. (c) Okupatuta dagoen bandarik altuenaren kasuan (S_1 ezkerrean, edo $S_1^\uparrow$ eskuinean) $\mathbf{k} = P_A$ puntuan. (d) Ez-okupatuta dagoen bandarik txikienaren kasuan (S_2 ezkerrean, edo $S_2^\downarrow$ eskuinean) $\mathbf{k} + \mathbf{q} = P_B$ puntuan (ikus 3(c) eta 4(a) Irudia).



Behin sistemaren propietate elektroniko eta bibrazionalak ezagutzen ditugula, elektroi-fonoi elkarrekintza aztertzeke gai gara. Lan honetan, egoeraren menpeko akoplamenduaren ahalmen faktorea ($\lambda_{\mathbf{k}}$)

kalkulatzen dugu (Grimvall, 1981; Giustino, 2017). Parametro honek elektroifonoi elkarrekintzaren eraginen neurria ematen du; horrela, zenbat eta altuago izan, orduan eta handiagoa izango da akoplamendua.

6(a) Irudiak $\lambda_{\mathbf{k}}$ delakoa elektroifonoi-egoeraren momentuaren funtzioan erakusten digu $\bar{\Gamma}$ puntuaren inguruan eta okupatuta dagoen bandarik altuenerako (S_1 , lerro jarraitu gorria, edo $S_1^\uparrow$, marradun lerro berdea). Spin-orbita akoplamendurik gabe, $\lambda_{\mathbf{k}}$ delakoaren maximoek elektroien egoera-dentsitatearen maximoarekin bat datoz, -70 meV energian. Izan ere, energia hauetan sakabanaketa-prozesua handien da, eta itxarotako emaitza lortzen da. Bestalde, aurkitutako maximoen balioak ($\lambda_{\mathbf{k}} \in [1.0; 1.2]$) elektroifonoi elkarrekintza handiaren ezaugarri dira. Aldiz, spin-orbita terminoa eta spin-egoerak kalkuluan kontuan hartzen direnean, maximoen balioak lau aldiz txikiagotzen dira. Ikus daitekeenez, spin-orbitak sortutako aldaketak irudiaren I. zonaldeko (ikus 4(a) irudia) egoeretan nabarmenak dira, II. zonaldean, aldiz, ez dago aldaketa deigarriarik. II. zonaldean, alabaina, elektroiek banda barneko zein banden arteko sakabanaketak pairatzen dituzte, eta ondorioz bukaerako egoerekin gainezarmena ez da inoiz txikituko. I. zonaldean, haatik, bakarrik barneko sakabanaketa dugu. Beraz, spin-egoeren gainezarmenak trantsizio posibleak murrizten ditu, baita kasu batzuetan ezabatu ere. Adibide argi bat 6(c) Irudian ikus dezakegu, non $\mathbf{k} = P_A$ momentuaren $\lambda_{\mathbf{k}}$ delakoari dagozkion Brillouin eremu osoko ekarpenak irudikatzen diren, spin-orbita terminoarik gabe (ezkerrean) eta hori aintzat hartzen dugun kasuan (eskuman). Argi ikusten da spin-orbita terminoa barnehartzean, P_A puntuaren aurkako momentua duten egoeren ekarpena txikiagotu edo anulatu egiten dela, spin-egoeren biderketaren ondorioz. Bestalde, 6(a) irudian ikusten denez, spin-orbita kontsideratutako kasuan, $\lambda_{\mathbf{k}}$ -ren maximo berriak ere agertzen dira ($\lambda_{\mathbf{k}} \in [0.6; 0.8]$). Hortaz, elektroifonoi akoplamenduaren λ faktorea kasu eskalarrarekiko nabarmen gutxiagotzen bada ere, balioek handi samarrak izaten jarraitzen dute. Maximo hauek elektroien egoera-dentsitatearen -100 meV energian ikusitako den maximoarekin lotura dute.

6(b) Irudiak $\lambda_{\mathbf{k}}$ -ren balioak elektroifonoi-egoeraren momentuaren menpe erakusten ditu $\bar{K}$ puntuaren inguruan eta okupatuta ez dagoen bandarik baxuenerako (S_2 lerro jarraitu gorria, edo $S_2^\uparrow$ marradun lerro berdea). 6(d) Irudian ikus dezakegu Brillouin eremu osoko momentuen ekarpena $\lambda_{\mathbf{k}}$ balioan, $\mathbf{k} = P_B$ momentua izanik. Spin-orbita gabe, fonoi-energiek $\bar{K}$ -tik gertu dauden momentuen arteko eta $\bar{K} \rightarrow \bar{K}'$ puntuen arteko trantsizioak baimentzen dituzte. Kasu honetako $\lambda_{\mathbf{k}}$ -ren balioak ertainak dira: $\lambda \in [0.3; 0.6]$. Hala ere, spin-orbita eta spin-espazioa kontuan hartzen dugunean, elektroifonoi akoplamenduaren ahalmena bortizki txikiagotzen da, are gehiago, esan genezake ia guztiz anulatzen dela, balioak oso txikiak baitira, $\lambda < 0.1$. Izan ere, 4(b) Irudiaren spin-polarizazio mapetan ikusten den moduan, $\bar{K}$ eta $\bar{K}'$ puntuen arteko trantsizioetan aurkako spin-egoerak biderkatzen dira, eta, honenbestez, $\bar{K} \rightarrow \bar{K}'$ ekarpenak debekatuta daude (ikus 6(d) Irudia). Hala eta guztiz ere, $\bar{K}$ -tik gertu dauden momentuen arteko sakabanaketa-prozesuak izaten jarraitzen dugu. Trantsizio horietan, berriz, momentu oso txikiak transferitzen dira ($\mathbf{q} \rightarrow 0$), eta, definizioz (Grimvall, 1981; Giustino, 2017), dagozkien sakabanaketa-probabilitateak oso txikiak izaten dira beste prozesuekin konparatuta. Beraz, spin-orbita akoplamendua eta spin-espazioa aintzat hartzen baditugu, elektroifonoi elkarrekintza biziki murrizten dela esan dezakegu.

4 Ondorioak

Spin-orbita akoplamenduak elektroifonoi elkarrekintzari nola eragiten dion aztertu dugu Tl/Si(111) gaiazalean. Helburu honetarako, spin-espazioa elektroifonoi-funtzioen deskribapenaren barruan sartu dugu. Spina eskalartzat hartzen dugunean, gainazal elektroifonoi-egoerak eta fonoiak elkarrekin guztiz akoplatuta daude. Aldiz, spin-egoerak esplizituki hartuz gero, spin-egoeren gainezarmenaren eraginez fonoi birtartzat gauzatutako elektroifonoi-sakabanaketaren probabilitateak txikiagotu daitezke, baita ia guztiz anulatu ere.

Izan ere, fenomeno hau oso interesgarria izan liteke spinaren askatasun-graduan oinarritutako elektronikarako, orain arte lortu dena baino spin-egoera askoz egonkorragoa eta maneigarriagoa edukiko genukeelako. Azkenik, ikerketa hau guztiz teorikoa bada ere, lan honen emaitzak angeluz bereizitako fotoemisio teknika esperimentalaren bidez baliozta litezke.

5 Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honen ondorengo urratsa, gainazal berdinean elektroifonoi elkarrekintzarekin lotutako beste kalkulak egitea izango litzateke. Halaber, urte hauetan zehar gauzatu dugun kodigoa hobetu eta gehiago

garatu nahiko genuke. Horren ostean, Tl/Si(111) material-motako sistema gehiago aztertzeke ideia badaukagu, baita spinak paper garrantzitsua duen beste gainazalak ere. Azkenik, elektroifonoi gorputz-anitzen teoriar sakontzea ere gustatuko litzaiguke.

Erreferentziak

- ALCÁNTARA ORTIGOZA, M., I. YU. SKLYADNEVA, R. HEID, E. V. CHULKOV, T. S. RAHMAN, K.-P. BOHNEN, eta P. M. ECHENIQUE. 2014. Ab initio. *Phys. Rev. B* 90.195438.
- ASHCROFT, N. W., eta N. D. MERMIN. 1976. *Solid State Physics*. BROOKS/COLE CENGAGE Learning.
- AST, CHRISTIAN R., JÜRGEN HENK, ARTHUR ERNST, LUCA MORESCHINI, MIHAELA C. FALUB, DANIELA PACILÉ, PATRICK BRUNO, KLAUS KERN, eta MARCO GRIONI. 2007. Giant spin splitting through surface alloying. *Phys. Rev. Lett.* 98.186807.
- BARONI, STEFANO, STEFANO DE GIRONCOLI, ANDREA DAL CORSO, eta PAOLO GIANNOZZI. 2001. Phonons and related crystal properties from density-functional perturbation theory. *Rev. Mod. Phys.* 73.515–562.
- CAPPELLUTI, E., C. GRIMALDI, eta F. MARSIGLIO. 2007. Electron-phonon effects on spin-orbit split bands of two-dimensional systems. *Phys. Rev. B* 76.085334.
- EIGUREN, A., S. DE GIRONCOLI, E. V. CHULKOV, P. M. ECHENIQUE, eta E. TOSATTI. 2003. Electron-phonon interaction at the Be(0001) surface. *Phys. Rev. Lett.* 91.166803.
- GIUSTINO, FELICIANO. 2017. Electron-phonon interactions from first principles. *Rev. Mod. Phys.* 89.015003.
- GRIMVALL, G. 1981. *The Electron-Phonon Interaction in Metals, Selected Topics in Solid State Physics*. North-Holland, New York.
- HUFNER, S. 1995. *Photoelectron Spectroscopy: Principles and Applications*. Springer, Berlin.
- ŽUTIĆ, IGOR, JAROSLAV FABIAN, eta S. DAS SARMA. 2004. Spintronics: Fundamentals and applications. *Rev. Mod. Phys.* 76.323–410.
- KOHN, W. 1959. Image of the Fermi surface in the vibration spectrum of a metal. *Phys. Rev. Lett.* 2.393–394.
- LI, ZHOU, L. COVACI, M. BERCUI, D. BAILLIE, eta F. MARSIGLIO. 2011. Impact of spin-orbit coupling on the Holstein polaron. *Phys. Rev. B* 83.195104.
- MARTIN, R. M. 2004. *Electronic Structure: Basic Theory and Practical Methods*. Cambridge University Press.
- SAKAMOTO, KAZUYUKI, TATSUKI ODA, AKIO KIMURA, KOJI MIYAMOTO, MASAHIRO TSUJIKAWA, AYAKO IMAI, NOBUO UENO, HIROFUMI NAMATAME, MASAKI TANIGUCHI, P. E. J. ERIKSSON, eta R. I. G. UHRBERG. 2009. Abrupt rotation of the rashba spin to the direction perpendicular to the surface. *Phys. Rev. Lett.* 102.096805.
- SAKURAI, J. J. 1994. *Modern Quantum Mechanics*. Addison-Wesley Publishing Company.
- SKLYADNEVA, I. YU., R. HEID, K.-P. BOHNEN, P. M. ECHENIQUE, eta E. V. CHULKOV. 2013. Mass enhancement parameter in free-standing ultrathin pb(111) films: The effect of spin-orbit coupling. *Phys. Rev. B* 87.085440.

6 Eskerrak eta oharrak

Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Unibertsitate eta Ikerkuntzaren sailari, Euskal Herriko Unibertsitateari (UPV/EHU) (IT756-13) eta Espainiako Ekonomia eta Lehiakortasunaren Ministerioari (FIS2013-48286-c2-1-P eta FIS2016-75862-P) eskertu nahi diegu lan hau aurrera eraman ahal izateko eman dizkiguten baliabide ekonomikoengatik. Baliabide konpuntuazionalak Donostia International Physics Center-k (DIPC) eman dizkigu. P.G.-k UPV/EHU-ri (PIF/UPV/12/279) eta DIPC-ri eskertu nahi die babes ekonomikoa.

Efektu erlatibistak gainazalen erantzun propietateetan: Karga eta spin oszilazio kolektiboak

Jon Lafuente-Bartolome^{1,2} eta Idoia G. Gurtubay^{1,2} eta Asier Eiguren^{1,2}

¹ Materia Kondentsatuaren Fisika Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea. 644 Postakutxatila, 48080 Bilbo

² Donostia International Physics Center (DIPC). Manuel de Lardizabal ibilbidea 4, 20018 Donostia

Laburpena

Lan honetan spin elektronikoak solidoetako gainazalen erantzun propietateetan izan dezakeen zeregina aztertzen da. Horretarako, efektu erlatibista nabarmenak erakusten dituen material batean zentratu gara, $\text{Ti/Si}(111)$ gainazalean hain zuzen ere. Lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluak erabiliz, sistema honek energia baxuko kitzikapen kolektibo berezi bat erakusten duela frogatu dugu, ohiko karga oszilazioetatik gain spin oszilazioak ere dakartzana.

Hitz gakoak: Spin-orbita elkarrekintza, gainazal-plasmoia, lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluak.

Abstract

We study the role of the electronic spin in the response properties of solid surfaces. We focus on the $\text{Ti/Si}(111)$ surface, which is a surface-system showing sizeable relativistic effects. Based on first-principles calculations, we demonstrate that a peculiar low-energy collective excitation emerges at this system, which is composed by spin oscillations together with the more usual charge oscillations.

Keywords: Spin-orbit coupling, surface plasmon, first-principles calculations.

1 Sarrera eta motibazioa

Spin-orbita elkarrekintza elektroien karga eta spin propietateak elkarlotzen dituen efektu erlatibista bat da. Atomoetan, egoera elektronikoak energia mailatan kuantifikatuta egonik, spin proiektzio desberdindun elektroien mailak spin-orbita akoplamenduaren eraginez banandu daitezkeela aspaldi jakina den fenomeno bat da (Cohen-Tannoudji *et al.*, 1978). Atomo ugari osatutako gorputz-anitzeko sistema batean, aldiz, egoera elektronikoek *banda* deituriko dispersioak eratzen dituzte, sistemaren simetriek zeregin garrantzitsua izaten dutelarik banda egitura hauetan. Honela, sisteman espazio-inbertsio-simetria eta denbora-inbertsio-simetria betetzen badira -ohiko sistema gehienetan betetzen direnak-, spin proiektzio desberdindun bi bandak tokioro endekatuta egon behar dira¹. Horregatik, gorputz-anitzeko sistema batean spinarekin lotutako efektuak ikusi nahi izatekotan, aipatutako bi simetrietatik bat apurtzea beharrezkoa da. Denbora-inbertsio-simetria apurtzean, eremu magnetiko bat aplikatuz egin daitekeena, aspaldi ezaguna den magnetismoaren fenomenoak agertzen da. Espazio-inbertsio-simetria apurtzean, aldiz, duela gutxiarte ezagutzen ez ziren fenomeno bereziagoak azalarazten dira, azken urteotan materia kondentsatuaren fisikaren arloan arreta nabarmena lortzen ari direnak.

Ohikoak diren gorputz-anitzeko sistemak solidoak dira, milaka atomoz osatuta daudenak. Atomo hauek era ordenatuan antolatzen badira kristal bat eratuko dute, eta antolaketa horretan espazio-inbertsio-simetria betetzen bada elektroiek endekatutako banda egiturak sortuko dituzte. Badago solidoaren zonalde bat, ordea, zeinetan definizioz inbertsio simetria apurtuko den: gainazala. Bertan dauden elektroiek, atomoak behar bezain pisutsuak badira, spin-banandutako bandak eratuko dituzte spin-orbita elkarrekintzaren eraginez. Beraz, gainazal hauetan propietate elektromagnetiko bitxiak ikustea espero dezakegu, zeintzutan elektroien kargak ez ezik, spinak ere zeregin zentrala izan dezakeen.

Lan honetan, efektu erlatibista nabarmenak dituzten gainazalen erantzun propietateak aztertzen dira, bereziki hauetan gerta daitezkeen kitzikapen kolektiboetan zentratuz. Beste hainbaten artean, metaletan gertatu daitezkeen kitzikapen kolektiboetako bat *plasmoia* da. Plasmoi bat kitzikatzean, elektroien guztiek

¹Matematikoki frogatu daitezkeen teorema honi *Kramers-en teorema* deritza (Kramers, 1930).

modu kolektibo batean oszilatzen dute, karga-dentsitate uhinak sortuz. Sistema magnetikoetan, *magnoi* izeneko kitzikapen kolektibo desberdin bat gerta daiteke. Honetan, oreka konfigurazioarekiko era kolektiboan oszilatzen dutenak elektroien spinak dira, spin-dentsitate uhinak sortuz. Aurrerago ikusiko dugunez, spin-orbita elkarrekintzaren eraginez spin-banandutako egoerak dituzten gainazal ez-magnetikoetan, karga eta spin dentsitate oszilazioak konbinatzen dituen kitzikapen kolektibo berri bat gertatu daiteke, orain arte neurtu ez dena.

2 Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Sarreraren aipatu bezala, solidoak milaka atomoz osatutako gorputz-anitzeko sistemak dira. Honegatik, historikoki solidoen ikerketa teorikoa eredu sinplifikatuetan oinarritu da gehienbat. Eredu hauek, fenomeno fisiko asko ulertzea ahalbidetu duten arren, neurketa esperimentalekin bat eginez eta erabilera teknologiko berriei atea zabalduz, aplikagarritasun mugatua daukate. Izan ere, aztertu nahi den problema bakoitzarako eredu bat eraikitzean sistemaren menpekoak diren parametro asko adostu behar dira, ikergai dugun sistemaren inguruko informazioa aldeztu aurretik ezagutzera derrigortzen duena. Era honetara, fenomeno fisiko berriak auresateko ahalmena nabarmen murrizten da. Azken urteotan burutu diren garapen teorikoek, ordenagailuek jasandako aurrerapen nabarmenarekin batera, solidoen fisika teorikoa egiteko modu berri bat sortzea ekarri dute: lehen-printzipioetan oinarritako kalkuluak. Mota honetako kalkuluetan, kristal egituraren ditugun atomo mota desberdinak eta hauen posizioak soilik erabiltzen ditugu informazio sarrera bezala. Hemendik aurrera, sistemak betetzen dituen simetrietaz, mekanika kuantikoak emandako lege orokorretaz², eta ordenagailu kodeetatik baliatzen gara interesekoa dugun sistemaren egitura elektronikoa eta propietate dinamikoak kalkulatzeko.

Gainazalen kitzikapen kolektiboen ikerketari dagokionez, lehen-printzipioetako kalkuluak erabilera azken hamarkadara mugatzen dela esan dezakegu. Teknika hauen erabilerak emandako ekarpenak ugari eta nabariak izan dira, eta beranduago esperimentalki neurtu diren kitzikapen kolektibo mota berriak auresatera ere iritsi dira kasu batzuetan, hala nola gainazaleko plasmoi akustikoa³ (Silkin *et al.*, 2004; Diaconescu *et al.*, 2007). Spin-orbita elkarrekintza kontuan hartzean, aldiz, eredu sinplifikatuak soilik erabili dira orain arte. Eredu hauek jada erlatibitateak eragindako efektu interesgarriak auresan badiutuzte ere (Maiti *et al.*, 2015), sistema oso sinpleetara eta idealizatueta mugatu dira, eta ezin izan dira esperimentuekin baieztatu kasu gehienetan.

Lan honetan, lehen-printzipioetan oinarritutako tratamendu teoriko bat jorratzen dugu, gainazal solido batek kanpoko eremu elektromagnetiko batekiko duen erantzuna aztertzean karga eta spin aldagaiak era berean barneratzen dituen, spin-orbita elkarrekintza kontuan hartuz. Honen helburua, spin elektronikoa efektu erlatibista nabarmenak dituzten gainazalen erantzun propietateetan duen zeregina ikertzea da, potentzialki kitzikapen kolektibo mota berriak topatuz.

3 Ikerketaren muina

Artikuluaren muina bi ataletan banatuko dugu. Lehenengoan, garatutako oinarri teorikoa laburki azalduko dugu. Bigarrenetan, garapen teoriko hau Ti/Si(111) sisteman aplikatuko dugu, gainazal honek spin eta karga oszilazioak konbinatzen dituen kitzikapen kolektibo bat erakusten duela frogatuz.

3.1 Garapen teorikoa

Hasieran aipatu bezala, lan honetan solidoetako gainazalek kanpo-perturbazio batekiko erakusten duten erantzuna aztertuko dugu. Honelako prozesuak deskribatzeko zentrala den kantitate bat materialen dentsitate-dentsitate erantzun funtzioa dugu, hemendik aurrera χ letra grekoaz adieraziko duguna. Funtzio honek, kanpo-potentzial jakin baten ($\delta V^{(\text{kanpo})}$) eta honek sisteman indusitzen duen karga dentsitate aldaketaren ($\delta\rho$) arteko erlazio lineala ematen du,

$$\delta\rho_{\mathbf{G}}(\mathbf{q},\omega) = \sum_{\mathbf{G}'} \chi_{\mathbf{G}\mathbf{G}'}(\mathbf{q},\omega) \delta V_{\mathbf{G}'}^{(\text{kanpo})}(\mathbf{q},\omega), \quad (1)$$

²Kasu gehienetan zeinbat hurbilketa erabiltzen dira kalkuluak praktikan egin ahal izateko. Ikusi, adibidez, (Martin, 2004) erreferentzia.

³Ingelesezt, *Acoustic Surface Plasmon*.

non $\mathbf{q}$ kanpo-potentzialaren eta sistemaren arteko momentu-transferentzia den, eta ω kanpo-potentzialaren frekuentzia den. Erlazio hau elkarrekiko espazioan idatzi dugu, eta $\mathbf{G}$ bektoreak elkarrekiko sareko bektoreak dira (Ashcroft eta Mermin, 1976). Funtzio honek sistemak jasan ditzakeen kitzikapenei buruzko informazio baliogarria ematen digu. Izan ere, sistemak $\mathbf{q}$ momentu eta ω energiako kitzikapen bat eskuragarri izatekotan, χ funtzioak erresonantzia bat erakutsiko du.

Solidoak elkarrekintzan dauden elektroiez osatutako sistemak izanik, bi motatako kitzikapenak gerta daitezke: kuasipartikulak eta kitzikapen kolektiboak. Lehenengo motako kitzikapenetan energia eta momentua partikula bakar batek xurgatzen du, gure kasuan elektroiak. Kitzikatutako elektroiek bere inguruko karga distribuzioa eraldatu du, “polarizazio-laino” bat sortuz. Honela, elektroiek isolatutako partikula baten izaera galduko du, eta kuasipartikula batean bilakatzen dela esango dugu. Kitzikapen kolektiboetan, aldiz, elektroiek guztiek xurgatzen dute energia eta momentua aldi berean.

Sarritan, kanpo-perturbazio baten ondorioz sistemak erresonantzia bat erakusten duenean, zaila da bereiztea bertan kuasipartikula bat edo kitzikapen kolektibo bat eragin den. Honetarako, benetako sistemaren antzerakoa den baina erantzunean elkarrekintzarik erakusten ez duen sistema ideal baten erantzun funtzioa kalkulatu dezakegu, oinarritzko egoeraren egitura elektronikotik abiatuz erraz lor daitekeena (Martin, 2004). Erantzun funtzio hau χ^0 letra grekoarekin adieraziko dugu, eta elektroien arteko elkarrekintzak barne hartzen ez dituenek, honen edozein erresonantzia $(\mathbf{q}, \omega)$ jakin batean, energia eta momentu hori duen partikula bakar baten kitzikapenari dagokio. Honela, bi erantzun funtzioak $-\chi$ eta χ^0 - konparatuz $(\mathbf{q}, \omega)$ mapa batean, sistemak jasan ditzakeen kuasipartikula kitzikapenak eta kitzikapen kolektiboak bereizi ditzakegu.

Orain arte, kanpo-potentzial eskalarrak eta karga-dentsitate elektrikoak soilik kontsideratu ditugu. Hala ere, spin-orbita elkarrekintza erlatibistak elektroien karga eta spin askatasun graduak estuki lotzen dituela jakin badakigu. Gainazalean, solidoek gorputzean duten inbertsio-simetria galtzen dutenez, spin-orbita elkarrekintzak bi egoera elektronikoen banandu ditzake. Honek, mekanika kuantikoaren baitan, spinore formalismoa erabiltzera behartzen gaitu, zeinetan elektroien uhin funtzioak bi osagaidun spinoreetara orokortzen diren,

$$\psi(\mathbf{r}) \longrightarrow \Psi(\mathbf{r}) = \begin{pmatrix} \varphi^{(\uparrow)}(\mathbf{r}) \\ \varphi^{(\downarrow)}(\mathbf{r}) \end{pmatrix}. \quad (2)$$

Adierazpen honetan, $\varphi^{(\uparrow)}$ eta $\varphi^{(\downarrow)}$ delakoek norabide jakin batekiko uhin funtzioaren bi spin osagaiak ematen dituzte. Spinore egitura honek, dentsitatea lau osagaiko bektore baten modura kontsideratzea eskatzen du,

$$\rho(\mathbf{r}) \longrightarrow \mathbf{n}^\mu(\mathbf{r}) = (\rho(\mathbf{r}), m_x(\mathbf{r}), m_y(\mathbf{r}), m_z(\mathbf{r})) , \quad (3)$$

non karga-dentsitate arruntaz gain, spin-dentsitatearen hiru osagaiak ere barneratzen diren. Honen ondorioz, sistemak kanpo-perturbazio bati erantzutean (1) ekuazioak 4×4 egitura tentsoriala hartzen du, karga-dentsitate aldaketaz gain, spin-dentsitate aldaketak ere kontuan hartzeko,

$$\begin{pmatrix} \delta\rho^{\mathbf{G}} \\ \delta m_x^{\mathbf{G}} \\ \delta m_y^{\mathbf{G}} \\ \delta m_z^{\mathbf{G}} \end{pmatrix} = \sum_{\mathbf{G}'} \begin{pmatrix} \chi_{00}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{0x}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{0y}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{0z}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} \\ \chi_{x0}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{xx}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{xy}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{xz}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} \\ \chi_{y0}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{yx}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{yy}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{yz}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} \\ \chi_{z0}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{zx}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{zy}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} & \chi_{zz}^{\mathbf{G}\mathbf{G}'} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \delta V_0^{\mathbf{G}'}(\text{kanpo}) \\ \delta H_x^{\mathbf{G}'}(\text{kanpo}) \\ \delta H_y^{\mathbf{G}'}(\text{kanpo}) \\ \delta H_z^{\mathbf{G}'}(\text{kanpo}) \end{pmatrix}. \quad (4)$$

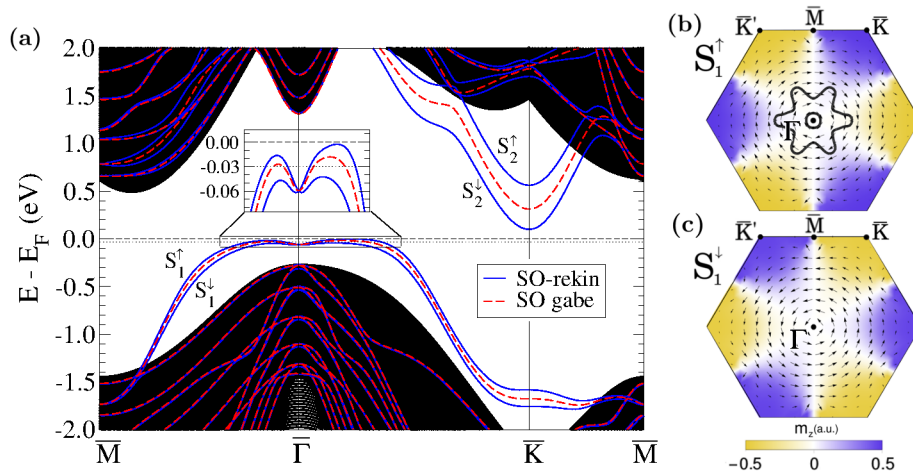
Horrela, 16 osagaidun erantzun tentsoreak kanpo eremu elektromagnetiko orokor bat -potentzial elektriko ($\delta V^{\text{(kanpo)}}$) eta eremu magnetiko ($\delta \vec{H}^{\text{(kanpo)}}$) batez osatua dagoena- eta honek induzitutako karga eta spin dentsitate aldaketak erlazionatzen ditu.

3.2 Emaitzak

Aurreko azpiatalean deskribatutako garapen teorikoa praktikan jartzeko asmoz, lehen-printzipioetan oinarritutako kalkuluak egin ditugu Tl/Si(111) gainazalaren erantzuna aztertuz. Lan honetan, ELK kodeaz (Dewhurst *et al.*) baliatu gara oinarritzko egoeraren kalkuluak burutzeko, eta taldean bertan garatu den kode bat erabili da spin eta karga erantzun tentsorea kalkulatzeko.

1 irudian Tl/Si(111) gainazalaren oinarritzko egoeraren kalkuluaren emaitzak ematen ditugu. Ezkerreko aldean (1a) irudia, sistemaren elektroien banda egitura irudikatu dugu, egoera elektronikoen energia

1 Irudia: Tl/Si(111) gainazalaren oinarritzko egoeraren kalkuluen emaitzak. (a) atalean, lerro gorri etenek spin-orbita (SO) elkarrekintzarik gabeko kalkulutik lortutako banda egitura adierazten dute, lerro urdin jarraituek SO elkarrekintza kontuan hartutako kalkulutik lortutakoa, eta kontinuo beltzak silizio bolumenarena. (b) eta (c) ataletan, $S_1^\uparrow$ eta $S_1^\downarrow$ gainazal egoeren spin-polarizazioak erakusten dira elkarrekiko espazioan, hurrenez hurren. Gezi eta kolore kodearen bidez gainazalarekiko paralelo eta perpendikularrak diren spin-polarizazioaren osagaiak adierazi dira, hurrenez hurren.



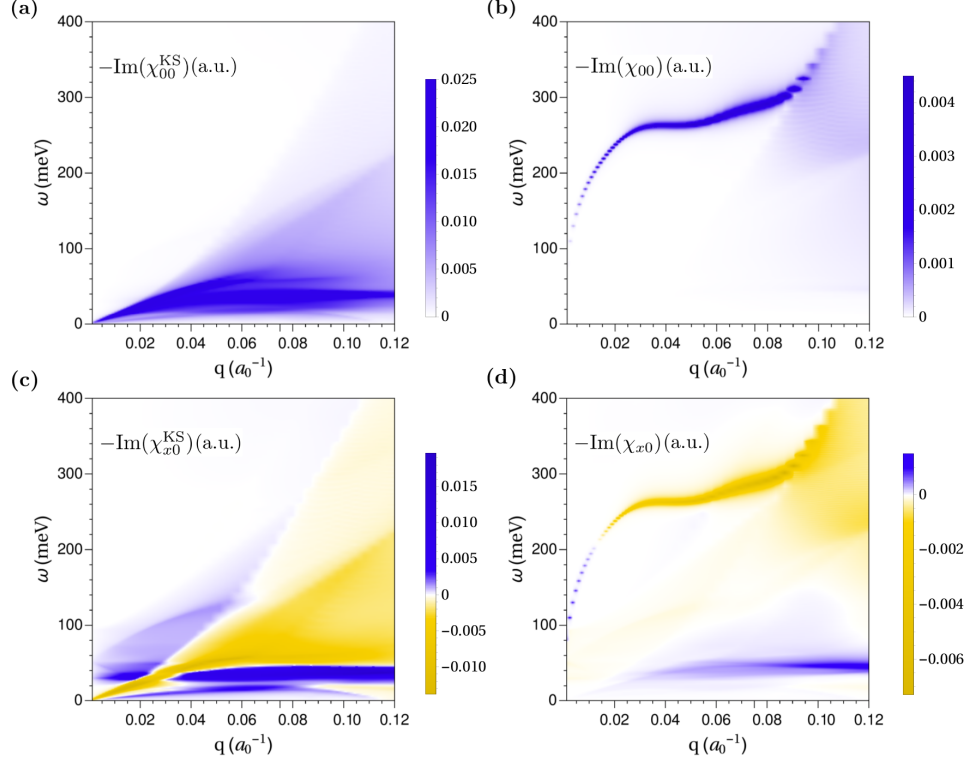
(E) Fermiren energia (E_F)⁴ delakoarekiko, kristal-momentuaren norabide batean zehar. Bertan, lerro gorri etenek spin-orbita (SO) elkarrekintzarik gabeko kalkulutik lortutako banda egitura adierazten dute, lerro urdin jarraituek SO elkarrekintza kontuan hartutako kalkulutik lortutakoa, eta kontinuo beltzak silizio bolumenarena. Egoera elektronikoa bat solidoaren gainazalean lokalizatuta egoteko, honen bandak bolumeneko banda-hutsartean aurkitu behar dira (Davison eta Stęślicka, 1992). Beraz, irudi honetatik atera dezakegun lehen ondorioa da ondo definitutako bi gainazal egoera dauzkagula, bata okupatua (lerro gorri etena Fermiren mailaren azpitik) eta bestea hutsik (lerro gorri etena Fermiren mailaren gainetik). Hauetako bakoitzak endekapen bikoitza izango du, oraindik spin-endekapena apurtu dezakeen ezer ez baitugu kontuan hartu. Spin-orbita elkarrekintza kontuan hartzean, aldiz, banda hauek banandu egiten direla ikusten dugu, lau spin-banandutako banda sortuz (lerro jarraitu urdinak). Banantze hau ikaragarri handia da kasu honetan, ~ 0.5 eV-ekoa izatera iristen delarik K puntuaren inguruan.

1(b)-(c) irudietan okupatutako egoera elektronikoen spin polarizazioa aurkezten dugu elkarrekiko espazioan. Geziek eta kolore kodeak spin-polarizazioaren proiektzioak adierazten dituzte, gainazalaren planoarekiko norabide paralelo eta perpendikularretan, hurrenez hurren. Espazio errealeko magnetizazio totala lortzeko, spin polarizazioa integratu beharko genuke elkarrekiko espazioan. Irudi honetan ikusten dugunez, egoera elektronikoa hauetako spin polarizazioaren batuketa egitean eremu osoan, magnetizazio nulua lortzen dugu, aurkako norabidean dauden spin polarizazioak anulatu egiten baitira. Hau espero genuen emaitza da, Tl/Si(111) sistema ez baita magnetikoa. Badu, hala ere, magnetizazio inplizitu bat; spin polarizazioa aldatu egiten da elkarrekiko espazioaren posizioarekin, egitura konplexuak erakutsiz. Lan honetan, sistema metalikoa egin dugu Fermi maila ~ 0.3 eV jaitsiz (ikusi 1(a) irudiko puntukako lerroa). Honela, erdi-okupatutako banda bat lortzen dugu, zirkularki spin-polarizatutako Fermi gainazal bat duena (ikusi 1(b) irudiko lerro beltza Γ puntuaren inguruan).

Ondoren, garapen teorikoan azaldu dugun dentsitate-dentsitate erantzun funtzioa kalkulatu dugu. Hasteko, 2(a)-(b) irudietan, karga-karga dentsitate erantzun funtzioaren emaitza erakusten dugu. 2(a) irudian, elkarrekintzarik gabeko erantzuna (χ^{KS}) ematen dugu, frekuentzia eta momentu-transferentziaren funtzioan (ikusi (1) ekuazioa). Lehenago azaldu dugun bezala, funtzio honek elektro bakar bateko kitzikapenak gertatu daitezkeen eremuak adierazten ditu. Kitzikapen kolektiboaren dispersioa eremu honetan badago, bere energia eta momentua quasipartikula kitzikapenetara transferituko da, eta beraz bizidena oso laburra izango du. 2(b) irudian, elkarrekintzadun karga-karga erantzun

⁴Energia honek sisteman okupatuta dagoen azken maila elektronikoen energia adierazten du (Ashcroft eta Mermin, 1976).

2 Irudia: Tl/Si(111) gainazalaren erantzun funtzio dinamikoaren kalkuluaren emaitzak. (a) atalean elkarrekintzarik gabeko karga-karga erantzun funtzioa ematen da, elektroien bakar baten kitzikapenak gertatu daitezkeen eremuak adierazten dituena. (b) atalean elkarrekintzadun karga-karga erantzun funtzioa erakusten da, zeinen erresonantziek kitzikapen kolektiboak adierazten dituzten. (c) eta (d) ataletan elkarrekintzarik gabeko eta elkarrekintzadun spin-karga erantzun funtzioak ematen dira, hurrenez hurren. Kolore kodeak erantzunaren intentsitatea ematen du, unitate atomikoetan.



funtzioa ematen dugu. Bertan, elektroien bakarrek kitzikapen eremutik kanpo geratzen den erresonantzia nabarmen bat ikusi dezakegu. Erresonantzia honek Tl/Si(111) gainazalean ondo definitutako karga plasmoi bat dugula adierazten du. χ_{00} funtzioaren maximoaren dispersioa neurtutako bi dimentsioetako plasmoien dispersioekin konparatzen badugu (Nagao *et al.*, 2001), oso antzerakoak direla ikusi dezakegu. Honek plasmoien parte hartzen duten elektroien gainazalean lokalizatuta daudela konfirmatzen du, espero genuen bezala, Fermi mailak gainazal egoeren bandak soilik gurutzatzen baititu (ikusi 2(a) irudia).

Azkenik, spin-orbita elkarrekintzak eta gainazal egoeren spin polarizazioak Tl/Si(111) sistemaren erantzunean duten efektua aztertuko dugu. Horretarako, spin-karga erantzun funtzioa erakusten dugu 2(c)-(d) irudietan, x norabideko spin dentsitate aldaketa ematen duena kanpo-potentzial elektriko batekiko (ikusi (4) ekuazioa). Momentu transferentzia y norabidean aukeratu dugu kalkuluetan, eta beraz simetriagatik spin-erantzuna x norabidean bakarrik izango da nabarmena (ikusi 2(b) irudia eta Maiti *et al.* (2015) erreferentzia). 2(c) irudian ikusten dugunez, spin-polarizatutako egoerak izateak, elektroien bakarrek kitzikapenak spin-karga erantzuna ere ematea ekartzen dute. Ez hori bakarrik, spin-banandutako bi banda izatean, bi banda hauen arteko trantsizioak ere posibleak dira, kontrako zeinua dakartena χ_{x0}^{KS} funtzioan. Lan honetako emaitza nagusia 2(d) irudian ematen da. Bertan, elkarrekintzadun spin-karga erantzun funtzioak erresonantzia nabarmen bat duela ikusten dugu, karga-karga erantzuneko erresonantziaren dispersio berdinarekin. Honen ondorioz, lehenago aipatutako bi dimentsioko plasmoia benetan plasmoi konbinatu bat izango dela ikusten dugu, karga-dentsitate oszilazioaz aparte, x norabideko spin-dentsitate oszilazioak ere ekarriko dituenak. Gainera, spin-karga erantzunean karga-karga erantzunean ikusten ez diren efektu interesgarri batzuk azalarazten dira. q txikien limitean, esate baterako, karga-karga erantzunaren intentsitatea txikitzen doala ikusten dugu; spin-karga erantzunean, aldiz, intentsitatea handitzen doa. q txikietan plasmoi konbinatuaren spin osagaia kargarena baino handiagoa izango dela

adierazten du emaitza honek.

4 Ondorioak

Lan honetan, Tl/Si(111) gainazalaren spin eta karga erantzun funtzioaren kalkuluak aurkeztu ditugu. Horretarako, lehen-printzipioetan oinarritutako metodoetan oinarritu gara, eta spin-orbita elkarrekintzak eragindako efektuak sakonki aztertu ditugu. Ikusi dugunez, efektu erlatibista honek gainazal egoeren spin-banantzea ekartzen du, hauetan spin-polarizazio konplexuak indusitzen. Honen eraginez, bi dimentsioko plasmoiaren dispersio berdina duen kitzikapen kolektibo berri bat azalaratzen da, karga-dentsitate oszilazioetatik gain, spin-dentsitate oszilazioak ere dakartzana.

5 Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Artikulu honetan aurkeztu diren garapen teorikoak, bai eta kalkuluak burutzeko garatu ditugun kode konputazionalak ere, guztiz orokorrak dira, eta Tl/Si(111) gainazala ez den beste edozein sistematatik zuzenean aplikatu ditzakegu. Hau izango da, beraz, etorkizun hurbileneko norabidea; spin egitura konplexuagoak erakusten dituzten gainazalaren erantzun funtzioaren berezitasunak aztertzea, spin eta karga kitzikapen kolektibo mota berriak aurkitzeko asmoz. Aurreragorako norabide bezala, plasmoei spin eta karga izaera konbinatua edukitzearen eragina sakonki aztertu nahiko genuke gorputz-anitzeko fisikaren teoriaren baitan, hauen elkarrekintza elektroiekin aztertzean SU(2) simetriadun spinore formalismoa barneratuz.

Erreferentziak

- ASHCROFT, N., eta D. MERMIN. 1976. *Solid State Physics*. Saunders College.
- COHEN-TANNOUDJI, CLAUDE, BERNARD DIU, eta FRANCK LALOE. 1978. *Quantum Mechanics*. Wiley.
- DAVISON, SIDNEY G., eta MARIA STĘŚLIKA. 1992. *Basic Theory of Surface States*. Clarendon Press.
- DEWHURST, J. K., S. SHARMA, L. NORDSTRÖM, F. CRICCHIO, O. GRÄNÄS, eta H. GROSS. <http://elk.sourceforge.net/>.
- DIACONESCU, BOGDAN, KARSTEN POHL, LUCA VATTUONE, LETIZIA SAVIO, PHILIP HOFMANN, VYACHESLAV M. SILKIN, JOSE M. PITARKE, EUGENE V. CHULKOV, PEDRO M. ECHENIQUE, DANIEL FARIAS, eta MARIO ROCCA. 2007. Low-energy acoustic plasmons at metal surfaces. *Nature* 448:57–59.
- KRAMERS, H. 1930. Théorie générale de la rotation paramagnétique dans les cristaux. *Proc. Amsterdam Akad.* 33:959–972.
- MAITI, SAURABH, VLADIMIR ZYUZIN, eta DMITRII L. MASLOV. 2015. Collective modes in two- and three-dimensional electron systems with Rashba spin-orbit coupling. *Phys. Rev. B* 91:035106.
- MARTIN, R. M. 2004. *Electronic Structure: Basic Theory and Practical Methods*. Cambridge University Press.
- NAGAO, TADAOKI, TORSTEN HILDEBRANDT, MARTIN HENZLER, eta SHUJI HASEGAWA. 2001. Dispersion and damping of a two-dimensional plasmon in a metallic surface-state band. *Phys. Rev. Lett.* 86:5747–5750.
- SILKIN, V. M., A. GARCÍA-LEKUE, J. M. PITARKE, E. V. CHULKOV, E. ZAREMBA, eta P. M. ECHENIQUE. 2004. Novel low-energy collective excitation at metal surfaces. *EPL (Europhysics Letters)* 66:260.

6 Eskerrak eta oharrak

Eusko Jaurlaritzaren Hezkuntza, Unibertsitate eta Ikerkuntza Sailari, Euskal Herriko Unibertsitateari (UPV/EHU) (IT756-13) eta MINECO-ri (FIS2013-48286-C2-1-P eta FIS2016-75862-P) eskertu nahi diegu lan hau aurrera eraman ahal izateko eman dizkiguten baliabide ekonomikoengatik. Baliabide konputazionalak Donostia International Physics Center-ek (DIPC) eman dizkigu. J.L.-k DIPC-ri eta UPV/EHU-ri (PIF/UPV/16/240) eskertu nahi dio babes ekonomikoa.

Mas hartzailearen deskribapena giza espermatozoideetan: angiotentsina 1-7 bidezko aktibazioaren eragina espermatozoideetan

Cortés Lorea¹, Valdivia Asier², Agirregoitia Ekaitz¹.

(1) Medikuntza eta Erizaintzako Fakultateko Fisiologia saila, (2) Farmazia Fakultateko Zelulen Biologia eta Histologia saila
loreacm@gmail.com

Laburpena

Errenina-Angiotensina sistemak (*Renin Angiotensin System*, RAS) organismo mailan duen funtzio nagusiaz gain, RAS-ean parte hartzen duten hainbat elementuk ugaltze-funtzioarekin zerikusia duten ehunetan deskribatu dira azkeneko urtetan, RAS tokian tokiko erregulazio sistema bat dela frogatuz. Ikerketa honetan espermatozoideetan RAS-aren hainbat osagaien (Angiotentsina 1-7-ren eta honen Mas hartzailearen) eragina zein den zehaztu da. Alde batetik, Mas hartzailea proteina mailan espermatozoideetan dagoela baieztatu da. Bestetik, espermatozoideen mugikortasunean duen eragina zehaztu da eta azkenik, biziraupen bidezidorretan zerikusia duela baieztatu da.

Hitz gakoak: Ang 1-7, Mas hartzailea, espermatozoidea, mugikortasuna, biziraupena

Abstract

In addition to the principal role of The Renin Angiotensin System (RAS) in the whole organism, this system has other important local functions related to the correct function of male reproduction system. In this research we describe some RAS components (Angiotensin 1-7 and its Mas receptor) and their effects on spermatozoa. Firstly, the presence of Mas receptor in human spermatozoa will be laid down. Secondly, the effect of Angiotensin 1-7 on sperm motility will be described. Finally, it will be researched if those molecules have any effect on cell survival pathways.

Keywords: Ang 1-7, Mas receptor, spermatozoa, motility, survival.

1. Sarrera eta motibazioa

Gaur egun Munduko Osasun Erakundearen arabera ugalkortasun-arazoak herrialde garatuetako problemarik garrantzitsuenetarikoak dira. Izan ere, ugalkortasun adina atzeratzeko joera dago, eta honek ugalkortasun-biologian ondorio fisiologikoak ekar ditzake. Emankortasun-arazo horien oinarri biokimikoak ezezagunak dira oraindik, batez ere klinika mailan aztertu ohi direlako. Hori dela eta, emankortasunarekin loturiko ikerketak ugalkortasun-arazoak sendatzeko abiapuntua dira.

Oraintxe aipaturiko ikerketaren alderik garrantzitsuenetarikoa ugaltze-zelulen azterketa da, horien artean espermatozoideena. Espermatozoidea arren gameto haploidea da, eta zelula honen heltze prozesuaren eta fisiologiaren azterketak emankortasun-arazoak gainditzeko balio du. Espermatozoideek ugaltze-gaitasuna eskuratzeko heltze prozesua pairatu behar dute. Espermatozoidea guztiz heltzeko oozitoarekin kontaktuan jarri behar da. Hala ere, kontaktua eman baino lehen hainbat aldaketa fisiologiko pairatu beharko ditu. Horien artean, kapazitazioa, hiperaktibazioa, eta erreazio akrosomikoa (Schuel et al., 2005; Stauss et al., 1995; Yanagimachi, 1994). Espermatozoideek pixkanaka-pixkanaka mugikortasuna eskuratzen doaz: prozesua epididimoan hasten den arren, espermatozoideen mugikortasuna areagotzen doa ugaltze-traktu emean zehar lekualdatzen doan bitartean (Kim et al., 2005). Gaur egun, arren ugaltzeko abilezia zuzenki lotuta dago espermatozoideek duten mugikortasunarekin, eta espermatozoide hauen egoera fisiologikoarekin.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Errenina-Angiotentsina sistema (RAS, *Renin Angiotensin System*) peptidikoaren funtzio erregulatuak ezagunenak presio-arterialaren mantenuarekin eta elektrolito eta fluidoaren oreka-homeostatikoarekin harreman dutakoak izan ohi dira. RAS-ren osagaien artean honako hauek aurki ditzakegu: errenina, angiotentsina II-a (Ang II), Mas hartzailea, azkeneko honi lotzen zaion Angiotentsina 1-7-a (Ang 1-7) eta abar.

Dena den, azkeneko 10 urteetan burututako ikerketek sistemaren osagai berriak aurkitu dituzte eta horiek hainbat ehunetan agertzen direnez, sistemaren zeregina zabalagoa eta tokian tokiko prozesu fisiologikoen erregulazioarekin lotutakoa dela plazaratu dute. Esate baterako, ugaltze-aparatu arraren funtzionalitatea tokiko errenina-angiotentsina sistemaren menpekora dela frogatuta dago: Alde batetik, RAS-ren osagai batzuk aurkitu dira ugaltun arren ugaltze-aparatuaren barnean (Alenina et al., 2002; Fuchs et al., 2005; Langford et al., 1993; Leung eta Sernia, 2003; Speth et al., 1999). Horretaz gain, arratoien eta gizakien espermatozoide helduetan Angiotentsina I eta II-ren hartzaileak aurkitu dira (Könh et al., 1998; Vinson et al., 1995). RAS-ren osagai guzti horiek arren ugalkortasunarekin erlazionaturiko funtzioak betetzen dituzte; alde batetik, AngII-a espermatozoideen mugikortasunarekin zerikusia duten prozesuetan inplikaturik dago, batez ere hiperaktibazioan, abiadura eta erreakzio akrosomikoaren indukzioan (Gur et al., 1998; Vinson et al., 1996).

Ang 1-7k ere arren ugaltze-aparatuan zereginak ditu (Passos-Silva, et al., 2013), hala nola, ugaltunen ugaltze-aparatuaren barnean hainbat leku desberdinetan aurkitzen da (Reis et al., 2010). Azpimarratzekoa da Ang 1-7-k AngII-ren eraginekin kontrako efektuak eragiten dituela ehun askotan, esate baterako basodilatazioa, diuresia, natriuresia, eta abar (Ferrario et al., 1997; Ferrario et al., 2005). Beraz, AngII molekularen efektuen erregulatzailea da. Modu berean, Ang 1-7 molekularen hartzaileak, hau da, Mas hartzaileak espermatozogenesiaren hainbat prozesuetan eginkizun garrantzitsua du (Leal et al., 2009). Horren adibidea da, espermatozogenesi prozesua andeatuta duten indibiduoek, Ang 1-7 eta Mas hartzaile kopurua murriztuta dutela (Leal et al., 2009; Reis et al., 2010). Horrek guztiak adierazten du Mas hartzaileak espermatozogenesi erregulatzen duela, Ang 1-7 molekulekin batera. Dena den, oraindik ez da deskribatu Mas hartzailea espermatozoideetan dagoen edo ez, eta zer nolako eragin eduki ditzakeen espermatozoideen fisiologian. Arren ugalkortasunean eragina duela jakinik, gure hasierako hipotesia da Mas hartzailea espermatozoideetan aurkitzen dela, eta efektuaren bat izango duela espermatozoideetan.

Ang II-k eta Ang 1-7k (Mas hartzailearen bidez) eragiten dute, bakoitzak bere modura, hainbat zelulen biziraupenean edo heriotzan (Giani et al., 2007; Muñoz et al., 2010). Horretarako, hainbat bidezidor zelular desberdin erabiltzen dituzte, edo bidezidor konkretu batean eragin kontrajarriak dituzte. AngII-k espermatozoideen bidezidor hauetan dituen eragina aztertuta dagoen arren, oraindik ez dakigu zein eragin eduki ote ditzakeen Ang 1-7-k (Mas hartzailearen bidez) espermatozoideetan. Gure hasierako hipotesia da Ang 1-7-k Mas hartzailearen bidez espermatozoideen biziraupen bidezidorrak aktibatzen dituela, konkretuki PI3K/Akt bidea. Bestalde, aipatuta dago Ang 1-7-k AngII-ren efektu kontrajarriak eragiten dituela; hori dela eta, AngII-k espermatozoideen mugimendua sustatzen duela jakinik, Ang 1-7-k espermatozoideen mugimendua geldiarazten duela uste dugu.

Taldeak aurretik egindako ikerketetan Mas hartzailearen mRNA-ren presentzia identifikatu zen giza espermatozoidetan (Blazquez, 2014). Hala ere, oraindik proteinaren presentzia ez da baieztatu ezta proteina hori aktiboa den ala ez. Hori dela eta, gure helburuak hauek dira:

- *Western Blot* teknikaren bidez Mas hartzailearen presentzia aztertzea giza espermatozoideetan.
- Beste ehun askotan Ang 1-7-k zelulen biziraupeneko bidezidorren aktibazioa (konkretuki PI3K/Akt bidezidorrena) eragiten duela frogatuta dago. Beraz, helburua Ang 1-7-k espermatozoideetan bidezidor honetan duen eragina aztertzea izango da, Akt proteinaren aktibazioaren azterketaren bidez.
- Ang 1-7-ak, ehun batzuetan AngII-ren efektu kontrajarriak izan ohi ditu. Ang II-k espermatozoideen mugikortasuna areagotzen duela jakinik, ikerketaren beste helburu bat Ang 1-7-k espermatozoideen mugikortasunean duen eragina aztertzea izango da.

3. Ikerketaren muina

3.1 Metodoak

Esperimentuetan erabilitako laginak Barakaldoko Gurutzetako Unibertsitate Ospitaleko Lagunduriko Ugalketa Unitatetik eskuratu dira, esperma-emaielen adostasun informatua lortu ondoren. Laginak fase-kontrasteko mikroskopia baten bidez aztertu dira.

Mas hartzailaren proteina detektatzeko, Western Blot prozedura erabili da. Bertan, proteinak pisu molekularren arabera banatu eta gero, Mas hartzailarekiko espezifikoa den antigorputz baten bidez detektatzen da proteina. Saio hauetarako erabili den zelula kantitate minimoa 30 milioikoa da. Lagin bakoitzaren proteinak erauzi dira RIPA detergentearen inkubazioen eta laginen sonikazioaren bidez. Western Blot saioetarako, lortutako proteina kantitate maximoa erabili da (10 µg ingurukoa).

Biziraupen bidezidorretan duen eragina neurtzeko, bidezidor intrazelular hauetan parte hartzen duen molekula baten aktibazioa (hots, Akt-ren fosforilazioa) aztertu da, Ang 1-7-ren eta A779 antagonistaren kantitate desberdinekin espermatozoideak hainbat denbora tartetan inkubatu ondoren, aurretik deskribatutako Western Blot teknikaren bidez. Aktibazioaren datuak lagin bakoitzaren proteina totalaren kantitatearekiko eta proteina aldagaitz baten kantitatearekiko normalizatu dira.

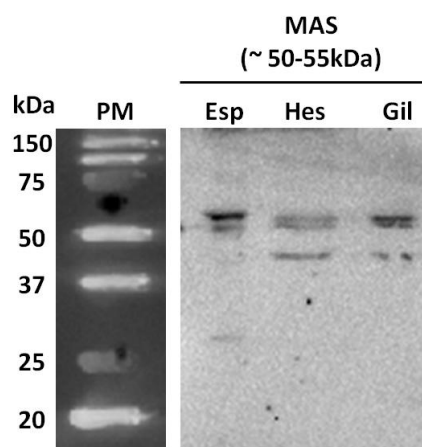
Ang 1-7-k espermatozoideen mugimenduan duen eragina ikertzeko, inkubazio-saioak burutu dira Mas hartzaila aktibatzen duen molekularen (Ang 1-7) eta inaktibatzen duenaren (A779) hainbat kontzentrazioekin zenbait denbora tartetan. Saiodi bakoitzeko espermatozoideen mugikortasuna software informatiko batekin neurtu dira. Software honek espermatozoideak hiru kategoriatan sailkatzen ditu: a mugikortasun motakoak (mugikortasun progresibo azkarra, non espermatozoideen abiadura $\geq 25 \mu\text{m/s}$), b motakoak (mugikortasun progresibo motela, non abiadura $\leq 25 \mu\text{m/s}$), c motakoak (mugikortasun ez-progresiboa, non abiadura $\leq 5 \mu\text{m/s}$) eta d motakoak (mugikortasun eza).

3.2 Emaizak

Mas hartzailaren presentzia espermatozoideetan

Gure ikerketa taldearen aurreko lan batean, PCR (Polimerase Chain Reaction) eta immunofluoreszentzia teknikak erabiliz Mas hartzailaren presentzia baieztatu zen espermatozoideetan, RNA zein proteina mailan. Hala ere, proteina horren presentzia ez da oraindik baieztatu Western Blot teknikaren bidez. Horregatik, lan honetan Mas hartzailaren presentzia espermatozoideetan baieztatzeko Western Blot teknika erabili da. Ikerketaren emaitzen arabera, Mas hartzaila espermatozoideetan proteina mailan espresatzen da (**1. irudia**). Mas hartzailaren espresioaren kontrol positibo moduan heste lodiko eta giltzurrunetako zelulak erabili dira. Proteina honen masa molekular teorikoa 43kDa ingurukoa da, beraz, kontrol positibo bietan agertzen den 43 kDa-eko banda proteina natiboari dagokiola esan daiteke. 50 eta 55 kDa inguruko gainontzeko bandak, Mas hartzaila eraldatuari egokitu dakiok. Espermatozoideetan, banda natiboa ez da agertzen,

1. irudia: Mas hartzailaren Western Blotaren analisisa giza espermatozoideetan (Esp), giza hestean (Hes) eta giza giltzurrunean (Gil). Espermatozoideak Ang 1-7 10^{-6} M-ekin inkubatua. Pisu molekularreko markatzaileak (kDa) ezkerrean agertzen dira. n=3

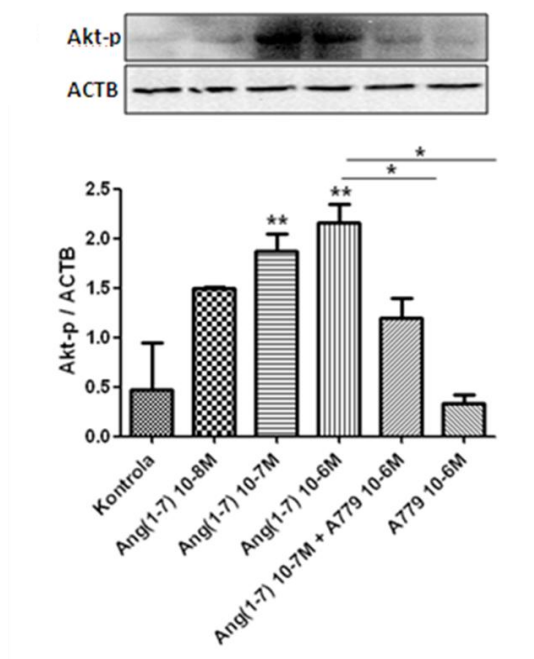


beraz pentsa dezakegu zelula hauetan proteina eraldatua soilik espresatzen dela, edota Ang 1-7-ren tratamenduaren ondorioz proteina eraldatzen dela. Dena den, hipotesi hauek baieztatzeko datu esperimental gehiago behar dira.

Ang 1-7/Mas1 hartzailearen bidezko biziraupeneko bidezidorraren aktibazioaren azterketa

Aurretiaz burututako ikerketetan Ang 1-7-k biziraupenerako PI3K/Akt bidezidorra aktibatzen duela frogatu da beste ehunetan. Hori dela eta, bidezidorraren aktibazioa espermatozoideetan gertatzen den ikertu dugu. Ikerketaren emaitzen arabera, hainbat tratamendu eta inkubazio denboratan bidezidorra aktibatzen dela baieztatu dugu (**2. irudia**), aktibazioaren intentsitatea Ang 1-7-ren dosiaren eta inkubazio denboraren menpekoa izanik. Emaitza hau bat dator beste ehunetan Ang 1-7-k dituen eraginekin.

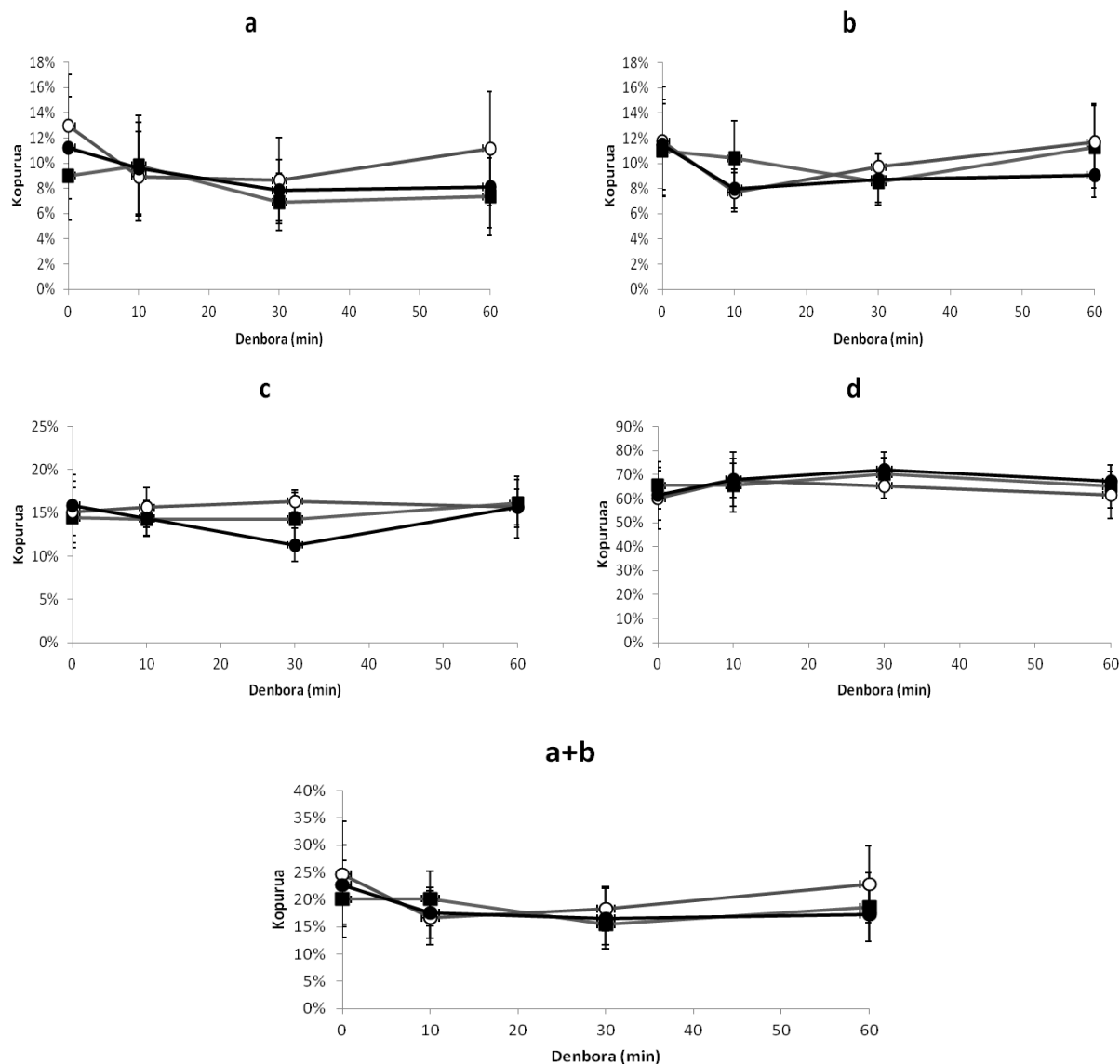
2. irudia. Akt aktibatuaren (Akt-p) banden intentsitatea jasotako tratamenduaren arabera T=0min denbora tartean. Goiko banden ilarak Western Blotaren bidez lorturiko emaitzei dagokie, eta beheko grafikoa banda hauen intentsitatearen neurketari dagokio. Emaitzak β -aktina (ACTB) kontzentrazioarekiko eta kargatu zen proteina kopuruarekiko normalizatuta daude. Datu estatistikoki adierazgarriak “*” ikurraz adierazita daude. “***” ikurrak kontrolarekiko adierazgarriak direla adierazten du.



Ang 1-7-k espermatozoideen mugikortasunean duen eragina

AngII-ak espermatozoideen mugikortasuna areagotzen du. Ang 1-7k AngII-ren kontrako efektuak eragin ohi ditunez, Ang 1-7-rekin hainbat inkubazio egin eta gero lortutako espermatozoideen mugikortasuna aztertu dugu. Ikerketaren emaitzen arabera edozein tratamendua erabilita ere ez da mugikortasunaren aldaketa esanguratsurik gertatzen (**3.irudia**). Esan beharra dago oso lagin gutxiarekin egin dela ikerketa hau, eta gainera, lagin hauen egoera ez dela batere ona izan (mugikortasuna andeatuta zuten tratamendua ezarri aurretik). Beraz, lagin berriekin esperimentuak egiten jarraituko du ikerketa taldeak.

3. irudia. Mas hartzaillearen agonista eta antagonistaren eraginaren konparaketa giza espermatozoideen mugikortasunean denboran zehar a, b, c, d eta a+b motako mugikortasunean portzentajea sortutako erantzuna. ■ Kontrola, ○ Ang 1-7 10^{-6} M, ● Ang 1-7 10^{-7} M eta A779 (10^{-6} M).



4. Ondorioak

- Mas hartzaila giza espermatozoideetan proteina-mailan espresatzen da.
- Ang 1-7 peptidoak PI3K/Akt biziraupen bidezidorra aktibatzen du espermatozoideetan.
- Ang 1-7-k 10^{-8} M – 10^{-6} M kontzentrazio tartean ez du eraginik espermatozoideen mugikortasunean.

5. Etorkizunerako planteatutako norabidea

Mas hartzaila espermatozoideetan dagoela guztiz baieztatuta geratu den arren, oraindik ez dago oso argi zein izan daitekeen hartzaila horren funtzioa espermatozoideetan. Litekeena da AngII-k eragiten dituen kontrako efektuak eragitea (esate baterako, hiperaktibazioaren inhibizioa eta abar) (Ferrario et al., 1997; Ferrario et al., 2005), baina oraindik ikertzeaz dago zein ondorio fisiologiko

eragin ditzakeen Ang 1-7-a (Mas hartzailearen bidez) espermatozoideetan. Gainera, oraindik ere ezezagunak dira Mas hartzaile aktibatuak erabiltzen dituen mekanismo molekularrak zelula barnean erantzuna sorrarazteko. Ang 1-7-k Mas hartzailearen bidezko biziraupen bidezidor baten aktibazioa eragiten duenez, bidezidor honen aktibazioa sakonki aztertzea izango da etorkizunerako bidea.

Beste ehun askotan, Ang 1-7-k bestelako biziraupen bidezidorretan eragiten duela ikusi da, beraz, ikerketaren beste helburuetako bat da espermatozoideetan bestelako biziraupen bidezidor hauen aktibazioan eraginik duen ikertzea.

Bestalde, biziraupen bidezidorrez gain, Ang 1-7-k bidezidor apoptotikoetan (hots, heriotz-mekanismoetan) eraginak dituela frogatuta dago bestelako ehunetan. Kasu honetan, heriotz bidezidor hauek inaktibatzen ditu, zelularen biziraupena bermatuz. Hori dela eta, ikerketa taldearen beste helburuetariko bat espermatozoideetan eragin berdina duen ikertzea da.

6. Erreferentziak

- Alenina N, Baranova T, Smirnow E, Bader M, Lippoldt A, Patkin E, Walther T. (2002), “Cell type-specific expression of the Mas proto-oncogene in testis”, *J Histo Cytol.* 50, 691–696.
- Blázquez, P. (2014), “Detección e inmunolocalización del receptor Mas en los espermatozoides humanos” (Gradu amaierako lana) *Biología Zelularreko saila, Medikuntza fakultatea, UPV/EHU*.
- Ferrario CM, Chapell MC, Tallant EA, Brosnihan KB, Diz DL. (1997), “Counterregulatory functions of angiotensin-(1-7)”, *Hypertension*, 30, 535-541.
- _____ Trask AJ, Jessup JA. (2005), “Advances in biochemical and functional roles of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin-(1-7) in regulation of cardiovascular function”, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 289, H2281-H2290.
- Fuchs S, Frenzel K, Hubert C, Lyng R, Muller L, Michaud A, Xiao HD, Adams JW, Capecchi MR, Corvol P, Shur BD, Bernstein KE. (2005), “Male fertility is dependent on dipeptidase activity of testis ACE”, *Nature Med.*, 11, 1140–1142.
- Giani JF, Gironacci MM, Muñoz MC, Peña C, Turyn D, Dominici FP. (2007), “Angiotensin-(1-7) stimulates the phosphorylation of JAK2, IRS-1 and Akt in rat heart in vivo: role of the AT1 and Mas receptors”, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 293, H1154-H1163.
- Gur Y, Breitbart H, Lax Y, Rubinstein S, Zamir N. (1998), “Angiotensin II induces acrosomal exocytosis in bovine spermatozoa”, *Am J Physiol*, 275, E87-93.
- Kim E, Baba D, Kimura M, Yamashita M, Kashiwabara S, Baba T. (2005), “Identification of a hyaluronidase, hyal5, involved in penetration of mouse sperm through cumulus mass”, *Proc Natl Acad.*, 102(50), 18028–18033.
- Köhn FM, Muller C, Drescher D, Neukamm C, Henkel Ri, Hagele W, Hinsch E, Habenicht UF & Schill WB. (1998), “Effect of angiotensin converting enzyme (ACE) and angiotensins on human sperm functions”, *Andrologia*, 30, 207–215.
- Langford KG, Zhou Y, Russell LD, Wilcox JN, Bernstein KE. (1993), “Regulated expression of testis angiotensin-converting enzyme during spermatogenesis in mice”, *Biol Reprod.*, 48, 1210–1218.
- Leal, MC., Pinheiro, SV., Ferreira, AJ., Santos, RA., Bordoni, LS., Alenina, N., Bader, M. and Franca, LR. (2009), “The role of angiotensin-(1-7) receptor Mas in spermatogenesis in mice and rats”, *J. Anat.*, 214, 736–743.
- Leung OS, Sernia C. (2003), “The renin-angiotensin system and male reproduction: new functions for old hormones”, *J Mol Endocrinol.*, 30(3), 263–270.

- Muñoz MC, Giani JF, Dominici FP. (2010), “Angiotensin-(1-7) stimulates the phosphorylation of Akt in rat extracardiac tissues in vivo via receptor Mas”, *Regulatory peptides*, 161, 1-7.
- Passos-Silva, Verano-Braga, Santos. (2013), “Angiotensin- (1-7): beyond the cardio-renal actions”, *Clinical Science*, 124, 443-456.
- Reis AB., Araujo FC., Pereira VM., Dos Reis AM., Santos RA. and Reis FM. (2010), “Angiotensin (1–7) and its receptor Mas are expressed in the human testis: implications for male infertility”, *J. Mol. Histol.*, 41, 75–80.
- Schuel H, Burkman LJ. (2005), “Endocannabinoid-signaling regulates functions of neurons and sperm”, *Biol Reprod.*, 73(6):1078-1086.
- Speth RC, Daubert DL, Grove KL. (1999), “Angiotensin II: a reproductive hormone too?”, *Regul. Pept*, 79, 25–40.
- Stauss CR, Votta TJ, Suarez SS. (1995), “Sperm motility hyperactivation facilitates penetration of the hamster zona pellucid”, *Biol Reprod.*, 53(6), 1280–1285.
- Vinson GP, Puddefoot JR, Ho MM, Barker S, Mehta J, Saridogan E, Djahanbakhch O. (1995), “Type 1 angiotensin II receptors in rat and human sperm”, *J Endocrinol.*, 144(2), 369-378.
- _____, Mehta J, Evans S, Matthews S, Puddefoot JR, Saridogan E, Holt WV, Djahanbakhch O. (1996), “Angiotensin II stimulates sperm motility”, *Regul Pept.*, 67, 131-135.
- Yanagimachi R. (1994): *Mammalian fertilization. The Physiology of Reproduction* (Knobil E, & Neill JD editoreak), Raven Press, New York.

7. Eskerrak eta oharrak

- Lan honetan aurkeztutako datuak behin-behinekoak dira.
- Lan honetako datuak aldizkari internazional batean publikatzeko zain dago ikerketa taldea.
- Eskerrak: Barakaldoko Gurutzetako Unibertsitate Ospitaleko Lagunduriko Ugalketa Unitateari (laginak ikerketa taldearekin partekatzeagatik), eta laginak ikerkuntzari eman dioten gizonezko guztiei. Eskerrak eman behar dizkiogu Maider Beitiari, teknikak burutzen irakasteagatik.

Litio metalikoaren gainazalaren egokitzea bateria elektrikoetarako
Ane Etxebarria-Dueñas, Oleksandr Bondarchuk, Miguel Ángel Muñoz-Márquez
CIC energiGUNE, Albert Einstein 48, 01510, Miñano, Araba
aetxebarria@cicenergigune.com

Laburpena

Energiaren biltegitratze finkoa, garraio elektrikoa eta gailu eramangarri elektronikoen arloen garapena atzerapenak jasaten ari da ez baitago eremu hauen aplikagarritasuna bermatuko duen baterien teknologia nahikoa garaturik. Litio metalikoa, kapazitate teoriko handiena daukan elementua izanik, baterietako anodo bezala luze aztertua izan da. Hala ere, oraingoz ez da aurkitu berau erabiltzeko modurik egokiena era seguru eta errentagarri batean. Litio metalikoaren egonkortasuna zehazten duen gakoetako bat atmosfera desberdinetan kontaktuan egon ondoren bere gainazalean sortzen den geruzan aurkitzen da. Lan honetan litio metalikoaren geruzaren bilakaera aztertzen da oxigeno, karbono dioxido eta nitrogeno gasen eragina duenean. Horretarako gainazalean sorturako konposatu berriak eta egitura elektronikoen emandako aldaketak zehazten dira.

Hitz gakoak: bateria, litio metalikoa, anodoa, gainazala, espektroskopia

Abstract

The areas of the stationary energy storage, the electric transport and the portable electronic devices are affected by a poor development of battery technology, which does not allow a viable and efficient application of them. Lithium metal, the element which has the highest theoretical capacity, has been widely studied as anode of the batteries, but there is still a lack of knowledge in how to use it in a safety and profitable way. One of the keys that determined the stability of the lithium metal is the passivation layer which is formed on the surface of it when the metal is in contact with different atmospheres. In this work this surface is analyzed by the compounds that form it and the change in the electronic structure of the surface which are produced by these gases: O₂, CO₂ and N₂.

Keywords: battery, metallic lithium, anode, surface, spectroscopy

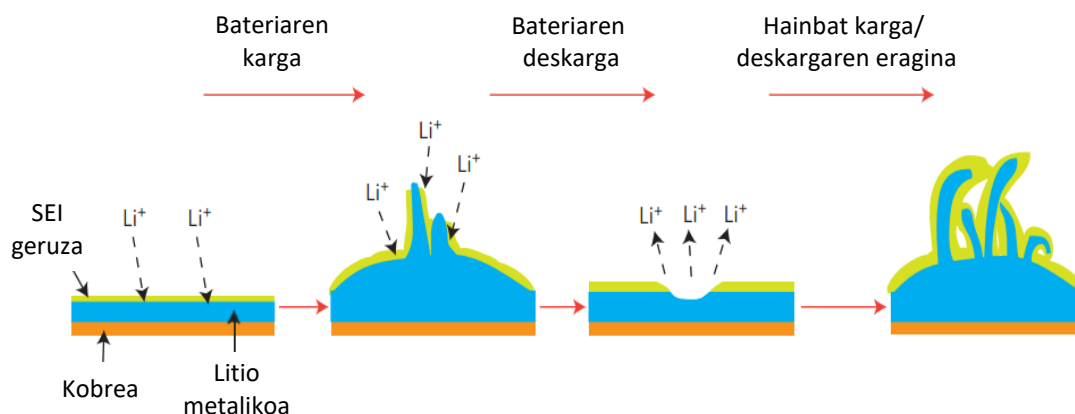
1. Sarrera eta motibazioa

Baliabide berriztagarri gehienek ez dute energia era jarraian sortzen, baldintza klimatikoek menpe daude, eguzki energia edo energia eolikoan ikus daitekeenez. Hori dela eta, berebiziko garrantzia dauka baliabide berriztagarriek sortzen duten energia bilduko duen gailu egokiak egoteak. Horrela, metaturiko energia beharrezkoa denean erabili ahaliko da. Honako lana bateriek betetzen dute, energia elektrikoa energia kimiko bihurtuz. Hala ere, oraindik baterien teknologia ez dago nahikoa garaturik funtzio hau era eraginkor eta seguru batean betetzeko. Honetaz gain, baterien garapena funtzeskoa da etorkizunean erregai autoak auto elektrikoengatik ordezkatu nahi baldin badira (Roy eta Srivastava, 2015). Gailu elektroniko eramangarriak energiaz hornitzeko arduradunak ere badira bateriak, baina egun ez dira teknologia honen garapen abiadura jarraitzeko gai. Honekin guztiarekin ezin ukatuzkoa da baterien merkatu potentzialen existentzia, non, gainera, karbono dioxido gasaren isurpena gutxitu daitekeen potilika egokiak erabiltz gero, berotegi efektua murrizte bidean.

Baterietan hiru konposatu nagusi bereiz daitezke: anodoa edo elektrodo positiboa, katodoa edo elektrodo negatiboa eta elektrolitoa, zeina elektrikoki isolatzailea eta ioiekiko eroalea den. Propietate hauekin elektrolitoak bi elektrodoen arteko ioien migrazioa ahalbidetzen du. Egun erabiltzen den anodo nagusia grafitoa da. Litio metalikoak baditu grafitoaren aurrean abantailua ugari: kapazitate espezifiko teoriko altuagoa (3860 mA h g^{-1} , grafitoaren kapazitatea 372 mA h g^{-1} izanik), dentsitate baxua (0.53 g cm^{-3}) eta ezagutzen den potentzial elektrokimiko negatibo

txikiena (-3.040 V hidrogeno estandarra erreferentziatzen hartuta), azken hau bateriak energia handiagoa ematearen erantzulea delarik. Hala ere, gaur egun ez dago litio metalikoa bateriak birkargagarrietan erabiltzerik segurtasun eta eraginkortasun arazoak direla eta. Arazo hauen jatorria litioa eta elektrolitoaren artean sortzen den geruzan dago. Bateriaren karga eta deskargak geruzaren morfologia aldatzen dute, 1. irudian ikusten denez. Honek baterian zirkuitulaburrak sortzea eta bere bizitza laburtzea eragiten du, baita biltzeko gai den energia txikiagoa izatea ere (Xu et al., 2014). Beraz, baterietan litio metalikoa erabiltzeko arlo garrantzitsuenetako bat elektrolito eta gainazalaren artean sortzen den geruzan dago, zeina SEI (*Solid Electrolyte Interface*) bezala ezagutzen den. Hori dela eta, ikerketa honetan geruza hau oinarritik aztertzea erabaki da litioa egonkortzeko gakoak topatu nahian.

1. irudia. Karga eta deskarga prozesuen ondorioz litio metalizko anodoan sortzen diren egitura desberdinen diagrama, baterian hutsa eragiten dutenak.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

SEI geruza egonkortzeko estrategiak bi multzotan sailka daitezke: SEI geruza litioaren eta elektrolitoaren kontaktu zuzenaz sortzen dutenak (*in situ* SEI) eta litioari aurre tratamendu bat egiten diotenak aurretiazko babes kapa bat izan dezan metalak (*ex situ* SEI).

Lehenengo teknika elektrolitoaren konposizioaren bariazioan oinarritzen da. Elektrolitoan bi osagai bereizten dira: disolbatzailea eta gatzak. Disolbatzailerik erabilienak dimetilo karbonatoa (DMC) eta dimetoxietanoa (DME) dira, baina hauen alternatiba ugari ere aztertu dira azken urteotan, garrantzi berezia hartuz tetrahidrofuranoak (THF), propileno karbonatoak (PC) eta disolbatzaile organiko desberdinen nahasketek. Disolbatzaile bakoitzak eragin desberdina du bateriaren gain. Esterako, THF-ak PC-ren eraginkortasuna hobetzen du, baina azken hau egonkorragoa da oxidazioarekiko. Gatzei dagokienez, SEI geruza fina sortzen dute LiBr, LiClO₄ y LiAsF₆ gatzek. Hala ere, arsenikoa daukaten gatzak baztertu egin dira material honen toxikotasuna dela eta. SEI geruza sendoago bat osatzeko bidean gatz erreaktiboagoak ere aztertu dira: LiBF₄, LiPF₆, LiSO₃CF₃ eta LiTFSi (Xu et al., 2014). Beste aukera bat elektrolito komertzialetan gehigarriak sartzea izan da. Hauen artean CO₂, HF eta LiF dira ipagarrienetarikoa. Nahiz eta ikerkuntza oso zabala den, oraindik ez da elektrolitoaren konposizio egokirik lortu litio metalikoaren erabilera bermatuko duena.

Bigarren ildoan jarraitzen duten teknikak litioaren gainazalarean modifikazioak eragiten dituzte elektrolitoarekin kontaktuan jarri aurretik. Honakoaren adibide bat tetraetoxisilanoaren (TEOS) erabilera da. Litioak konposatu honekin erreakzionatzen du eta litioaren inguruan siliziozko geruza bat sortzen da, berau babestuz (Umeda et al., 2011). Beste lan interesgarri batean Al₂O₃ partikulen eta

kopolimero batean nahastearen ondorioz sortzen den geruza erabiltzen dute litio metalikoa egonkortzeko (Hongkyung et al., 2015).

Ikerketa honetan aurkezten den lana bigarren ildo honetan kokatzen da. Honakoan *ex situ* SEI geruza sortzeko erabiltzen den teknika hurrengoa izan da: metala gas desberdinetara bistararazi da huts altuko egoeran (UHV, *Ultra High Vacuum*). Horrela, elektrolitoan oinarritik ez duen SEI geruza sortzen da litioaren gainazalean. Gasekin kontaktuan egon aurretik litio honen gainazala garbitu egin da. Honi esker, lagina gainazalpeko ezpurutasunez libre egongo da, litio metalikoa daramaten baterietako bizi-iraupen laburra eta efizientzia eskasaren erantzuleetako bat (Harry et al., 2013). Aztertu diren gasak atmosferan aurkitzen diren O_2 , CO_2 eta N_2 gasak izan dira. Izan ere, litio metalikoa lantzen den ingurugiroan ohikoa izango da honako gasak aurkitzea, eta interesgarria da litio gainazalak gas hauen ondorioz dituen aldaketak ulertzea oinarri-oinarritik. Fotoigorpen espektroskopia teknikak erabili dira sorturiko gainazalak aztertzeko: XPS (*X-Ray Photoelectron Spectroscopy*) eta UPS (*Ultraviolet Photoelectron Spectroscopy*). Lehengo teknika jada zabalki erabilia izan da landuriko gainazalean sortzen diren konposatuak zehazteko (Li et al., 2015). Bigarren teknikaren bidez gainazalen lan-funtzioa (w_f , *work-function*) determina daiteke. Parametro honek elektroio bat gaianzaletik ateratzeko beharrezko energia zenbat den adierazten du, non ikerketa teorikoek aurreikusten duten gas hauekin sorturiko gainazala litio metalikoa baino are metalikoagoa izango dela (Koch et al, 2015). Beraz, helburua litioaren gainazalean geruza egonkorra sortzea da metal hau bateria birkargagarrietan erabili ahal izateko.

3. Ikerketaren muina

3.1 Prozedura esperimentalak

Bai laginaren prestaketa bai karakterizazio espektroskopikoa ekipo berdinean burutu dira: CIC energiGUNEko Gainazalen Azterketa Plataforman aurkitzen den teknika anitzeko ekipoan, *Especs GmbH* etxekoa. Ekipo bakarra izateak prozesu guztiak UHV baldintzapean egitea ahalbidetzen du, lagina kutsatzea ekidinez.

Laginen prestaketa. Laginak prestatzeko bi pausu burutu dira: lehenik litio metalikoaren gainazalaren garbiketa eta ondoren gasen deposizioa. Litio metaliko komertzialak, nahiz argoi atmosferapean gorde, gainazaleko litioa guztia oxidatua dauka. Helburua litio metalikoaren interakzioak aztertzea denez, gasak depositatu aurretik litioaren garbiketa egin da. Honakoa Ar ioien bonbardaketaren bidez burutu da. Horrela, %90 baino litio metaliko gehiagoko gainazala lortzen da. Behin litio gainazal hau izanda, gasen deposizioa burutu da UHV-eko baldintzapean.

Laginen karakterizazioa. Bi teknika espektroskopiko baliatu dira gainazala aztertzeko. Biak efektu fotoelektrikoan oinarritzen dira, baina aztertzen dituzten elektroioak desberdinak izanik informazio desberdina eskeintzen dute. XPS-ren bidez gainazaleko (10 nm inguru) elementuen barne elektroien energia aztertzen da, bertan daude elementuak identifizatuz, baita beraien oxidazio egoera ere. Elementuak elkarren artean erlazionatuz gainazalean sortu diren konposatuak determina daitezke. UPS teknikak, berriz, gainazaleko elementuen balentzi bandako elektroioak aztertzen ditu, eta beraiekin, besteak beste, lehen elektroioak askatzeko beharrezko energia azter daiteke, gainazalaren lan-funtzioa emango duena.

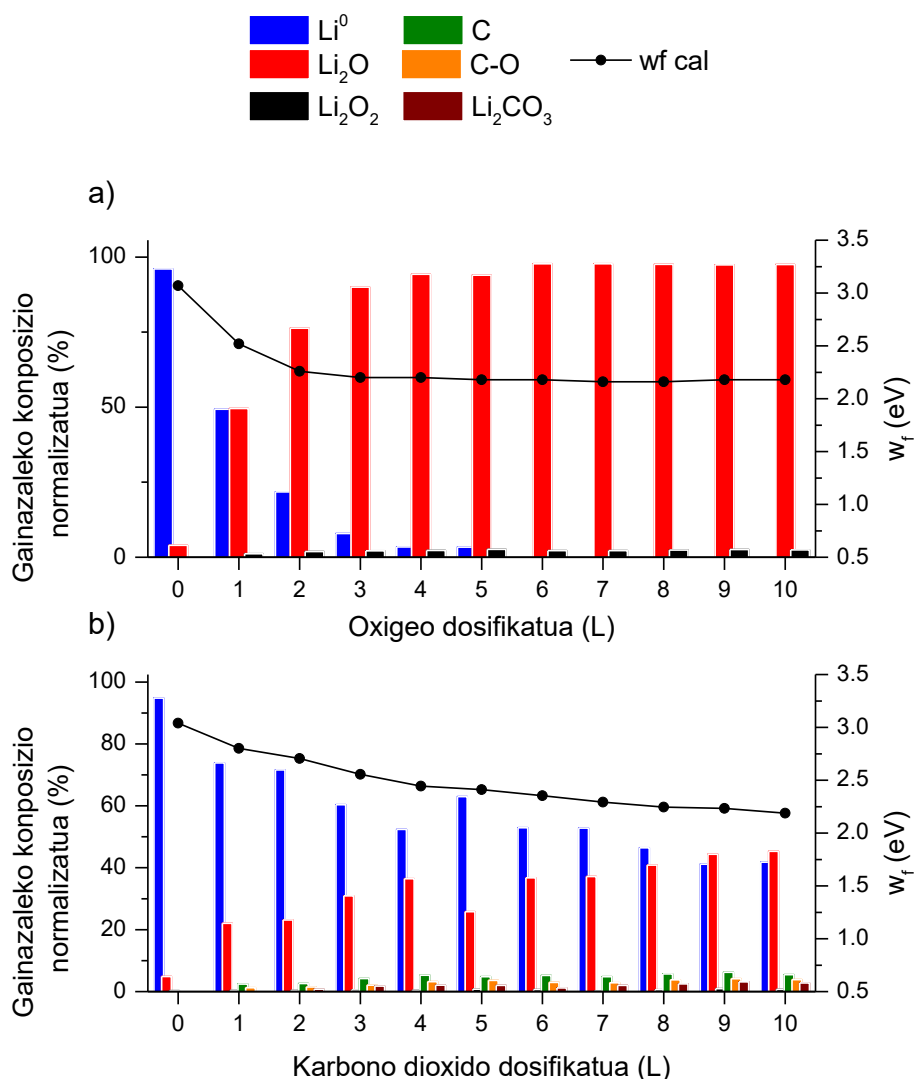
3.2 Emaita esperimentalak

Gasen dosifikazioak 1-1000 Langmuir (L) artean burutu dira, non Langmuir batek 10^{-6} Torr-eko presiopean 1 s irauten duten dosifikazioa adierazten duen. Ondoren, lorturiko emaitza esperimentalak adieraziko dira, bi multzotan banatuak: 1-10 L arteko dosifikazioak eta 1-1000 L artekoak.

1-10 L arteko dosifikazioak. Oxigenoaren eta karbono dioxidoaren ondorioz gainazalean sorturiko konposatuak 2. irudian adierazi dira. Azteturiko bi gas hauek erreakzio abiadura desberdina daukate

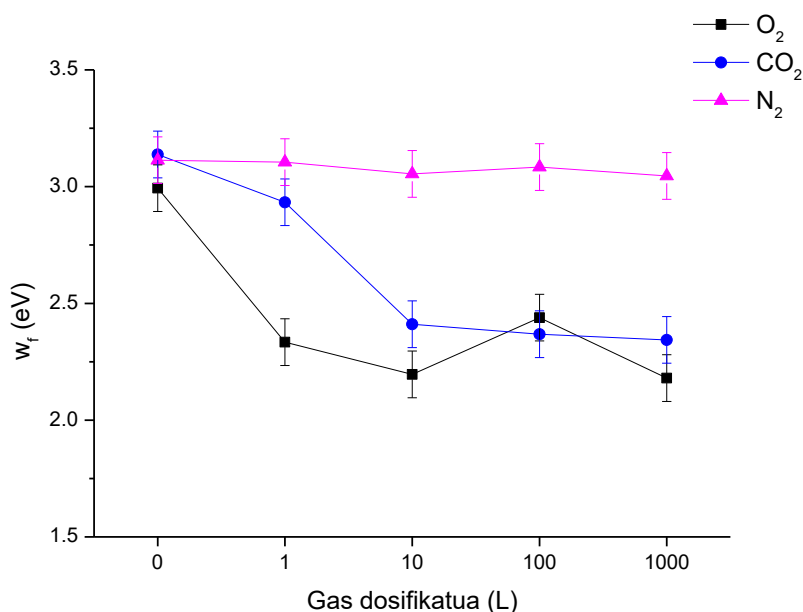
litioarekin. Oxigenoaren kasuan, 2 L nahikoa dira gainazaleko konposatu nagusia litio metalikoa ez izateko. Karbono dioxidoaren kasuan, berriz, litio metalikoak gainazalean dirau, konposatu nagusi bezela. Lan funtzioari dagokionez bi gas hauek litio metalikoaren lan-funtzioa txikiagotzea dakarte, 2. irudian ikus daitekeenez. Honakoak adierazten du errazagoa dela gainazaletik elektroia bat askatzea, berau metalikoago bihurtuz. Lorturiko emaitzak jadanik eginiko kalkulu teorikoekin bat datoz (Koch et al, 2015). Dosifikazio hauetarako nitrogenoak ez du litioarekin erreakzionatu, konposatu eta lan funtzioak konstante mantenduz 10 dosifikazioetarako.

2. irudia. Oxigeno (a) eta karbono dioxido (b) gasen ondorioz litio gainazalean sortzen diren konposatuak eta gainazalaren lan-funtzioaren aldaketa, 1-10 L-eko dosifikazioetarako.



1000 L arteko dosifikazioak. 1000 L arteko dosifikazioetan lorturiko lan funtzioak 3. irudian irudikatu dira. Aurretik ikusiriko tendentzia mantentzen dela baieztatzen dute emaitza hauek: O_2 eta CO_2 gasek lan funtzioaren dekrezioa dakarte, eta N_2 gasak baldintza hauetan erreakzionatu gabe darrai. O_2 eta CO_2 gasak alderatzu gero, oxigenoak lan funtzioaren beherakada nabarmenagoa eragiten du (100 L-ko emaitza errore esperimentalaren barnean koka daiteke), lagina gehiago erreakzionatzen (oxidatzen) ari den seinale.

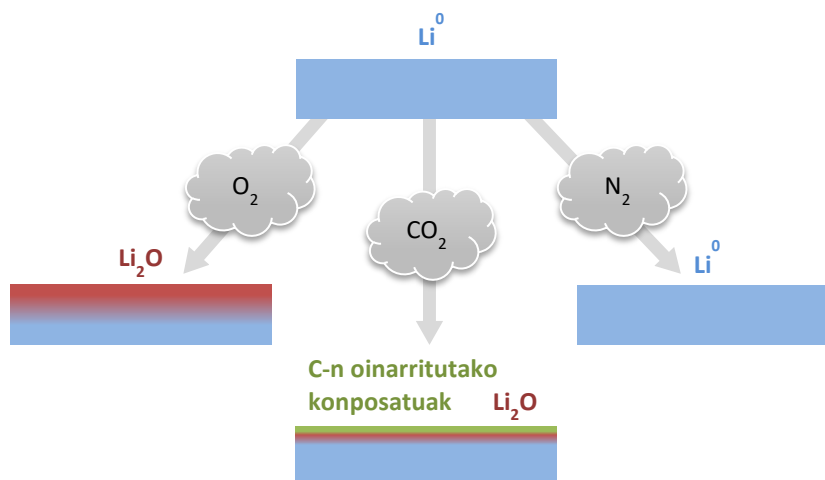
3. irudia. Oxigenoa, karbono dioxidoa eta nitrogenoaren eragina litio gainazalaren lan-funtzioan, 1-1000 L arteko dosifikazioetarako.



4. Ondorioak

Ikusiriko emaitzen ondorio nagusia konposizioari dagokionez 4. irudian laburtu da. Bertan agertzen den bezala, litioak abiadura handiagoan erreakzionatzen du oxigenoarekin karbono dioxidoarekin baino, litio gehiago oxidatuz lehenengo kasuan. Baliteke honen erantzulea litio gainazalean sortzen diren karbonoan oinarritutako konposatuak izatea, zeinak adieraziko lukeen litioa oxidaziotik babesteko gai direla. Nitrogenoari dagokionez, ez du litio metalikoarekin erreakzionatzen aztertutako kasuetarako. Bestalde, litio metalikoaren lan funtzioa txikiagotu egiten da gainazalak O₂ eta CO₂ gasekin erreakzionatzen duenean, gainazala metalikoago bihurtuz. Honakoa emaitza interesgarria da litio egokitu hau anodo bezala erabili nahi baldin bada. Izan ere, baterietako anodoetan gainazalaren lan funtzioa handitzea komenigarriagoa da. Ikuspuntu honetatik oxigenoa eta karbono dioxidoak ez lukete bateriaren funtzionamendua hobetu beharko.

4. irudia. Gas desberdinen eragina litioaren gainazalaren konposizioan.



5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Hurrengo pausua landuriko litio lagin hauekin bateriak eratzea litzateke, aurreikusiriko portaera betetzen duten aztertzeke. Horrela, euren errendimendu elektrokimikoaren eta lan funtzioaren artean korrelazio bat bilatu daiteke. Portaera hau gainazalean dauden konposatu berriekin erlazionatzea ere planteatzen da. Honetaz gain, dosifikazio altuagoak egitea eta gas desberdinekin gainazalaren bilakaera aztertzea aurreikusia dago.

6. Erreferentziak

Harry K. J., Hallinan D. T., Parkinson D. Y., Alastair A. MacDowell A. A., eta Balsara N. P., (2013), Detection of subsurface structures underneath dendrites formed on cycled lithium metal electrodes, *Nature Materials*, 13, 69-73.

Hongkyung L., Dong J. L., Yun-Jung K., Jung-Ki P. eta Hee-Tak K. (2015), A simple composite protective layer coating that enhances the cycling stability of lithium metal batteries, *Journal of Power Sources* 284, 103-108.

Koch S. L., Morgan B.J., Passerini S., eta teobaldi G., (2015), Density functional theory screening of gas-treatment strategies for stabilization of high energy-density lithium metal anodes, *Journal of Power Sources*, 296:150–161.

Li W., Yao H., Yan K., Zheng, Liang Z., Chiang Y. M., eta Cui Y., (2015), The synergetic effect of lithium polysulfide and lithium nitrate to prevent lithium dendrite growth, *Nature Communications*, 6:7436.

Roy, P., eta Srivastava, S. K. (2015), Nanostructured anode materials for lithium ion batteries, *Journal of Materials Chemistry A*, 3(6), 2454-2484.

Umeda G. A., Menke E., Richard M., Stamm K. L., Wudl F., eta Dunn B. (2011), Protection of lithium metal surfaces using tetraethoxysilane; *Journal of Materials Chemistry*, 21, 1593–1599.

Xu, W., Wang, J., Ding, F., Chen, X., Nasybulin, E., Zhang, Y., eta Zhang, J. (2014), Lithium metal anodes for rechargeable batteries, *Energy and Environmental Science*, 7(2), 513-537.

7. Eskerrak eta oharrak

Proiektu honek Europar Batasuneko diru-laguntza jaso du ondorengo programatik: European Union's Seventh Programme for research, technological development and demonstration, 608502 zenbakiko beka akordioaren bidez.

Kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren arteko elkarreragina erreken funtzionamenduan

Olatz Pereda¹, Daniel von Schiller¹, Vicenç Acuña², Jordi René Mor², Muñoz Isabel⁴,
Sergi Sabater^{2,3} & Arturo Elosegí¹

¹ Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea, PO Box 644, 48080, Bilbo, Bizkaia.

² Kataluniako Uraren Ikerketa Zentroa (ICRA), Emili Grahit kalea 101, 17003 Girona, Girona.

³ Uretako Ekologiaren Institutua, Gironako Unibertsitatea, Montilivi Kanpua, 17071 Girona, Girona.

⁴ Ekologia Departamentua, Biologia Fakultatea, Bartzelonako Unibertsitatea (UB), Diagonal Etorbidea 643, 08028 Bartzelona, Bartzelona.

Kontakturako e-posta: olatz.pereda@ehu.eus

Laburpena

Hiri-guneetako kutsadura oso estres faktore garrantzitsua da ibaientzat. Ur-eskasiak sistema hauek kalte ditzake ere, diluzio-gaitasunean eta hortaz, kutsatzaileen kontzentrazioan eragina baitu. Gure helburua kutsadura urbanoaren eta ur-eskasiaren elkarreraginaren efektua aztertzea izan zen ibai ekosistemen funtzionamenduan. Prozesu desberdinen erantzuna neurtu genuen lehorte gradiente batean kokatuta zeuden 13 erreketan Ebroko arroan zehar; bertan, isurketetatik behera (inpaktuak) eta gora zeuden tramoak aztertuz (kontrolak). Prozesuek, ordea, modu desberdinean erantzun zuten, isurketen ezaugarrien eta erreken diluzio-gaitasunaren arabera.

Hitz gakoak: kutsadura, ur-eskasia, deskonposaketa, mantenugaien atxikimendua, metabolismoa

Abstract

Pollution of urban areas is an important stress factor for rivers. Water scarcity can also affect these systems, as it determines the dilution capacity and affects pollutants final concentration. We evaluated the interactive effects of pollution and water scarcity on river ecosystem functioning. We analysed the response of different processes into 13 streams arranged in a gradient of water scarcity in the Ebro River basin, where reaches downstream (impact) received sewage inputs, while those upstream were used as control. Results show diverging responses among the processes, which depends on the effluent characteristics and the dilution capacity of the receiving water body.

Keywords: pollution, water scarcity, decomposition, nutrient uptake, metabolism

1. Sarrera eta momentuko egoera

Azken hamarkadetan, giza-populazioaren tamaina, garapen ekonomikoa eta baliabideen erabilera esponentzialki emendatu dira (Krausmann *et al.* 2009), eta ondorioz, dimentsio globalak dituen ingurumen aldaketa eragin dute (Vitousek, 1994; Steffen *et al.*, 2007). Aldaketa globalaren ondorio kaltegarrienetako bat herri eta hiri-guneetan sortzen den kutsadura da, azken urteotan mundu osoko ibai eta erreka askoren estres faktore nagusia bilakatu dena. Iberiar Penintsula ez da salbuespena, eta bertan ere kutsadura urbanoaren iturri asko daude, batzuk tratatu eta araztuak, eta beste batzuk tratatu eta araztu gabeak (Serrano, 2007). Oraindik ere, tratatu gabeko ur masen kopurua oso handia da eta horregatik, arazo hori ekiditeko, araztegi asko eraiki eta funtzionamenduan ipini dira azken urteotan. Hala ere, araztegiek ez dute lortzen ibai eta erreketara heltzen den kutsadura erabat desagertaraztea eta koktel edo nahasketa oso konplexuak isurtzen dituzte. Substantzia horiek jarduera biologikoa areagotu edo murriztu dezakete, koktel konplexuen eragina aurreratu zail eginik.

Odum eta lankideek (1979) proposatutako Subsidio-Estresaren hipotesiaren arabera, erreketara edo ibaietara heltzen diren substantziak, euren konposizioaren edota amaierako kontzentrazioaren arabera, subsidio bezala joka dezakete aktibitate biologikoak bultzatuz edo kontrara, estres moduan joka dezakete aktibitate biologikoak murriztuz. Adibidez, substantzia toxikoak, pestizidak kasu, erreketara heltzen diren momentutik ez dira asimilagarriak eta hortaz, kontzentrazio baxuetan bada ere, aktibitate biologikoak murrizten dituzte. Mantenugaien moduko beste substantzia asko, aitzitik, erreketarako asimilagarriak dira kontzentrazio baxu edota ertainetan, eta beraz aktibitate biologikoa bultzatzen dezakete. Kontzentrazio jakin batzuetatik aurrera, ordea, toxiko bihurtzen dira eta aktibitate biologikoak murriztera igaroko dira.

Era berean, ur-ekasias beste estres faktore garrantzitsua da, aldaketa klimatikoaren edota gizakiaren jardueraren ondoriozkoa bada ere, eta mundu osoko ibai eta erreketako asko horren eraginaren menpean daude (Nilsson *et al.*, 2005; Sabater, 2008). Ur-ekasiaren eraginez, kutsatzaileen kontzentrazioa handitzen da, ibaien diluzio-gaitasuna murriztearen ondorioz. Muturreko kasu batzuetara heldu arte, non, errekek daukaten emari osoa tratatu edo tratatu gabeko isurketak baitiren.

2. Ikerketaren helburuak

Ikerketa honen helburu nagusia kutsadura urbanoaren eta ur-ekasiaren arteko elkarreragina aztertzea da ibai-ekosistemen funtzionamenduan. Gure lehenengo hipotesiaren arabera, neurtutako erantzun biologiko guztiek subsidio-estres moduko eskema bat jarraituko dute; baina euren artean desberdintzatuko dira gehieneko aktibitateara heltzen diren kontzentrazioari dagokiola. Eta gure bigarren hipotesiaren arabera, ur-ekasiak kutsaduraren efektua areagotuko du, estres mailari dagokion atalasea murriztuko baitu aldagaietako bakoitzarentzat.

3. Ikerketaren muina eta ondorioak

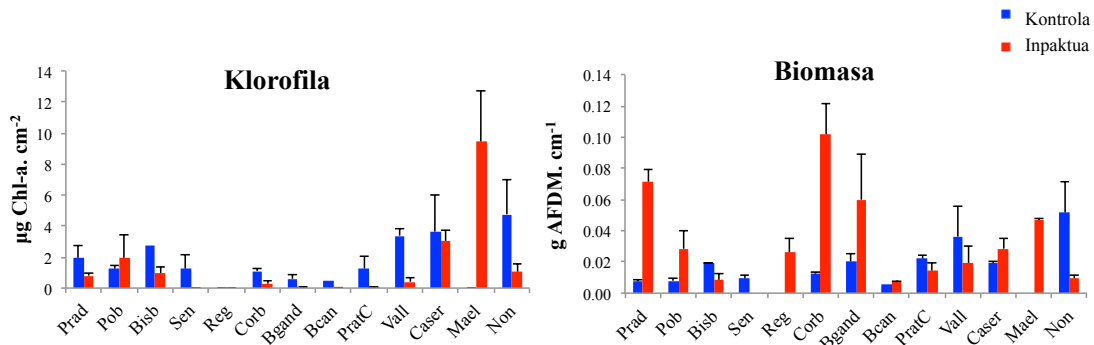
Hamairu erreka aztertu dira Ebroko arroan, lehorteen eraginak eta kutsadura mailak sortzen dituen bi gradiente gogorretan. Aztertutako puntuek ahalik eta aldakortasun mailarik handiena jasotzea izan da helburua, guztiz kutsatutako eta tratatu gabeko isurketak jasotzen dituzten erreketatik, tratatutako araztegien isurketak jasotzen dituztenak; eta modu berean, erabat lehorrak diren erreketatik eta inolako diluzio-gaitasunik ez dutenetik, emari handia eta hortaz, diluitzeko gaitasun altua dutenak. Horietan guztietan bi tramo desberdin aztertu dira: bat isurketatik gora (kontrola) eta bestea isurketatik behera (inpaktua). Urtebetean zehar habitat fisikoaren, uraren kalitatearen, komunitate biologikoen eta ekosistemaren funtzionamenduaren jarraipena egin da. Funtzionamenduari dagokionez, materia organikoaren deskonposaketa, mantenugaien atxikimendua eta metabolismoak neurtu dira.

a. Biofilmaren egitura

Biofilma erreken hondoan itsatsita hazten den komunitatea da, algaz, bakterioz eta beste hainbat izakiz osatua. Guk biofilmaren biomasa neurtu dugu, eta baita klorofila kontzentrazioa, algen ugartasunaren berri ematen duena. Horretarako, azalera ezaguneko substratu artifizialak, akuarioren arazketa areagotzeko erabiltzen diren biofilm-eramale izenekoak, jarri genituen errekan, eta hiruzpalau hilabetez bertan utzi, biofilmak koloniza zitzen. Ondoren, substratuak hartu eta marruskatzen ziren, eta erauzitako materiala iragazi (1.2 μ m). Biomasa neurtzeko, filtroak lehortu (70 °C, 72

h), pisatu, erre (500 °C, 5 h) eta berriro pisatzen ziren. Klorofila neurtzeko filtroak gau oso batez utzi ziren azetonatan (10 mL, %90 v/v, 4 °C), zentrifugatu eta espektrofotometriaz neurtu (Sartory & Grobbelaar, 1984).

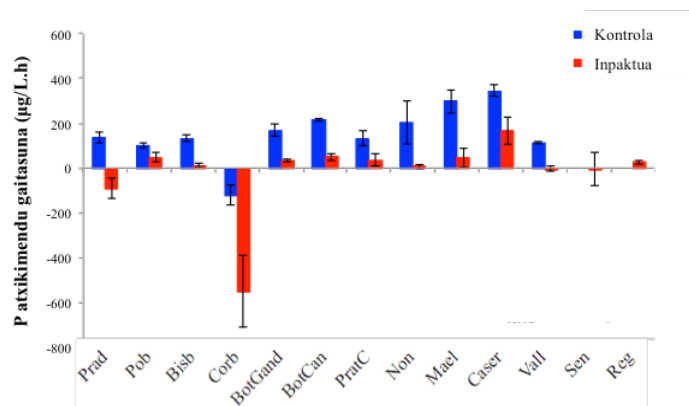
1. irudia: Biofilmaren klorofila (ezkerrean, $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) eta biomasa (eskuinean, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$). Urdinez Kontrol aldeak, gorritz Inpaktuak. 2015eko udazkena.



Kontrol aldeetan klorofila kontzentrazioa inpaktatuetan baino handiagoa zen (1. Irudia; modelo mistoen bidezko analisisa, $F_{1,4} = 8.43$; $p = 0.004$), baina biomasa txikiagoa (modelo mistoen bidezko analisisa, $F_{1,4} = 8.63$; $p = 0.002$). Hau da, isurketa urbanoek biofilma heterotrofoagoa egiten dute.

b. Mantenugaiaren atxikimendua biofilmean

Biofilmak mantenugaiak atxikitzeko duen gaitasuna neurtzeko bioentsegu berri bat diseinatu genuen. Errekan hiruzpalau hilabetez inkubatutako biofilm-eramaleak laborategira eraman genituen eta ordubetez inkubatu genituen 100 $\mu\text{g P/L}$ -ko soluzio batean. Inkubazioa amaitzean, soluzioan geratzen zen fosforo kontzentrazioa neurtu genuen espektrofotometroan (Murphy eta Riley, 1962), eta hortik kalkulatu zen biofilmak atxikitako fosforoa.

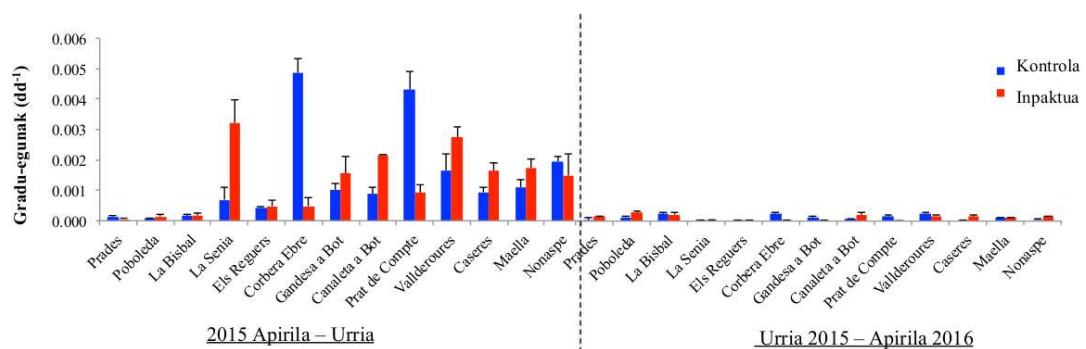


2. irudia: Biofilmak fosforoa atxikitzeko duen gaitasuna ($\mu\text{g P}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Urdinez Kontrol aldeak, gorritz Inpaktuak. 2015eko udazkena.

Inpaktu aldeek kontrolek baino gaitasun baxuagoa erakusten dute fosforoa atxikitzeko (2. Irudia; modelo mistoen bidezko analisisa, $F_{1,4} = 67.49$; $p < 0.0001$), eta beraz, isurketek biofilmaren funtzionamendua kaltetzen dute. Muturreko puntu batzuetan biofilmak fosforoa atxiki baino, askatzera heltzen den.

c. Materia organikoaren deskonposaketa

Materia organikoaren deskonposaketa funtsezko prozesua da erreketan, bazka-sare garrantzitsuen abiapuntua baita. Prozesu integratzailea da erabat, abrasio fisikoa, kolonizazio mikrobiarra eta ornogabeen bidezko prozesuak biltzen baititu, eta horrez gain, oso prozesu sentikorra da estresore antropogeniko askoren aurrean. Materia organikoaren deskonposaketa mihi-depresoren metodoaz neurtu genuen zen (Aristi *et al.*, 2012; Arroita *et al.*, 2013). Egurrezko makiltxoak banan-banan identifikatu ziren, lehortu (70 °C, 72 h), pisatu eta bosnaka errekan sartu ziren. Sei hilabeteren buruan materiala jaso zen (2015eko udazkenean eta 2016ko udaberrian). Behin laborategian, materiala garbitu zen ornogabeak edota partikula mineralak kentzeko, lehortu (70 °C, 72 h), pisatu, erre (500 °C, 5 h) eta berriro ere pisatu zen. Deskonposaketa tasak eredu esponontzial negatiboaren bidez kalkulatu ziren (Petersen & Cummins, 1974), gradu-egunetan, tenperaturaren efektua zuzentzeko.



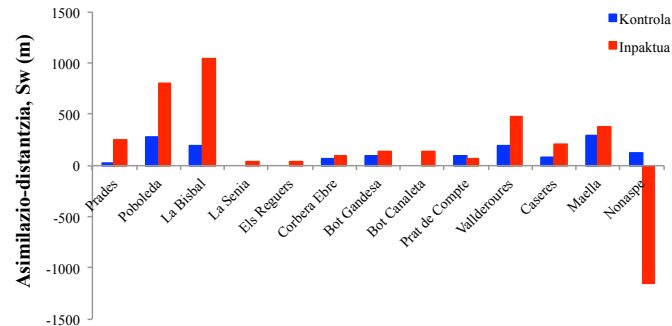
3. irudia: Mihi-depresoreen deskonposaketa tasak gradu egunetan (dd⁻¹). Urdinez Kontrol aldeak, gorritz Inpaktuak.

Lagindutako puntuen artean aldakortasun handia zegoen, nahiz eta diferentzia orokorra estatistikoki esangarria izan ez (3. Irudia; 2015 Apirila-Urria: modelo mistoen bidezko analisia, $F_{1,4} = 0.49$, $p = 0.48$; 2015 Urria- 2016 Apirila: modelo mistoen bidezko analisia $F_{1,4} = 0.99$, $p = 0.33$). Antzeman daitezkeen diferentziarik nabarmenenak, aitzitik, laginketa-faseari dagozkio, deskonposaketa tasa askoz ere altuagoak eman baitziren 2015eko udaberriaren eta udazkenaren artean, 2015eko udazken eta 2016ko udaberriaren artean baino. Beraz, itxuraz isurketa urbanoek ez dute eragin orokorrik materia organikoaren deskonposaketan.

d. Mantenugaien atxikimendua ekosistema mailan

Ekosistemak mantenugaiak atxikitzeke duen gaitasunak islatzen du disolbatutako mantenugaiak, orokorrean mugatzaileak diren nitrogenoa eta fosforoa, ur-zutabetik zelan ateratzen diren. Erreken eta ibaien auto-depurazio gaitasunarekin erlazio estua duen prozesua da eta berezko zerbitzu ekosistemiko garrantzitsu bat izan daiteke. Mantenugaien atxikimendua neurtzeko, amonioa (NH₄CL) eta fosfatoa (NaH₂PO₄) erreka uraren 30 litrotan disolbatu genituen, gatzak ere eranstean genion disoluzio honi, trazatzaile hidrologiko moduan, eta erreka bat-batean isuri genuen. Ikerketa-aldearen beheko muturrean konduktibitatea neurtzen genuen, eta horrela ikusten genuen noiz igarotzen zen guk isuritako ur-masa gazia. Konduktibitatea igotzen joan zen ahala, ur laginak hartzen genituen (10 mL), bertan iragazi (aurretiaz erraiztatutako 0.7 µm-ko poro tamainako filtroen bidez), eta izoztuta mantetzen genituen analisiak egin

arte. Fosfato kontzentrazioa espektrofotometria bidez neurtu zen (Murphy eta Riley, 1962) eta amonio kontzentrazioa, ordea, kolorimetria bidez (Krom, 1980). Ondoren, zenbait metrika kalkulatu ziren, hala nola, atxikimendu tasak (s^{-1}), mantenugaiek egindako distantzia (m), atxikimenduaren abiadura ($m.s^{-1}$) eta atxikimendua eman deneko azalera ($\mu g.min^{-1}.m^{-2}$) (Martí eta Sabater, 2009).



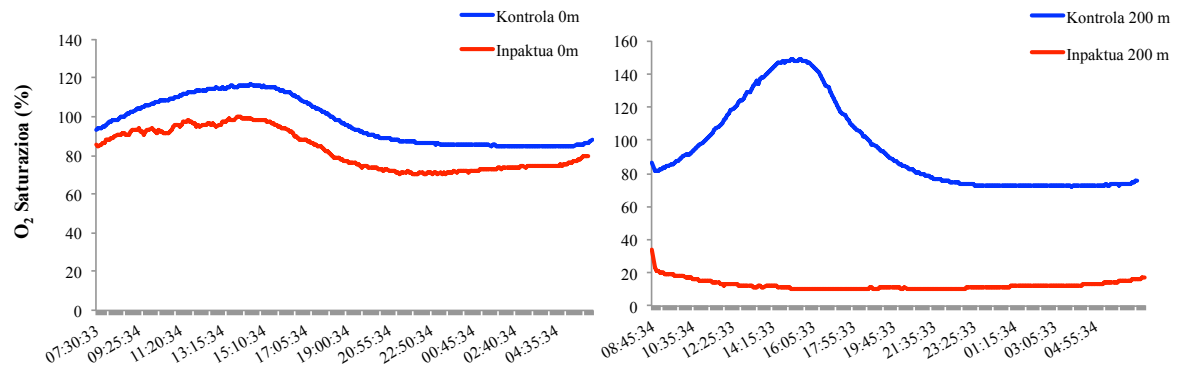
4. irudia: Fosfato-atomoek uretan disolbatuta egiten errekan egiten duten distantzia (m). Urdinez Kontrol aldeak, gorris Inpaktuak.

Lagindutako puntuen artean aldakortasun handia zegoen, baina orokorrean Inpaktu aldeek Kontrolek baino distantzia luzeagoak zituzten, hau da, ez ziren hain eraginkorrak ura arazteko orduan. Diferentziak estatistikoki esangarriak izan zirenez (4. Irudia; modelo mistoen bidezko analisia, $F_{1,4} = 6.84$; $p = 0.04$), uste da isurketa urbanoek ekosistema horien funtzionamendua kaltetzen dutela. Muturreko kasuetan, errekarik kutsatuenek, berriz, fosfato-iturri modura ere joka dezakete.

e. Ekosistema osoaren metabolismoak

Ekosistemaren metabolismoak bertan dauden bizidun guztien aktibitate metaboliko bateratua biltzen du, eta lotura handia dauka mantenugaiei eta energiaren birziklapen eta fluxuekin. Metabolismoak bi osagai ditu, ekoizpen primario gordina (EPG: materia organiko berriaren ekoizpena) eta ekosistemaren arnasketa (EA: ekoiztutako energia hori erabiltzean ematen den materia organikoaren oxidazioa). Nahiz eta erreketan bide ugari dauden materia organikoa ekoiztu eta oxidatzeko, fotosintesia eta arnasketa aerobikoa dira gehien aztertu izan diren prozesuak, biek eragiten baitituzte aldaketak uretako oxigeno kontzentrazioan. Metabolismoak izaera integratzailea du, eta informazioa ematen du ekosistema baten egoera ekologikoaren gainean.

Ekosistema osoaren metabolismoak bi estazioko metodoaren bitartez neurtu genuen. Funtsean, erreka-alde baten goiko eta beheko muturrean, oxigeno kontzentrazioa neurtzen genuen modu jarraian 24 orduz. Uretako oxigeno-kontzentrazioak egunean zehar gorabeherak ditu, egunez, algek fotosintesia egiten dutenean, gora egiten baitu eta gauez, ordea, behera, arnasketaren eraginez. Egunean zeharreko aldaketa hauek analizatuta posible da erreka-alde horren metabolismo globala kalkulatzeko (Izagirre et al., 2007).

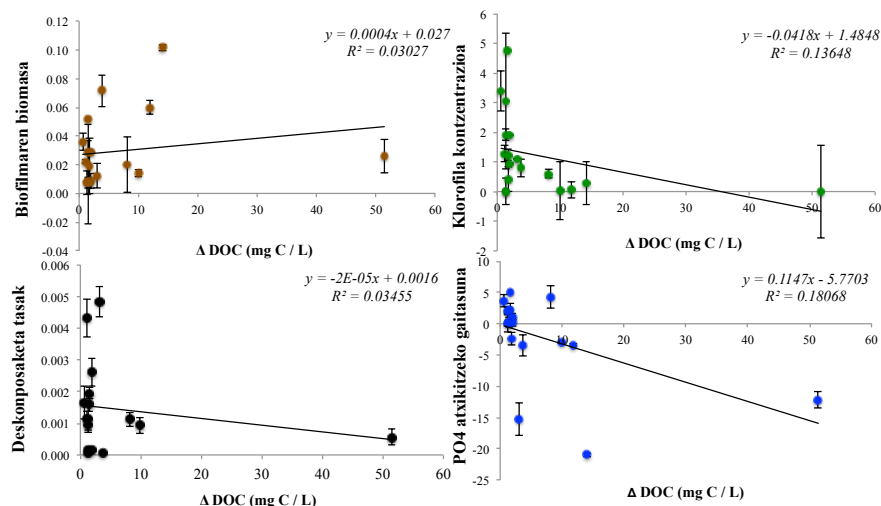


5. irudia: Oxigeno saturazioa (%) egunean zehar bi erreketan. Ezkerrean kutsadura-maila baxuko Vallderoures erreka, eskuinean oso kutsatuta dagoen Corbera de Ebre. Kurba urdinak Kontrol aldeei dagozkie eta kurba gorriak Inpaktuei.

Laginketa puntuen artean diferentzia oso handiak daude oxigeno saturazioari dagokionez, eta gradiente oso argi bat ikusi daiteke kutsadura-maila oso handia zuten lekuetatik maila baxuagoa zutenetara. Kutsadura handia zuten erreketan oxigeno saturazioa %0-tik oso gertu mantentzen zen, kutsadura txikikoetan saturaziotik gertu mantentzen zen bitartean (%100 inguru).

Neurtutako erantzun biologikoen subsidio-estres moduko eskema jarraitu zuten?

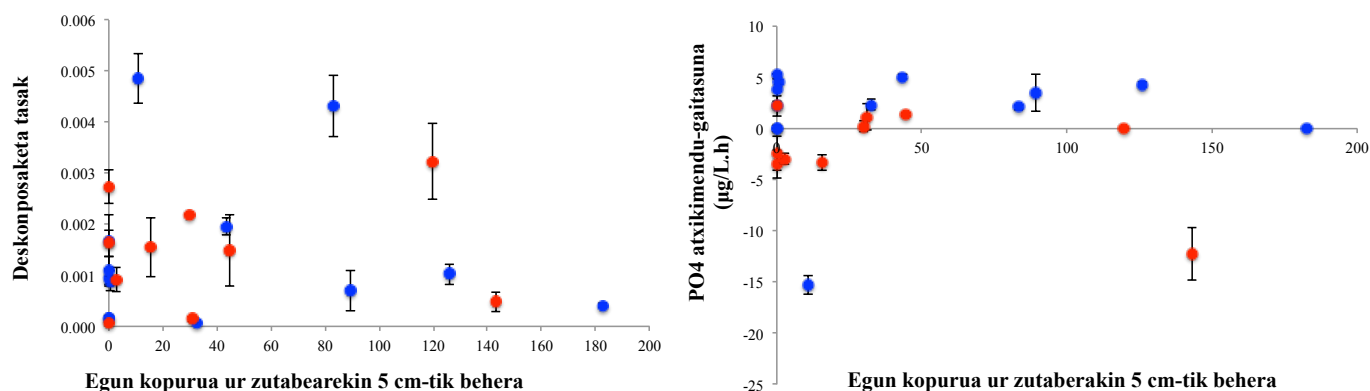
Aurretiaz erakutsitako emaitza denek aldean arteko konparaketa bat egitea baino ez zuten helburu. Aitzitik, neurtutako erantzun biologikoak kutsadura-gradientearen arabera aztertzerako orduan, aldagai batek ere ez zuen esperotako subsidio-estresaren eskema edo patroia jarraitu (6. irudia).



6. irudia: Neurtutako zenbait aldagaien erantzuna kutsadura-gradientearekiko. Kutsaduraren adierazle moduan, kasu honetan, Kontrol eta Inpaktuen artean dagoen disolbatutako karbono organikoaren kontzentrazioaren diferentzia aukeratu da.

Ur-eskasiak eragin al du kutsaduraren efektua?

Azkenik, ur-eskasiaren eragina ez zen oso argia izan (7.irudia).



7. irudia: Neurtutako zenbait aldagaien erantzuna lehortearekiko. Lehortearen adierazle modura, ur zutabeak altuera 5 zentimetrotik behera egon den egun kopurua.

4. Ondorioak:

1. Kutsadura urbanoak era askotariko eraginak izan zituen aztertutako aldagaietan; izan ere, erantzun eta prozesu biologiko batzuk bultzatu zituen, beste batzuk murriztu egiten zituen bitartean.
2. Hala ere, aztertutako aldagai batek ere ez zuen esperotako subsidio-estres moduko eskema jarraitu.
3. Ur-eskasia eragin argiak izan zituen aktibitate biologikoarentzako, baina ez zuen kutsaduraren efektua nabarmendu.

Oraindik informazio gutxi dago araztegiek ibaien funtzionamenduan duten eraginez. Beste lan batzuek (Martí *et al.*, 2004) erakutsi dute heterotrofia bultzatzen dutela eta mantenugaiak atxikitzeko gaitasuna murriztu. Gure emaitzak eragina askoz ere konplexuagoa izan daitekeela erakusten dute, emariaren gorabeherengatik, besteak beste. Etorkizun hurbil batean, erreketako ur-eskasia areagotuko da hauen diluzio-gaitasuna murriztuz, eta ondorioz, kutsatzaileen kontzentrazioa handituz, askoz ere ondorio latzagoak suposatuz ekosistema hauen funtzionamenduari.

5. Etorkizunerako planteaturiko norabidea

Araztegien isurketek aldaketa garrantzitsuak eragin ditzakete ibaien funtzionamenduan, nahiz eta beti ez den erraza efektu horien norabidea aurreikustea. Isurketek Subsidio-Estres moduko eskema jarraitzen duten substantzia ugari helarazten dituzte erreketara; eragin desberdina izango dutenak amaierako kontzentrazioaren, erreken morofologia eta hidrologiaren edota neurtutako erantzun biologikoaren arabera. Hori dela eta, Subsidio-Estres moduko erantzuna aztertzeko bide errazago bat, faktore horiek guztiak sinplifikatzea izango litzateke. Horrela, esperimentu honi jarraiki, Kataluniako Uraren Ikerketa Zentroan (ICRA) dauden kanal artifizialetan esperimentu bat egin zen, araztegi bateko isurketen kontzentrazio desberdinen gradiente batekin eta gainera, kontrolatutako emari eta argi baldintzekin.

Erantzun biologiko funtzional desberdinak neurtu ziren: materia organikoaren deskonposaketa; biofilmaren klorofila, biomasa eta fosforoa atxikitzeko gaitasuna; jarduera entzimatiakoak eta metabolismoa. Esperimentuaren helburua, beraz, erantzun biologiko desberdinek kutsadura-maila desberdinen aurreran zelan erantzuten zuten ikustea izan zen. Gure lehenengo hipotesiaren arabera, erantzun biologiko guztiek Subsidio-Estres moduko erantzun bat edukiko zuten kutsadura kontzentrazio desberdinen aurrean, baina gure bigarren

hipotesiaren arabera, erantzun biologikoak euren artean desberdinduko ziren gehieneko aktibitatea bereganatzen zuten kontzentrazioaren arabera.

6. Erreferentziak

- Aristi, I., Díez, J.R., Larrañaga, A., Navarro-Ortega, A., Barceló, D. eta Elozegi, A. (2012). Assessing the effects of multiple stressors on the functioning of Mediterranean rivers using poplar wood breakdown. *Science of the Total Environment*, 440: 272-279.
- Arroita, M., Causapé, J., Comín, F.A., Díez, J., Jimenez, J.J., Lacarta, J., Lorente, C., Merchán, D., Muñiz, S., Navarro, E., Val, J. eta Elozegi, A. (2013). Irrigation agriculture affects organic matter decomposition in semi-arid terrestrial and aquatic ecosystems. *Journal of Hazardous Materials*, 263: 139-145.
- Izagirre, O., Bermejo, M., Pozo, J. eta Elozegi, A. (2007). RIVERMET©: an Excel-based tool to calculate river metabolism from diel oxygen concentration curves. *Environmental Modelling & Software*, 22: 24-32.
- Krausmann, F., Gingrich, S., Eisenmenger, N., Erb, K.H., Haberl, H. eta Fischer-Kowalski, M. (2009). Growth in global materials use, GDP and population during the 20th century. *Ecological Economics*, 68: 2696-2705.
- Krom, M.D. (1980). Spectrophotometric determination of ammonia: a study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. *Analyst*, 105: 305-316.
- Marti, E., Aumatell, J., Gode, L., Poch, M. eta Sabater, F. (2004). Nutrient retention efficiency in streams receiving inputs from wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Quality*, 33(1): 285-293.
- Martí, E. eta Sabater, F. (2009). Retención de nutrientes en ecosistemas fluviales. In: *Conceptos y Técnicas en Ecología Fluvial* (Eds A. Elozegi & S. Sabater), 117-132. Fundación BBVA, Bilbao.
- Murphy, J. eta Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36.
- Nilsson, C., Reidy, C.A., Dynesius, M. eta Revenga, C. (2005). Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. *Science*, 308: 405-108.
- Odum, E.P., Finn, J.T. eta Franz, E.H. (1979). Perturbation theory and the subsidy-stress gradient. *BioScience*, 29: 349-352.
- Sabater, S. (2008). Alterations of the global water cycle and their effects on river structure, function and services. *Freshwater Reviews*, 1: 75-88.
- Sartory, D.P. eta Grobelaar, J.E. (1984). Extraction of chlorophyll-a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia*, 14: 177-187.
- Serrano, A. (2007). Plan Nacional de Calidad de las Aguas 2007-2015. *Ambienta*, 69: 6-13.
- Steffen, W., Crutzen, P.J. eta McNeill, J.R. (2007). The Anthropocene: Are humans now overwhelming the great forces of nature? *Ambio*, 36: 614-621.
- Vitousek, P.M. (1994). Beyond global warming - ecology and global change. *Ecology*, 75(7):1861-1876.

7. Esker onak

Eskerrak eman dizkiet lan hau aurrera ateratzen lagundu didaten guztiei. Batez ere, Euskal Herriko Unibertsitateko (EHU) Daniel von Schiller eta Arturo Elozegiri; baina, baita Ibon Aristi eta Maite Arroitarri ere Apirileko laginketetan euren onena ematearren. Inolaz ere ezin nitzake ahaztu Jordi-René Mor eta Vicenc Acuña, laginketa guzti-guztietan niri laguntzen hor egotearren. Eta azkenik, eskerrak eman nahi dizkiet EHU, doktoretza aurreko dirulaguntzagatik, eta GLOBAQUA proiektu europearrari ere, tesi honen babesa baita momentu oro.

Permakultura garapen iraunkorraren begiradatik: bizi-esperientzia praktikoak Yogyakarta eta Bali-n (Indonesia)

Agirreazkuenaga Onaindia, Leire

Gizarte-zientziak, Garapenari buruzko Ikasketak – Hegoa Institutoa, Euskal Herriko Unibertsitatea
leire.agirreazkuenaga@ehu.eus

Laburpena

Permakultura 1978an Australian, Bill Mollison eta David Holmgren eskutik sortutako nekazal produkzio sistema da, komunitate-lanean eta naturarenganako zainketa eta errespetuan oinarritzen dena. Pertsonen elikadura beharizaneia era iraunkorrean erantzutea du helburu. Lan honetan, permakulturaren diseinua azaldu eta garapen jasangarriarekin duen lotura baloratzen da, Indonesian permakulturaren printzipioekin batera bizi eta lan egiten duten aktore desberdinen ikusmira gida izanik. Azterketa Bali eta Yogyakarta probintzietan gauzatu da hain zuzen ere, permakultura ekintzetan inplikaturiko protagonisten komunitateetan biziz eta sakoneko elkarriketak burutuz.

Hitz gakoak: Permakultura, agroekologia, garapenerako lankidetzak, garapen jasangarria.

Abstract

Defined by Bill Mollison and David Holmgren from Australia in 1978, permaculture is a holistic design system approach: a system of agricultural production involving environment conservation and community work. It aims to meet the needs of food for people in a sustainable way. This implies the use of organically natural local resources that are energy efficient and have into account local knowledge and environmental conservation. In this research, the aim is to value permaculture experiences regarding sustainable development projects, and analyse experiences and ideas of permaculture in Indonesia that could serve as an example for implementing intervention projects in similar situations.

Keywords: Permaculture, agroecology, humanitarian assistance, sustainable development.

1. Sarrera eta motibazioa

Permakultura kontzeptu berritzailea da, izan ere, Brundtland-ek bere *Our Common Future* (QCED, 1987) lanean iraunkortasunaren kontzeptua definitu baino lehen agertzen da. Permakultura Bill Mollison eta bere kolaboratzaile David Holmgren-en eskutik jaio zen Australian 1978an, *Permaculture One* argitalpenaren bitartez hain zuzen ere, eta finean diseinu holistikoa eta nekazal produkzioa biltzen dituen kontzeptua dela esan dezakegu. Diseinu honek adar asko ditu, besteak beste, produkzio ekologikoa edo agroekologia. Kontzeptu eta filosofia honen sortzaileen esanetan, “permakultura naturarekin batera lan egitea da, naturaren aurka egitearen ordez” (Mollison eta Holmgren, 1978). Nekazaritzaren ikuspuntutik, permakultura nekazal produkzio modu bat da komunitate-lanean, naturaren zainketa eta naturarekiko errespetuan oinarritzen dena. Pertsonen janari beharizaneia betetzea du helburu, era iraunkor batean. Honek, tokiko baliabideak era natural eta organikoan erabiltzea esan nahi du, energia iraunkortasuna, tokiko ezagutza eta ingurugiroarekiko zaintza aintzat hartuz (Mollison, 2002).

Kontzeptua sortu zenetik, permakultura kasu praktiko askotan garatzen joan da, Australiatik hasi eta mundu guztiko txokoetan, Argentinan (Mancebo eta De La Fuente de Val, 2016) edo Hego Afrikan (Kruger, 2015), besteak beste. Maila akademikoan, permakulturaren inguruko ikerketa hainbat ikuspegitatik garatu da, kontzeptuaren diziplina anitza erakutsiz. Agroekologiaren ikuspuntutik landu da (Ferguson eta Lovell, 2014), baita ingurumen antropologiatik ere; antropologoek permakultura iraunkortasunaren norabidean mugitzeko aukera bezala hartu dute (Veteto eta Lokey, 2008). Honez gain, energia eta baliabide naturalen inguruan, permakultura baliabide iraunkorretarako erraminta holistikoa gisa ulertu izan da (Akhtar *et al*, 2016). Hezkuntzak ere bere tokia egin dio permakulturari, eta Zelanda Berriko eskola baten esaterako, ikerketa bat bideratu zuten. Natur-zientziak erakusteko permakultura era praktikoan erabili zuten eta ekintzak erabateko arrakasta izan zuen, izan ere ikasleek

hobeto barneratu ahal izan zituzten ikasi beharreko gaiak (Lebon eta Eames, 2015). Dena den, mundu akademikoan lan sakonagoak eta begirada landuagoak behar ditu permakulturak kontzeptu eta prozesu bezala, argitaraturiko literatura gehiena ez baitago audientzia akademikorako idatzia (Ferguson eta Lovell, 2014).

Artikulo honetan, permakultura garapen iraunkorraren ikuspuntutik aztertuko dugu, hau da, "development that meet the needs of the present without compromising future generations to meet their own needs" (WCED, 1978). Garapen iraunkorarekin batera, garapenerako lankidetzarekin ere lotu da, izan ere, lankidetzaren helburua osasun eta giza duintasuna babestea, ahultasuna txikitu eta herri *erresiliente*agoak garatzea.

Erabateko gaurkotasuna duen gaia dela deritzogu, garapen iraunkorreko nazioarteko agendarekin lotuta dagoelako, alegia, Nazio Batuek 2015eko irailean sinatu zuten Garapen Iraunkorrerako nazioarteko 2030 agendarekin, baita Aldaketa Klimatikoaren nazioarteko agendarekin ere.

2. Ikerketaren helburua

Ikerketaren helburua, permakultura diseinuak zertan datzan azaltzea eta garapen iraunkorarekin duen lotura zehaztu eta baloratzea da. permakulturaren oinarritutako proiektu aplikatuetan arrakasta lortzeko baldintzak eta erronkak zeintzuk diren ikertu nahi da. Helburua lortzeko, erreferentzia gisa Indonesian permakulturaren printzipioekin batera lan egiten duten aktore desberdinen ikuspegiak hartzen dira, Bali eta Yogyakarta probintzietan kokatutako komunitateenak hain zuzen ere. Komunitateetan egindako behaketekin batera, bertako kideei egindako sakoneko elkarrizketan oinarritu dugu lana. Indonesia aukeratu da bertan bizi diren biztanleriaren sektore ahul eta zaurgarriengatik, bertako egoera sozio-ekonomikoarengatik eta geolokalizazioarengatik. Beraz, nagusiki erabilitako metodologia kualitatiboa izan da, hau da, "datu deskriptiboak sortzen dituen metodologia: pertsonen hitzengatik, ahozkoak edo idatziak, eta behatutako jarrerengatik" (Taylor eta Bogdan, 1984). Ildo honetan, etnografia eta sakoneko elkarrizketak izan dira nagusi. Elkarrizketen diseinurako Ajay Baley-ren proposamenak erabili da (Hennink *et al*, 2010).

Ikerketa gidatu duen hipotesi nagusia honako hau da: "Permakultura erreminta baliagarria da garapen iraunkorrerako proiektuak zehaztu eta prestatzerako orduan; izan ere, pertsonen ibilbide iraunkorra izatea ahalbidetzen du, elikadura segurtasuna bermatuz eta komunitateen erresilientzia indartuz".

3. Ikerketaren muina eta emaitzak

Ikerketan zehar permakultura kontzeptuaren nondik norakoak aztertu dira maila teorikoan, horretarako Indonesian permakulturen printzipioetan oinarritutako espazioetan bizi eta bertan lanari ekiten dioten perfil desberdinetako 9 aktorerensakoneko elkarrizketak eginez. Elkarrizketa horietarako galdetegietan ondorengo ildo nagusiak izan ditugu kontuan: permakultura kontzeptuarekiko pertzepzioa; ibilbidea, motibazioa eta helburuak; onurak; garapen iraunkorarekiko eta lankidetzarekiko lotura; erronkak; eta etorkizuneko ikusmirak.

Testuinguru honetan, ondorio nagusi gisa permakultura garapen iraunkorra bermatzeko eta lankidetzaren proiektuetan aplikatzeko tresna egokia dela esan dezakegu, honako arrazoiak medio:

1. Permakultura Indonesiako Yogyakarta eta Bali probintzietan gero eta interes gehiago duen fenomeno da, nahiz eta bere eragina oraindik talde txiki antolatuetara mugatuta egon. Permakultura aplikatzeko beraien interesa motibazio anitzengatik jaio da, baina bereziki, iraunkortasunetik oso urrun dauden nekazaritza ustiapen-sistema intentsiboen aurrean erreakzionatu beharrak bultzatuta; kontzientzia piztu dute inguruko komunitateentzat adibide

praktiko bihurtzeko. Era berean, sustatzaileek permakulturak norberaren eta gizartearen ongizatea ekartzearen onura azpimarratzen dute.

2. Elikadura subiranotasunaren ikuspegia jarraitzen duten lankidetzak proiektuetan oso onuragarria izan daiteke permakulturaren printzipioen ezarpena, baita komenigarria ere, baloreak banatzen baidituzte.
3. Gaur egun lankidetzak ekintzen joera nagusienetakoa, pertsonen eta komunitateen erresilientzia sustatzea da. Permakulturak komunitateen erresilientzia indartzen laguntzen du.
4. Indonesiako kasu praktikoan ikusitakoaren arabera, permakulturak garapen jasangarria eta inguruko lankidetzak ekintzak eta giza ekintzak sustatzen laguntzen du, betiere larrialdi fasearen ondoren.
5. Permakultura proiektu bat arrakastatsua izan dadin, ezinbestekoa da proiektua ezarriko den komunitatearen eta espazioaren testuingurua eta egunerokotasuna kontuan hartzea, non erlijioak eta kultura-adierazpenek presentzia handia izan dezaketen. Beraz, kasu horretan permakulturaren difusioa eta azalpena erlijioaren sinesmenen harira azaldu daiteke. Yogyakartaren kasuan Koran doktrinaren arabera eta Balin Hinduismoaren araberrako erreferentzien bidez, adibide praktiko eta errealekin batera.
6. Permakulturak onura holistiko bat dakar. Ez da elikadurari jarraitu jakin batzuk gauzatzeari lotutako praktika onenak gabe: ezartzen diren praktikak osasun pertsonala mantentzen dute, ingurumenaren zaintza eta biosferaren oreka zainduz, horrela, pertsonen barne eta kanpo oreka indartuz.
7. Mundua bat da, eta leku batean egiten diren ekintzek eragina dute beste eremu batean. Lankidetzak ekintzetako printzipio garrantzitsuenetakoa bat da *Do Not Harm* (ez egin kalterik), beraz, lankidetzak proiektuek ingurumenarekiko iraunkorrak izan behar dute. Horregatik garrantzitsua da permakultura bezalako kontzeptuen balore eta printzipioak aplikatzea.

4. Etorkizunerako proposatutako norabidea

Ikerketa honek ikasitako kasuen lerro nagusia, permakulturaren perspektibatik eratutako garapenerako lankidetzak proiektuak dira. Zehatzago esateko, ikerketa honetan Bumi Langit (Yogyakartan) eta IDEP Gobernu Kanpoko Erakundeak (GKE) Bali eta Sumatran dituen proiektuei erreparatu diegu. Halere, horiez gain badaude beste zenbait adibide, esaterako, Zimbawen (Afrikan) ACNUR eta SAFIRE GKEak errefuxiatuen kanpaleku batean permakulturaren oinarritutako proiektu bat sustatu zuten. Formazio programa baten eta hiru hilabetetako lanaren ondoren, burujabeak bihurtu ziren barazkiak landatu eta haziz. Beste familia batzuk mermelada edota kotoizko produktuen bitartez (SAFIRE, 2001, 11-14) egin dute bide bera. Bestetik, Australiako Permakulturaren eskolak (Permaculture Research Institute) baditu beste hainbat proiektu Tanzanian edo Jordaniako basamortuan ere. Badaude permakulturaren printzipioak erabiliz lankidetzak eta garapenarekin lotura duten proiektuak beraz, baina oraindik gutxi dira. Izan ere, nahiz eta antzeko baloreekin egiten diren proiektuak egon GKE-en inguruan, gabeziak daude permakulturak eskaintzen duen ideia holistiko, integral eta osotua aplikatzeko garaian.

Bestalde, akademiaren munduari dagokionez, badaude permakultura ikuspegi desberdinetatik ikasi eta kontzeptuaren diziplina anitzak plazaratzen dituzten ikerketa kasuak, sarreran azaldu dugun bezala. Alabaina, nabarmentzeko da honen inguruan kasu praktikoak onenak ez direla nagusi. Ferguson eta Lovellek (2014) kontzeptu honen inguruan ikerketa sakona behar dela ondorioztatu zuten euren lanean, esanez gai honen inguruan mundu akademikoan egindako ikerketetan begirada sakonagoa eman behar zaiola permakulturari, argitaraturiko literatura gehiena ez baitago audientzia akademikorako pentsatua (Ferguson eta Lovell, 2014).

Beraz, lan honen erronketako bat, gaia bera maila akademikora ekarri eta bertan lekua eman eta mantentzea da, literaturan dagoen hutsuneagatik. Dena den, garapen jasangarriarekin duen loturarengatik nagusiki, gaurkotasuneko gaia da bete betean eta horrek erraztasuna ematen du gaurko eztabaidetan txertatzeko, bai kongresu akademikoetan zein bilera informalagoetan ere.

Azkenik, alde teorikoan baita kasu praktikoetan ere azterketa sakona eta konparatiboa bideratzen bada, etorkizunera begira ondorengo galderari erantzuna ematen saiatzea litzateke hurrengo erronka: Eskaintzen al du permakulturak alternatiba erreal eta eraginkorrik gaur egungo ingurumen krisiari aurre egiteko?

5. Erreferentziak

- Akhtar, F. *et al.* (2016): Incorporating permaculture and strategic management for sustainable ecological resource management. *Journal of Environmental Management*. Elsevier.
- Ferguson, R.S. eta Lovell, S.T. (2014): Permaculture for agroecology: design, movement, practice, and worldview. A review. *Agron. Sustain. Dev.*
- Hennink, M., Hutter, I., Bailey, A. (2010) *Qualitative Research Methods*. SGAE Publications Ltd.
- Kruger, E. M. (2015): Options for Sustainability in Building and Energy: A South African Permaculture Case Study. 7th *International Conference on Sustainability in Energy and Buildings*. *Energy Procedia*. Vol. 83. 544-554. Portugal
- Lebo, N. eta Eames, C. (2015): Cultivating Attitudes and Trellising Learning: A Permaculture Approach to Science and Sustainability Education. *Australian Journal of Environmental Education*, vol. 31(1), 46-59
- Mancebo, C.E. eta De La Fuente del Val, G. (2016): Permaculture, a tool for adaptation to climate change in the communities of the Laguna Oca Biosphere Reserve, Argentina. *Procedia Environmental Science* 34. 62-69.
- Mollison, B. (2003): The foundation year-book of the permaculture academy. <http://www.patriciamichaeldesign.com/texts/YearBook.pdf> Accessed [17-02-2017]
- Mollison, B. eta Holmgren, D. (1978): *Permaculture One: A Perennial Agriculture for Human Settlements*. Transworld Ed. Melbourne. Australia
- SAFIRE. 2001. Permaculture in Refugee situations. A handbook for Sustainable Land Management http://postconflict.unep.ch/liberia/displacement/documents/UNHCR_SAFIRE_Permaculture_Refugee_Situations.pdf [07-02-2017]
- Taylor, S. J., eta Bogdan, R. (1984) *Introducción a los métodos cualitativos*. Ediciones Paidós.
- Veteto, J. R. eta Lokey, J. (2008) Environmental Anthropology Engaging Permaculture: Moving Theory and Practice Toward Sustainability. *Culture & Agriculture* vol. 30. Numbers 1&2 pp. 47-58
- WCED (World Commission on Environment and Development), 1987. Our Common Future. Oxford University Press, Oxford.

Frustrazioa, egitura eta propietate konplexuen jatorria

I. Urcelay-Olabarria¹ eta J. L. García-Muñoz²

E. Ressouche³ eta V. Skumryev⁴

¹ Fisika Aplikatua I Saila, Bilboko Ingenieritza Eskola (UPV-EHU), Urkixo Zumarkalea z/g. 48013 - Bilbao

² Institut de Ciencia de Materiales de Barcelona, ICMAB-CSIC, Campus universitari de Bellaterra, E-08193 Bellaterra, Spain

³ SPSMS, UMR-E CEA/UJF-Grenoble 1, INAC, Grenoble F-38054, France

⁴ Departament de Física, Universitat Autònoma de Barcelona, E-08193 Bellaterra, Spain

Laburpena

Atomoen arteko elkarrekintza magnetiko guztiak aldiberean bete daitezkeenean materialeko momentu magnetikoek egitura *sinple* eta egonkorra lortzen dute. Baina beste zenbaitetan, atomoen arteko elkarrekintza magnetiko guztiak ezin dira aldiberean bete eta, ondorioz, indar guztien arteko oreka lortzeko egitura konplexuak eraikitzen dituzte momentu magnetikoek. Egitura horiek, askotan, materialetan agertzen diren fenomeno fisikoen jatorrian daude, multiferroizitatea, besteak beste. Gehienetan kanpo eremuen edota ordezkapen kimikoen bidez alda daiteke egitura magnetiko horien egonkortasuna eta baita ere horri lotuta agertzen diren propietate fisikoena, materialaren ezaugarri fisikoak moldatuz.

Hitz gakoak: frustrazio magnetikoa, egitura magnetikoak, truke-konstantea

Abstract

Usually the magnetic interaction between the atoms in a material can be satisfied simultaneously giving rise to rather simple magnetic structures. Nevertheless, in some materials this is not the case and it may lead to complex structures. These complex structures are very often in the base of the physical phenomena appearing in the material, such as multiferroicity. The subtle balance between the magnetic interaction can be modified by external fields or chemical substitution, giving rise to new magnetic structures and new properties.

Keywords: magnetic frustration, magnetic structures, exchange coupling constant

1 Sarrera eta motibazioa

Materiaren izaera kuantikoaren ondorio zuzena da magnetismoa: spinak eta Pauliren eskusio-printzipioa¹ dira magnetismoaren oinarri. Hurrengo Hamiltondarraren² bektore propioa da magnetikoki ordenatuta dagoen egoera:

$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_{Coulomb} + \mathcal{H}_{S-O} + \mathcal{H}_{Kristal eremua} \quad (1)$$

adierazpen horretan $\mathcal{H}_{Coulomb}$ atalak Coulomb-en elkarrekintza kontuan hartzen du, $\mathcal{H}_{S-O}$ elektroien spinaren eta elektroia kokatzen den orbitaren arteko elkarrekintza da eta $\mathcal{H}_{Kristal eremua}$ atalak egitura kristalinoaren eragina adierazten du. Heisenberg-en eredu erabiliz, Hamiltondar osoa, $\mathcal{H}$, modu errazagoan adieraz daiteke, $\mathbf{S}_i$ eta $\mathbf{S}_j$ spinen funtzioan, honako era honetan:

$$\mathcal{H} = \sum_{ij} J_{ij} \mathbf{S}_i \cdot \mathbf{S}_j. \quad (2)$$

Adierazpen horretako J_{ij} da $\mathbf{S}_i$ eta $\mathbf{S}_j$ spinen arteko truke-konstantea. Spinaren arteko elkarrekintzaren intentsitatearen neurria da truke-konstantea. Elkarrekintza ferromagnetikoa denean $J_{ij} > 0$ betetzen

¹Sistema bereko bi elektroik ezin dituzte zenbaki kuantiko guztiak berdinak eduki.

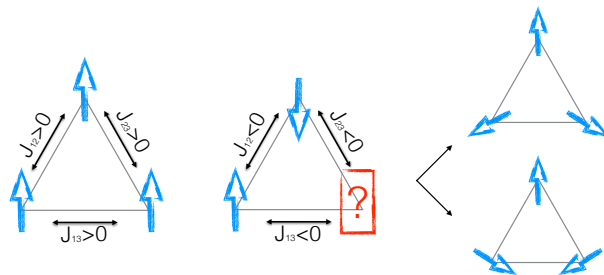
²Sistemaren energia osoari dagokion eragile matematikoa da.

da eta spinak konfigurazio paraleloan lerrotzen dira; elkarrekintza antiferromagnetikoa denean, ordea, $J_{ij} < 0$ betetzen da eta spinak konfigurazio antiparaleloan lerrotzen dira.

Magnetikoki frustratuta dauden materialetan ezin dira elkarrekintza magnetiko guztiak aldeberean bete (Chalker, 2011). Teknikoki esanda, Hamiltondarrean parte hartzen duten elkarrekintzek energia-ren minimoren balioa egoera bakarrean lortzea ekiditen dute. Era horretan, energia minimoko hainbat konfigurazio dago, hau da, egoera endakaturak da.

Hau guztia argitzeko adibide bat erabiliko dugu. Demagun triangelu eiteko spin-sarea daukagula eta J guztiek balio berbera dutela, ikus 1 Irudia. Elkarren ondoko spinen arteko elkarrekintza ferromagnetikoa bada, elkarrekintza guztiak bete daitezke. Baina $J < 0$ bada, elkarrekintza guztiak ezin daitezke bete aldeberean eta erdibideko egitura lortu behar du sistemak. Gainera, energia minimoa egiten duten spin-konfigurazio bakarra baino gehiago egon daiteke, ikus 1 Irudia.

1 Irudia: Spin-sarea da frustrazioaren jatorria, spin guztien arteko elkarrekintza berdina izanik. (Chalker, 2011) erreferentziatik egokitua. $J < 0$ bada, spin erpineko spinak ezin du beste bi spinekin elkarrekintza antiferromagnetikoa bete aldeberean.



Laurogeita hamargarren hamarkadan MnWO_4 materialaren egitura magnetikoak aztertu ziren, (Lautenschläger *et al.*, 1993). Hiru fase magnetiko ezberdin agertzen dira material horretan, ikus 2 Irudia.

- AF3 ($13,5 \text{ K} < T < 12,5 \text{ K}$): momentu magnetikoak $\hat{u}$ norabidearekiko paraleloak dira eta haien amplitudea sinusoidalki modulaturatuta dago. Aipatutako $\hat{u}$ norabidea ac planoan dago, a ardatzetik $\sim 35^\circ$ ra.
- AF2 ($12,5 \text{ K} < T < 6,8 \text{ K}$): egitura magnetikoak $\hat{u}$ eta $\hat{b}$ osagaiak ditu, desfasetuta biak. Horren ondorioz, egitura magnetikoa ub planoan biratzen duen zikloide eliptikoa da.
- AF1 ($T < 6,8 \text{ K}$): $\hat{b}$ osagaia desagertzen da eta momentu guztiak $\hat{u}$ norabidearekiko paraleloak dira, $++--$ erako egitura osatuz.

Hiru egitura magnetikoen horien artean, AF2 egitura bereziki interesgarria da, magnetikoki ordenatuta egoteaz gain ferroelektrikoa baita, (Arkenbout *et al.*, 2006). Kristalaren b ardatzarekiko paralelo agertzen da polarizazio elektrikoa. Beraz, magnetikoki ordenatuta eta ferroelektrikoa izanik, fase horri multiferroiko deritzo.

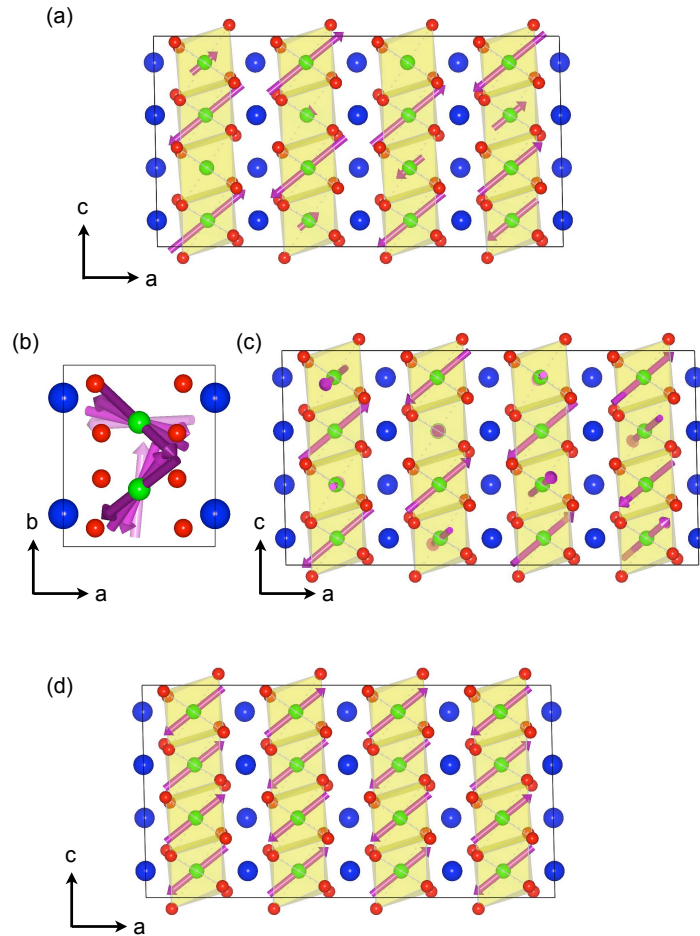
Egitura magnetiko segida honen jatorria elkarrekintza magnetikoen arteko lehian dago, frustrazio magnetikoa sorrarazten duena, (Ye *et al.*, 2011). Elkarrekintzen arteko lehia horren handia da material honetan kanpoko eremuek (tenperaturak, eremu magnetikoak...) edota ordezkapen kimikoak oreka hori apurtu eta beste egitura magnetiko bat ezar dezaketela materialean, eta horrekin lotuta dauden beste propietate fisikoak ere aldatzen direla, kasu honetan polarizazio elektrikoa.

Hurrengo lan honetan tenperaturak eta ordezkapen kimikoak MnWO_4 konposatuaren fase magnetikoetan eta propietate elektrikoetan duten eragina ikusiko dugu.

2 Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ye *et al.* taldeko kideek 2011. urtean, neutroien sakabanatze inelastikoaren bidez frogatu zuten MnWO_4 konposatuan gertatzen den frustrazio magnetikoa. Konposatuko ioi magnetikoek, Mn^{2+} ek, kristalaren c ardatzean kateak eratzen dituzte, 3 Irudia. Irudi horretan kolore ezberdinez adierazita daude Ye *et al.*

2 Irudia: (a) AF3 egitura magnetikoaren proiektzioa ac planoan. (b) eta (c) AF2 egituraren proiektzioa ab eta ac planoetan, hurrenez hurren. (d) AF1 egitura magnetikoaren proiektzioa ac planoan.



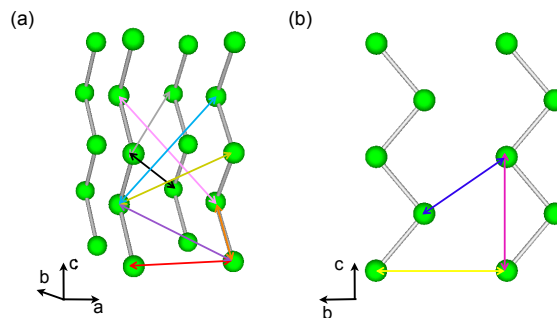
taldeak aztertutako elkarrekintza magnetikoak. Lortu zituzten J guztien balioak 1 Taulan daude. Haien emaitzen arabera bost J nagusi daude (J_1 , J_3 , J_4 , J_6 eta J_9) eta hauek elkarrekintza antiferromagnetikoa impositzen dute tartean sartzen dituzten atomoen artean. Imposaketa horiek ezin dira aldiberean bete eta, ondorioz, egitura frustratu egiten da. Hori dela eta spin-konfigurazio ugari eta konplexuak (AF1, AF2, AF3) agertzen dira materialean tenperatura ezberdinetan.

1 Taula: Atomoen arteko distantziak eta J konstanteen balioak, (Ye *et al.*, 2011).

Mn-Mn	J_1	J_2	J_3	J_4	J_5	J_6
Dist.	3.286	4.398	4.830	4.990	5.760	5.801
Intents.	-0.42(1)	-0.04(1)	-0.32(1)	-0.26(1)	0.05(1)	-0.43(1)
	J_7	J_8	J_9	J_{10}	J_{11}	
Dist.	5.883	6.496	6.569	6.875	7.013	
Intents.	-0.12(1)	0.02(1)	-0.26(1)	-0.15(1)	0.02(1)	

Hainbat ioi ezberdinekin dopatu eta aztertu izan da MnWO_4 (Pullar *et al.*, 2007; Chaudhury *et al.*, 2008; Ye *et al.*, 2008; Chaudhury *et al.*, 2009; Meddar *et al.*, 2012; Chaudhury *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2009). Song *et al.* taldekideek ikusi zuten Mn^{2+} ioiak Co^{2+} ioiez ordezkatuz fase multiferroikoa tenperatura oso baxuetan ere egonkortzen dela eta AF3-AF2 faseen arteko trantsizio-tenperatura ez dela asko bajatzen. Beraz, ioi-ordezkapen horrek AF2 egitura egonkortzen du tenperatura baxuetan. Gaine-

3 Irudia: Manganeso ioiek sortzen dituzten kateen bi proiektzio. Koloreek manganeso bikoteak bereizteko erabili dira. Kolore kode berbera erabili da 1 Taulan.



ra, haien datuen arabera % 10 kobaltodun materialean fase magnetiko berriak agertzen ziren baina ez zituzten horiek deskribatzeko datu nahikoa. Haiek aurretiazko fase-diagrama aurkeztu zuten, trantsizio-tenperatura definituekin baina faseak deskribatu gabekoa.

Lan honen helburua kobalto-ordezkapenak MnWO_4 konposatuaren magnetismoan eta propietate elektrikoetan sortzen dituen aldaketak aztertzea da.

3 Ikerketaren muina eta ondorioak

Neutroien ezaugarriak direla eta, masa, neutraltasun elektrikoa eta spina, tresna ezinhobeak dira materialen egitura magnetikoa aztertzeko. Masak, uhin-luzera aproposa ematen die neutroiei difrakzioa gerta dadin material kristalinoan. Neutraltasun elektrikoa dela eta neutroiak materialaren barrena sar daitezke eta bolumen osoko informazioa lortu. Eta azkenik, neutroiek spina daukatenez, materialeko momentu magnetikoa *ikus* dezakete eta egitura magnetiko ordenatua azter daiteke. Beraz, spin-konfigurazioak deskribatzeko neutroien bidezko difrakzioko esperimentuak egin dira kristal bakarretan.

Egitura magnetiko guztiak sistemaren simetria osoa kontuan hartuta ikertu dira. Metodologiaren deskribapen zehatza (Urcelay-Olabarria *et al.*, 2013) erreferentzian aurki daiteke. Metodo hau erabilita, jadanik ezagutzen ziren MnWO_4 konposatuaren AF2 eta AF3 egitura magnetikoen detaile oso inportanteak aukitu ditugu eta, gainera, materialen propietate elektrikoak aurrerata ahalbidetu digu, gero neurtu eta baieztatu direnak. Propietate elektrikoak baieztatzeke korrante piroelektrikoa neurtu da.

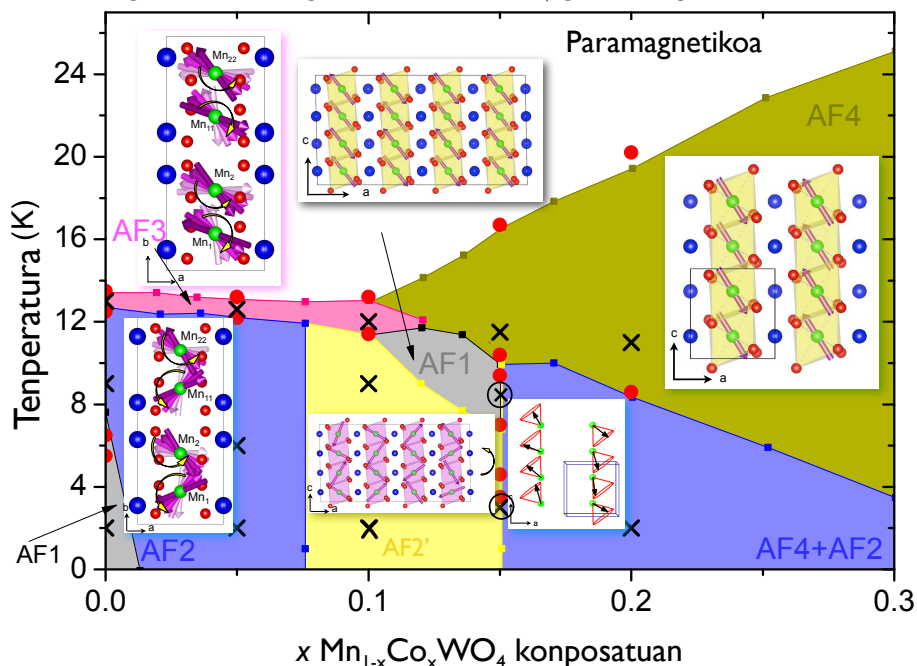
$\text{Mn}_{1-x}\text{Co}_x\text{WO}_4$ familiako $x = 0, 0.05, 0.10, 0.15$ eta 0.20 konposatuak ikertu dira eta emaitzekin 4 eta 5 Irudietako fase-diagramak eraiki dira, (Urcelay-Olabarria *et al.*, 2013, 2012a,c,b; Urcelay-Olabarria, 2013).

Fase magnetikoen $x - T$ diagraman xehetasun batzuk gehitu dizkiegu MnWO_4 konposatuaren egitura konmentsuraezinei, (Urcelay-Olabarria *et al.*, 2013):

- AF3 fasean momentu magnetikoak ez dira kolinealak (Lautenschläger *et al.* (1993) erreferentzian esaten den bezala), badute b ardatzarekiko paraleloa den osagai bat. Hori dela eta, egitura eliptikoa irudikatzen dute spinek. Baina egiturak badu berezitasun bat: gelaxka-unitatean dauden bi manganesoei dagozkien elipseak ez dira independenteak, bata bestearekin erlazionatuta dago. Erlazio horren ondorioz, bien kiralitatea, hau da, spinen biraketa norabidea, aurkakoa da eta horrek egitura apolarra izatea dakar. Hau da, ez da polarizazio elektriko makroskopikorik ageriko materialean.
- AF2 fasean ordea bi elipse horiek halaberbarrez independenteak izan behar dira eta kiralitate berdina daukate. Horrek polarizazio elektrikoa b ardatzean egotera behartzen du.

Lagineko manganesoaren %10 kobaltoz ordezkatzean AF2 fasea desagertu egiten da eta kualitatiboki oso antzerakoa den AF2' fasea agertzen da (Urcelay-Olabarria *et al.*, 2012c). Honen simetria, ordea, guztiz ezberdina da eta ez du polarizazio elektrikoa b ardatzean egotetik uzten. Polarizazio elektrikoa ac planoan egotera behartuta dago. Momentu magnetikoei dagokienez, gelaxka-unitatean dauden bi manganesoei dagozkien elipseak guztiz erlazionatuta daude eta kiralitate berdina daukate. Kasu honetan elipsea ac planotik oso gertu dago kokatuta.

4 Irudia: $x - T$ fase-diagrama: fase magnetikoen funtzioan (egitura magnetiko bakoitzaren eskemarekin).



$\text{Mn}_{0.85}\text{Co}_{0.15}\text{WO}_4$ konposatuaren kasuan egitura magnetikoak deskribatzea oso zaila izan da, faseen arteko koexistentzia gertatzen baita, (Urcelay-Olabarria, 2013). Lagin honetan hain da handia frustrazio magnetikoa, ez dela egitura bakarra egonkortzen eta horrek analisisa erabat oztopatzen du. Hala ere, fase-trantsizioak detektatu ahal izan ziren, horiek 4 Irudiko fase-diagraman puntu gorri adierazita daude.

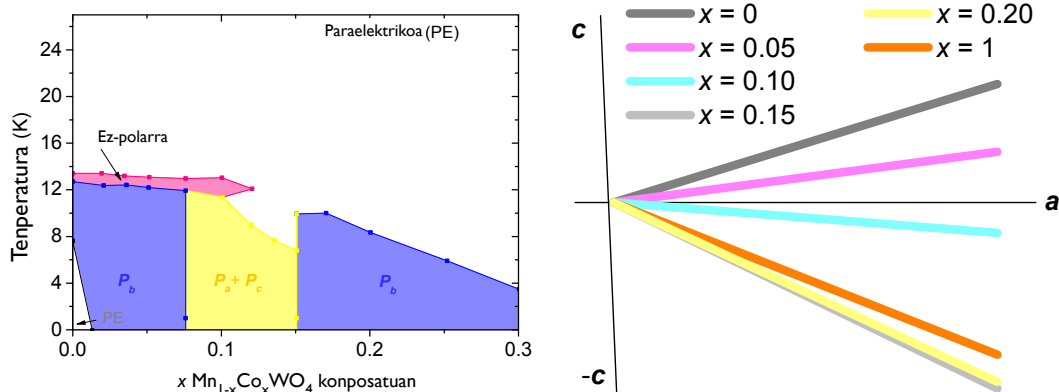
Kobalto kontsentrazio handiagoetan egitura guztiz berri bat aurkitu da: egitura magnetiko koniko antiferromagnetikoa. Koniken arteko erlazioa AF2 egituraren oso antzerakoa da eta, ondorioz, egitura honek ere polarizazioa b ardatzean egotera behartzen du.

Detale hauek azterketa egiterakoan simetria osoa kontuan hartu dugulako lortu ditugu. Konposatu hauetan egitura magnetikoa da simetria apurtzen duena eta era horretan polarizazio elektrikoa agertzea ahalbidetzen duena. Egitura kristalinoa aztertuko bagenu, ez genuke honen aldaketarik somatuko fase-trantsizioetan eta, ondorioz, ez ginateke jabetuko egitura ez-polar bat eduki beharrean zenbait kasutan egitura polarrak ditugula (fase multiferroikoetan). Hori dela eta, behin egitura magnetikoak aztertuta eta simetria osoa zein den determinatuta aurrean daiteke polarizazioaren norabidea zein izan daitekeen eta polarizazioaren fase-diagrama osatu, ikus 5 Irudia. Neurketa esperimentalen bitartez baieztatu dira fase-diagrama honetan aurrean ziren polarizazio elektrikoaren norabideak fase multiferroikoetan (Urcelay-Olabarria, 2013).

Horrez gain, konposatu guztiei dagozkien ardatz magnetiko errazak determinatu ditugu. Momentu magnetikoak ardatz magnetiko errazaren norabidean lerrokatze joera daukate eta gure kasuan ardatz hori $\hat{u}$ norabideak zehazten du. Horiek 5 Irudian ageri dira.

Laburbilduz, egiturak aztertzeko erabilitako metodologiaren bidez, hainbat xehetasun deskribatu ahal izan ditugu ezagunak ziren AF2 eta AF3 faseetan. AF3 fasean momentu magnetikoak ez dira paraleloak baizik eta elipseak eratzen dituzte ub planoan. Gainera, gelaxka-unitateko manganesoen elipseen arteko erlazioa eta kiraltasuna ere zehaztu dira. AF2 fasearen kasuan bi elipseak guztiz independenteak dira baina biek kiraltasun berbera dute, horren ondorioz polarizazio elektrikoa b ardatzean agertzen da. Kobalto kopurua handitzen denean AF1 fasea desagertzen da eta AF2 modifikatu egiten da. Bere simetria aldatu egiten da eta polarizazio elektrikoa ac planoan agertzen da. Kobalto kontsentratio altuetan ($x > 0.15$) egitura koniko antiferromagnetikoa aurkitu da, multiferroikoa hau ere, eta AF3 fasea desagertu egiten da. Azken horren ordez antiferromagnetikoa den AF4 fasea agertzen da.

en funtzioan. Eskuman, ardatz magnetiko



Ikerketa honetan argi eta garbi ikusi dugu frustrazio magnetiko handiko sistema dugula esku artean, zeinetan aldaketak eragiten dizkiogunean oreka magnetiko berriak lortzen diren eta egitura magnetiko guztiz ezberdinak lortzen diren materialean. Egitura magnetiko horrekin erabat lotuta dagoen polarizazio elektrikoak ere aldaketa jasaten ditu elkarrekintza magnetikoek oreka berriak lortzen dituztenean.

Orokorrean esan daiteke, kobalto kopuru txikietan fase-diagrama oso aberatsa dela, frustrazio-maila handiaren adierazgarri ($x \sim 0.15$). Argi ikusten da, indar magnetikoen arteko oreka oso ezegonkorra dela eta kobalto kantitate aldaketa oso txikiekin guztiz ezberdinak diren konfigurazioak lortzen direla. Baina kobaltoaren presentzia handitzen den heinean, frustrazio hori txikitu eta egitura sinpleagoak agertzen dira, hau da, AF4 fase antiferromagnetiko klasikoak.

4 Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetan materialean ordezkapen kimikoak, bereziki manganesoaren ordezkobaltoa sartzeak, eta tenperatura aldaketak eragiten dituzten aldaketa makroskopikoak aztertu ditugu. Fase magnetikoetarako $x-T$ fase-diagrama eraiki dugu eta propietate elektrikoetarako $x-T$ fase-diagrama aurrean eta baieztatu dugu. Gainera, konposatu bakoitzaren ardatz magnetiko erraza aurkitu dugu.

Hala ere, oraindik badaude aztergai diren zenbait puntu. Horien artean:

- Ordezkapen kimikoak eta tenperaturak J elkarrekintza magnetikoa adierazten duten konstateetan duten eragina aztertzea. Hau da, mikroskopikoki zein aldaketa eman diren aztertzea: frustrazioa handitu/txikitu egiten da, zein norabidetan, ... Oso interesgarria litzateke %15-eko kobalto kopurua duen lagina aztertzea, horrek fase kopuru handien agertzen dituen baita, eta, beraz, frustrazio magnetiko handienekoa ere izango da.
- Beste kanpo eremuek izan dezaketen eragina aztertzea: eremu magnetikoak, eremu elektrikoak eta presioak, adibidez.

5 Eskerrak eta oharrak

- Idazleek eskertu nahi diote Institute Laue Langevin erakundeari bertan neutroien bidezko difrakzio esperimentuak bertan egiteko denbora eman zaielako.
- Lan hau "Magnetic order, spin-induced ferroelectricity and structural studies in Mn_{1-x}Co_xWO₄" tesi lanetik eratorritakoa da, Urcelay-Olabarria (2013).

Erreferentziak

ARKENBOUT, A. H., T. T. M. PALSTRA, T. SIEGRIST, eta T. KIMURA. 2006. Ferroelectricity in the cycloidal spiral magnetic phase of mnwo4. *Phys. Rev. B* 74.

- CHALKER, JOHN T. 2011. *Introduction to Frustrated Magnetism, Materials, Experiments, Theory*. Springer Series in Solid-State Sciences.
- CHAUDHURY, R. P., B. LORENZ, Y. Q. WANG, Y. Y. SUN, eta C. W. CHU. 2008. Suppression and recovery of the ferroelectric phase in multiferroic mnwo4. *Phys. Rev. B* 77.
- , B. LORENZ, Y.-Q. WANG, Y. Y. SUN, eta C. W. CHU. 2009. Re-entrant ferroelectricity and the multiferroic phase diagram of mn1-xfexwo4. *New Journal of Physics* 11.
- , F. YE, FERNANDEZ-BACA, B. LORENZ, Y. Q. WANG, Y. Y. SUN, H. A. MOOK, eta C. W. CHU. 2011. Robust ferroelectric state in multiferroic mn1-xznxwo4. *Phys. Rev. B* 83.
- LAUTENSCHLÄGER, G., WIETZEL H., VOGT T., R. HOCK, A. BÖHM, eta H. FUESS. 1993. Magnetic phase-transitions of mnwo4 studied by the use of neutron-diffraction. *Phys. Rev. B* 48.
- MEDDAR, L., M. JOSSE, P. DENIARD, C. LA, G. ANDRÉ, F. DAMAY, V. PETRICEK, S. JOBIC, M.-H. WHANGBO, M. MAGLIONE, eta C. PAYEN. 2012. Increasing the phase-transition temperatures in spin-frustrated multiferroic mnwo4 by mo doping. *Chemistry of Materials* 24:353–360.
- PULLAR, R.C., S. FARRAH, eta N. MCN. ALFORD. 2007. Mgwo4, znwo4, niwo4 and cowo4 microwave dielectric ceramics. *Journal of the European Ceramic Society* 27:1059–1063.
- SONG, Y.-S., J.-H. CHUNG, J. M. S. PARK, eta Y.-N. CHOI. 2009. Stabilization of the elliptical spiral phase and the spin-flop transition in multiferroic mn1-xcoxwo4. *Phys. Rev. B* 79.
- URCELAY-OLABARRIA, I., 2013. *Magnetic order, spin-induced ferroelectricity and structural studies in multiferroic Mn1-xCoxWO4*. Universidad Autónoma de Barcelona tesia.
- , J. L. GARCÍA-MUÑOZ, E. RESSOUCHE, V. SKUMRYEV, V. Y. IVANOV, A. A. MUKHIN, eta A. M. BALBASHOV. 2012a. Lattice anomalies at the ferroelectric and magnetic transitions in cycloidal mn0.95co0.05wo4 and conical mn0.80co0.20wo4 multiferroics. *Phys. Rev. B* 86.
- , J.M. PEREZ-MATO, J. L. RIBEIRO, J. L. GARCÍA-MUÑOZ, E. RESSOUCHE, V. SKUMRYEV, eta A. A. MUKHIN. 2013. Incommensurate magnetic structures of multiferroic mnwo4 studied within the superspace formalism. *Phys. Rev. B* 87.
- , E. RESSOUCHE, A. A. MUKHIN, V. Y. IVANOV, A. M. BALBASHOV, J. L. GARCÍA-MUÑOZ, eta V. SKUMRYEV. 2012b. Conical antiferromagnetic order in the ferroelectric phase of mn0.8co0.2wo4 resulting from the competition between collinear and cycloidal structures. *Phys. Rev. B* 85.
- , E. RESSOUCHE, A. A. MUKHIN, V. Y. IVANOV, A. M. BALBASHOV, G. P. VOROBV, Y. F. POPOV, A. M. KADOMTSEVA, J. L. GARCÍA-MUÑOZ, eta V. SKUMRYEV. 2012c. Neutron diffraction, magnetic, and magnetoelectric studies of phase transitions in multiferroic mn0.90 co0.10 wo4. *Phys. Rev. B* 85.
- YE, F., R. S. FISHMAN, J. A. FERNANDEZ-BACA, A. A. PODLESNYAK, G. EHLERS, H. A. MOOK, Y. WANG, B. LORENZ, eta C. W. CHU. 2011. Long-range magnetic interactions in the multiferroic antiferromagnet mnwo4. *Phys. Rev. B* 84.
- , Y. REN, J. A. FERNANDEZ-BACA, H. A. MOOK, J. W. LYNN, R. P. CHAUDHURY, Y.-Q. WANG, B. LORENZ, eta C. W. CHU. 2008. Magnetic switching and phase competition in the multiferroic antiferromagnet mn1-xfexwo4. *Phys. Rev. B* 78.

Oihartzun denbora eta eremu magnetiko estatikoaren arabera BOLD erantzunaren neurketa bereizmen handiko irudi bidezko erresonantzia magnetikoa erabiliz: *In-vivo* azterketa bat

Markuerkiaga¹, Irati; Marques¹, José Pedro; Bains¹, Lauren Jennifer; Norris^{1,2}, David Gordon

¹ Donders Centre for Cognitive Neuroimaging, Radboud University, Nijmegen, Herbeherak

² Erwin L. Hahn Institute for Magnetic Resonance Imaging, 45141 Essen, Alemania

irati.markuerkiaga@donders.ru.nl

Laburpena

7T-ko eremu magnetiko estatikoa duten erresonantzia magnetikorako eskanerrak erreferentziazko eskanerrak bilakatu dira bereizmen handiko Odolaren Oxigenazio Mailaren arabera irudi bidezko erresonantzia magnetiko funtzionala (siglak ingelesez: BOLD fMRI) neurtzeko. Aktibazio seinalea lortzeko, datuok prozesatzeko erarik ohikoena garun-azalaren sakonera berean dauden voxel-ak (pixel-aren baliokidea 3 dimentsiotako espazioan) intereseko eremu batean zehar integratzea da, honela voxel txikiek berez dakarten seinale eta zarataren arteko ratio kaxkarra hobetuz. Prozesatzeko era honek, baina, berez ratio seinale eta zarataren arteko ratio txarragoa duten eremu magnetiko baxuagoetan behar adinako sentibilitatea lor daitekeen galdetzera garamatza. Lan honetan, 1.5T, 3T eta 7T –n neurturiko profilak erakusten ditugu bereizmen handiko BOLD fMRI-a eremu magnetiko txikiagoetan posible ote den aztertzeko.

Hitz gakoak: Geruza mailako BOLD fMRI, eremu anitzen arteko konparaketa, fMRI oihartzun anitzekin

Abstract

7T has become the gold standard for measuring high-resolution blood oxygenation dependent functional magnetic resonance images (BOLD fMRI), including layer specific studies. Most of these data analyses are performed by integrating the signal from voxels at a given cortical depth over an extended patch of cortex. Such a framework compensates for the poorer SNR often associated with high resolution and opens the door for using lower field strengths in layer specific fMRI. In this work activation profiles obtained at 1.5T, 3T and 7T are compared to study the feasibility of layer specific fMRI at lower fields.

Keywords: Layer specific BOLD fMRI, multfield comparison, multiecho fMRI

1. Sarrera eta motibazioa

7T-ko eremu magnetiko estatikoa duten erresonantzia magnetikorako eskanerrak erreferentziazko eskanerrak bilakatu dira bereizmen handiko Odolaren Oxigenazio Mailaren arabeko irudi bidezko erresonantzia magnetiko funtzionala (siglak ingelesez: BOLD fMRI) neurtzeko. Honetarako arrazoi nagusia eremu honetan aktibazio funtzionalarekiko sentsibilitatea eta seinalearen magnitudearen eta zarataren arteko ratioa (ingelesez: SNR) handiagoa direla da.

Bereizmen handiko fMRI ikerketen azpitalde handi bat garun-azaleko geruzen aktibazioa neurtu nahi dutenek osatzen dute, neurketa honek garuneko sare funtzionalak hobeto ulertzea ahalbidetuko bailuke. Geruzetako aktibazio seinalea lortzeko, datuok prozesatzeko erarik ohikoa garun-azalaren sakonera berean dauden voxel-ak intereseko eremu batean zehar integratzea da (Koopmans et al. 2011; Goense et al. 2007). Era honetara bereizmen handiarekin loturiko irudiaren SNR kaxkarragoa - voxelaren bolumenarekiko proportzionala baita- maila batean konpentsa daiteke.

Lan honek erantzun nahi duen galdera ondorengoa da: garun-azalaren zati batean zehar integratzeak dakarren SNR hobekuntza geruza espezifikotako aktibazioa neurtzeko bestekoa da 1.5T eta 3T-ko eremu magnetikoetan? Ikerketa hauek eremu magnetiko baxuagoetan egingarriak diren aztertzea garrantzitsua da mota honetako eskanerrak ugariagoak direlako, orokorrean subjektuentzako atseginagoak direlako eta ez dituztelako eremu ultra altuekin loturiko zailtasun teknikoak.

2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Lan honetan 1.5T, 3T eta 7T eskanerretan lorturiko aktibazio profilak erkatu dira geruza espezifikoen aktibazio funtzionala 1.5T eta 3T eskanerretan neurgarria ote den jakiteko. Hemen azaltzen diren emaitzak ohiko bereizmena erabiliz eginiko ikerketentzat ere esanguratsuak dira, ikerketotan neurturiko BOLD seinalearen zenbat datorren materia grisetik eta zenbat datorren gainazaletik jakiteko, erabilitako oihartzun denbora eta eremu magnetikoaren arabera.

3. Ikerketaren muina

3.1 Irudien lorpena

Neurketez informatu ostean, eta bakoitzak bere baimena eman eta gero, bost pertsona heldu, aurrerantzean subjektu deituak, neurtu dira 1.5T, 3T eta 7T Siemens eskanerretan (Siemens Healthcare, Erlangen, Avanto, Skyra eta Magnetom 7T sistemak, hurrenez hurren).

Erabilitako paradigma funtzionala pantaila gris bat eta 8Hz-eko frekuentziarekin dir-dir egiten duen xake taula zirkular bat izan ziren. Jasotako bolumen erdietan, subjektua pantaila grisari begira zegoen eta beste erdietan xake taulari (OFF-ON-OFF-...).

Irudi funtzionalak lortzeko 0.75 mm isotropikoko voxel tamaina erabili zen hiru eremuetan. Paradigma funtzionalaren iraupena ere berdina izan zen eta irudien erdiespenerako erabilitako parametroak ahal izan zen neurrian baliokideak izan ziren hiru eremuen artean (ikus 1. Taula).

1. taula. 1.5T, 3T eta 7T-an irudiak eskuratzeko sekuentzien parametro esanguratsuenak.

	1.5 T	3T	7T
Functional scan			
Sequence	3D-FLASH	3D-FLASH	3D-FLASH
Voxel size	0.75mm isotropic	0.75mm isotropic	0.75mm isotropic
Slab thickness	12mm	12 mm	16.5mm
BW/pixel	110 Hz	170Hz	240Hz
TE (10 echoes)	TE1/ Δ TE/TE10= 7.3/10.6/102.6ms	TE1/ Δ TE/TE10= 5.9/8.1/79.0ms	TE1/ Δ TE/TE10= 4.8/5.7/56.1ms
TR	115 ms	95 ms	63 ms
Volume TR	160 s	130 s	97 s
Duration of functional paradigm	26 min 41s	26min27s	26 min 23s
Number of volumes	10	12	18
FA	25°	20	20°
Parallel Imaging (in plane)	3	3	4
Anatomical scan	MPRAGE with 0.75mm isotropic voxel size	MPRAGE with 0.75mm isotropic voxel size	MP2RAGE with 0.75mm isotropic voxel size

3.2 Irudien prozesamendua

Irudi funtzionalen aurreprozesamendurako honako pauso hauek eman ziren:

1. Garezurra kendu FSL-BET erabiliz
2. Bolumenen artean emandako mugimendua zuzendu AFNI erabiliz
3. Frekuentzia baxuak iragazi $1/(2 * \text{volTR})$ erabiliz mozketa frekuentzia bezala

Irudi funtzionala eta anatomikoaren arte koregistroa FreeSurfer¹-ek irudi anatomikoa oinarri hartuta materia zuri eta grisaren arteko kontrastea erabiliz sorturiko gainazala erabiliz egin zen, gainazal honen alde bien arteko kontrastea maximo egiten zuen koregistroa kalkulatu.

Aktibazio funtzionalaren mapak FSL-FEAT erabiliz lortu ziren, aurreprozesatutako irudiak 3mm-dun kernel gausiar bat erabiliz espazialki filtratu eta gero.

Garun-azaleko sakonera ezberdinetako seinalea lortzeko FreeSurfer-ek kalkulaturiko materia gris eta zuriaren arteko gainazala 15 aldiz garun-azalaren lodieraren % 10 puztu edo gutxitu zen (Polimeni et al. 2010) (2 gainazal materia zurian, 11 gainazalean materia grisean, 2 gainazal pial gainazalean).

3.3 Analisia

Aktibazio funtzionala erakutsi zuten eremuetan, sakonera jakin batean zeuden voxelak elkarrekin batu ziren oihartzun denbora eta bolumen bakoitzeko. Era honetara, estimulu gabeko (pantaila grisa) eta estimuludun (xake taula) bolumenen arteko balioen kenketa eginez

¹ FreeSurfer gizakien garunak prozesatzeko eta analizatzeko lizentzia libre-ko SW bat da.
<http://www.freesurfer.net/>

aktibazioak induzitutako seinale aldaketa, ΔS , eta seinale aldaketa atsedean egoerako seinalearekin normalizatua, $\Delta S/S$, kalkulatu ziren.

Profil kopuru desberdinak batu eta denboran zeharreko debiazio estandarra kalkulatz, zarata fisiologikoa, zarata termikoari gailendu eta seinalearen zarata nagusia bihurtzeko integratu beharreko garun-azaleko gutxieneko azalera kalkulatu zen (Weisskoff 1996).

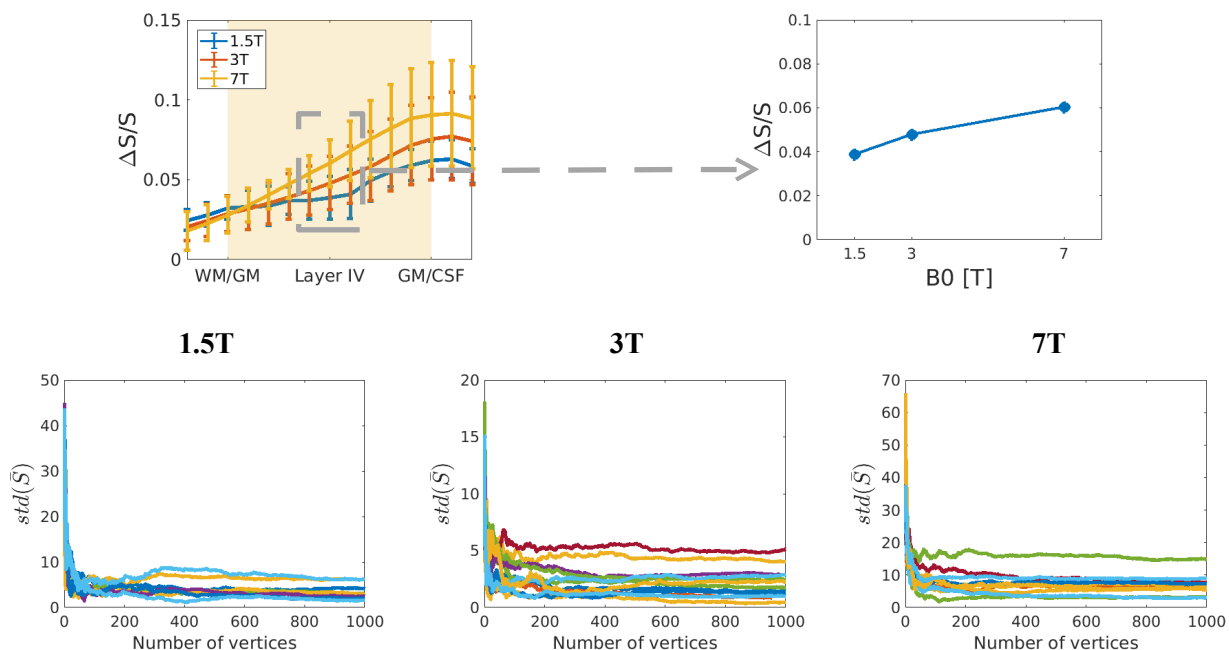
3.4 Emaitzak

$\Delta S/S$ profilak, batez ere oihartzun denbora $T2^*$ -en antzekoa denean (hau da, $T2^* \approx 70\text{ms}$, 54ms eta 27ms 1.5T , 3T eta 7T -ko eremu magnetikoetan, hurrenez hurren), oso antzekoak dira (1. Irudia, goiko errenkada ezkerrean). Gainera, oihartzun denbora hauetarako, materia grisean $\Delta S/S$ -ren magnitudea ere antzekoa da. (1. Irudia, goiko errenkada eskuinean)

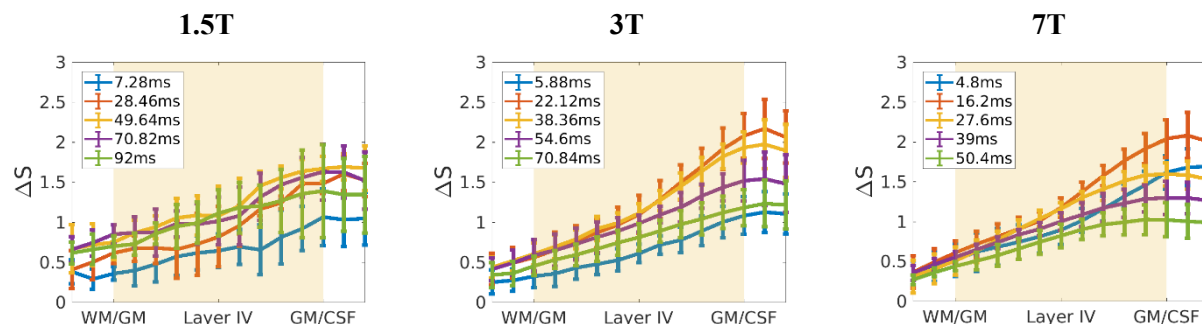
1. Irudiko beheko errenkadak, aktibatutako eremu osoan integratuz gero, lortutako seinalean nagusi den zaratak jatorri fisiologikoa duela erakusten du, ia kurba guztiak asintota horizontal batera hurbiltzen baitira azalera guztian zehar integratzen bukatu baino askoz lehenago. Hiru eremu magnetikoei erakusten dute joera berdina, nahiz eta 1.5T -an integratu beharreko azalera zerbait handiagoa izan.

2. Irudiari erreparatuz, garun-azalaren kanpoko gainazalak (“WM/CSF” dioen mugan) aktibazio funtzionalaren ondorengo seinale aldaketari, ΔS -ri, eginiko ekarpen erlatiboa, handiagoa da oihartzun denbora garun-azaleko $T2^*$ denbora baino laburragoa denean, 3T eta 7T -n.

1. Irudia: Goiko errenkada: (ezkerrean) $\Delta S/S$ profilen subjektuen arteko batzbestekoa $\pm$ debiazioa estandarra, $TE=T2^*_{GM}$ den kasurako; (eskuinean) $\Delta S/S$ magnitudea garun-azalaren erdialdean eremu magnetikoaren menpe adierazita. Beheko errenkada: ikusmenaren garun-azaleko batzbesteko seinalearen debiazio estandarra denboran zehar, aztertutako 3 eremu magnetikoetan, $TE=T2^*_{GM}$ oihartzun denborarekin, garun-azalaren erdian.



2. Irudia: ΔS profilen subjektuen arteko batzbestekoa $\pm$ std (10etik 5 oihartzun irudikatuak, grafikoen ulergarritasunaren mesedetan).



4. Ondorioak

BOLD fMRI profilek garun-azalean zehar, $\Delta S/S$, antzeko ezaugarriak dituzte eremu magnetiko ezberdinetan (1. Irudiko goiko errenkada). Gainera, $\Delta S/S$ -ren magnitudea garun-azalaren erdialdean (zain handien ekarpen mugatua duen gunea) antzekoa da eremu magnetiko desberdinetan, Uludağ et al. 2009-k simulazio bidez aurrean bezala zarata fisiologikoa nagusi den kasuetarako.

Izan ere, 1. Irudiko beheko errenkadak erakusten du, aktibatutako eremuan zehar integratuz gero, hiru eremuetan zarata fisiologikoa nagusi den erregimena lor daitekeela. Horretarako beharrezko gutxieneko azalera txikiagoa da eremu magnetiko handitu ahala (hau da, profil kopuru txikiagoa integratuz lortzen da asintota horizontalera hurbiltzea). Beraz, erdiets daitekeen erresoluzio funtzionala handiagoa da eremu magnetikoa handitu ahala, baina aurreko paragrafoan azaldu bezala, 1.5T eta 3T-ko eremu magnetikoetan lorturiko profilak 7T-an lorturikoekin alderagarriak dira.

Seinale aldaketa totalari garun-azalaren gainazaletik egindako ekarpen erlatiboa handiagoa da oihartzun denbora, ingelesezko siglekin TE, materia grisaren T2*-a baino txikiagoa den kasuetarako (2. Irudia), bai 3T-an eta bai 7T-an. Eremu hauetan zainen T2* denbora, material grisaren T2* denbora baino laburragoa baita. Hau kontuan hartu beharko litzateke bereizmen txikiagoko fMRI azterketak egitean (adibidez: 3mm-ko voxel-a eta TE=30 ms erabiliz 3T-n), voxel-eko seinaleak garun-azalen gaineko, eta beraz, neuronen aktibazio puntutik urruti kokaturiko gunek bateko, ekarpen erlatibo handiagoa izango bailuke.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Etorkizunean ikerketa kognitiboetan ohikoak diren baldintzetan balioztatu beharko dira lortutako profilak, hala nola, irudia eskuratzeko denbora laburragoa behar izanez eta kognitiboki interes handiagoa duten estimuluek erabiliz, aktibazioarekiko sentsibilitatea baldintza horietan neurtzeko.

6. Erreferentziak

Goense, J.B.M., Zappe, A.-C. & Logothetis, N.K., 2007. High-resolution fMRI of macaque V1. *Magnetic resonance imaging*, 25(6), pp.740–7.

Koopmans, P.J. et al., 2011. Multi-echo fMRI of the cortical laminae in humans at 7 T. *NeuroImage*, 56(3), pp.1276–85.

Polimeni, J.R. et al., 2010. Laminar analysis of 7T BOLD using an imposed spatial activation pattern in human V1. *NeuroImage*, 52(4), pp.1334–46.

Uludağ, K., Müller-Bierl, B. & Uğurbil, K., 2009. An integrative model for neuronal activity-induced signal changes for gradient and spin echo functional imaging. *NeuroImage*, 48(1), pp.150–65.

Weisskoff, R.M., 1996. Simple measurement of scanner stability for functional NMR imaging of activation in the brain. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 36(4), pp.643–5.

7. Eskerrak eta oharrak

Lan hau Europar Batasunaren FP7 Marie Curie Programaren barneko HiMR Initial Training Network-ak (ITN) finantzatua izan da (FP7-PEOPLE-2012-ITN-316716).

Artikulu honen bertsio bat International Society of Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM)-en 2017-ko kongresura bidalia izan da.