



Universidad de Oviedo  
*Universidá d'Uviéu*  
*University of Oviedo*

**UNIVERSIDAD DE OVIEDO**

**Departamento de Química Física y Analítica**

Programa de Doctorado de Análisis Químico, Bioquímico y  
Estructural y Modelización Computacional

**ACOPLAMIENTO LC-ICP-MS PARA LA SEPARACIÓN  
EN LÍNEA DE ELEMENTOS RADIOGÉNICOS (Rb/Sr y  
Re/Os) Y SU APLICACIÓN A TRES PROBLEMAS  
PRÁCTICOS DE GEOQUÍMICA ISOTÓPICA**

TESIS DOCTORAL

**BEATRIZ PUENTE BERDASCO**

OVIEDO, 2021





## RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Acoplamiento LC-ICP-MS para la separación en línea de elementos radiogénicos (Rb/Sr y Re/Os) y su aplicación a tres problemas prácticos de geoquímica isotópica	Inglés: LC-ICP-MS coupling for on-line separation of radiogenic elements (Rb/Sr and Re/Os) and its application to three practical isotopic geochemistry problems.
2.- Autor	
Nombre: Beatriz Punte Berdasco	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Análisis Químico, Bioquímico y Estructural	
Órgano responsable: Centro Internacional de Postgrado	

### RESUMEN (en español)

Los métodos de análisis geoquímico para el estudio de relaciones isotópicas de Sr existentes en la actualidad consisten en procesos que implican una preparación de muestra y separación del Sr del Rb en sala limpia y una posterior detección de la composición isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante espectrometría de masas de alta resolución. Cada uno de estos procesos tiene una larga duración en el tiempo. Además, los sucesivos pasos que se deben realizar para la separación del Sr pueden introducir errores e incluso contaminación en las muestras.

En la primera parte de la presente Tesis Doctoral se propone una alternativa para la determinación del valor de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en la que la separación del Sr del Rb y de su matriz se realiza en línea mediante el acoplamiento de un sistema de cromatografía de líquidos a un espectrómetro de masas de alta resolución. De esta forma la separación del Sr y su detección se realiza en un único proceso sencillo y rápido que implica un mínimo manejo de la muestra. Posteriormente este método se aplica a dos problemas geoquímicos.

1. Determinación de la composición isotópica de Sr de unas muestras de calizas específicas de la región de Normandía (Francia) para poder estudiar su origen y correlacionarlas con las calizas formadas en la misma cuenca sedimentaria que afloran en el sur de Inglaterra. Asimismo, el método se aplica en la comparación de las relaciones isotópicas de Sr de algunas de estas muestras, procedentes de canteras, con otras de edificios de la región de Normandía para establecer el origen de la piedra utilizada en la construcción de estas edificaciones.
2. Determinación de la composición isotópica de Sr de muestras de suelo, hoja de vid, uva y vino procedentes de viñedos de Castilla-La Mancha para estudiar la trazabilidad de estos materiales desde el suelo al vino con el fin de vincular inequívocamente el vino con los suelos de la región.

La segunda parte de la Tesis Doctoral trata del estudio del método de datación Re-Os en molibdenitas. La determinación de la concentración del Re y del Os presente en una muestra de molibdenita permite calcular la edad del mineral. Los métodos actuales de separación del Re del Os implican, al igual que en caso del Sr, procesos largos y con múltiples pasos, que dilatan en el tiempo la obtención de resultados analíticos. En este apartado se propone un procedimiento de separación de ambos elementos mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de alta resolución. Asimismo, este método se aplica sobre una muestra de molibdenita de un yacimiento mineral situado en la localidad de Linares, en Pola de Allande, Asturias.



## RESUMEN (en Inglés)

Current geochemical methods for analysing Sr isotope ratios imply processes involving sample preparation and Rb-Sr separation in a cleanroom, and the subsequent determination of the  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope composition by High-Resolution Mass Spectrometry techniques. Each step of this process is time-consuming and errors and even sample contamination can be induced during the Rb-Sr separation. The first part of this Ph.D. Thesis proposes an alternate procedure for the  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  determination in which the Sr separation from Rb and from its matrix is done on-line by coupling a liquid chromatography system to high-resolution mass spectrometry. This way, the Sr separation and detection is done in one simple and quick process with minimum sample handling. This process is then applied to two geochemical problems.

1. Determination of the Sr isotope composition of a specific type of limestone from Normandy (France) to study its origin and correlate it with limestones from the same sedimentary basin which outcrop at the South of England. Additionally, this method is applied to the comparison of the Sr isotope ratio of these samples, coming from quarries, with samples taken from buildings in the Normandy Region aiming to establish the origin of the stone used in these constructions.
2. Determination of the Sr isotope composition of soil, grapevine leaf, grape, and wine samples from vineyards of Castilla-La Mancha (Spain), to study the traceability of these materials from soil to wine with the objective of correlating them unequivocally with the soils of the region.

The second part of this Ph.D. Thesis addresses the Re-Os dating method in molybdenites. The determination of the concentration of Re and Os of molybdenite samples allows us to calculate the age of the mineral. Current Re-Os separation methods, as happens with the Sr method, imply long processes with multiple steps which can delay the obtention of analytical results. This section proposes a new method of separation of Re and Os by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. Finally, this method is applied to a molybdenite sample taken from a mineral deposit located in Linares, Pola de Allande, Asturias.

**SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO**  
EN \_\_\_\_\_





# INDICE DE CONTENIDOS

<b>A. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1. Geoquímica Isotópica	3
1.1. Origen y desarrollo de la Geoquímica	3
1.2. Concepto de isótopo y variabilidad natural	5
2. Geoquímica del rubidio y estroncio	12
2.1. Estratigrafía	12
2.2. Las relaciones isotópicas de estroncio en suelos	20
2.3. Preparación de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio	24
3. Geoquímica del renio y el osmio	28
3.1. La molibdenita en datación geoquímica	30
4. Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	37
4.1. Principios básicos de operación	39
5. Medida de relaciones isotópicas mediante ICP-MS	47
5.1. Factores que afectan a la exactitud de las medidas de relaciones isotópicas	47
5.2. Factores que afectan a la precisión en la medida de relaciones isotópicas	50
6. Acoplamiento de la cromatografía de líquidos a la Espectrometría de masas	53
6.1. Fundamento de la cromatografía de líquidos	53
6.2. Acoplamiento HPLC-ICP-MS	54
6.3. Exactitud y precisión en señales transientes	55
<b>B. OBJETIVO</b>	<b>57</b>
<b>C. EXPERIMENTAL</b>	<b>61</b>
1. Instrumentación	63
1.1. Espectrómetros de masas	63

1.2. Sistemas de separación cromatográfica	71
1.3. Otra instrumentación	73
2. Materiales y reactivos	74
2.1. Reactivos generales	74
2.2. Materiales de referencia	75
2.3. Otros materiales	79
2.4. Muestras investigadas	80
3. Procedimientos	90
3.1. Tratamiento de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio en calizas	90
3.2. Tratamiento de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio en suelos, hojas, uvas y vinos	91
3.3. Tratamiento de muestras para el análisis de molibdenitas	93
3.4. Separación cromatográfica de calcio, rubidio y estroncio	97
3.5. Medida de las relaciones isotópicas de estroncio mediante regresión lineal	97
3.6. Separación cromatográfica de renio y osmio	104
3.7. Determinación del renio en molibdenitas mediante dilución isotópica	105
<b>D.RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>111</b>
<b>Capítulo 1. Desarrollo de un método para la medida de relaciones isotópicas de estroncio mediante HPLC-ICP-MS.</b>	<b>113</b>
3.1. Muestras	116
3.2. Preparación de las muestras	116
4.1. Optimización de la separación cromatográfica	117
4.2. Aplicación del método a agua de mar	131
<b>Capítulo 2. Desarrollo de un método para el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio en calizas.</b>	<b>138</b>

1. Introducción	140
2. Objetivo	140
3. Experimental	141
3.1. Muestras y materiales de referencia	141
3.2. Muestras investigadas: el Chalkstone de Normandía	143
4. Resultados	148
4.1. Optimización de la separación cromatográfica	148
5. Validación del método	158
5.1. Resultados obtenidos para el NIST SRM 987	159
5.2. Resultados obtenidos para el coral JCp-1	163
5.3. Análisis del material de referencia JCp-1 por SGIker	167
5.4. Estudio de las relaciones $87\text{Sr}/86\text{Sr}$ en el chalkstone de Normandía	169
6. Discusión	178
6.1. Las áreas de difusión de las rocas de construcción	178
6.2. El chalkstone	181
6.3. Comparación de los resultados con la curva de isótopos de estroncio para el Cretácico superior	184
6.4. Comparación de los resultados de las canteras con las muestras de los edificios	186
7. Conclusión	187
<b>Capítulo 3. Estudio de las relaciones isotópicas de estroncio en viñedos de Castilla-La Mancha</b>	<b>190</b>
1. Introducción	192
1.1. Trazabilidad, autenticidad y Denominación de Origen en alimentación	192
1.2. Parámetros ambientales diferenciadores del vino	197
2. Objetivo	199

3. Experimental	199
1.3. Patrones y materiales de referencia	199
1.4. Muestras investigadas: suelo, hoja de vid, uva y vino	199
4. Resultados	203
4.1. Estudio de las relaciones isotópicas de estroncio mediante HPLC- MC-ICP-MS	208
5. Discusión	218
5.1. Bodegas Iniesta y Bodegas Corcovo	218
5.2. Bodegas Finca Río Negro y Eldoze	220
5.3. Bodegas Bro Valero	222
<b>Capítulo 4. Desarrollo de un método para la separación Re-Os en molibdenitas.</b>	<b>226</b>
1. Introducción	227
2. Objetivo	227
3. Experimental	228
3.1. Muestras	228
4. Resultados y discusión	228
4.1. Optimización de la separación cromatográfica	228
4.2. Cuantificación del renio	249
5. Conclusión	259
<b>E. CONCLUSIONES</b>	<b>261</b>
<b>F. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>266</b>

# **A. INTRODUCCIÓN**



# 1. Geoquímica Isotópica

La geoquímica isotópica es la rama de la geoquímica que utiliza la información contenida en la composición isotópica de los elementos para extraer conclusiones geológicas. La mayor parte de las aplicaciones de la geoquímica isotópica se centran en la datación de rocas y minerales aprovechando el decaimiento radioactivo de isótopos de elementos pesados, aunque el campo de aplicaciones va mucho más allá de la datación. En la presente Tesis Doctoral exploramos tres problemas prácticos de geoquímica isotópica y desarrollamos métodos analíticos alternativos para su resolución.

## 1.1 Origen y desarrollo de la Geoquímica

El término geoquímica fue introducido en 1838 por el químico suizo Schönbein (descubridor del ozono) y su desarrollo está fuertemente ligado al descubrimiento de los elementos químicos, y, por lo tanto, a la química. De esta forma se dice que la geoquímica usa herramientas de la química para resolver problemas geológicos [1]. Goldschmidt [2] describió la geoquímica en los siguientes términos: *“La geoquímica estudia la distribución y abundancia de los elementos químicos en minerales, yacimientos, rocas, suelos, aguas y la atmósfera, así como la circulación de estos elementos en la naturaleza en base a las propiedades de sus átomos e iones.”* Desde un punto de vista humano esta ciencia resulta de gran interés en su aplicación en la minería, metalurgia, industria química, agricultura, y en el estudio de los materiales terrestres [2]. Por lo tanto, el concepto de geoquímica está relacionado con la distribución y migración de los elementos en la tierra a lo largo del tiempo y sus principales objetivos se pueden resumir en [3]:



- Determinar la abundancia de los elementos químicos en la Tierra.
- Establecer las reglas que determinan el reparto de los elementos químicos y sus isótopos en los minerales, en las rocas y en las distintas capas de la Tierra.
- Incluir esta información dentro de los ciclos geológicos y conocer como estos ciclos han operado en el pasado y como se verán alterados en el futuro [4].

Puesto que los objetivos de la geoquímica requieren del análisis químico para conocer la distribución y la abundancia de los elementos químicos en la materia, un requisito esencial para su entendimiento fue el desarrollo de métodos precisos y exactos para el análisis de minerales y rocas, así como el descubrimiento de la radiactividad [5]. Entre los siglos XVIII y XIX se descubrieron y aislaron la mayoría de los elementos conocidos, lo que impulsó el desarrollo de la geoquímica. Sin embargo, hasta principios del siglo XX, esta disciplina estuvo limitada al estudio de la parte de la Tierra accesible visualmente. En 1912 Laue descubrió que la disposición regular de los átomos en un cristal difracta los rayos X desarrollando la forma de determinar la estructura atómica de las sustancias sólidas y V. M. Goldschmidt en 1937 publicó su trabajo fundamental *“Principios de la distribución de los elementos químicos en minerales y rocas”* donde, basándose en sus estudios previos que le permitieron cuantificar pequeñas cantidades de muchos elementos en minerales con un alto grado de precisión, estableció los principios básicos de la Geoquímica al clasificar los elementos en litófilos, calcófilos y siderófilos [6]. El estudio de la radiactividad después de la segunda guerra mundial mejoró el análisis elemental y abrió el camino para el estudio de la geocronología mediante espectrometría de masas basada en los métodos de desintegración de  $^{40}\text{K}$  - $^{40}\text{Ar}$ ,  $^{87}\text{Rb}$ - $^{87}\text{Sr}$ ,  $^{238}\text{U}$ - $^{206}\text{Pb}$ ,  $^{235}\text{U}$ - $^{207}\text{Pb}$  y  $^{232}\text{Th}$ - $^{208}\text{Pb}$ . De esta forma durante la primera mitad del siglo XX se dio un fuerte impulso a la geoquímica, relacionándola con la

petrología, el metamorfismo y los yacimientos minerales, estableciéndose una primera aproximación de la composición química de la corteza terrestre.

Durante la segunda mitad del siglo XX y comienzos del XXI los avances en la investigación geoquímica vinieron dados por la mejora en las técnicas analíticas. En el campo de la geocronología, el desarrollo de nuevos métodos de datación basados en el decaimiento radiactivo de  $^{147}\text{Sm}$  a  $^{143}\text{Nd}$ ,  $^{176}\text{Lu}$  a  $^{176}\text{Hf}$ ,  $^{187}\text{Re}$  a  $^{187}\text{Os}$  y  $^{40}\text{K}$  a  $^{40}\text{Ca}$  y la mejora de los ya desarrollados permitieron estudiar la formación de rocas ígneas y la diferenciación geoquímica de la Tierra con mayor efectividad. Los avances en esta área se debieron al refinamiento en las técnicas de espectrometría de masas particularmente al desarrollo de la técnica de Thermal Ionisation Mass Spectrometry (TIMS) en los años 50 del siglo XX y, actualmente, a la incorporación de la técnica Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) con equipos multicolectores.

## 1.2. Concepto de isótopo y variabilidad natural

Los isótopos son átomos de un mismo elemento químico cuyos núcleos contiene el mismo número de protones, pero diferente número de neutrones. La naturaleza de cada elemento químico y, por tanto, la posición que ocupa en la tabla periódica viene determinada por el número de protones que contienen sus núcleos, esto es, su número atómico ( $Z$ ). Además, en un átomo eléctricamente neutro el número de protones del núcleo es igual al de electrones de su corteza, y son estos últimos los que determinan sus propiedades químicas. Por tanto, átomos con el mismo valor de  $Z$ , aunque tengan un número de neutrones ( $N$ ) distinto, pertenecen al mismo elemento, ocupan una misma posición de la tabla periódica y comparten las mismas propiedades químicas. La masa atómica nominal ( $A$ ) de un isó-

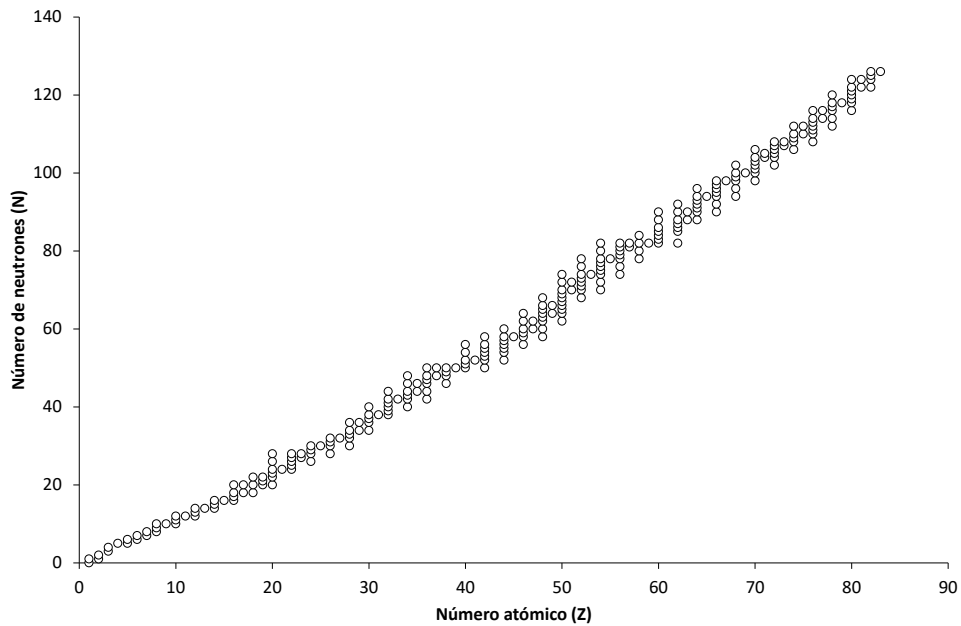
topo es la suma del número de protones y neutrones de su núcleo ( $A= Z+N$ ). Cada isótopo de un elemento se indica con su masa atómica como superíndice antes del símbolo del elemento. Así, el carbono-13 (6 protones y 7 neutrones) se expresa como  $^{13}\text{C}$ . Sin embargo, la masa exacta de un isótopo de un elemento no es un valor entero. Si usamos el  $^{12}\text{C}$  como referencia (masa = 12,000000 g/mol) la masa exacta del  $^{13}\text{C}$  es 13,003355 g/mol. Otro concepto importante es la composición isotópica de los elementos [7]. Por ejemplo, el carbono posee dos isótopos estables de masas 12 y 13 y abundancias relativas de 0,9893 y 0,0107 respectivamente. La **Tabla A.1** muestra las masas exactas y las abundancias isotópicas de los isótopos estables de los elementos ligeros desde el hidrógeno hasta el fósforo.

Tabla A.1. Propiedades de los isótopos estables de los elementos ligeros.

Isótopo	Masa exacta	Abundancia relativa
<sup>1</sup> H	1,007825	0,999885
<sup>2</sup> H	2,014102	0,000115
<sup>3</sup> He	3,016029	0,0000137
<sup>4</sup> He	4,002603	0,99999863
<sup>6</sup> Li	6,015123	0,0759
<sup>7</sup> Li	7,016005	0,9241
<sup>9</sup> Be	9,012183	1
<sup>10</sup> B	10,012938	0,199
<sup>11</sup> B	11,009305	0,801
<sup>12</sup> C	12,000000	0,9893
<sup>13</sup> C	13,003355	0,0107
<sup>14</sup> N	14,003074	0,99632
<sup>15</sup> N	15,000109	0,00368
<sup>16</sup> O	15,994915	0,99757
<sup>17</sup> O	16,999131	0,00038
<sup>18</sup> O	17,999159	0,00205
<sup>19</sup> F	18,998403	1
<sup>20</sup> Ne	19,992439	0,9048
<sup>21</sup> Ne	20,993845	0,0027
<sup>22</sup> Ne	21,991384	0,0925
<sup>23</sup> Na	22,989770	1
<sup>24</sup> Mg	23,985045	0,7899
<sup>25</sup> Mg	24,985839	0,1000
<sup>26</sup> Mg	25,982595	0,1101
<sup>27</sup> Al	26,981541	1
<sup>28</sup> Si	27,976928	0,92223
<sup>29</sup> Si	28,976496	0,04685
<sup>30</sup> Si	29,973772	0,03092
<sup>31</sup> P	30,973763	1

Como se puede observar en la **Tabla A.1** la masa exacta de los isótopos va disminuyendo paulatinamente respecto al número entero más próximo debido a las fuerzas de cohesión nuclear. El isótopo con mayor pérdida de masa es el <sup>118</sup>Sn con una masa exacta de 117,901607 aunque la mayor pérdida de masa relativa por nucleón (protones y neutrones) ocurre en el <sup>56</sup>Fe.

Si nos fijamos en la columna de abundancias relativas de la **Tabla A.1** observaremos que hay elementos monoisotópicos (Be, F, Na, Al y P), elementos que poseen dos isótopos estables (H, He, Li, B, C, N) y elementos que poseen tres isótopos estables (O, Ne, Mg y Si) cuyas abundancias relativas son aproximadamente constantes en la naturaleza. Es de destacar que las abundancias relativas de los isótopos estables de todos los elementos de la Tabla Periódica se actualizan cada cierto tiempo por la IUPAC [7]. La **Figura A.1** muestra la distribución de los 281 isótopos estables de los elementos desde el hidrógeno ( $Z=1$ ) hasta el bismuto ( $Z=83$ ). Como se puede observar, la mayoría de los elementos son multiisotópicos y solamente 19 son monoisotópicos (Be, F, Na, Al, P, Sc, Co, As, Y, Nb, Rh, I, Cs, Pr, Tb, Ho, Tm, Au y Bi) mientras que el estaño, con 10 isótopos, es el elemento químico de la tabla periódica que posee mayor número de isótopos estables seguido del xenón con 9. De interés para esta Tesis Doctoral es el hecho que el rubidio posee dos isótopos estables (de masas 85 y 87), el estroncio cuatro (de masas 84, 86, 87 y 88), el renio dos (de masas 185 y 187) y el osmio siete (de masas 184, 186, 187, 188, 189, 190 y 192). Hemos de fijarnos en los pares  $^{87}\text{Rb}$ - $^{87}\text{Sr}$  y  $^{187}\text{Re}$ - $^{187}\text{Os}$  que se denominan isobáricos, dado que poseen la misma masa nominal aunque pertenezcan a dos elementos distintos. Además, los isótopos  $^{87}\text{Rb}$  y  $^{187}\text{Re}$  son isótopos radioactivos de vida media extremadamente larga cuya utilidad se discute en el apartado siguiente.



**Figura A.1. Distribución de los isótopos estables de los elementos desde el H al Bi.**

El núcleo atómico está sometido a dos tipos de fuerzas, la fuerza nuclear fuerte, que es la responsable de estabilizar y dar cohesión al núcleo y la fuerza electrostática de repulsión entre los protones cargados positivamente. Cuando la relación entre neutrones y protones ( $N/Z$ ) en el núcleo de átomo de un elemento químico es cercano a 1 se considera que la fuerza nuclear fuerte es mayor que la de repulsión y, por tanto, los isótopos de ese elemento químico son estables, este caso ocurre cuando el número de neutrones y protones del núcleo es igual o inferior a 20 (ver **Figura A.1**). A partir de este valor, un aumento en el número de protones provoca el incremento de la fuerza de repulsión que se ve compensada con la incorporación de más neutrones al núcleo. De esta forma se consigue mantener la estabilidad nuclear en la mayoría de los 281 isótopos estables que conforman los elementos químicos desde el hidrógeno hasta el bismuto. Cuando el exceso de neutrones en relación con el de protones es considerable los núcleos de estos

elementos se hacen inestables, de forma que estos núcleos se descomponen espontáneamente desprendiendo energía y transformándose en núcleos atómicos de otros elementos químicos.

Los núcleos inestables tienden a la estabilidad mediante reacciones nucleares espontáneas (desintegración o decaimiento radiactivo) que se caracterizan por la emisión de partículas  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ . Estas partículas, descubiertas en los minerales radiactivos naturales, tienen la particularidad de ser desviadas por campos magnéticos intensos de forma desigual, lo que demuestra que sus cargas difieren entre ellas. Las partículas  $\alpha$  son átomos de Helio (dos protones y dos neutrones) cargados positivamente que emiten los núcleos radiactivos de ciertos elementos, transformándose en elementos más ligeros y estables. Un ejemplo sería el  $^{238}\text{U}$  que se desintegra en  $^{234}\text{Th}$  con pérdida de cuatro unidades de masa. Las partículas  $\beta$  son electrones ( $\beta^-$ ) o positrones ( $\beta^+$ ) emitidos por los núcleos de los átomos radiactivos. Cuando el núcleo tiene exceso de neutrones, cada uno de ellos se transforma en un protón, un electrón y un antineutrino. Este proceso se conoce como desintegración  $\beta^-$ . Un ejemplo de este tipo de desintegración se encuentra en el  $^{87}\text{Rb}$  que se desintegra en  $^{87}\text{Sr}$  o el  $^{187}\text{Re}$  que decae en  $^{187}\text{Os}$ . De igual modo, si el núcleo tiene exceso de protones, cada protón se transforma en un neutrón, un positrón y un neutrino. En este caso, el proceso se denomina desintegración  $\beta^+$ . Un ejemplo sería el  $^{22}\text{Na}$  que decae en  $^{22}\text{Ne}$ . Una característica fundamental de este tipo de desintegración con emisión de partículas  $\beta$  es que la transformación de un neutrón en un protón o viceversa en ningún caso conlleva un cambio en el número másico del isótopo. Las partículas  $\gamma$  son fotones de alta energía emitidos por el núcleo cuando se encuentra en un estado excitado, normalmente ocurre después de que el átomo haya sufrido una desintegración  $\alpha$  o  $\beta$  y su núcleo aún no haya llegado al nivel basal de energía. Por lo tanto, cuando un núcleo atómico emite una partícula  $\alpha$ , la carga de su núcleo disminuye en dos unidades y el elemento se transmuta en el situado dos columnas a la izquierda en la tabla periódica. Su nú-

mero másico (masa atómica) disminuye en cuatro unidades, masa de la partícula  $\alpha$ . Cuando el núcleo emite una partícula  $\beta^-$  (un electrón) la carga nuclear aumenta una unidad sin que haya cambio en su número másico y el elemento se transmuta en el situado una columna a su derecha. De forma opuesta ocurre con la emisión de una partícula  $\beta^+$  (positrón). La emisión de un rayo  $\gamma$  no origina ningún tipo de cambio en la masa ni en la carga del átomo [8].

La consecuencia más importante de las reacciones nucleares descritas es el cambio en la composición isotópica del elemento producto del decaimiento radioactivo. Así, la composición isotópica del estroncio en la naturaleza varía dado que el isótopo  $^{87}\text{Sr}$  se produce por el decaimiento radioactivo del  $^{87}\text{Rb}$  y lo mismo podemos decir de la composición isotópica del osmio. Por tanto, la medida de la composición isotópica de ciertos elementos que muestran variabilidad por decaimiento radioactivo es uno de los principales objetivos de la Geoquímica Isotópica moderna.

El estudio de las variaciones isotópicas naturales de ciertos elementos presentes en la muestra permite determinar el origen del material en el que se encuentran. Esto se conoce como huella isotópica y es propia de ciertos elementos químicos que son producto del decaimiento radioactivo de isótopos pesados de vida media larga. Los dos ejemplos más claros son el plomo y el estroncio aunque muchos otros elementos químicos dan lugar a estas pequeñas variaciones isotópicas. Su estudio se puede aplicar a infinidad de campos de la ciencia como la química, medio ambiente, antropología, calidad alimentaria, etc. Para utilizar un elemento químico en estudios de trazabilidad este debe encontrarse en un sistema cerrado, debe estar presente en la muestra a nivel detectable y poseer varios isótopos dado que lo que se pretende es la medida de una relación isotópica. Además, dada la pequeña magnitud de la variabilidad isotópica natural es necesario tener equipos que permitan determinar estas pequeñas variaciones de forma exacta y precisa.



La técnica que permite determinar con mayor exactitud y precisión las variaciones isotópicas de elementos pesados en la naturaleza es la espectrometría de masas de ionización térmica (TIMS). Sin embargo, a pesar de las excelentes precisiones obtenidas (en torno a 0,005%) los largos tiempo de preparación de muestra y de medida, así como la baja eficacia de ionización hacen que se busquen otras técnicas que mejoren las desventajas del TIMS pero que puedan competir con esta técnica en precisión. En ese sentido los ICP-MS multicolectores con detección simultánea permite estudiar estas pequeñas variaciones naturales de los isótopos con niveles de precisión similares al TIMS, por lo que ambos equipos se emplean en geoquímica, arqueología, biología, medioambiente y en análisis forense [9]. El fundamento de estos equipos se discutirá en el apartado 2 de esta introducción.

## **2. Geoquímica del rubidio y estroncio**

### **2.1 Estratigrafía**

El rubidio es un metal alcalino perteneciente al grupo IA de la tabla periódica. Su radio iónico es de 1,48Å, muy similar al radio del potasio, de 1,33Å, motivo por el que el rubidio suele sustituir al potasio en la estructura cristalina de los minerales que lo contienen.

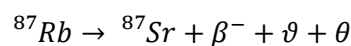
Es un elemento litófilo, con fuerte tendencia a unirse al silicio, apareciendo principalmente en la corteza terrestre asociado a los silicatos. Aunque no forma parte de la composición esencial de ningún mineral aparece disperso en minerales de potasio, como por ejemplo las micas o feldespatos potásicos. Por este motivo está presente en rocas ígneas ácidas (granitos-riolitas) en altas concentraciones (> 100 ppm), sin embargo, en rocas ígneas ultrabásicas (gabros-basaltos) y en rocas sedimentarias su concentración no llega a una ppm [10]. El rubidio posee dos isóto-

pos estables, de masas nominales 85 y el 87 cuyas abundancias en la naturaleza y masas exactas se resumen en la **Tabla A.2**.

**Tabla A.2. Isótopos de rubidio y estroncio.**

<b>Isótopo</b>	<b>Masa exacta</b>	<b>Abundancia (%)</b>
$^{85}\text{Rb}$	84,911800	72,1654
$^{87}\text{Rb}$	86,909184	27,8346
$^{84}\text{Sr}$	83,913428	0,56
$^{86}\text{Sr}$	85,909273	9,86
$^{87}\text{Sr}$	86,908902	7,00
$^{88}\text{Sr}$	87,905625	82,58

El estroncio es un elemento alcalinotérreo del grupo IIA, su radio iónico es de 1,13Å, cercano al radio del calcio, de 0,99Å, lo que hace que aparezca sustituyendo al calcio en la estructura cristalina de muchos minerales, como algunos silicatos (por ejemplo, las plagioclasas), fosfatos (apatito) y carbonatos (calcita, aragonito, dolomita). Esta última sustitución se ve limitada por la coordinación del estroncio, octaédrica, mientras que la del calcio es octaédrica o hexaédrica. Por su sustitución por calcio, aparece en rocas sedimentarias, principalmente en carbonatos en concentraciones muy elevadas. El estroncio tiene cuatro isótopos estables cuyas abundancias y masas exactas se resumen en la **Tabla A.2**. Las abundancias isotópicas del estroncio varían ligeramente en la naturaleza debido al decaimiento radiactivo del  $^{87}\text{Rb}$  en  $^{87}\text{Sr}$  que sigue la siguiente fórmula:



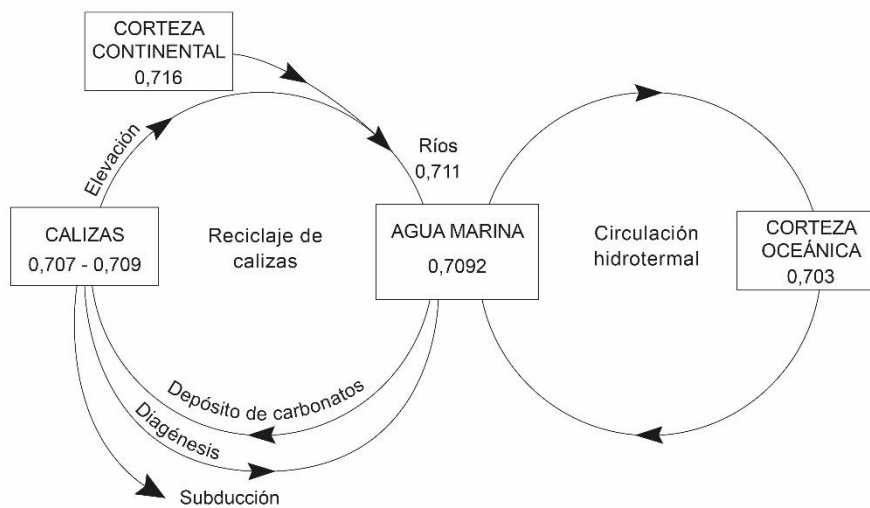
Donde  $\beta^-$  es la partícula  $\beta^-$ ,  $\nu$  es el antineutrino y  $\theta$  es la energía de decaimiento del rubidio (0,275 eV). La constante de decaimiento recomendada es  $1,42 \times 10^{-11} \text{ años}^{-1}$  [11] y su vida media es de 48,8 Ga. Geológicamente hablando, el resto de

los isótopos de estroncio son invariantes en comparación con el  $^{87}\text{Sr}$  por lo que la relación isotópica de cualquier isótopo de estroncio frente al  $^{87}\text{Sr}$  variará en función de la cantidad de  $^{87}\text{Sr}$  generado por decaimiento radioactivo. La cantidad de  $^{87}\text{Sr}$  presente en una roca en la actualidad depende de la cantidad inicial de  $^{87}\text{Sr}$  y de la cantidad de estroncio radiogénico generado por el decaimiento del  $^{87}\text{Rb}$  durante un tiempo  $t$  [12]. Para estudiar la variabilidad natural de la composición isotópica del estroncio se ha seleccionado históricamente la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  [13].

La evolución isotópica del estroncio en los distintos reservorios geológicos se deriva de la relación Rb/Sr que existía en el momento de su formación. En términos generales, la diferenciación de La Tierra se produce a través de la cristalización fraccionada durante el enfriamiento de un magma. De forma progresiva, en una cámara magmática situada en el manto, cristalizan minerales de distinta composición que añaden estroncio a su estructura cristalina dejando al rubidio en el fundido que incrementa su relación Rb/Sr con respecto al sólido, que permanece en el manto. El fundido más diferenciado, y por lo tanto más rico en rubidio asciende hasta la corteza formando granitos y pegmatitas, cuya relación Rb/Sr es más elevada que la del manto. Como resultado, el manto actual, al desprenderse del  $^{87}\text{Rb}$  radiogénico, tiene una relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  más pobre (0,703) con respecto a la corteza granítica que está enriquecida en  $^{87}\text{Sr}$  (>0,710). Las rocas más comunes suelen tener concentraciones de rubidio y estroncio relativamente elevadas que van desde 10 a varios cientos de ppm lo que facilita la medida de la composición isotópica de este elemento mediante las técnicas modernas de Espectrometría de Masas.

Se puede aplicar la geoquímica del Rb/Sr a dos campos de la geología: la datación de rocas ígneas, metamórficas y sedimentarias y la correlación de sedimentos marinos. Este último campo se conoce como "Estratigrafía de los Isótopos de estroncio" y lo desarrollaremos a continuación. Este concepto comenzó a aplicarse a

mediados del siglo XX, cuando Wickman [14] postuló en 1948 que el estroncio contenido en las conchas carbonatadas de los organismos marinos “graban” la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de los océanos en el momento en el que estas se forman. Por tanto, el análisis de la composición isotópica del estroncio de las rocas sedimentarias (principalmente carbonatos) producto de la acumulación fósil de las conchas de organismos marinos daría información sobre su periodo de depósito ya que esta composición se mantendría invariable en el tiempo debido a la eficiente separación del rubidio durante la precipitación del estroncio como carbonato [15]. A su vez, Hedge y Walthall [16] determinaron que la composición isotópica del estroncio en el agua de mar refleja a grandes rasgos, la composición isotópica de la corteza meteorizada. Por tanto, la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  que llega al mar depende del tipo de sedimentos que se aportan al agua desde la corteza continental y desde el manto en lo que se conoce como el ciclo del estroncio (**Figura A.2**).



**Figura A.2. Diagrama del ciclo del estroncio. Modificado de Elderfield. [17]**

Según se puede observar en el esquema de la **Figura A.2** desde la corteza continental se aporta al mar:

1. El producto de la meteorización de rocas ígneas y metamórficas y de las rocas sedimentarias con sedimentos detríticos que al estar formadas por silicatos son ricos en rubidio y por lo tanto contienen estroncio con alto contenido en  $^{87}\text{Sr}$  debido al decaimiento radiactivo del  $^{87}\text{Rb}$ . La relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  media en estos sedimentos es la de los granitos, aproximadamente 0,716.
2. El producto de la meteorización química de los carbonatos marinos y sulfatos, que se han formado por precipitación de carbonato cálcico ( $\text{CaCO}_3$ ) en los océanos y que por procesos tectónicos vuelven a formar parte de la corteza continental. La baja concentración de rubidio en los océanos añadido al hecho de que apenas entra en la estructura de estas rocas hace que presenten valores más bajos de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , entre 0,707 y 0,709.

Estos sedimentos llegan al océano a través de los ríos, cuya composición isotópica es una mezcla de ambos, situándose en torno a 0,711.

Por otra parte, desde el manto se aporta estroncio al mar proveniente de la actividad magmática producida en las dorsales oceánicas. El estroncio del agua de mar entra a formar parte de la actividad hidrotermal de las dorsales perdiendo el estroncio con relación isotópica propia del mar que precipita en el fondo marino formando parte de la anhidrita y ganando el estroncio proveniente de los basaltos cuya relación isotópica es menor que la aportada por los continentes, en torno a 0,703. Esta aportación, por tanto disminuye la relación isotópica del Sr del agua del mar.

La **Tabla A.3.** muestra el esquema del valor de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de cada uno de los reservorios indicados.

**Tabla A.3. Relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en algunas rocas y reservorios de la Tierra.**

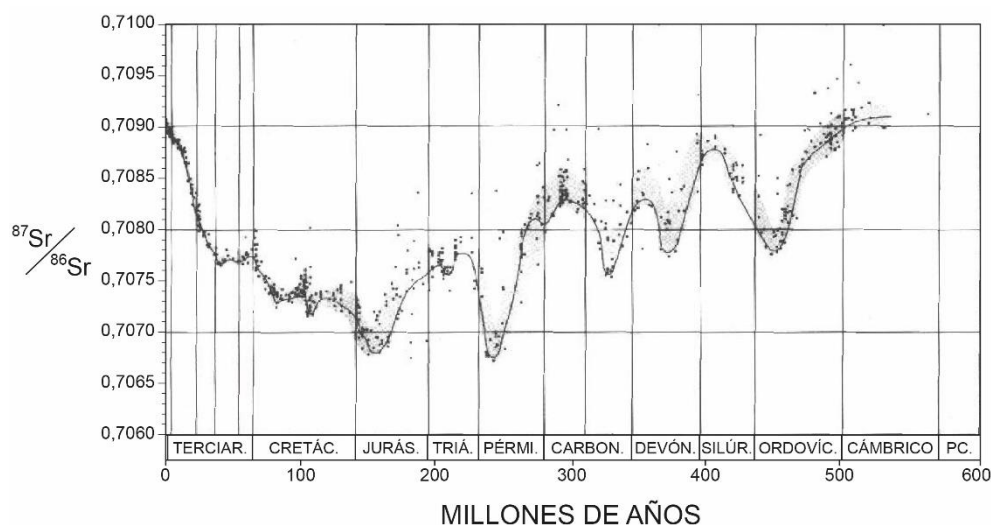
<b>Reservorios y rocas</b>	<b><math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>
Granitos-corteza continental	0,716-0,718
Agua de río	0,711
Agua de mar	0,7068-0,7092
Calizas	0,707-0,709
Basaltos-manto	0,703
Primordial-meteoritos	0,699

Por otro lado, las diferentes tasas de aportación se deben en primer lugar a las diferentes tasas de meteorización que sufren las rocas en la corteza, esto se debe a que los minerales de las rocas ígneas, ricos en rubidio, como son las micas o feldespatos potásicos son más resistentes a la meteorización química que los minerales más ricos en estroncio como la calcita de los carbonatos. Por otra parte, el aporte de  $^{87}\text{Sr}$  depende de la edad de las rocas y de la tasa de desintegración del  $^{87}\text{Rb}$  en  $^{87}\text{Sr}$  que hayan sufrido a lo largo del tiempo. Esto tiene dos consecuencias directas:

1. La meteorización de rocas compuestas por silicatos aporta al agua menor concentración de estroncio con un valor superior de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .
2. La meteorización de rocas carbonatadas y sulfatos aportan mayor concentración de estroncio y menor valor de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

Finalmente, y debido a la larga vida media del  $^{87}\text{Rb}$  y la baja relación Rb/Sr en el agua del mar, no hay producción significativa de  $^{87}\text{Sr}$  en los océanos, de forma que la relación isotópica de estroncio en el agua de mar viene determinada únicamente por los aportes de la corteza y el manto.

Peterman *et al* [18] dibujaron la primera curva de isótopos de estroncio en el agua de mar para el Fanerozoico (542 Ma-actualidad). Sin embargo, las primeras medidas de relaciones isotópicas de estroncio no eran suficientemente precisas y no fue hasta la década de 1980, con las mejoras en el proceso de preparación de muestra y los avances relacionados con la instrumentación, cuando Burke *et al* [19] dibujaron la primera curva de isótopos de estroncio para el Fanerozoico suficientemente precisa basada en el registro fósil y utilizando para ello 786 muestras de fósiles de origen marino. Esta curva, que se reproduce en la **Figura A.3**, se basa en el principio de que debido a que la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del agua del mar es homogénea a nivel mundial en un tiempo dado, es posible determinar su variación temporal usando carbonatos marinos de diferentes edades que se utilizan como indicadores del valor de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de agua de mar en el momento en que vivieron estos organismos.



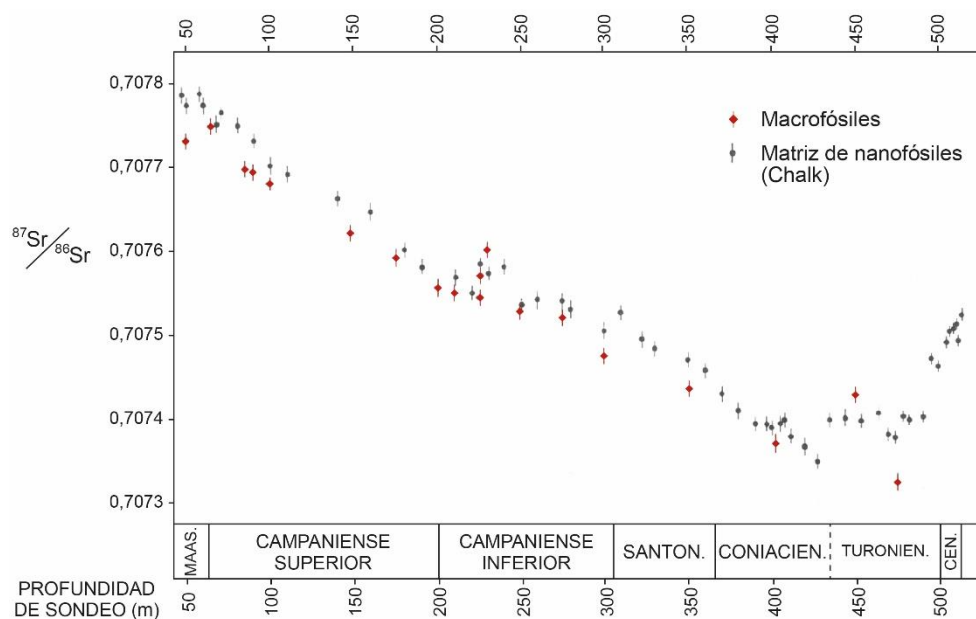
**Figura A.3.** Variación temporal de la relación isotópica de estroncio en agua de mar según Burke *et al* [19].

Como se puede observar en la **Figura A.3**, los resultados obtenidos indican que la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ha variado durante estos millones de años entre 0,7068 y 0,7092, valores que se encuentran entre los de la corteza continental y los basaltos marinos. Las ligeras fluctuaciones de la curva a lo largo del tiempo se deben principalmente a variaciones en los procesos geológicos que aportan estroncio al mar: variaciones en la actividad hidrotermal, en la tasa de meteorización o en la de reciclado de carbonatos [20,21]. Desde el trabajo de Burke *et al* [18], se considera que estas pequeñas variaciones hacen del estudio de las relaciones isotópicas estroncio un método de correlación estratigráfica a nivel global.

De interés especial para esta tesis es la curva que McArthur *et al* [22, 23] dibujó para el Cretácico Superior. La primera curva de isótopos de estroncio detallada para este periodo corresponde al Chalk de Trunch, en el sur de Inglaterra, donde el Servicio Geológico inglés perforó 469 m de Chalk de edad Cenomaniense-Mastrichtiense (100 Ma -72 Ma). Esta curva con sus modificaciones posteriores se estableció como la curva de isótopos de estroncio que permitiría correlacionar el Cretácico Superior del Noroeste de Europa con la estratigrafía a nivel mundial durante este periodo.

La curva final en función de la edad de la roca sedimentaria basada en el registro fósil se representa en la **Figura A.4**. Como se puede observar, la variabilidad isotópica del estroncio es muy baja, con valores entre 0,707300 y 0,707800. Partiendo de 0,707500 en el Cenomaniense (100 Ma) descendiendo hasta 0,707300 en el Coniaciense (89 Ma) para luego incrementarse paulatinamente hasta 0,707800 en el Maastrichtiense (72 Ma). Es decir, durante 30 millones de años la variación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en el agua de mar fue de 0,0005. Esta mínima variación, obliga medir las relaciones de estroncio de forma extremadamente exacta y precisa para estudios de estratigrafía.



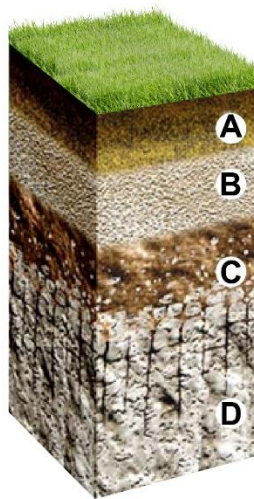


**Figura A.4. Curva de los isótopos de estroncio para el Cretácico Superior. Basada en McArthur *et al.* [22]**

## 2.2. Las relaciones isotópicas de estroncio en suelos

El suelo constituye la interfaz entre la litosfera, la atmósfera, la biosfera y la hidrosfera, sistemas con lo que mantiene un continuo intercambio de materia y energía y proporciona los nutrientes esenciales para el crecimiento de la vegetación y de los cultivos [24]. En Edafología el término suelo corresponde a un depósito residual no consolidado, constituido por fragmentos de roca productos de la meteorización de una roca madre y transformado por la actividad orgánica. Por añadidura, desde el punto de vista agronómico, el suelo, además, es el material que soporta el crecimiento de la vegetación terrestre [25]. Cuando una roca aflora

y se meteoriza, la superficie del terreno es colonizada por la vegetación, de esta forma comienza a desarrollarse el suelo en forma de capas horizontales superpuestas (horizontes) diferenciadas por su color, composición química, mineralógica y tamaño de grano (**Figura A.5**). El proceso de formación de todos los horizontes del suelo (4 como mínimo) oscila entre los mil años para suelos de evolución rápida y más de un millón de años para suelos de evolución lenta [26]. Los procesos que influyen en su evolución son: la roca madre, el clima, los organismos y la pendiente del terreno.



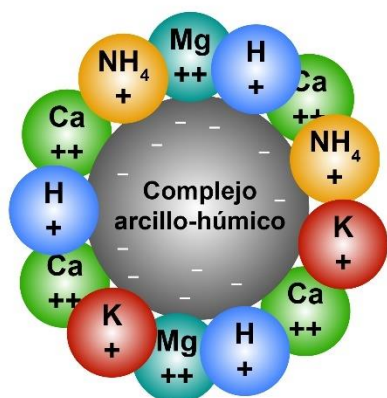
### HORIZONTES DEL SUELO

- A** Hojas y residuos orgánicos sin descomponer
- B** Precipitación de sustancias lavadas de A
- C** Fragmentos y restos de meteorización de la roca madre
- D** Roca madre sin alterar

**Figura A.5.** Perfil del suelo y sus horizontes.

La roca madre es la roca original a partir de la cual, mediante procesos de meteorización, se obtienen fragmentos de roca que constituyen el suelo. Por lo tanto, el tipo de roca madre determinará el tipo de suelo que se formará. Así, un suelo desarrollado sobre una caliza ( $\text{CaCO}_3$ ) será calcáreo o un suelo desarrollado sobre una arenisca ( $\text{SiO}_2$ ) será silíceo, aunque las alteraciones geoquímicas y bioquímicas, producto de la climatología, de los factores bióticos (flora, fauna y hombre) y

de la pendiente pueden variar profundamente la composición original de la roca. La temperatura y sus oscilaciones, las precipitaciones, el viento y el efecto del agua producen alteraciones fisicoquímicas de la roca madre hasta tal punto que una misma roca madre dará suelos diferentes en función del clima. La acción de los factores bióticos determina la presencia de materia orgánica en el suelo, siendo esta uno de los componentes más importantes del suelo, ya que su mezcla con las arcillas constituye el complejo arcillo-húmico, regulador de la fertilidad y humedad del suelo que favorece el flujo de nutrientes. Los nutrientes que absorben las plantas para su crecimiento son aquellos que se encuentran en forma lábil en el suelo. Estos nutrientes están ligados al complejo arcillo-húmico (**Figura A.6**).



**Figura A.6. Complejo arcillo-húmico**

Del mismo modo se encuentran en el suelo los elementos traza. Uno de estos elementos es el estroncio, presente en el suelo como resultado de la degradación de la roca madre o como producto de las actividades antrópicas contaminantes [27]. El estroncio es metabólicamente similar al calcio y las especies vegetales, al absorberlos, no pueden diferenciar entre ambos cationes [28], de forma que estos compiten por su captación. Sin embargo, la absorción del estroncio es específica de cada especie y está influenciada por las características del suelo (presencia de

arcillas, capacidad de intercambio catiónico, presencia de calcio lábil [29] y contenido en materia orgánica [30].

El estroncio es un trazador geoquímico muy sensible en el estudio de la meteorización química y en la génesis del suelo. Debido a que los cationes divalentes presentan mayor retención en el suelo que los monovalentes, el estroncio es fuertemente absorbido por los filosilicatos y la materia orgánica del suelo (complejo arcillo-húmico), posteriormente este estroncio (lábil) con una relación isotópica determinada, entra en la planta, y, puesto que los procesos biológicos que involucran al metabolismo de las plantas no producen fraccionamiento del estroncio, este se encuentra con la misma relación isotópica en sus distintas partes. Por lo tanto, la composición isotópica del estroncio presente en las plantas está dominada por los cationes lábiles del suelo [31] que a su vez tienen la composición isotópica de la roca madre modificada por la meteorización química de los minerales y por las fuentes externas como la precipitación. La concentración típica del estroncio en el suelo varía entre 0,2 y 20 ppm.

Por tanto, las relaciones isotópicas del estroncio se pueden utilizar para relacionar una determinada planta con el suelo en el que ha crecido. Esto ha hecho que el estroncio se haya utilizado como trazador para identificar la procedencia de ciertos alimentos que se venden de forma ilícita. Un ejemplo se encuentra en el fraude en la comercialización del té. La adulteración del té incluye el uso de orígenes geográficos diferentes a aquel por el que se quiere hacer pasar, sustitución por té de menor calidad o sustitución por otras variedades [32]. En un estudio de 2013 [33] se correlacionaron mediante MC-ICP-MS los valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de la planta del té de Darjeeling, una región productora al noreste de la India, con los valores de las relaciones isotópicas de estroncio del suelo de la región, permitiéndolo diferenciarlo de otros té originarios de otras regiones indias. Otro estudio reciente trata sobre el fraude de la alubia blanca, que se comercializa bajo el etiquetado de "faba asturiana" o "Fabes de Asturias" y cuyo origen se encuentra en América.

El estudio de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en fabas asturianas mediante LA-MC-ICP-MS permitió correlacionar el suelo sobre el que creció la planta con las alubias cultivadas en suelo asturiano y descartar aquellas con relaciones isotópicas de estroncio no coincidentes con el rango de valores de los suelos asturianos [34].

En resumen, el estroncio se ha revelado como un elemento que permite establecer la trazabilidad de un alimento con el suelo en el que se cultivó, gracias a los diferentes valores de las relaciones isotópicas de estroncio en función de la naturaleza del suelo.

## **2.3. Preparación de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio**

### **2.3.1. Digestión de carbonatos, sulfatos y fosfatos**

Las muestras escogidas para los análisis dependerán del periodo geológico estudiado, pero en general, se utilizan carbonatos ya sea en forma de calcita o aragonito. Esto es debido a que contienen concentraciones insignificantes de rubidio, la contaminación de material no carbonatado puede eliminarse y se puede evaluar el grado de alteración diagenética. Entre estos, los más utilizados son los microfósiles (vivalbos, etc.) aunque también se han utilizado microfósiles, el chalk o el cemento carbonatado marino. En algunas aplicaciones se han utilizado también sulfatos (barita) o fosfatos (apatito). En todo caso para dibujar la curva de Sr para un periodo geológico se deben utilizar siempre muestra datadas previamente mediante magnetoestratigrafía, bioestratigrafía o astroestratigrafía [23].

Para el análisis es más recomendable la utilización de conchas de aragonito ya que tienen mayor concentración de Sr al entrar este elemento preferiblemente en su red cristalina frente a la de la calcita y son indicadores de menor alteración al te-

ner menos superficie reactiva que los nanofósiles. En todo caso, las muestras deben estar correctamente preservadas y no presentar alteraciones diagenéticas [35]. Por ejemplo, el agua contenida en los poros de los carbonatos es un sistema abierto, de forma que los carbonatos pueden ganar o intercambiar estroncio con minerales coexistentes como las arcillas, sedimentos más antiguos, o modernos, o basaltos [21, 36, 37]. Estas fases tienen distinta relación isotópica de Sr que el agua de mar y pueden afectar a la determinación de la composición isotópica de los carbonatos marinos por lo que el pretratamiento adecuado de las muestras es un factor importante para eliminar esta contaminación diagenética.

Una vez en el laboratorio es importante seleccionar la técnica de disolución adecuada. Dado que solamente se quiere determinar el valor de la relación isotópica de estroncio de la fase mineral depositada en la formación del organismo, se debe evitar la disolución de minerales recristalizados durante la diagénesis como son otros carbonatos de sobrecrecimiento, o contaminantes (por ejemplo, silicatos como las arcillas) que aparecen sobreimpuestos al carbonato de interés y cuyos valores de la relación isotópica de estroncio son diferentes a los de los carbonatos objeto de estudio. El uso de un ácido fuerte como el HCl o HNO<sub>3</sub> puede disolver todas las fases carbonatadas y también las silicatadas presentes en la muestra, obteniéndose, por tanto, el valor de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de toda la muestra y no solamente de la fracción de interés. Sin embargo, el uso de un ácido débil, como el ácido acético (HAc) con lixiviados sucesivos permite disolver la muestra de forma selectiva. De esta forma, en un primer lixiviado se puede eliminar el estroncio intercambiable, sobrecrecimientos y cemento, que son los primeros en disolverse durante el ataque ácido y así minimizar la contaminación, en un segundo lixiviado se disolvería el carbonato de interés que sería la fracción para analizar quedando el residuo insoluble de contaminante, que sería la fracción silicatada, dado que el ácido débil no tiene suficiente poder para disolverla [22, 38, 39].

## **2.3.2. Digestión de suelos y plantas**

En el estudio de la correlación de la relación isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en plantas las muestras objeto de estudio son las partes del ciclo que tienen influencia sobre la composición isotópica del estroncio. Estas serían, por tanto, el suelo sobre el que crece la planta, sus hojas y el fruto de la planta. Si este fruto se trata de alguna manera (p.e. fermentación) el fermentado también mantendrá la relación isotópica original del estroncio. Cada una de las muestras requiere de un método de digestión para la posterior separación del estroncio. Para recoger la muestra de suelo se extraen aproximadamente los primeros 60 cm de profundidad, de estos se desechan los 10 primeros cm y posteriormente se divide el resto en dos alícuotas [40,41] para su posterior análisis.

### **2.3.2.1. Suelos**

De cada alícuota se escogen 100 gr de cada suelo, se secan y se muelen a un diámetro entre 50 y 250  $\mu\text{m}$ . La extracción del estroncio lábil para su análisis se realiza mediante de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1M siguiendo la norma ISO 19730 [42].

### **2.3.2.2. Hojas, fruto y fermentos**

Para estos materiales, el objetivo de la digestión es la eliminación de la materia orgánica que pueda interferir en el análisis del estroncio. Posteriormente a la trituración de las hojas, la digestión se realiza mediante programas específicos de microondas utilizando una mezcla de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  [43]. En el caso de los frutos, se les debe quitar la piel antes de su digestión para evitar la contaminación superficial. En este caso, la digestión de los frutos puede realizarse mediante horno microondas añadiendo  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  [44]. La digestión del fermentado se pue-

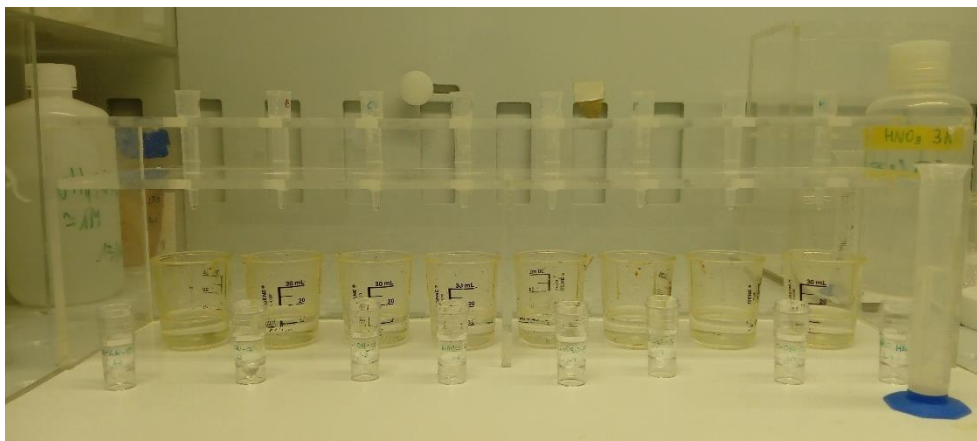
de realizar mediante la adición de  $\text{HNO}_3$  en proporción 1:1, y dejando reaccionar durante 12 horas a presión atmosférica o mediante procedimientos que involucran una digestión inicial a presión atmosférica y una final mediante horno microondas [45, 46].

Finalmente, tanto el fruto como el fermentado también se pueden digerir mediante evaporación a sequedad añadiendo agua regia (3:1  $\text{HCl}/\text{HNO}_3$ ) y  $\text{H}_2\text{O}_2$  [47, 48].

### 2.3.3. Separación del estroncio

Para el posterior análisis, por espectrometría de masas, se debe aislar el estroncio de su matriz y separarlo del rubidio. La forma tradicional de aislar el estroncio del rubidio y de su matriz se basa en la separación mediante extracción en fase sólida que consiste en concentrar y separar un analito de una matriz compleja haciendo pasar la muestra por una fase sólida estacionaria (resina). Para separar el estroncio del rubidio y de su matriz existen varias resinas comerciales (AG50W-X8, DOWEX 50WX8) basadas en grupos funcionales de ácido sulfónico donde la separación del rubidio se realiza mediante  $\text{HCl}$ . Actualmente la resina más utilizada es la Eichrom's Sr Resin, debido a su alta capacidad para separar el estroncio. Está formada por un soporte de polímero inerte; 4,4(5)-di-t-butylcyclohexano 18-crown-6 (éter corona) diluido en 1-octanol y utiliza  $\text{HNO}_3$  como eluyente [49]. Esta separación (**Figura A.7**) se realiza en vitrina de gases en un proceso que consta de varias etapas sucesivas, en cada una de las fases se añade una concentración diferente de  $\text{HNO}_3$  en función del analito que se desee extraer.





**Figura A.7. Proceso de separación del estroncio mediante extracción en fase sólida.**

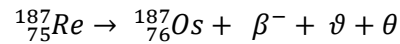
De forma general la primera etapa sirve para acondicionar la resina preparándola para absorber la muestra, en las siguientes etapas se filtran los analitos no deseados como es el caso del rubidio, dejando en la resina el estroncio que se recoge en la última fase, que es la que posteriormente se lleva a analizar mediante espectrometría de masas.

### 3. Geoquímica del renio y el osmio

El renio es un metal de transición perteneciente al grupo VII de la tabla periódica, es uno de los metales más raros de la Tierra y su abundancia en la corteza se estima en 0,001 ppm [50]. Posee dos isótopos estables cuyas abundancias y masas exactas se muestran en la **Tabla A.4**.

El osmio, al igual que el renio, también es un metal de transición perteneciente al grupo VIII de la tabla periódica. Es junto al rutenio, rodio, paladio, iridio y platino uno de los minerales del grupo del platino, tiene siete isótopos cuyas abundancias

y masas exactas se muestran en la **Tabla A.4**. Dos de ellos provienen del decaimiento radioactivo de otros isótopos; el  $^{186}\text{Os}$  que proviene del  $^{190}\text{Pt}$  (vida media  $6.5 \times 10^{11}$  años,  $\alpha$ ) y el  $^{187}\text{Os}$  que proviene del  $^{187}\text{Re}$  (vida media  $4.12 \times 10^{10}$  años) mediante el decaimiento  $\beta^-$ . Este último proceso se ilustra a continuación:



Donde  $\beta^-$  es la partícula  $\beta$ ,  $\nu$  es el antineutrino y  $\theta$  es la energía de decaimiento del Re (2,5 eV) [51].

**Tabla A.4. Relación de isótopos de renio y osmio.**

Isótopo	Masa exacta	Abundancias (%)
$^{185}\text{Re}$	184,952977	37,4
$^{187}\text{Re}$	186,955765	62,6
$^{184}\text{Os}$	183,952514	0,002
$^{186}\text{Os}$	185,953852	1,59
$^{187}\text{Os}$	186,955762	1,96
$^{188}\text{Os}$	187,955850	13,24
$^{189}\text{Os}$	188,958156	16,15
$^{190}\text{Os}$	189,958455	26,26
$^{192}\text{Os}$	191,961487	40,78

En referencia a su distribución y comportamiento geoquímico, estos elementos son siderófilos por lo que se concentraron principalmente en el núcleo durante la diferenciación planetaria con menor abundancia en el manto y la corteza [52] donde tienen comportamiento calcófilo, lo que indica que tienen una fuerte afinidad por los sulfuros. El osmio como mineral del grupo del platino tiende a formar parte de las primeras fases de la cristalización fraccionada concentrándose principalmente en las rocas mantélicas. El renio, por su parte, es mucho más calcófilo que el osmio y tiende a concentrarse en el fundido residual llegando a la corteza

asociado al azufre volátil que acompaña a los fundidos silicatados. De esta forma la corteza estará relativamente enriquecida en renio y empobrecida en osmio [53].

Por lo tanto, la distribución del renio y el osmio en las capas de la Tierra es la siguiente [54]:

- Núcleo. Se concentran la mayor parte de estos elementos.
- Manto: Contiene ambos elementos, aunque el osmio se encuentra en mayor proporción, por lo que la relación Re/Os es baja o muy baja. Aparece en rocas máficas ricas en Fe y Mg.
- Corteza: Muy pobre en ambos elementos, aunque el renio aparece en mayor proporción por su carácter calcófilo, por lo que la relación Re/Os es elevada. Aparece en rocas félsicas con feldespatos y sílice (granitos, pegmatitas) en presencia de azufre.

El rasgo más característico del renio en la corteza es su presentación dispersa. Su escasez y su semejanza química con muchos de sus vecinos del sistema periódico se manifiesta en que no forma nunca minerales independientes, sino que aparece oculto, en pequeñas cantidades, en la estructura de otros minerales [55].

### **3.1. La Molibdenita en datación geoquímica**

El molibdeno es un metal perteneciente al grupo VI de los elementos de transición. Geoquímicamente un elemento siderófilo (afinidad por el núcleo y manto) pero con una fuerte tendencia calcófila (afinidad por el azufre) por lo que aparece preferentemente en la corteza asociado a este elemento. La mena más importante de molibdeno en la corteza terrestre es la molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ). En presencia de

azufre, el molibdeno se apodera de todo el azufre disponible para formar la molibdenita hasta tal punto que en presencia de molibdeno solamente se forman otros sulfuros cuando sobra azufre después de la formación de la molibdenita [55]. Este mineral se concentra de forma notable en los últimos estadios de la cristalización magmática, principalmente en los pórfidos de molibdeno, granitos y pegmatitas [56, 57]. También puede aparecer en rocas formadas por metamorfismo de contacto con silicatos de calcio (skarn) y en yacimientos hidrotermales de estaño y/o wolframio, relacionados con granitos evolucionados.

La molibdenita se compone, en peso, de un 59% de molibdeno y un 40,1% de azufre, presentándose en forma de lámina de átomos de molibdeno intercalada entre dos de azufre, formando una estructura en capas con una exfoliación perfecta en la dirección {0001}. Tiene hábito laminar similar a los filosilicatos, color gris plomo y dureza baja y se presenta en forma de dos politipos, hexagonal (2H) y romboédrica (3R). La característica más importante de la molibdenita que le confiere su aplicación en datación geoquímica es que el  $\text{Re}^{4+}$  puede sustituir al  $\text{Mo}^{4+}$  en su estructura cristalina debido a su similitud de radio iónico. Este elemento suele estar más presente en el politipo 2H que en el 3R [58] llegando a alcanzar concentraciones desde ppb<sup>1</sup> hasta % [59]. Por otro lado, no existe sustitución por parte del osmio en la estructura de la molibdenita por lo que podríamos decir que la concentración de osmio primigenio en molibdenitas se puede considerar despreciable. En los fluidos hidrotermales el osmio se presenta como  $\text{Os}^{4+}$ , y en el ambiente reductor en el que precipita la molibdenita el osmio también se reduce y lo hace a cationes más grandes y de menor carga lo que imposibilita su entrada en la estructura de la molibdenita [60]. Por lo tanto, todo el osmio que esté presente en la molibdenita va a provenir del decaimiento del renio y, por tanto, consiste únicamente del isótopo  $^{187}\text{Os}$ . Por tanto, la datación es mucho más simple

---

<sup>1</sup> ppb: parte por billón.

que en otros sulfuros y la edad de la molibdenita puede ser determinada a través de la siguiente fórmula [61]:

$$t = \left(\frac{1}{\lambda}\right) \ln \left(1 + \frac{{}^{187}\text{Os}}{{}^{187}\text{Re}}\right)$$

Donde  $t$  es el tiempo,  $\lambda$  la constante de decaimiento del renio, que se estima en  $1,666 \times 10^{-11} \pm 0,0017$  años<sup>-1</sup> [62] y  ${}^{187}\text{Os}$  y  ${}^{187}\text{Re}$  son las concentraciones de ambos isótopos en la muestra, determinadas por espectrometría de masas.

### **3.1.1. Técnicas de medida de Re-Os en molibdenitas**

La finalidad de los procesos analíticos es la determinación de la concentración de los isótopos  ${}^{187}\text{Re}$  y  ${}^{187}\text{Os}$  presentes en la molibdenita que se determina combinando la dilución isotópica con la espectrometría de masas. Ciertas características del renio y, principalmente, del osmio aumentan la complejidad de los procesos analíticos y dificultan la obtención de resultados fiables [61]:

- La baja cantidad de renio y osmio medibles (aunque en la molibdenita el renio puede alcanzar altas concentraciones).
- La volatilidad a bajas temperaturas del  $\text{OsO}_4$  que se produce durante la disolución de la muestra en medio ácido y ambiente oxidante.
- La distribución heterogénea del osmio dentro de la estructura de la molibdenita que puede conducir a una mala reproducibilidad de los resultados.

Ya en 1937 se intentó determinar la composición isotópica del osmio en diferentes matrices mediante gas mass spectrometry [63] pero esta técnica no permitía alcanzar datos precisos, lo que se sumaba al requerimiento de altas cantidades de

osmio para el análisis que normalmente no estaban presentes en las muestras [64, 65, 66]. En 1982 J.M. Luck desarrolló una técnica de análisis mediante SIMS [67] que redujo la cantidad de osmio necesaria ampliando el rango de muestras analizables. Los estudios mediante SIMS permitieron establecer la curva de evolución del osmio en el manto y las principales características de la sistemática del osmio en meteoritos, sentando las bases de la geoquímica moderna del Re-Os.

Desde 1991 el análisis de Re-Os es más exacto y sensible gracias a la Espectrometría de masas por Ionización Térmica Negativa o NTIMS en sus siglas en inglés. Esta técnica permite analizar matrices con muy baja concentración de renio y osmio [68, 69] gracias a su alta eficiencia de ionización. En el caso del osmio permite disminuir la cantidad necesaria para el análisis en un factor de 10.000 con relación al SIMS [63].

La introducción del ICP-MS del tipo doble enfoque con detección por multicolector permite alcanzar una precisión de los análisis cercana a la del NTIMS, pero su mayor ventaja es la reducción en el tiempo de análisis [70] y la reducción en el tiempo de preparación de muestra, ya que se puede introducir el osmio directamente como el producto de la digestión de la molibdenita ( $\text{OsO}_4$ ) [71] a diferencia del NTIMS que requiere como paso intermedio su reducción a  $\text{OsCl}_6^-$  o  $\text{OsBr}_6^-$ . Sin embargo, un problema asociado al análisis del osmio por ICP-MS son los grandes efectos de memoria que puede provocar cuando se mide como  $\text{OsO}_4$ . En lo referente al análisis de renio, el ICP-MS muestra grandes ventajas con respecto al NTIMS. Aunque la ionización del renio es menor en ICP-MS que en NTIMS se pueden medir cantidades más reducidas de renio (hasta 0,2 pg) dando valores más precisos que al NTIMS debido a los problemas de contaminación que pueden producirse en el filamento [70].

La toma de una muestra representativa en el campo y la preparación de una submuestra para el análisis químico es crítica para obtener una interpretación geoquímica final fiable. Uno de los problemas que presenta el sistema Re-Os en molibdenitas es la movilidad del osmio dentro de su estructura cristalina que tiende a desplazarse a zonas de defectos del cristal mientras que el renio tiende a mantenerse inmóvil en los huecos del molibdeno. Esta movilidad se da principalmente en molibdenitas antiguas y aquellas que sufrieron una historia geológica compleja. La movilidad del osmio en la molibdenita puede conducir a dataciones erróneas que se minimizan homogeneizando la muestra mediante la molienda a un tamaño de grano por debajo del milímetro y escogiendo una cantidad de submuestra representativa, que según Stein debe ser superior a 50 mg [72].

Para la cuantificación del renio y del osmio por dilución isotópica, durante el proceso de digestión se añaden materiales de referencia marcados isotópicamente que se deben equilibrar con estos elementos presentes de forma natural en la muestra. Para el renio se utiliza un trazador enriquecido en  $^{185}\text{Re}$  y para el osmio se puede utilizar un trazador de  $^{190}\text{Os}$  o un patrón de Os de composición isotópica natural. En muestras de molibdenita se han propuesto dos tipos de digestiones: el ataque ácido en Tubo de Carius o la fusión alcalina oxidante. Los procesos posteriores de separación van a depender de la técnica analítica utilizada en el ataque y se explican a continuación.

**Tubo de Carius.** Muy usado para la digestión de molibdenitas por el ataque oxidante a alta presión ya que se consigue la disolución completa de la muestra y fondos bajos para el osmio. El método fue aplicado en minerales del grupo del platino [73] y es una adaptación de método original descrito por Carius en 1865 [74]. En primer lugar se introduce en el tubo de Carius la muestra, el trazador y los ácidos nítrico y clorhídrico que se utilizan como reactivos. Para cerrar el tubo se

sumerge en un baño de hielo seco con metanol o acetona. Posteriormente se lleva a temperatura ambiente y a continuación se introduce en un horno a 240°C de 12 a 24 horas. Esto permite el ataque de la muestra en una disolución oxidante a altas presiones sin pérdida del  $\text{OsO}_4$  volátil, así como el equilibrio isotópico entre la muestra y el trazador. Después de la disolución el tubo de Carius se enfría de nuevo en el baño de hielo seco antes de abrirlo.

**Fusión alcalina.** Markey *et al.* [75] desarrollaron un método de fusión alcalina para molibdenitas basado en la digestión de los meteoritos (condritas carbonáceas) de Morgan y Walker. La fusión alcalina se realiza en crisoles de circonio. En primer lugar se introduce en el crisol la muestra (entre 0.1 y 0.2 g), el trazador, 1 g de NaOH sólido y 1 ml de agua ultra pura. La mezcla se evapora a sequedad en estufa a 50 °C. En un segundo paso se añaden 3.5 g de NaOH y se calienta en mufla a 350 °C durante 1 hora. Se saca el crisol de la mufla, se deja enfriar y se añaden 4 g de  $\text{Na}_2\text{O}_2$  como oxidante. Finalmente se introduce de nuevo el crisol en la mufla a 600 °C durante 1 hora. El fundido final se deja enfriar y se disuelve en agua ultra pura o una mezcla de ácidos según el proceso de separación posterior utilizado.

Los dos procedimientos de ataque descritos tienen en común la obtención de los elementos en su más alto estado de oxidación: el Re se encontrará como  $\text{ReO}_4^-$ , el Os como  $\text{OsO}_4$  (tubo de Carius) o  $\text{OsO}_5^{2-}$  (fusión alcalina) y el Mo como  $\text{MoO}_3$  (tubo de Carius) o  $\text{MoO}_4^{2-}$  (fusión alcalina).

Después de la digestión de la molibdenita tanto mediante el tubo de Carius como de la fusión alcalina es necesario separar ambos elementos antes de su análisis por espectrometría de masas. Si la digestión se realiza mediante tubo de Carius la separación del osmio se puede realizar directamente mediante destilación intro-



duciendo  $N_2$  a la muestra, calentándola y recogiendo el  $OsO_4$ . Si proviene de la fusión alcalina es necesario acidular la muestra antes de la destilación del Os. En el caso de utilizar ICP-MS se puede medir directamente como  $OsO_4$ . Otra forma de separación es mediante extracción líquido-líquido. Aprovechando la afinidad del osmio por las fases orgánicas se separa mediante  $CHCl_3$  y  $CCl_4$ , reduciéndolo posteriormente con HCl-EtOH o HBr para su análisis [76,77].

La separación del renio se realiza a partir del residuo líquido que queda de la separación del osmio. Se puede realizar mediante intercambio aniónico utilizando las resinas Dowex 1 y AG1 X8 haciendo eluir el renio mediante HCl [78] o mediante extracción líquido-líquido, debido, al igual que el osmio, a su afinidad por fases orgánicas en su estado más alto de oxidación [67, 79, 76].

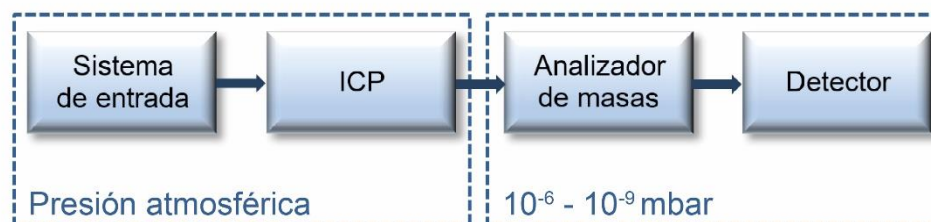
En esta tesis doctoral se desarrolla un procedimiento alternativo para la separación de Re y Os basada en el intercambio aniónico de la digestión alcalina tras su disolución en agua ultra pura.

## **4. Espectrometría de masa con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)**

Como se ha mencionado previamente, la utilización de los métodos de datación geoquímicos está supeditada a la determinación de forma exacta y precisa de las concentraciones y la composición isotópica de los elementos implicados en los procesos de datación, de igual forma ocurre en los estudios de trazabilidad, donde es de vital importancia determinar de forma precisa las relaciones isotópicas de los isótopos de interés.

La técnica de análisis elemental que permiten estas determinaciones es la Espectrometría de masas, por lo que el desarrollo, tanto de los estudios de datación como los de trazabilidad han ido de la mano de la mejora en la sensibilidad, exactitud y precisión de esta técnica. Dentro de la espectrometría de masas, los equipos que alcanzan estos requerimientos son la Espectrometría de masas por ionización térmica (TIMS) seguidos del plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) con analizadores de doble enfoque. La combinación del analizador de doble enfoque con la detección simultánea de los isótopos de los elementos a estudiar mediante el uso de varios detectores en línea (multicolectores) permite alcanzar precisiones cercanas a las obtenidas con el TIMS en la medida de relaciones isotópicas.

Para el desarrollo y validación de los métodos analíticos presentados en esta tesis doctoral se han utilizado tres equipos ICP-MS con distintas configuraciones. Un ICP-MS con cuadrupolo y dos ICP-MS de doble enfoque, uno con detección simple, el Element 2, y otro con nueve detectores en línea, el Neptune Plus. El sistema de entrada de muestra es, con ligeras variaciones, común en todos los equipos, encontrándose ésta a presión atmosférica. Asimismo, la transmisión del haz de iones a través de cualquiera de estos equipos se realiza mediante un sistema de lentes que mediante la aplicación de distintos voltajes dirige al haz de iones, facilitando su transmisión a través de las distintas partes del equipo hasta alcanzar el detector. Una buena transmisión de los iones requiere de un buen sistema de vacío, por lo tanto, por detrás del sistema de entrada que se encuentra a presión atmosférica todos los equipos trabajan en alto vacío, aumentando los requerimientos de este a medida que se aumenta la precisión de los equipos. La **Figura A.8** muestra de forma genérica las partes de un espectrómetro de masas con fuente ICP con las presiones de trabajo en cada zona. Es importante comentar que la introducción de muestra se realiza a presión atmosférica lo que confiere una gran versatilidad a este tipo de fuente de ionización.



**Figura A.8. Diagrama general mostrando las partes de un espectrómetro de masas con fuente ICP.**

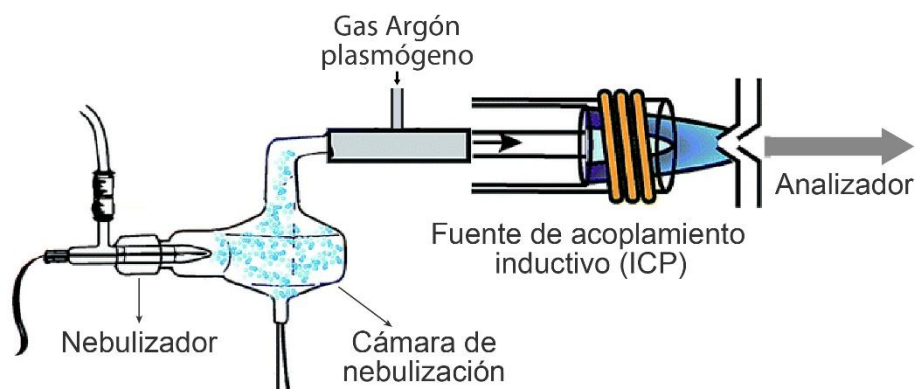
## 4.1. Principios básicos de operación

Discutiremos brevemente el funcionamiento genérico de los equipos ICP-MS centrándonos en los componentes más importantes y su función.

### 4.1.1. Zona de introducción de muestra y fuente de ionización

La zona de introducción de muestra está físicamente situada por delante de la fuente de ionización que es la zona de generación del plasma (ICP), parte fundamental del equipo. El plasma consiste en un gas altamente ionizado y conductor de electricidad, con igual número de cargas eléctricas libres positivas y negativas y en el espectrómetro de masas es el que va a transformar a la muestra en el haz de iones que posteriormente será analizado.

De forma genérica, la **Figura A.9** ilustra el recorrido de la muestra hasta llegar al plasma. La muestra se introduce en estado líquido en el equipo a través de unos capilares empujada por una bomba peristáltica hasta llegar al nebulizador, el cual, mediante la acción neumática de un flujo de argón de aproximadamente 1ml/min convierte a la muestra líquida en un aerosol. En torno al 98% de este aerosol se desecha y sólo el 2% restante, de gotas de tamaño inferior a 10  $\mu\text{m}$ , es transportado hasta la fuente de ionización donde se encuentra la antorcha que confina el plasma generado mediante acoplamiento inductivo. En resumen, el objetivo de la zona de entrada es conseguir que la muestra entre en el equipo en forma de aerosol muy fino que pueda ser ionizado de forma eficiente por el plasma.



**Figura A.9. Recorrido de la muestra desde la entrada del equipo hasta el analizador.**

La antorcha consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales circulan varios flujos de argón. El plasma se forma dentro de la antorcha sometiendo al argón a la acción de un campo electromagnético producido por una bobina de inducción situada en el extremo de la antorcha que a su vez es alimentada por un generador de radiofrecuencias. El primer paso para generar el plasma es la ionización de los átomos de argón. Esto se consigue introduciendo una corriente de electrones en la antorcha que provoca un efecto cascada donde los electrones arrancados a los átomos ionizados permiten la ionización completa del gas y la formación del plasma que se mantiene por la corriente de alta frecuencia que fluye a través de la bobina de inducción.

Las muestras en disolución una vez llegan a la antorcha y pasan a través del plasma que se encuentra a temperaturas entre los 5000 K y los 10000 K sufren los procesos de desolvatación, vaporización, atomización e ionización, obteniendo finalmente un haz de iones cargados positivamente.

### 4.1.2. Zona de la interfase y analizador

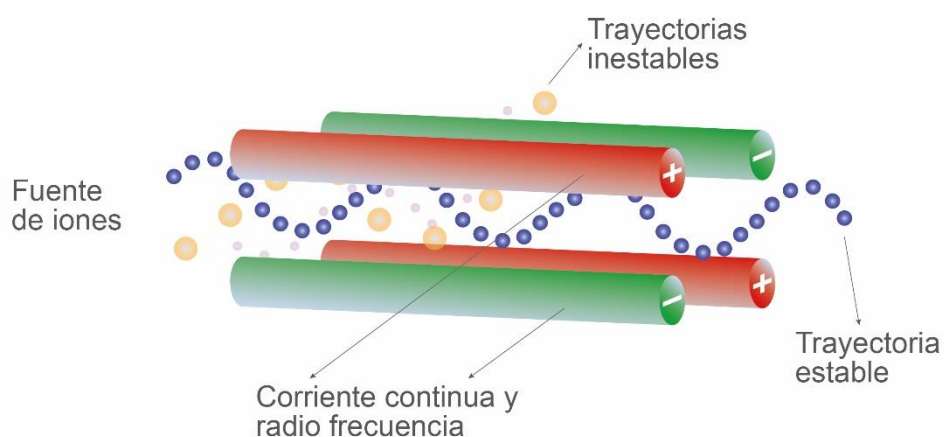
La zona de introducción de muestra y la fuente de ionización se encuentran a presión atmosférica, sin embargo, el analizador y el detector se encuentran a alto vacío. Para conseguir el paso de una zona a presión atmosférica a la zona de alto vacío se utiliza una interfase de transporte a un vacío intermedio. Esta consta de dos conos de níquel y platino separados entre sí entre 2 y 10 mm. El haz de iones que proviene del plasma pasa a través del orificio de los conos, el primero de 1 mm y el segundo de 0,75 mm de diámetro y entra en el analizador. La transmisión del haz de iones se realiza mediante un sistema de lentes electrostáticas que mediante la aplicación de distintos voltajes succionan el haz, facilitando su transmisión desde el plasma hasta en analizador.

A partir de aquí, los iones entran en el analizador hasta llegar finalmente al detector. El analizador es una parte esencial del espectrómetro que separa a los iones en función de su relación masa-carga ( $m/z$ ) y del que dependen en mayor grado las características más importantes del sistema, tales como la resolución, la sensibilidad o la capacidad de la medida exacta de masas. Los analizadores empleados en esta tesis son los siguientes:

#### 4.1.2.1 Cuadrupolo

Consta de cuatro barras de sección cilíndrica alineadas paralelamente entre sí como indica la **Figura A.10**. Mediante aplicación a cada pareja de barras opuestas de un voltaje variable de corriente continua y de radiofrecuencia superpuestos, se consigue que iones de masas determinadas pasen por el túnel formado por las cuatro barras, siguiendo trayectorias que les conducen al detector, mientras que las demás masas, al ser inestables en su trayectoria, no alcanzan el detector, siendo desviadas fuera del conjunto de barras. Variando estos voltajes se pueden

enfocar de modo sucesivo las diferentes masas presentes y así obtener el espectro correspondiente [81].

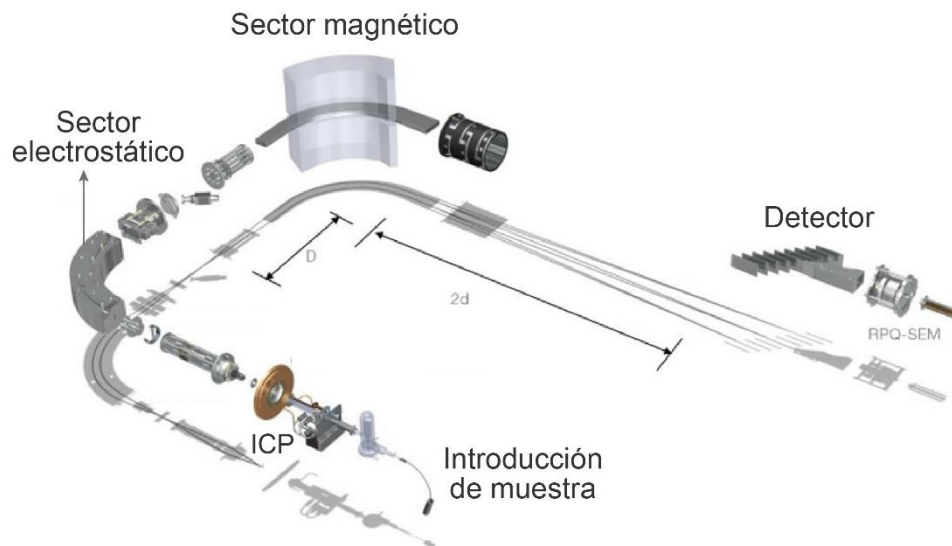


**Figura A.10.** Trayectoria de los iones a través de un cuadrupolo.

#### **4.1.2.2. Doble enfoque**

Los analizadores de doble enfoque constan de dos partes, un sector electromagnético y un sector electrostático. El sector electrostático separa a los iones de distinta relación  $m/z$  en función de su energía cinética mientras que el sector electromagnético los separa en función de su momento magnético. Dependiendo de la posición de estos sectores se obtienen dos geometrías diferentes:

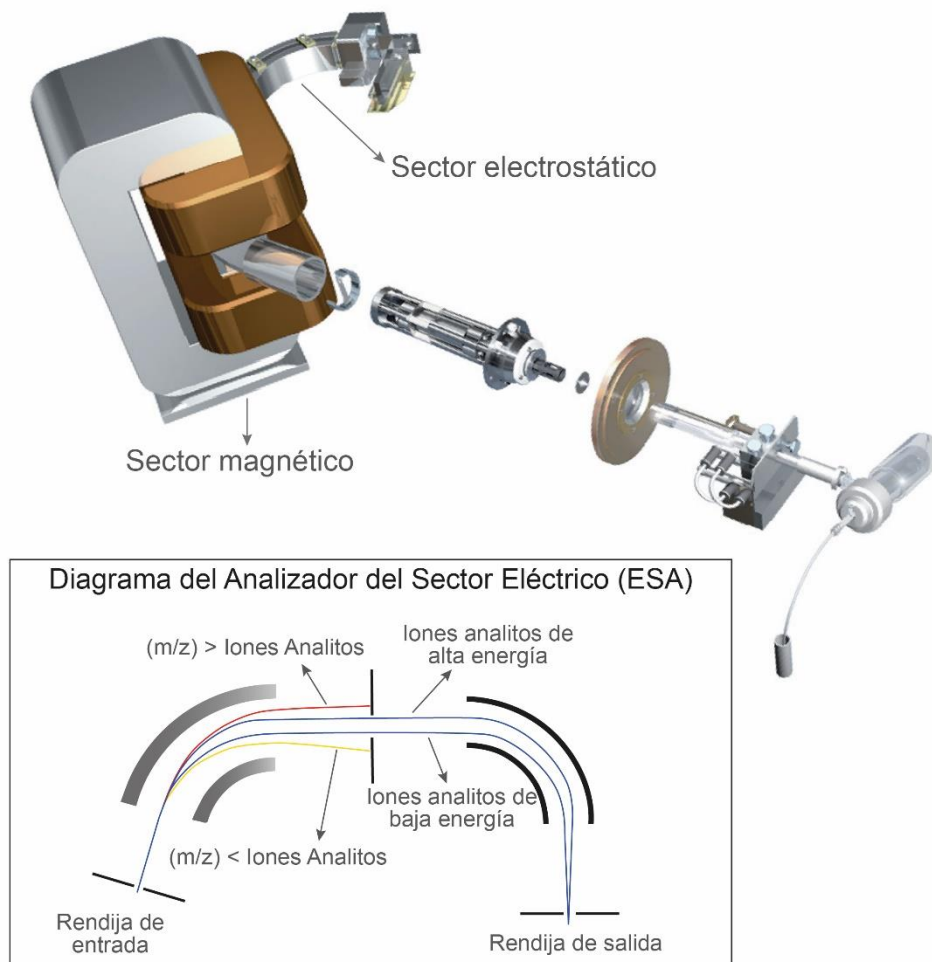
**Nier-Johnson directa:** Como se puede ver en la **Figura A.11** el sector electrostático se sitúa detrás de los conos y la óptica iónica y le sigue el sector electromagnético, situado por delante del detector. Es la geometría propia del Neptune plus que permite la utilización de un gran número de detectores para la medida simultánea de distintas relaciones  $m/z$ .



**Figura A.11.** Esquema del Neptune Plus mostrando el analizador con geometría Nier-Johnson directa.

**Nier-Johnson inversa:** En este caso la posición de los sectores electrostático y electromagnético es inversa a la anterior como se muestra en la **Figura A.12**. Es la disposición propia del Element 2. En este caso no es posible el uso de múltiples detectores aunque es más fácil conseguir el enfoque del haz de iones lo que permite trabajar en alta resolución de masas.





**Figura A.12. Diagrama del Element 2 con el esquema de la transmisión de los iones a través del equipo.**

Uno de los parámetros que dependen de los analizadores es la resolución, que se define como la capacidad de un espectrómetro de distinguir entre iones de diferente  $m/z$ . Los analizadores con menor resolución son los cuadrupolos que pueden diferenciar entre una unidad de masa atómica mientras que los equipos de doble enfoque pueden trabajar a baja, media y alta resolución, llegando a diferen-

ciar hasta 0,03 unidades de masas atómica lo que permite separar interferencias poliatómicas y mejorar las medidas de relaciones isotópicas.

### 4.1.3. Zona del detector

Finalmente, una vez atravesado el analizador los iones de interés llegan al detector, cuya función es contar la corriente de iones que sale del analizador y convertirla en pulsos eléctricos. La magnitud de estos pulsos eléctricos corresponde con el número de iones del analito presentes en la muestra [82].

Los detectores que se encuentran en los equipos utilizados en esta tesis son dos:

#### 4.1.3.1. Multiplicador de electrones secundarios (SEM)

El detector consta de varios dínodos sometidos a potenciales discretos positivos colocados sucesivamente, el ión choca con el primer dínodo emitiendo un elevado número de electrones secundarios que inciden sobre el segundo dínodo. El proceso se repite sucesivamente en los siguientes dínodos hasta alcanzar una amplificación de la señal de  $10^6$  a  $10^8$  (Figura A.13). Se mide en cuentas generadas por segundo que llegan al ánodo. Este detector está situado en el ICP-MS 7500 con cuadrupolo y en el equipo de doble enfoque Element 2.

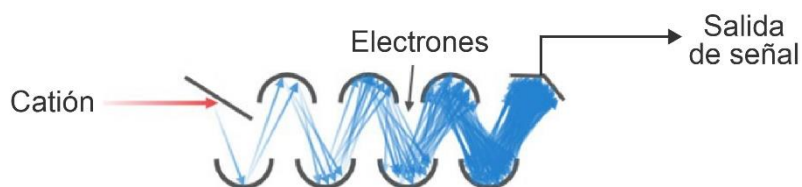
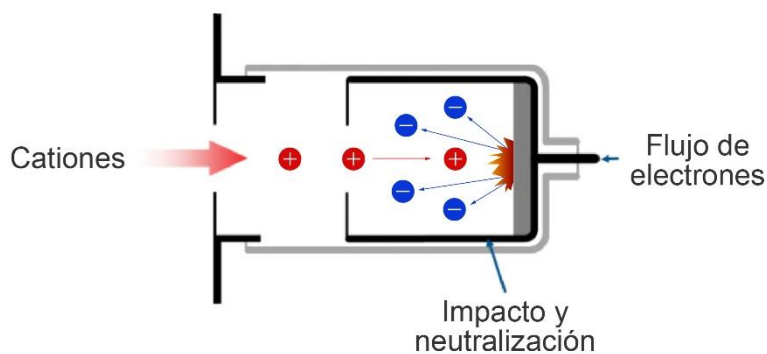


Figura A.13. Mutiplicador de electrones secundario.

#### 4.1.3.2. Copas de Faraday

Cada copa consta de un electrodo simple que recibe el impacto de los iones que salen del analizador. Los iones chocan con la copa de Faraday que para neutralizar su carga positiva genera electrones. La **Figura A.14** muestra el funcionamiento de este detector. Esta corriente generada para neutralizar al ión es la que da la intensidad de la señal que se mide en voltios. Son detectores que tienen menos sensibilidad que los SEM y se encuentran en el equipo de doble enfoque Neptune Plus.



**Figura A.14.** Esquema del funcionamiento de una copa de Faraday.

## 5. Medida de relaciones isotópicas mediante ICP-MS

### 5.1. Factores que afectan a la exactitud de las medidas de relaciones isotópicas

La exactitud es la proximidad de una medida al valor verdadero, depende de los errores sistemáticos que intervienen en la determinación y sólo se pueden evaluar si se dispone del valor verdadero (material de referencia). [83]

#### ***5.1.1. Interferencias poliatómicas***

El análisis por ICP-MS se ve limitado por la formación de interferencias poliatómicas [84], que si no se resuelven pueden afectar a la exactitud de los resultados obtenidos en el estudio de las relaciones isotópicas. Estas interferencias se producen por la existencia de iones con la misma relación  $m/z$  que los isótopos de los elementos a monitorizar y suelen aparecer en los gases del plasma o en la matriz de la muestra a analizar [85]. Esta es una de las grandes desventajas del ICP-MS frente al TIMS, cuya preparación de muestra y la suave ionización del plasma en el vacío evitan casi por completo a la formación de interferencias poliatómicas [86]. Las interferencias poliatómicas se dividen en dos: isobáricas y espectrales:

Las **interferencias isobáricas** son isótopos de otro elemento que tiene el mismo número másico que el isótopo de interés. Este es el caso del  $^{87}\text{Rb}$  y el  $^{87}\text{Sr}$  o el del

$^{187}\text{Re}$  y el  $^{187}\text{Os}$  estudiados en la presente tesis. Estas interferencias suelen venir de la matriz de la muestra y pueden evitarse seleccionando otro isótopo de trabajo que no esté interferido (si es posible), aplicando correcciones matemáticas [87] o separando el analito de la matriz mediante el uso de resinas quelantes [88] o mediante el acoplamiento de técnicas cromatográficas al ICP [89], este último punto es el desarrollado en esta tesis para la separación Rb-Sr y Re-Os.

Las **interferencias espectrales**, sin embargo, son moléculas que se forman a partir de los gases del plasma, de la matriz de la muestra y el disolvente, de otros analitos o del oxígeno o el nitrógeno del aire. Estas moléculas pueden romperse en las celdas de colisión y/o reacción de los ICP-MS con cuadrupolo [90] o bien utilizando espectrómetros de masas de doble enfoque [91]. Esta última separación se basa en el hecho de que la masa del analito y de su interferente no es exactamente la misma, sino que existe una mínima variación que solamente se puede detectar con los equipos de doble enfoque trabajando en alta resolución. El equipo de doble enfoque separaría en un espectro la masa exacta del analito de su interferente. Cabe destacar que en las interferencias isobáricas la variación de masas es tan pequeña que no pueden separarse ni siquiera mediante doble enfoque en alta resolución.

### **5.1.2. Discriminación de masas**

El efecto de discriminación de masas se produce en la zona de interfase del ICP-MS y en el sistema de lentes situado detrás de este durante el recorrido del haz de iones proveniente del plasma hacia el analizador. Este efecto se debe a una transmisión preferente de los iones más pesados frente a los más ligeros.

Cuando el efecto se produce en el sistema de lentes se denomina efecto espacio-carga y se debe a la repulsión mutua que sufren los iones del haz al abandonar el cono separador (skimmer). Los iones más pesados permanecen en el centro del

haz mientras que lo más pesados son deflectados. Por lo tanto, los iones pesados se transmiten preferiblemente respecto a los más ligeros [92] hacia el analizador. Esto implica que las relaciones isotópicas medidas van a estar siempre desviadas hacia los isótopos más pesados, lo que conlleva un error que se debe corregir, normalmente utilizando un estándar de composición isotópica conocida (material de referencia).

Cuando la discriminación de masas se produce en la interfase se denomina efecto orificio y se da en concreto entre el cono de muestreo (sampler) y el cono separador (skimmer) donde se forma un chorro supersónico de iones, átomos y moléculas que se expande en función de su energía cinética. Los iones ligeros al tener menos energía cinética se expanden en mayor proporción que los pesados, que son absorbidos preferentemente por el sistema de vacío.

Ambos efectos hacen que las relaciones isotópicas medidas estén siempre desviadas hacia los isótopos más pesados, lo que conlleva un error que se debe corregir, normalmente utilizando un estándar de composición isotópica conocida (material de referencia) [93], otro elemento de  $m/z$  similar [94] o usando dos o tres trazadores del elemento a analizar [95]. En todos los casos, se calcula un factor de discriminación ( $k$ ) a través de ecuaciones matemáticas [96,97].

### ***5.1.3. Tiempo muerto del detector***

Los ICP más comunes suelen tener un detector de tipo SEM (multiplicador de electrones secundario), que opera como contador de iones. El pulso individual de electricidad producido por la llegada al detector de cada ion es contado y la intensidad del haz de iones se registra digitalmente en términos de cuentas por unidad de tiempo. Se denomina tiempo muerto del detector ( $\tau$ ) al tiempo que necesita el detector para la detección y posterior manejo electrónico de la señal. Durante este tiempo (entre 5 y 100 nanosegundos) el efecto de tiempo muerto del detec-

tor determina que el número de cuentas registradas sea menor de lo que realmente es.

Si la concentración de un isótopo medido es muy elevada y llegan al detector más de  $10^6$  cuentas por segundo el efecto del tiempo muerto del detector determina que el número de cuentas registradas sea menor de lo que realmente es. En la medida de relaciones isotópicas en las que las abundancias isotópicas de los ambos isótopos difieren, la pérdida de cuentas puede ser distinta para ambos isótopos. Esto hace necesario corregir el tiempo muerto del detector para corregir las intensidades de las señales y, por lo tanto, las relaciones isotópicas obtenidas experimentalmente [98+]. Sin embargo, en equipos ICP-MS multicolectores (MC-ICP-MS) y TIMS la detección se realiza mediante copas de Faraday, que no funcionan por conteo de iones y por tanto no presentan efecto de tiempo muerto.

## **5.2. Factores que afectan a la precisión en la medida de relaciones isotópicas**

La precisión refleja la proximidad de diversas medidas entre sí. Depende de los errores accidentales. Esta dispersión de valores es calculable y permite obtener valores de mayor fiabilidad.

Las pequeñas variaciones isotópicas mostradas en la naturaleza obligan a que la determinación de las relaciones isotópicas sea lo más precisa posible. Las mejores precisiones en equipos de espectrometría de masas se obtienen utilizando equipos de enfoque sencillo y se miden simultáneamente los distintos isótopos. Estas precisiones (0,005-0,1% RSD) sólo se comparan con las obtenidas mediante TIMS. La **Tabla A.5.** indica las precisiones las que suelen trabajar los distintos equipos de espectrometría de masas.

**Tabla A.5. Precisiones típicas de los equipos de espectrometría de masas.**

<b>Espectrómetro de masas</b>	<b>RSD (%)</b>
Cuadruplo, Q-ICP-MS	0,1-0,5
Doble enfoque, DF-ICP-MS	0,05-0,2
Multicolector, MC-ICP-MS	0,005-0,02
TIMS	0,005-0,01

### **5.2.1. Estadística de conteo de iones**

Cuando se combina una fuente de ionización ruidosa con un único detector que solamente permite monitorizar una señal en un tiempo dado la precisión disminuye.

En los detectores de tipo multiplicador de electrones la precisión de las medidas expresada como la desviación estándar, definida como la raíz cuadrada del número de cuentas medidas, está limitada por la estadística de conteo de iones. Es decir, que para alcanzar una buena precisión en las medidas se ha de alcanzar un valor mínimo de cuentas por segundo ( $2 \times 10^5$  en equipos de doble enfoque) [99]. Por lo que, a mayores velocidades de conteo, menor será la incertidumbre de las relaciones isotópicas. Esto se consigue con equipos de alta sensibilidad, como los espectrómetros de masas de doble enfoque trabajando en baja resolución, sin embargo, un aumento del poder de resolución provoca una disminución de la eficacia de transmisión de iones (disminución en la sensibilidad) y por lo tanto de la precisión de la medida de las relaciones isotópicas. La mejora de la precisión se dirige a la medida de dos isótopos de la forma más simultánea posible con un único detector, lo que se consigue aumentando el número de barrido a lo largo del espectro. Sin embargo, cuando se miden señales transientes con un detector se-



cuencial existe una relación entre el tiempo de integración seleccionado y la capacidad para seguir de manera exactas los perfiles de los picos para cada masa-carga. Ya que al medir una señal que cambia rápidamente con el tiempo la medida no simultánea para las distintas masas puede producir errores en las medidas de las relaciones isotópicas, ya que el número de lecturas se ha de distribuir entre el número de isótopos medidos en un tiempo que está limitado por la señal. Por lo que, cuantos más isótopos se midan más empeorará la sensibilidad y por tanto, la precisión de las relaciones isotópicas, pudiendo producirse distorsión de los picos y por lo tanto, errores en las medias. Este efecto se conoce como desplazamiento espectral.

Sin lugar a dudas, la forma más eficaz de tener señales precisas, es la utilización de detectores simultáneos, para que la inestabilidad instrumental y la deriva de la señal no afecte a la precisión de las medidas de relaciones isotópicas, como sería el uso de equipos ICP-MS multicolectores.

### ***5.2.2. Perfil de la señal analítica o estabilidad de la corriente de iones***

La forma de los picos isotópicos puede influir en la precisión de las medidas de las relaciones isotópicas, ya que los picos triangulares obtenidos en el ICP-MS de tipo cuadrupolo requiere que la medida se haga exactamente en el máximo de pico para obtener precisiones adecuadas, ya que pequeñas variaciones en la intensidad de la señal provocarán una disminución de la precisión. En los equipos ICP-MS de doble enfoque, a baja resolución, la forma de los picos es trapezoidal, con la cima plana, por lo que los cambios en la posición  $m/z$  no influirán en la precisión. Sin embargo, un aumento de la resolución provocará un estrechamiento de pico, pasando de picos trapezoidales a triangulares, dando precisiones típicas de los cuadrupolos [100].

## **6. Acoplamiento de la cromatografía de líquidos a la Espectrometría de masas**

### **6.1. Fundamento de la cromatografía de líquidos**

La cromatografía es una técnica de separación basadas en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases, estacionaria y móvil, cuando estos componentes son arrastrados por la fase móvil que se desplaza en contacto con, y a través de la fase estacionaria. La combinación de los dos efectos, el arrastre de los componentes por la fase móvil y su retención por la fase estacionaria, con transferencia repetitiva de los componentes entre ambas fases, conduce a su separación por migración diferencial de los mismos [101]. De los distintos tipos de cromatografía que existen, en la presente tesis doctoral se utiliza la cromatografía de líquidos de intercambio iónico.

En cromatografía de líquidos de intercambio iónico la muestra se inyecta a través de un inyector y es arrastrada por la fase móvil líquida hacia la columna, que contiene un sólido activo; la fase estacionaria, que posee en superficie puntos de adsorción con moléculas con cargas contrarias a las de los analitos. Entre las moléculas de ambas fases, estacionaria y móvil, se produce una interacción competitiva del soluto basada en las fuerzas de coulomb atractivas y repulsivas, esto es,

cargas eléctricas opuestas se atraen y del mismo signo se repelen. De esta forma los analitos quedan retenidos en la fase estacionaria y la fuerza de la retención dependerá del número de cargas que posea el analito, incrementándose a medida que aumenta el número de cargas. A la vez, los iones presentes en la fase móvil líquida se intercambian con los iones del analito que poseen cargas del mismo signo y que permanecen retenidos en la fase estacionaria. Para que los iones de la fase móvil puedan sustituir a los iones del analito retenidos en la fase estacionaria, estos deben tener un poder de elución suficientemente grande para romper los enlaces entre los iones del analito y los de la fase estacionaria y volver a arrastrarlos a la fase móvil hasta la salida de la columna. La afinidad de los distintos analitos presentes en la muestra con la fase estacionaria y la fase móvil van a determinar la velocidad de desplazamiento de estos, expulsándose de la columna a diferentes tiempos (tiempo de retención) y quedando separados en forma de picos.

## **6.2. Acoplamiento HPLC-ICP-MS**

La técnica de análisis utilizada en la presente tesis se basa en el acoplamiento de la cromatografía de líquidos con la detección por espectrometría de masas. La **Figura A.15** muestra el esquema de este acoplamiento. El sistema cromatográfico consta de una bomba de pistón que impulsan a la fase móvil a través del inyector, pasando por la columna cromatográfica que a su vez está unida al sistema de entrada de muestras. De esta forma es posible separar los isótopos de distintos elementos químicos que poseen la misma masa (interferencias poliatómicas) on-line, inmediatamente antes de su entrada en el ICP-MS. Como resultado del análisis se obtiene un cromatograma, la representación gráfica de la respuesta del detector mediante picos cromatográficos, en función del tiempo de retención de cada analito.

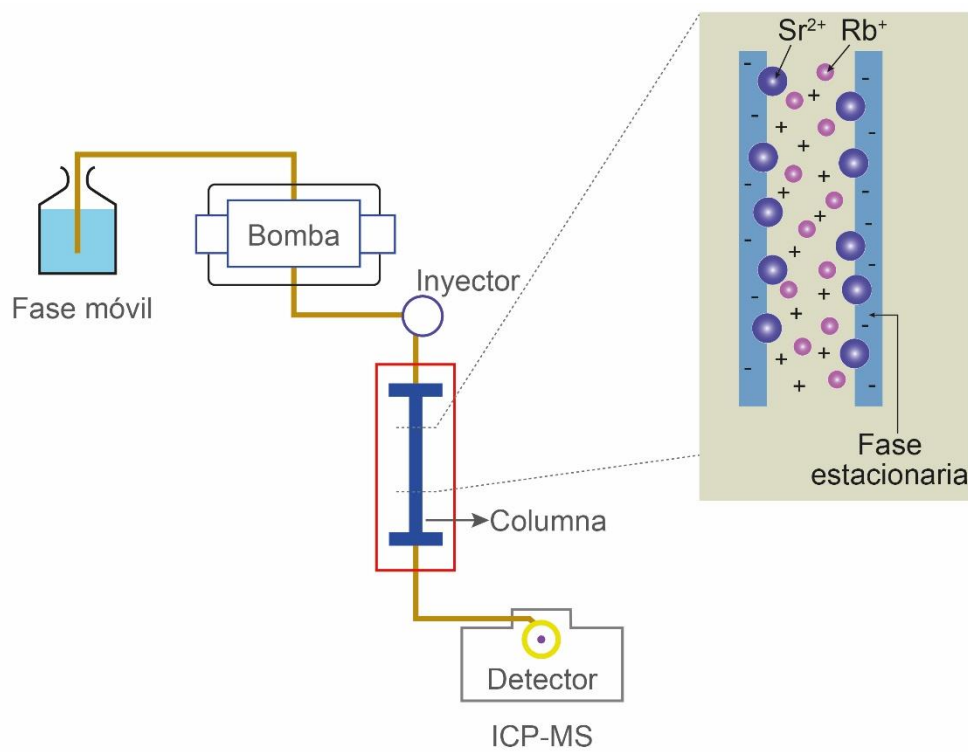


Figura A.15. Diagrama del acoplamiento del cromatógrafo de líquidos utilizando un ICP-MS como detector.

### 6.3. Exactitud y precisión en señales transientes

Las señales en las que la intensidad varían con el tiempo se denominan señales transientes y su exactitud y precisión varía con relación a las señales obtenidas de forma continua.

Mediante la introducción de muestras de forma continua se obtienen una señal para los isótopos medidos cuya intensidad es constante en el tiempo obteniéndose

se relaciones isotópicas más exactas y precisas, sin embargo, con una señal transiente la intensidad para cada isótopo cambia rápidamente con el tiempo y esto hace que tanto la exactitud como la precisión se vean afectadas.

El efecto del tiempo muerto del detector puede provocar un cambio en la relación isotópica durante la elución de los picos cromatográficos (ya que la señal se ve más afectada en la cima de los picos que en los frentes o en las colas donde el número de cuentas es menor).

El error por discriminación de masas se debe corregir y se puede realizar, por ejemplo, mediante la inyección de una muestra de un estándar de abundancia isotópica natural.

En cuanto a la precisión, cuando se mide con un instrumento secuencial una señal transiente que cambia rápidamente con el tiempo, la medida no simultánea de las señales para las distintas masas puede producir errores en la medida de las relaciones isotópicas [86]. Este proceso se denomina desplazamiento espectral pudiendo provocar distorsión en los picos y errores en la cuantificación. El desplazamiento espectral se minimiza disminuyendo los tiempos de integración. Sin embargo, esta reducción conlleva un aumento del ruido instrumental, por lo que se hace necesario encontrar un tiempo de integración lo suficientemente bajo para evitar el desplazamiento espectral pero sin llegar a afectar a la señal.

## **B. OBJETIVO**



Los métodos de análisis geoquímico para el estudio de relaciones isotópicas de estroncio existentes en la actualidad consisten en procesos que implican una preparación de muestra y separación del estroncio en sala limpia y una posterior detección de la composición isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante espectrometría de masas de alta resolución. Cada uno de estos procesos tiene una larga duración en el tiempo. Además, los sucesivos pasos que se deben realizar para la separación del estroncio pueden introducir errores e incluso contaminación en las muestras.

**Primer objetivo: Desarrollo de un método para la determinación del valor  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante HPLC-MC-ICP-MS y su aplicación a muestras reales**

El primer objetivo parcial de esta parte de la tesis doctoral es el desarrollo de un método de determinación de la relación isotópica de estroncio mediante HPLC-MC-ICP-MS. Este proceso es una alternativa para la determinación del valor de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en la que la separación del estroncio del rubidio y de su matriz se realiza en línea mediante el acoplamiento de un sistema de cromatografía de líquidos a un espectrómetro de masas de alta resolución. De esta forma la separación del estroncio y su detección se realiza en un único proceso sencillo y rápido que implica un mínimo manejo de la muestra.

El segundo objetivo parcial de la tesis consiste en la aplicación del método desarrollado a dos problemas geoquímicos reales:

**Determinación de las relaciones isotópicas de estroncio en calizas**

Determinación de la composición isotópica de estroncio de unas muestras de calizas específicas de la región de Normandía (Francia) para poder estudiar su origen y correlacionarlas con las calizas formadas en la misma cuenca sedimentaria que afloran en el sur de Inglaterra. Asimismo, el método se aplica en la comparación de las



relaciones isotópicas de estroncio de algunas de estas muestras, procedentes de canteras, con otras de edificios de la región de Normandía para establecer el origen de la piedra utilizada en la construcción de estas edificaciones.

### **Estudio de la trazabilidad de muestras de viñedos**

Consiste en la determinación de la composición isotópica de estroncio de muestras de suelo, hoja de vid, uva y vino procedentes de viñedos de Castilla-La Mancha para estudiar la trazabilidad de estos materiales desde el suelo al vino con el fin de vincular inequívocamente el vino con los suelos de la región.

### **Segundo objetivo: Desarrollo de un método de separación Re-Os en molibdenitas mediante HPLC-ICP-MS**

La segunda parte de tesis doctoral trata del estudio del método de datación Re-Os en molibdenitas. La determinación de la concentración de renio y del osmio presente en una muestra de molibdenita permite calcular la edad de la etapa hidrotermal durante la cual precipitó el mineral dentro del extenso periodo de formación de un yacimiento mineral. Los métodos actuales de separación del renio frente al osmio implican, al igual que en caso del estroncio, procesos largos y con múltiples pasos, que dilatan en el tiempo la obtención de resultados analíticos. El objetivo de este apartado es desarrollar un procedimiento de separación de ambos elementos y la determinación de la concentración de renio mediante HPLC-ICP-MS. Asimismo, este método se aplica sobre una muestra de molibdenita de un yacimiento mineral situado en la localidad de Linares, en Pola de Allande, Asturias.

## **C. EXPERIMENTAL**



---

# 1. Instrumentación

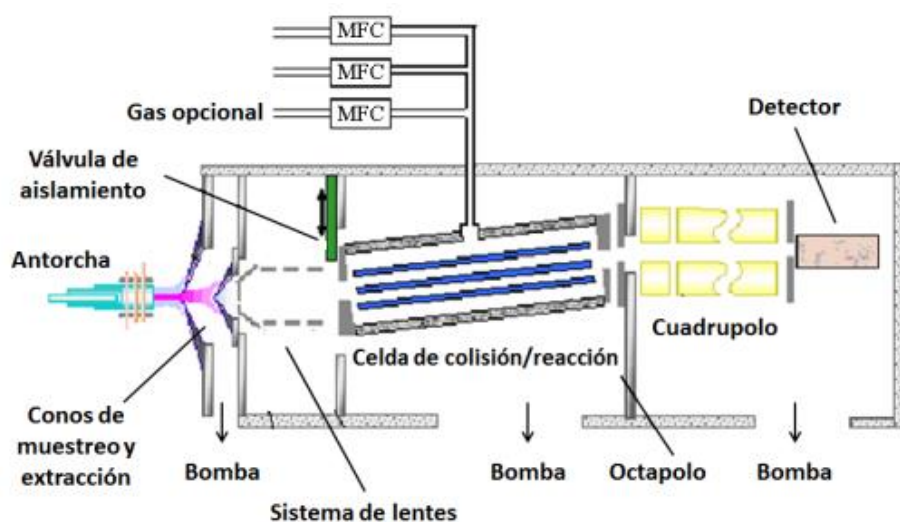
## 1.1. Espectrómetros de masas

A lo largo de la presente tesis doctoral se utilizaron tres espectrómetros de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo, de distintas características técnicas, pertenecientes a la unidad de Espectrometría de masas de los Servicios Científico Técnicos de la Universidad de Oviedo. El Agilent 7500ce es un equipo con analizador cuadrupolar mientras que el Element 2 y el Neptune Plus son equipos de sector magnético. El Element 2 tiene una configuración Nier-Johnson inversa con un detector SEM (multiplicador de electrones secundarios) que proporciona alta sensibilidad. Por otro lado, el Neptune Plus tiene una configuración Nier-Johnson directa con nueve copas de Faraday como detectores y permite la medida de relaciones isotópicas con alta precisión. Las características básicas de estos tres equipos se describen a continuación.

### 1.1.1. Agilent 7500ce

En la fase inicial de desarrollos metodológicos, en lo que se refiere a la optimización de las separaciones cromatográficas, se utilizó un espectrómetro de masas con analizador cuadrupolar modelo Agilent 7500ce (Tokio, Japón) equipado con una celda de colisión de tipo octapolo. La configuración del equipo se muestra en la **Figura C.1** y una foto de su acoplamiento con el sistema cromatográfico en la **Figura C.2**. Este consta de un sistema de entrada de la muestra por nebulización, la zona de generación del plasma seguido de la interfase de extracción y, en la zona de alto vacío, una celda de colisión de tipo octapolo para eliminar interfe-

rencias espectrales y un analizador de tipo cuadrupolo. Finalmente, el detector, un multiplicador de electrones secundarios (SEM) que transformará la cascada de iones que le llegan en una señal eléctrica. La zona de la celda de colisión, analizador y detector se encuentra a una presión aproximada de  $10^{-4}$  Pa ( $10^{-6}$  mbar).



**Figura C.1. Configuración del equipo ICP-MS con cuadrupolo 7500ce de Agilent.**



**Figura C.2. Fotografía del cromatógrafo Dionex DX-120 acoplado al ICP-MS 7500ce.**

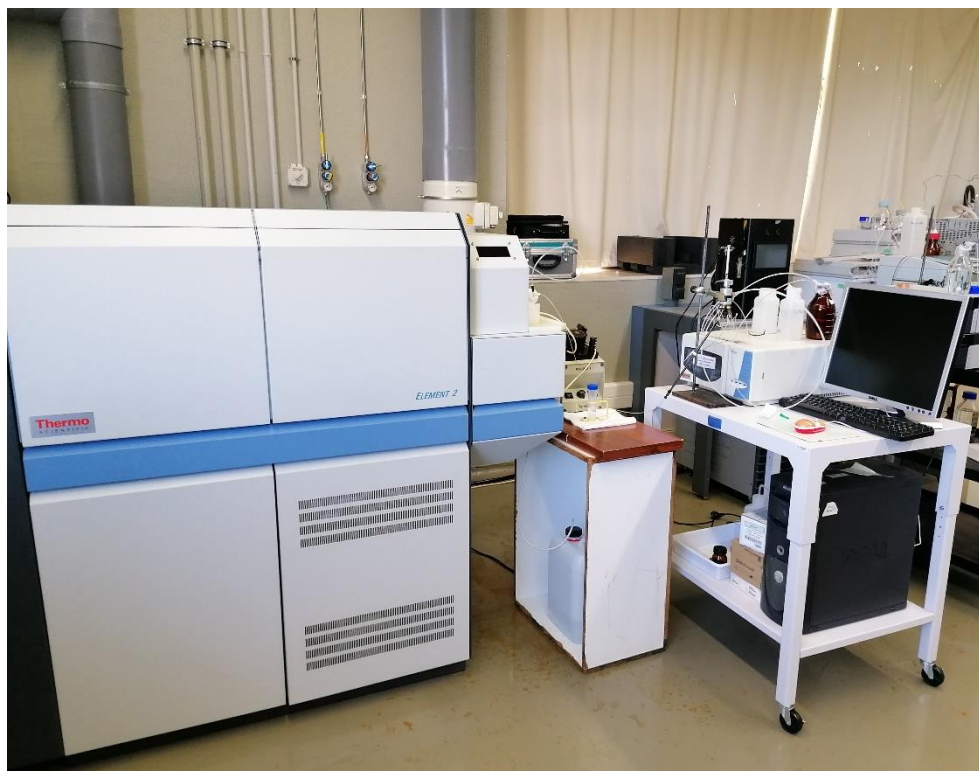
El cuadrupolo es un analizador secuencial que tiene una alta velocidad de barrido, pero una precisión y una resolución limitadas ( $m/\Delta m=300$ ) por lo que no es aconsejable para el estudio de relaciones isotópicas. Sin embargo, la sencillez de su software permite monitorizar las señales transientes fácilmente. Por este motivo se utilizó para la para la optimización de la separación cromatográfica.

La optimización diaria de los flujos de gas, posición de las lentes y la antorcha para obtener una buena sensibilidad y evitar la formación de óxidos y dobles cargados en el plasma que puedan generar interferencias se realiza mediante una disolución de 10 ng/ml de Li, Co y Tl en una disolución al 2% (p/v) de  $\text{HNO}_3$ .

### **1.1.2. Thermo-Fisher Scientific Element 2**

Al igual que en el equipo explicado previamente la muestra se introduce en forma de aerosol líquido al plasma y el haz de iones generado pasa a los conos de la interfase que se encuentra a aproximadamente  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  mbar de presión. Desde aquí el haz, mediante un sistema de lentes se enfoca hasta el analizador que alcanza un vacío de  $10^{-7}$  mbar y consta de un sector magnético seguido de un sector electrostático. En el primero se proporciona a los iones de una relación masa-carga determinada una trayectoria diferente en función del radio de curvatura provocado por el campo magnético, haciendo una primera separación de los iones de la masa de interés. Posteriormente se hace pasar a los iones de esa relación masa-carga de interés hacia el sector electrostático donde se realizará un segundo cribado de los iones, proporcionando una velocidad determinada a los iones en función del voltaje aplicado (constante), la masa y la carga del ión. Finalmente, el haz de iones se recoge en un único detector del tipo multiplicador de electrones secundarios (SEM). Un esquema de este equipo se incluye en la **Figura A.12**, en el capítulo Introducción.

Al igual que en otros equipos tipo ICP-MS, los flujos de gases y la posición de la antorcha se optimizan cada día mediante una disolución de ajuste. Debido a su alta sensibilidad el Element 2 de Thermo-Fisher Scientific (Bremen, Alemania) utiliza disoluciones de ajuste de tan solo 1 ng/ml que contiene entre otros elementos, Li, In y U utilizados para hacer la optimización a masas bajas, medias y altas. Este equipo tiene la característica de que proporciona una muy alta sensibilidad cuando trabaja a baja resolución por lo que fue utilizado para la determinación de Re y Os en molibdenitas tras la separación cromatográfica de estos dos elementos. Una foto del acoplamiento del sistema cromatográfico a este equipo se muestra en la **Figura C.3**.



**Figura C.3. Fotografía del acoplamiento del sistema Surveyor LC al DF-ICP-MS Element 2**

### **1.1.3. Thermo-Fisher Scientific Neptune Plus**

Las relaciones isotópicas de estroncio se midieron en este equipo. El Neptune Plus de Thermo-Fisher Scientific (Bremen, Alemania) es un espectrómetro de masas multicolector con configuración Nier-Johnson directa. La disposición de sus analizadores electrostático y magnético permite la detección simultánea de hasta nueve iones de distinta relación masa/carga en sus copas de Faraday. Por tanto, este equipo permite la medida de las relaciones isotópicas de estroncio con alta preci-



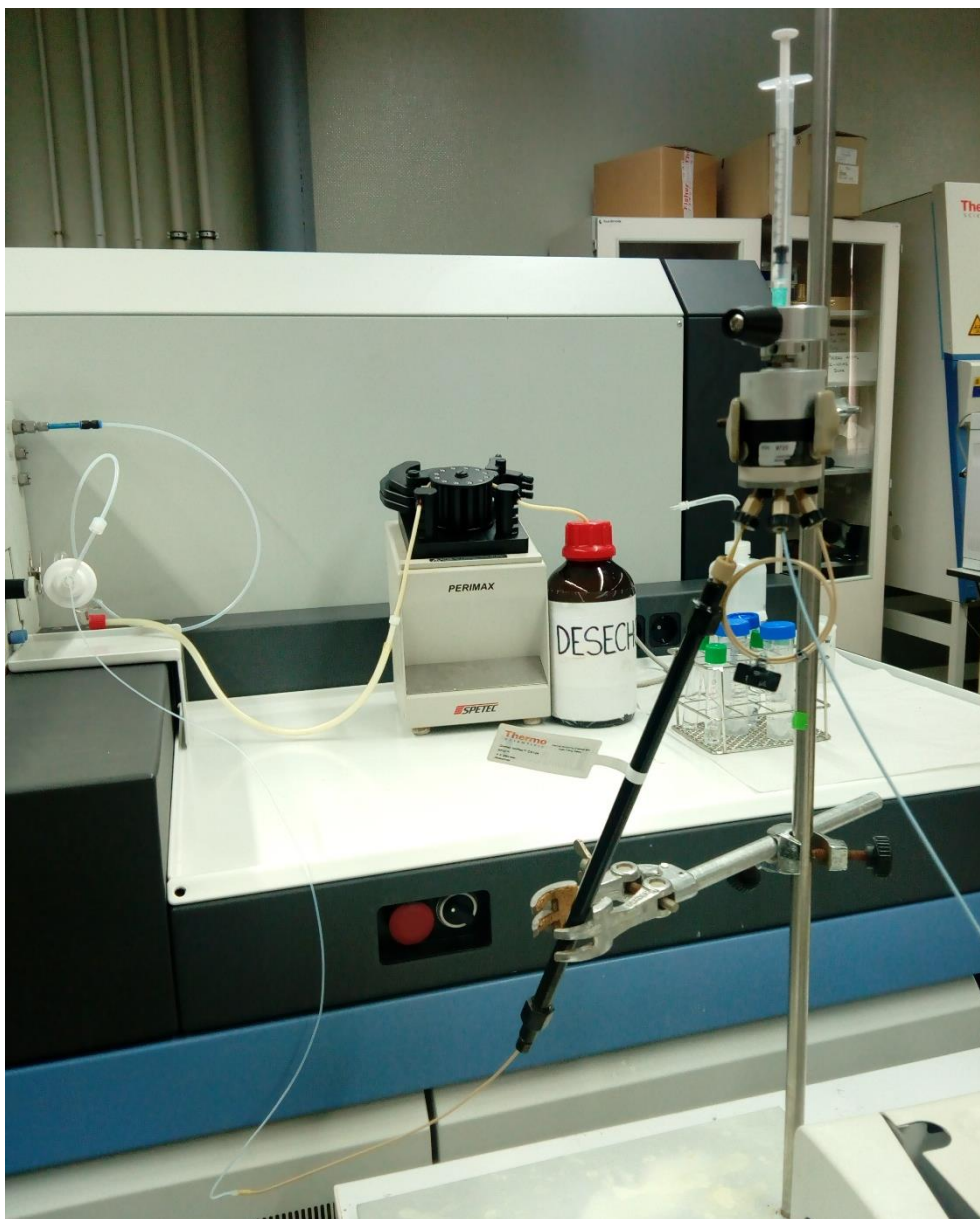
sión. Un esquema de la configuración de este equipo se muestra en la **Figura A.11** del capítulo Introducción.

En este caso, el sistema de introducción de muestra, al igual que en el caso anterior, se realiza mediante nebulización. La muestra entra en forma de aerosol húmedo al plasma y el haz de iones generado pasa a los conos de la interfase que se encuentra a aproximadamente  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  mbar de presión. Desde aquí el haz, mediante un sistema de lentes se enfoca hasta el sector electrostático, que alcanza un vacío de  $10^{-7}$  mbar, donde se proporciona a los iones del haz una velocidad diferente en función del voltaje aplicado (constante), la carga y la masa del ión, lo que permite hacer una primera separación de los iones. Posteriormente el haz entra en el sector magnético que se encuentra a  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  mbar de presión, para separar a cada ión en función de su momento magnético, su relación masa-carga y el voltaje aplicado lo que le hace describir un radio de curvatura distinto dentro del campo magnético. De esta forma los isótopos de un mismo elemento se transmiten a la vez y en paralelo, haciendo un recorrido en forma de arco donde los más ligeros se transmiten por la parte externa y los más pesados por la más interna del arco, llegando todos los isótopos de forma simultánea a su propio detector, en este caso una copa de Faraday. La configuración del equipo con múltiples detectores en línea y la detección simultánea de distintos iones permite la medida de relaciones isotópicas de alta precisión. Este equipo se utilizó acoplado a un cromatógrafo de líquidos para la separación en línea de Ca, Rb y Sr. Una foto del acoplamiento utilizado se muestra en la **Figura C.4**. La **Figura C.5** muestra un detalle de la válvula de inyección Rehydro y la columna acoplada al equipo.



Figura C.4. Fotografía del acoplamiento del sistema Surveyor LC al MC- ICP-MS multicolector Neptune Plus.

*Acoplamiento LC-ICP-MS para la separación en línea de elementos radiogénicos (Rb/Sr y Re/Os) y su aplicación a tres problemas prácticos de geoquímica isotópica*



**Figura C.5. Acoplamiento del sistema cromatográfico al MC-ICP-MS Neptune Plus.**

La optimización diaria de los flujos de gas, posición de las lentes y de la antorcha se realizó mediante una disolución de ajuste de Thermo-Fisher Scientific que contiene 200 ng/ml de Fe, Hf, Li, Nd, Pb (NBS 981), Sr (NBS 987) y U así como 50 ng/g de Tl. Como se puede observar, las concentraciones de los elementos de la disolución de ajuste del Neptune Plus son muy superiores a las que se utilizan en el Element 2. Esto es debido a que los detectores analógicos utilizados, copas de Faraday, son unas 100 veces menos sensibles que los multiplicadores de electrones secundarios.

## **1.2. Sistemas de separación cromatográfica**

Se utilizaron dos sistemas de separación cromatográfica acoplados a los espectrómetros de masas antes citados. Los primeros experimentos se realizaron con el Dionex DX-120 aunque la mayor parte del trabajo de esta tesis doctoral se realizó con el sistema Surveyor.

### **1.2.1. Cromatógrafo iónico Dionex DX-120**

Este cromatógrafo de líquidos, de la casa comercial Dionex (Sunnyvale, California, EE.UU.) trabaja en modo isocrático y consiste en un sistema integrado que consta de una bomba de pistón que permite trabajar a un flujo entre 0,5 y 4,5 ml/min, una válvula de inyección Rheodyne de 6 vías y un detector por conductividad. En este caso el detector no se utiliza y la salida de la columna se conecta directamente al nebulizador de los equipos ICP-MS. La fase móvil se presuriza con helio para evitar la formación de burbujas y minimizar los pulsos de la bomba. Los componentes del sistema son de polietereceterona (PEEK) un material inerte, de alta resistencia a productos químicos como ácidos o sales. Este cromatógrafo se utilizó

exclusivamente en la optimización del método para la medida de relaciones isotópicas de estroncio. La **Figura C.1** muestra el equipo conectado al ICP-MS 7500ce de Agilent.

### **1.2.2. Sistema Surveyor LC**

Este sistema, de la casa comercial Thermo Scientific (Bremen, Alemania), consta de una bomba Surveyor high-performance liquid chromatograph (HPLC) que permite trabajar en gradiente con dos fases móviles. Consiste en una bomba de doble pistón, con un desgasificador y un amortiguador de pulsos. El sistema de bombeo proporciona flujos entre 0,001 a 9,999 ml/min. La bomba se conectó a un inyector Rheodyne 7725 (Northbrook, EE.UU) de 6 vías. Este sistema se utilizó para el desarrollo del resto de métodos de separación cromatográfica. La **Figura C.4** muestra el sistema conectado al equipo Neptune plus.

### **1.2.3. Columnas de intercambio catiónico**

Para la medida de las relaciones isotópicas de estroncio se utilizaron dos columnas de intercambio catiónico de Dionex (Thermo-Fisher Scientific). La columna CS10 con relleno de ácido carboxílico y longitud de 4 x250 mm se utilizó para la optimización inicial de la separación de metales en la medida de relaciones isotópicas de estroncio. Finalmente se utilizó la columna CS12 con relleno de ácido sulfónico y longitud de 4 x 250 mm para el estudio de relaciones isotópicas de estroncio en el resto de las matrices. Ambas columnas están conectadas a las válvulas de inyección de 6 vías mediante conectores de polieteretercetona (PEEK) y a los nebulizadores de los espectrómetros de masas mediante un tubo de 0,3 mm de PEEK de diámetro interno.

### 1.2.4. Columnas de intercambio aniónico

Para la optimización de la separación del renio y el osmio se evaluaron dos columnas (AS9-HC 4 X 250 y AS9-HC 2 X 250) y una precolumna (AG9-HC 4 X 50), todas de la casa Dionex (Thermo-Fisher Scientific). Estas columnas poseen como fase estacionaria grupos amino cuaternario. La diferencia entre las columnas es el diámetro interno, 2 cm y 4 cm. La precolumna es 4 veces más corta y la capacidad es menor, es decir, posee menos número de microequivalentes/columna.

## 1.3. Otra instrumentación

Durante la realización de esta tesis doctoral se utilizaron distintos equipos tanto para la preparación de muestras como para su ataque químico. Esta instrumentación adicional se enumera a continuación:

- Molino de discos de carburo de tungsteno de Herzog (Osnabrück, Alemania).
- Balanza analítica AB 104 Mettler Toledo (Barcelona, España).
- Digestor microondas Ethos one SK-10 de Milestone (Soriso, Italia).
- Agitador de laboratorio orbital de VWR (Pensilvania, Estados Unidos).
- Centrífuga Multifuge 3 L-R de Heraeus (Hanau, Alemania).
- Molinos de bolas y aspas.
- Molino de muelas.
- Mortero de ágata (cuarzo microcristalino) de VWR (Pensilvania, Estados Unidos).

- Horno Mufla ELF 11/6B de Carbolite (Hann, Alemania) con cámara cerámica y dimensiones de 160 x 180 x 205 mm, alcanza temperaturas de hasta 1100°C.
- Crisol de circonio de JP Selecta (Barcelona, España)

## 2. Materiales y reactivos

### 2.1. Reactivos generales

- Agua ultrapura obtenida a través de un sistema de purificación de la marca Wasserlab (Barbatáin, Navarra).
- Ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) ultrapuro obtenido de la destilación lenta “sub-boiling” de  $\text{HNO}_3$  al 65% de pureza de Merck (Darmstadt, Alemania).
- Ácido acético glacial (HAc) 100% proporcionado por Merck (Darmstadt, Alemania).
- 18-Corona-6 al 99% de pureza, de Acros Organics (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos).
- Disoluciones patrón de abundancia natural de rubidio y estroncio obtenidas por dilución de disoluciones patrón certificadas de 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  suministradas por High Purity Standards (North Charleston, Estados Unidos).
- Hidróxido de sodio (NaOH) en pellets >98% de pureza, suministrado por Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemania).
- Peróxido de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}_2$ ) granular >99% de pureza suministrado por Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemania).
- Disoluciones patrón de abundancia natural de renio, osmio y molibdeno obtenidas por dilución de disoluciones patrón certificadas de 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$

suministradas por Custom-grade Standard (North Charleston, Estados Unidos).

- Renio marcado isotópicamente en  $^{185}\text{Re}$  de Isoflex USA (San Francisco, Estados Unidos).

## 2.2. Materiales de referencia

- Material de referencia certificado en composición isotópica NIST SRM 987 (carbonato de estroncio) proporcionado por el “National Institute of Standards and Technology” (NIST, Gaithersburg MD, Estados Unidos). La **Figura C.6** muestra el certificado de análisis del material de referencia con los valores de las relaciones isotópicas certificadas y sus errores para la calibración de los espectrómetros de masas. Estas son:  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 8,37861 \pm 0,00325$  y  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0,71034 \pm 0,00026$ . Sin embargo, la relación utilizada en la presente tesis para validar los métodos analíticos basados en el Rb-Sr y para la calibración y el control de la discriminación de masas durante el proceso de análisis en el MC-ICP-MS multicolector Neptune Plus es el propuesto por Alfred Nier en 1930 de 8,37521. Esta normalización se aplica de forma convencional para la determinación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en muestras geológicas y de origen biológico, meteoritos y en materiales de referencia incluido el NIST SRM 987 desde hace medio siglo [102,103].





National Institute of Standards & Technology

## Certificate of Analysis

Standard Reference Material<sup>®</sup> 987

Strontium Carbonate  
(Isotopic Standard)

This Standard Reference Material (SRM) is certified for use as an isotopic reference material for the calibration of mass spectrometers. The material consists of highly purified strontium carbonate of high homogeneity. A unit of SRM 987 consists of 1 g of powder.

**Certified Values:** The certified values for the absolute strontium isotopic abundance ratios and the atom fractions of <sup>88</sup>Sr, <sup>87</sup>Sr, <sup>86</sup>Sr and <sup>84</sup>Sr are listed in Table 1. A NIST-certified value is a value for which NIST has the highest confidence in its accuracy, in that all known or suspected sources of bias have been investigated or accounted for by NIST. A certified value is the present best estimate of the true value based on the results of analyses performed at NIST and cooperating laboratories. Value assignment categories are based on the definition of terms and modes used at NIST for chemical reference materials [1]. The uncertainties listed with the values are expanded uncertainties (95 % confidence interval) and are calculated according to the methods in the ISO and NIST Guides [2].

Table 1. Certified Values for SRM 987 Strontium Carbonate

Absolute Abundance Ratios	<sup>88</sup> Sr/ <sup>86</sup> Sr = 8.378 61 ± 0.003 25
	<sup>87</sup> Sr/ <sup>86</sup> Sr = 0.710 34 ± 0.000 26
	<sup>84</sup> Sr/ <sup>86</sup> Sr = 0.056 55 ± 0.000 14

Figura C.6. Fragmento del certificado de análisis de material de referencia NIST SRM 987 carbonato de estroncio.

- Material de referencia JCp-1, *Porites sp.* [104] Un coral de carbonato cálcico. No es un material de referencia para el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio, si no que se desarrolló para controlar la precisión de los instrumentos utilizados para el análisis de componentes mayoritarios y trazas de muestras de corales, carbonatos y similares (**Figura C.7**), sin embargo, ante la falta de materiales de referencia para la determinación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , la comunidad científica lo utiliza para tal fin.

**National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)**  
**Geological Survey of Japan**  
**Certified Geochemical Reference Material**  
**GSJ CRM JCp-1 Coral (*Porites sp.*)**  
**Geochemical Reference Material Technical Information**

**Intended uses for this CRM are control of the precision of analysis or confirmation of the validity of analytical methods or instruments for analysis of main or trace components in corals, other carbonate salts or similar samples.**

**Figura C.7. Fragmento del certificado de análisis del material de referencia certificado JCp-1.**

- Material de referencia NIST RM 8599, molibdenita Henderson proporcionado por el “National Institute of Standards and Technology” (NIST, Gaithersburg MD, Estados Unidos). La **Figura C.8** recoge la información de edad y concentraciones de renio y osmio del material de referencia. La concentración de Re se estima en 11,2 ppm y la de  $^{187}\text{Os}$  en 3,236 ppb.



National Institute of Standards & Technology

## Report of Investigation

Reference Material 8599

Henderson Molybdenite

This Reference Material (RM) is intended for use in standardizing  $^{187}\text{Re}$ - $^{187}\text{Os}$  absolute age measurements on molybdenite ( $\text{MoS}_2$ ) ores. RM 8599 is supplied in a glass bottle containing approximately 10 g of  $\text{MoS}_2$  powder.

**Reference Age Value:** A reference age for the Henderson Molybdenite is provided in Table 1. A reference value [1] is a noncertified value that is the best estimate of the true value; however, the value does not meet NIST criteria for certification and is provided with associated uncertainties that may reflect only measurement precision and may not include all sources of uncertainty.

**Information Mass Fraction Values:** The information values for Re and  $^{187}\text{Os}$  provided in Table 2 are noncertified values with no reported uncertainties. An information value [1] is considered to be a value that will be of interest to the RM user, but insufficient information is available to assess the uncertainty associated with the value.

**Figura C.8 a. Informe de investigación del material de referencia NIST RM 8599, molibdenita Henderson.**

Table 1. Reference Age Value for RM 8599

Age (Ma) <sup>(a)</sup>	U (Ma) <sup>(b)</sup>	Data Source
27.66	± 0.10	[4]

<sup>(a)</sup> The <sup>187</sup>Re decay constant ( $\lambda$  <sup>187</sup>Re) used for the age calculation is  $1.666 \times 10^{-11} \text{ a}^{-1}$  [5].

<sup>(b)</sup> The expanded uncertainty for the age, computed as  $U = k u_c$ , is  $k = 3.18$  times the standard uncertainty of the mean,  $u_c$ , of the means of the reported values in [4], treated as four independent draws from a normal distribution by lab and method. The coverage factor,  $k$ , was obtained from the Student's  $t$  distribution with 3 degrees of freedom and a confidence level of 95 %.

The information values listed in Table 2 were obtained by combining data from 47 independent isotope dilution measurements utilizing two different mixed Re-Os spikes at two expert labs using solid-source negative thermal ionization mass spectrometers. Details of the experimental procedures and results are published in [4]. Statistically speaking, these data sets effectively have only two pieces of information concerning the uncertainty of the Re and <sup>187</sup>Os amounts due to between-lab variation. Because the action controlling the uncertainty is the variation between labs, the two different spikes used give information on the within-lab variation with changes in the spike, but that variation is inconsequential when compared with the between-lab differences. The two different spike methods become, in effect, additional replicates that confirm the within-lab variances but give no information concerning the between-lab issue. For this reason, the amount mass fractions for Re and <sup>187</sup>Os are presented as information values.

Table 2. Information Mass Fraction Values for RM 8599

Re (mg/kg)	<sup>187</sup> Os ( $\mu\text{g/kg}$ )
11.2	3.236

Figura C.8.b Informe de investigación del material de referencia NIST RM 8599, molibdenita Henderson. (continuación).

## 2.3. Otros materiales

- Tubos de centrífuga de polipropileno libre de metales de Labcon (California, Estados Unidos).
- Filtros de jeringa de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro suministrados por VWR International (Pensilvania, Estados Unidos).
- Jeringas BD Plastipack, de 1 ml de volumen (Nueva Jersey, Estados Unidos).
- Agujas estériles de 1,1 mm x 38 mm de Terumo (Tokyo, Japón).

- Pipetas Pasteur de polietireno estéril suministradas por VWR International (Pensilvania, Estados Unidos).
- Tubos de centrifuga de polipropileno libre de metales de Labcon (California, Estados Unidos).
- Filtros de jeringa de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro suministrados por VWR International (Pensilvania, Estados Unidos).
- Jeringas BD Plastipack, de 1 ml de volumen (Nueva Jersey, Estados Unidos).
- Agujas estériles de 1,1 mm x 38 mm de Terumo (Tokio, Japón).
- Botes de PFA de capacidad para 100 ml de Savillex (Mineápolis, Estados Unidos).

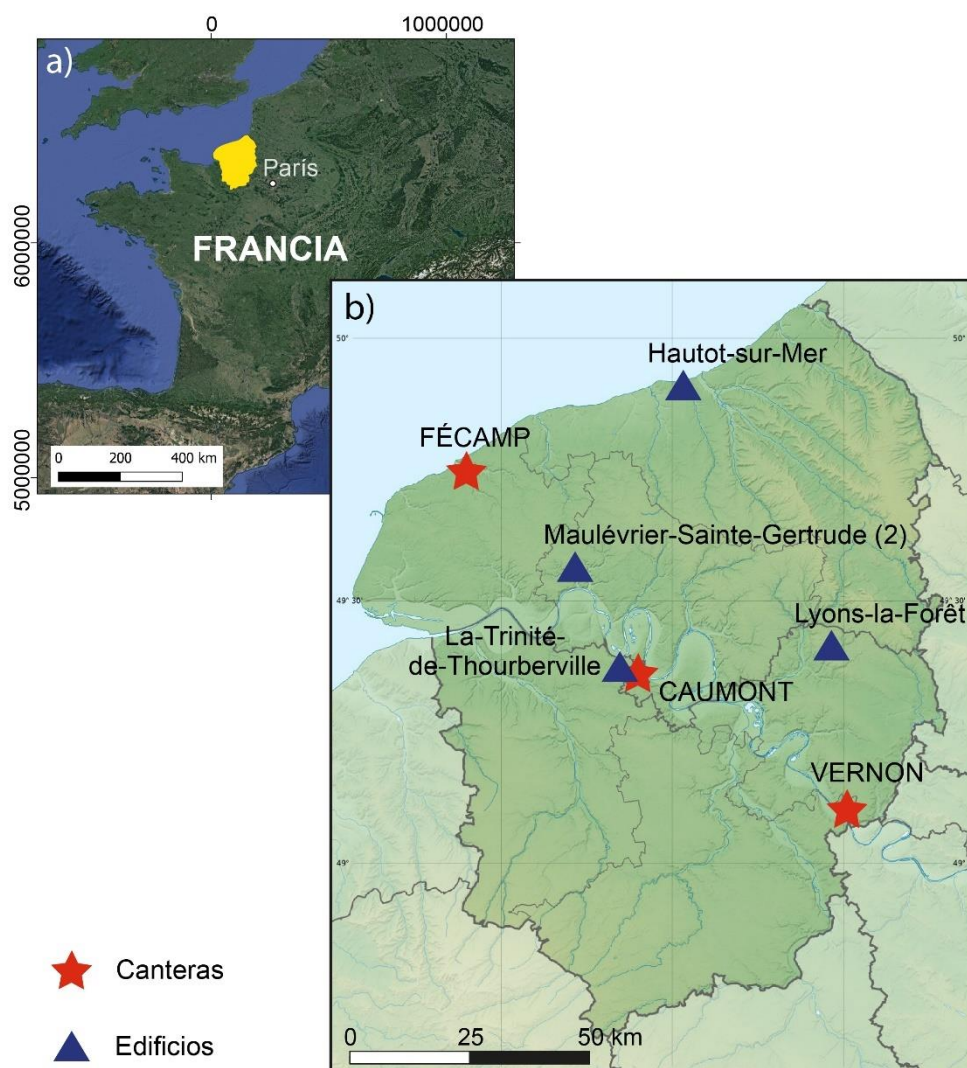
## **2.4. Muestras investigadas**

### **2.4.1. Relaciones isotópicas de estroncio**

El método desarrollado de determinación de las relaciones isotópicas de estroncio se aplicó en varias muestras de caliza originarias de Normandía. Posteriormente este método se aplicó en estudios de trazabilidad sobre muestras de viñedos de Castilla-La Mancha.

Las muestras de caliza estudiadas fueron seleccionadas como parte del proyecto Archéomatériaux: Territoire, Patrimoine (ATP) concedido a la Universidad de Ruán (Normandía-Francia) que tiene como objetivo conocer la distribución espacial de esta roca utilizada en la construcción de ciertos edificios en el este de Normandía durante la Alta Edad Media. Para ello se estudiaron las relaciones isotópicas de

estroncio de diez muestras pertenecientes a tres canteras y cinco edificios de esta región de cuatro localidades normandas. La **Figura C.9** indica la posición geográfica de las canteras estudiadas y de las poblaciones donde se encuentran los edificios. Las calizas analizadas forman parte de la cuenca Londres-París y se correlacionan con las estudiadas por McArthur *et al* [22] en el suroeste de Inglaterra.



**Figura C.9. Mapa con la distribución de las canteras y las localidades en las que se encuentran los edificios estudiados. Entre paréntesis se indica el número de edificios de los que se han analizado muestras.**

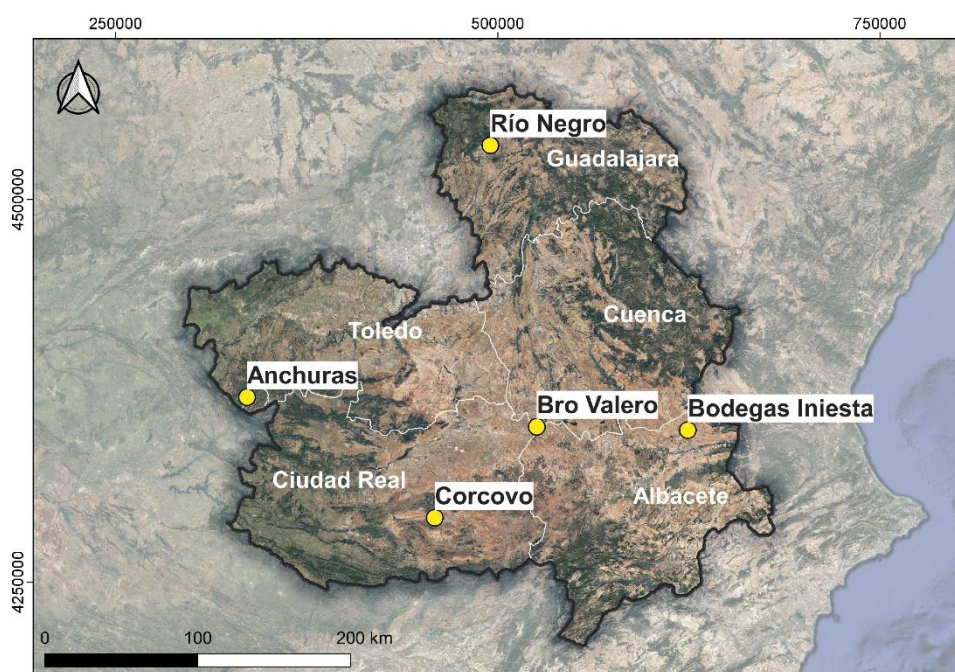
Para los estudios de trazabilidad se han analizado muestras de hoja, uva, suelo y vinos procedentes de cinco bodegas situadas en localidades geográficas que muestran propiedades vitícolas muy diferentes, atendiendo en cada zona a carac-

terísticas tales como productividad, situación agrícola, variedad de uva, variables geomorfológicas, litológicas y pedológicas. Dentro de los viñedos seleccionados, la toma de muestra se basa en el aspecto externo de la viña, seleccionando aquellas cuyas hojas y uvas muestren buena apariencia. Una vez escogida la viña, se toma una muestra de suelo del horizonte superficial en la base de esta y se recogen la hoja y la uva. Una vez realizada la vendimia se prepara el vino y después de la fermentación alcohólica se toma la muestra para analizar.

La **Figura C.10.** indica la ubicación sobre un mapa satelital de las bodegas estudiadas en las provincias en las que se encuentran. Estas son:

- Fuentealbilla (Albacete), Bodegas Iniesta.
- Valdepeñas (Ciudad Real), Bodegas Corcovo.
- Cogolludo (Guadalajara), Bodegas Finca Río Negro.
- Villarrobledo (Albacete), Bodegas Bro Valero.
- Anchuras (Ciudad Real). Bodegas Eldoze.





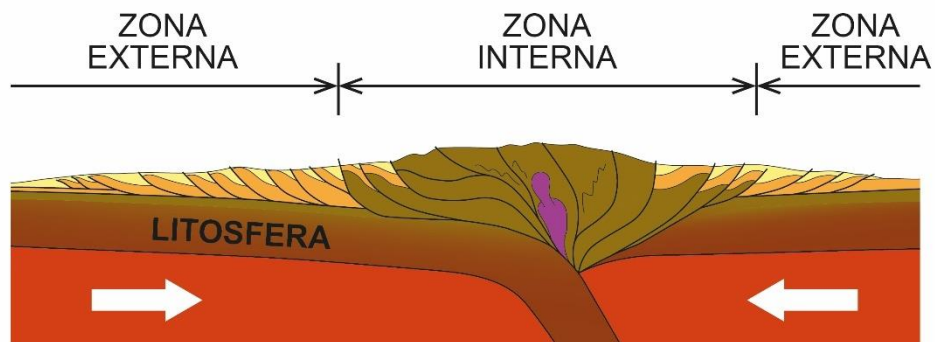
**Figura C.10** Mapa satelital con la ubicación de las bodegas estudiadas en la comunidad autónoma de Castilla-La Mancha.

#### **2.4.2. Re-Os en molibdenitas**

El desarrollo de este método analítico se llevó a cabo sobre tres molibdenitas diferentes: la molibdenita del yacimiento de San Finx (A Coruña), la molibdenita del yacimiento de Linares (Asturias) y el material de referencia Molibdenita Henderson.

San Finx y Linares se encuentran en el orógeno Varisco, formado por la colisión de las placas tectónicas de Laurasia y Gondwana durante la formación de Pangea entre el Devónico (380 Ma) y el Pérmico (280 Ma). De forma sucinta, los orógenos se forman debido al choque entre varias placas tectónicas. Este proceso, ejemplificado en la **Figura C.11**, provoca una deformación de la corteza terrestre caracte-

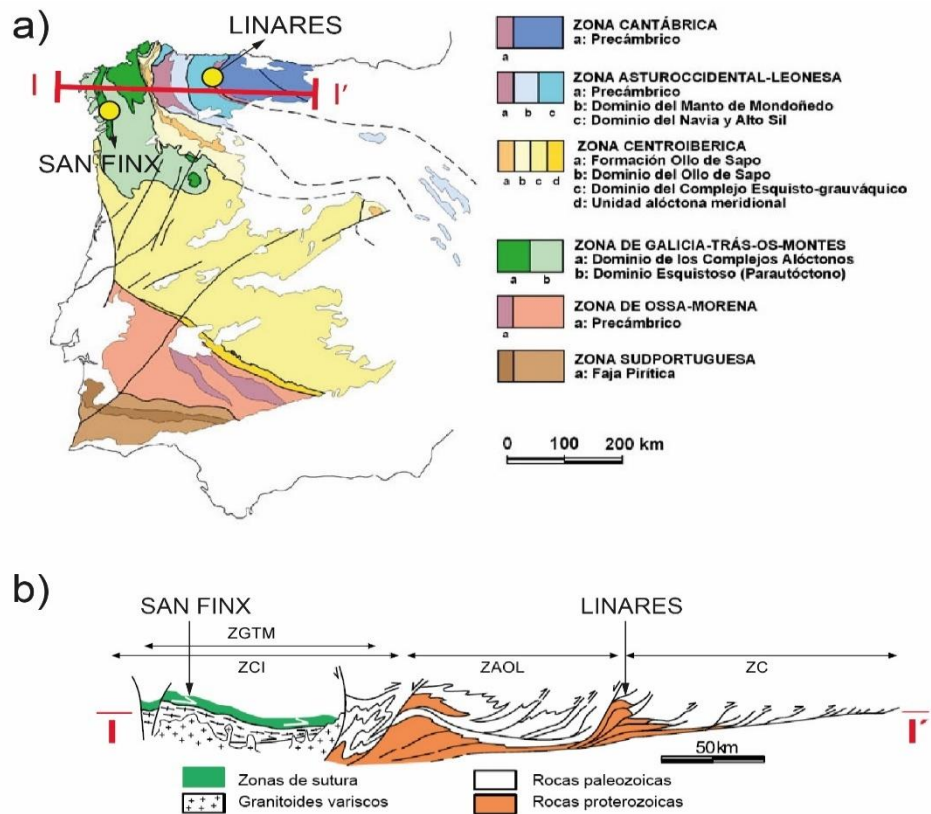
rizada por la formación de pliegues, cabalgamientos y fallas a nivel de la corteza superior en las regiones más alejadas de la zona de choque (zonas externas del orógeno) y por deformaciones más intensas y que se extienden a mayor profundidad unida a procesos de magmatismo y metamorfismo en las zonas más cercanas al choque (zonas internas del orógeno).



**Figura C.11.** Esquema simplificado de un orógeno con sus partes.

En este contexto se formaron los yacimientos de San Finx en la zona interna y el de Linares en la zona de transición hacia las zonas externas (antiformal del Narcea) del orógeno Varisco. La **Figura C.12 a** muestra el mapa geológico del afloramiento del orógeno Varisco en la península ibérica con la ubicación de los yacimientos estudiados. La leyenda de colores marca las zonas en las que se divide el orógeno atendiendo estas a rasgos geológicos característicos. La **Figura C.12 b** es un corte transversal del orógeno en el que se ubican ambos yacimientos. El yacimiento de Linares se encuentra en el límite entre la Zona Cantábrica (ZC) y la Zona Asturoccidental-Leonesa (ZAOL) que corresponde con las partes más externas del orógeno con deformación y fracturas en superficie mientras que el yacimiento de

San Finx se ubica en la Zona de Galicia-Trás-Os-Montes (ZGTM), correspondiente a zonas más internas del orógeno con intrusión de grandes cuerpos graníticos en superficie y deformación en profundidad.



**Figura C.12. Mapa geológico de la ubicación de los yacimientos de Linares y San Finx en el orógeno Varisco.**

Linares lleva el nombre de la población donde se encuentra, siendo la población mayor Pola de Allande. Geológicamente se ubica en el límite entre la zona externa del orógeno (Zona Cantábrica) y la zona interna (Zona Asturoccidental leonesa), en lo que se conoce como el cinturón de oro de Navelgas. Se caracteriza por el ascenso e intrusión en superficie de un cuerpo granítico de tipo I, un granitoide calcoalcalino con alto contenido en potasio, que se interpreta como procedente

de la corteza inferior con cantidades variables de fundidos del manto. En muestra de mano se trata de un granito de color oscuro con cuarzo, plagioclasa y feldespato potásico. Como minerales ferromagnesianos contiene biotita y hornblenda. La molibdenita se asocia a procesos de alteración hidrotermal del granito en estadios posteriores a su intrusión y aparece en relación con una serie de diques félsicos que lo atraviesan en dirección E-O y N-S a NE-SO [105].

Este es la única molibdenita recogida en el campo y las coordenadas con la ubicación exacta son N43°14,120' W 6° 33,639'. Su edad se estima en 291,9 Ma  $\pm$  1,2 Ma [106]. En la **Figura C.13** se puede ver una muestra de mano del granito de Linares con los cristales de molibdenita.



**Figura C.13. Muestra de mano del granito de Linares con cristales de molibdenita.**

San Finx es una explotación minera de estaño y wolframio ubicado en el pueblo de Vilacoba, en A Coruña. Geológicamente se ubica en la zona de Galicia-Trás-os-Montes, una de las zonas internas del Orógeno varisco y que por lo tanto ha sufrido episodios más intensos de deformación y actividad magmática. En este caso la molibdenita está asociada a filones de cuarzo que aparecen en dirección NE-SO y asociada a casiterita ( $\text{SnO}_2$ ) y wolframita ( $\text{MnWO}_4$ ). Sin embargo, el granito de origen de estas mineralizaciones es desconocido puesto que las venas no aparecen dentro del granito como en el caso del yacimiento de Linares, sino que son extragraníticas [107,108].

Las muestras de molibdenita fueron cedidas por Minera San Finx procedentes de su concentrado de planta.

Geoquímicamente, el yacimiento de Linares está asociado a granitos que provienen de magmas de tipo I, cuyo origen está en la corteza oceánica. Estos magmas son relativamente oxidantes y se caracterizan por su alta capacidad para transportar azufre en disolución y formar sulfuros durante su etapa hidrotermal. El granito con el que se relacionaría el yacimiento de San Finx no se conoce pero por la abundancia de estaño y wolframio, pegmatitas asociadas y escasez de sulfuros [107] son característicos de sistemas graníticos S típicos de orógenos colisionales como es el varisco en su zona interna. El aporte de molibdeno necesario para formar la molibdenita proviene de la asimilación por estos magmas de corteza continental (Linares) o fusión parcial de la propia corteza continental (San Finx). Los fluidos hidrotermales que circulan en estadios posteriores a la intrusión del granito en la corteza transportan el molibdeno y el azufre, que en los magmas y fluidos hidrotermales se encuentra como especies de molibdato con estado de oxidación  $\text{Mo}^{+6}$  y como sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). Cuando el molibdeno y el azufre se reducen pasan de  $\text{Mo}^{+6}$  a  $\text{Mo}^{+4}$  y de  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{S}^-$  precipita la molibdenita que está asociada a filones de cuarzo provenientes de la precipitación de  $\text{SiO}_2$  que también es transportado por los fluidos hidrotermales. Los agentes reductores que actúan en estos casos son el hierro ferroso de la biotita de los esquistos que se oxida a magnetita y el carbono cuando la roca encajante son pizarras grafitosas. Por tanto, en el proceso de precipitación se da una interacción entre el fluido hidrotermal y la roca encajante que se altera, sericitizándose en el caso de Linares y greisenizándose en el de San Finx.

Por último, el material de referencia Molibdenita Henderson fue extraído en Henderson Mill, Colorado, Estados Unidos. Su origen está relacionado con la formación de las Montañas Rocosas durante el Oligoceno (34 Ma–23 Ma), una cadena montañosa que discurre paralela al sector occidental de Norteamérica y más concretamente en Front Range, una cordillera ubicada al sur de las Montañas Rocosas.

Geológicamente esta zona se caracteriza por la intrusión de cuerpos graníticos dando lugar a yacimientos de tipo Pórfido de Molibdeno como son Climax o Bingham Canyon. Se trata de magmas I que al tener que atravesar en su emplazamiento una potente corteza continental sufre un proceso de asimilación parcial de esta corteza enriqueciéndose en Mo.

Debido a la juventud del yacimiento y a la baja concentración de renio presente en la molibdenita, esta posee una cantidad de  $^{187}\text{Os}$  muy modesta [109,110].

## **3. Procedimientos**

### **3.1. Tratamiento de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio en calizas**

La metodología analítica se basó en la disolución secuencial de la muestra con el fin de eliminar la posible contaminación producida por el carbonato de sobrecrecimiento formado durante las sucesivas etapas de la diagénesis (estroncio intercambiable), ya que el agua que interviene sobre los sedimentos durante este proceso podría tener un origen y por lo tanto un valor diferente de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  al del agua de mar en el momento del depósito de los sedimentos, lo que podría modificar la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  final de la caliza. Asimismo, como en muestras reales las calizas no suelen ser homogéneas, sino que su composición mineralógica puede mostrar presencia de otras fases minerales, la disolución de las muestras se realizó con un ácido débil (acético) ya que con ácidos más fuertes como el nítrico y el clorhídrico se podría producir una disolución parcial del es-

troncio contenido en la estructura cristalina de los silicatos que arrojarían valores más elevados de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

De esta forma la preparación se realizó siguiendo los siguientes pasos:

1. A 0,1g de la muestra se le añadieron 2 ml de agua destilada y se agitó en vórtex.
2. Posteriormente se añadió una cantidad variable de ácido acético glacial 20% con el fin de disolver 1/3 de la muestra (aproximadamente 300 $\mu$ l-400 $\mu$ l) y se agitó en vórtex.
3. Se centrifugó dos veces aproximadamente a 1500 rpm durante cinco minutos, se separó el sobrenadante y se desechó. En este paso se habría eliminado el estroncio diagenético.
4. Se repitió el paso 1 y 2 disolviendo otro tercio de la muestra. En el paso 3, se separó el sobrenadante para su análisis por MC- ICP-MS.

Durante estos procesos secuenciales se asegura el análisis únicamente el estroncio proveniente de la precipitación del carbonato cálcico eliminando el diagenético y dejando sin disolver el estroncio contenido en los silicatos.

## **3.2. Tratamiento de muestras para la medida de relaciones isotópicas de estroncio en suelos, hojas, uvas y vinos**

### **3.2.1. Suelos**



Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, tamizadas a través de un tamiz de 2 mm y posteriormente molidas en mortero de ágata hasta que la muestra pasa por un tamiz de 53  $\mu\text{m}$  de luz de malla. El ataque químico utilizado se optimizó en función del pH del suelo. Para suelos neutros-ácidos la extracción del estroncio se realizó añadiendo 100 ml de acetato amónico de concentración 1 M y pH 7 a 100 gramos de muestra, y agitando a 200 rpm durante 30 minutos. Para suelos básicos se siguió la metodología propuesta anteriormente para el análisis de calizas: la extracción secuencial con acético al 20%.

### **3.2.2. Hojas de vid**

Las muestras de hoja una vez tomadas se secaron en estufa a 42 °C durante 15 días para posteriormente ser trituradas. Su digestión se realizó mediante horno microondas Milestone Ethos, siguiendo un programa específico de la casa comercial. A 0,5g de hoja se le añadieron 7 ml de  $\text{HNO}_3$  al 65% y 1 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentrado y se introdujo en el horno microondas el programa seleccionado es de 15 minutos de duración trabajando a 1500W de potencia, 45 bares de presión, y 200°C de temperatura.

Una vez digeridas las muestras se pasaron por un filtro de 45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.

### **3.2.3. Uvas y vino**

Tanto la uva como el vino siguieron el mismo protocolo de preparación de muestra. A las uvas se les retiró la piel y las pepitas y se exprimieron para obtener el jugo. Su digestión se realizó añadiendo 2ml de  $\text{HNO}_3$  al 65% destilado a 2ml de jugo de uva o de vino y dejándolo reaccionar a temperatura ambiente y presión atmosférica durante 12-24 horas. Durante este proceso se produce una fuerte

reacción de oxidación exotérmica por la reactividad del etanol. Se puede observar la expulsión de vapores debido a la materia orgánica y los taninos, a la vez que se aprecia el proceso de mineralización debido al color amarillo pálido que obtiene la mezcla.

### **3.3. Tratamiento de muestras para el análisis de molibdenitas**

#### **3.3.1. Separación del granito**

La primera fase de la separación de la molibdenita se realizó mediante trituración debido a la dureza del granito en la que se encuentra el mineral. La trituración inicial de los fragmentos más grandes (varias decenas de cms) se realizó en un molino de muelas y el ripio obtenido, de fragmentos de pocas decenas de cms, se pasó por otro molino de aspas o martillos obteniéndose fragmentos de pocos cms. Este tamaño de muestra permite el fácil acceso a los cristales de molibdenita.

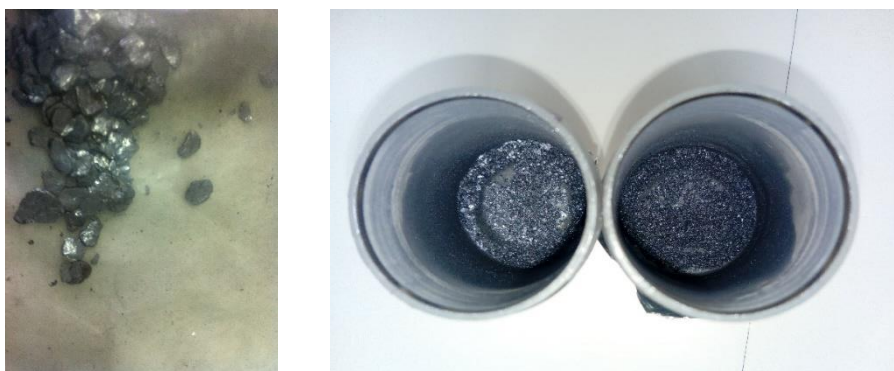
En esta segunda fase, cuando los fragmentos de molibdenita son visibles, los más grandes se pueden separar con pinzas extrayéndolos directamente de la roca. Los más pequeños, menores de 1 mm de diámetro, van a requerir de una concentración, que se puede realizar bien por bateo o por levigado. En ambos casos, se basa en la concentración por decantación en función de la diferente densidad de los minerales que conforman el granito.

En el caso del granito de Linares, la molibdenita pudo ser extraída con pinzas por lo que no fue necesario realizar la separación mediante bateo o levigado.

### **3.3.2. Molienda**

Para poder realizar la digestión de la molibdenita esta debe ser lo más homogénea posible, el tamaño de grano debería ser aproximadamente de 1 mm o menor.

Para ello, y con el fin de evitar introducir contaminación, la molibdenita se molió manualmente en un mortero de ágata. Debido a su alta ductilidad la molibdenita se pega a las paredes del mortero, por lo que, para aumentar su fragilidad se añadió nitrógeno líquido al mortero durante la molienda. El nitrógeno líquido endurece la molibdenita durante un escaso periodo de tiempo antes de evaporarse, por lo que este proceso ha de realizarse repetidas veces para conseguir la molienda de una fracción de pocos mg del mineral. La **Figura C.14** muestra las fotografías del tamaño inicial de la molibdenita de San Finx y el tamaño de grano final, menor de 1 mm, óptimo para la digestión mediante fusión alcalina.



**Figura C.14. Molienda de la molibdenita y el tamaño final obtenido.**

### 3.3.3. Digestión de la molibdenita: Fusión alcalina

Para la digestión de la muestra se ha optado por realizar una fusión alcalina en medio básico siguiendo las indicaciones de Markey *et al.* [75] que desarrollaron un método de fusión alcalina en molibdenitas basado en la digestión de los meteoritos (condritas carbonáceas) de Morgan y Walker [111].

La fusión alcalina, que se realiza en crisoles de circonio, consta de los siguientes pasos:

1. Se añade al crisol una cantidad pesada del spike de  $^{185}\text{Re}$ , y se evapora a sequedad en placa calefactora a  $50^\circ\text{C}$ .
2. Una vez evaporado y enfriado, se añade una cantidad pesada del patrón de Os de abundancia natural y se evapora a sequedad a  $50^\circ\text{C}$ .
3. Se pesa la molibdenita (entre 100 y 200 mg) y se añade al crisol. Sobre ella se añade aproximadamente 1 g de NaOH y 1 ml de agua ultrapura y se evapora a sequedad a  $50^\circ\text{C}$ .

Otra forma de realizarla fue pesando primero la molibdenita y añadiendo sobre ella el spike de Re, el patrón de Os, el NaOH y una cantidad variable de agua ultrapura, evaporando todo a sequedad a la vez.

El objetivo de estos procesos es asegurar que el Re y Os de los patrones y la muestra están reducidos en NaOH antes de ser sometidos a las altas temperaturas del horno durante la fusión.

4. Se añaden 3,5 g de NaOH al crisol y se lleva a la mufla durante 1 hora partiendo de  $350^\circ\text{C}$  e incrementando la temperatura  $25^\circ\text{C}$  cada 20 minutos hasta llegar a los  $400^\circ\text{C}$ . En cada incremento de tiempo, se saca el crisol

de la mufla agitándolo vigorosamente, después se debe esperar a que enfríe para volver a meterlo en la mufla.

Durante esta primera fusión la muestra y el spike se disuelven en el fundido alcalino y los dos se mezclan completamente.

5. Después de sacar el crisol de la mufla, se deja enfriar y se añaden 4 g de  $\text{Na}_2\text{O}_2$ . Seguidamente se introduce en la mufla a  $550^\circ\text{C}$ , sacándolo cada 20 minutos, agitándolo e incrementando la temperatura  $25^\circ\text{C}$  hasta llegar a los  $600^\circ\text{C}$ .

Este paso homogeneiza el Re y el Os del spike y de la muestra y asegura que tanto el Re como el Os se equilibran en el máximo estado de oxidación.

Algunas de estas fusiones se realizaron en mechero bunsen en vez de en mufla, por lo que no hubo incremento progresivo de temperatura en los sucesivos pasos. En estos casos se mantuvo una agitación constante del crisol hasta la completa fusión y homogeneización de la muestra con el reactivo.

Como resultado de la fusión se obtiene una pasta sólida que se debe disolver. Para ello se introduce el crisol en un vaso de precipitado y se añade agua ultrapura hasta cubrir la pasta. Este vaso se calienta sobre una placa calefactora para facilitar la disolución y se cubre con un vidrio de reloj. Una vez disuelta la pasta, esta se transfiere a un vaso de PFA y se anota el peso del contenido.

Finalmente tendremos una disolución en la que el Re se encuentra como  $\text{ReO}_4^-$  (VII) y el Os como  $\text{OsO}_5^{2-}$  (VIII) y el Mo de la Molibdenita como  $\text{MoO}_4^{2-}$  (VI).

### **3.3.4. Limpieza de los crisoles**

Es aconsejable realizar una fusión únicamente con NaOH y  $\text{NaO}_2$  antes del primer uso del crisol.

Aunque los crisoles no tienen efecto de memoria y podrían utilizarse sin limpiar entre cada fusión alcalina, se ha optado por hacer una fusión con NaOH y NaO<sub>2</sub> después de cada uso. Posteriormente los crisoles se limpian con agua ultrapura, un estropajo libre de metales y se secan con un paño. Posteriormente se deben guardar en un desecador hasta el siguiente uso para evitar la absorción de humedad, lo que podría afectar en los pasos de pesadas y fusiones [112].

### 3.4. Separación cromatográfica de calcio, rubidio y estroncio

Para la separación de estos elementos en muestras de caliza se utilizó una columna Dionex Ion Pac CS12A con una fase móvil de HNO<sub>3</sub> 1 M + éter 18-corona-6 3,8 mM a un flujo de 1 ml/min en modo isocrático. El volumen de inyección seleccionado fue de 100 µl. Se utilizaron las mismas condiciones cromatográficas para el análisis de suelos, hojas, uvas y vinos.

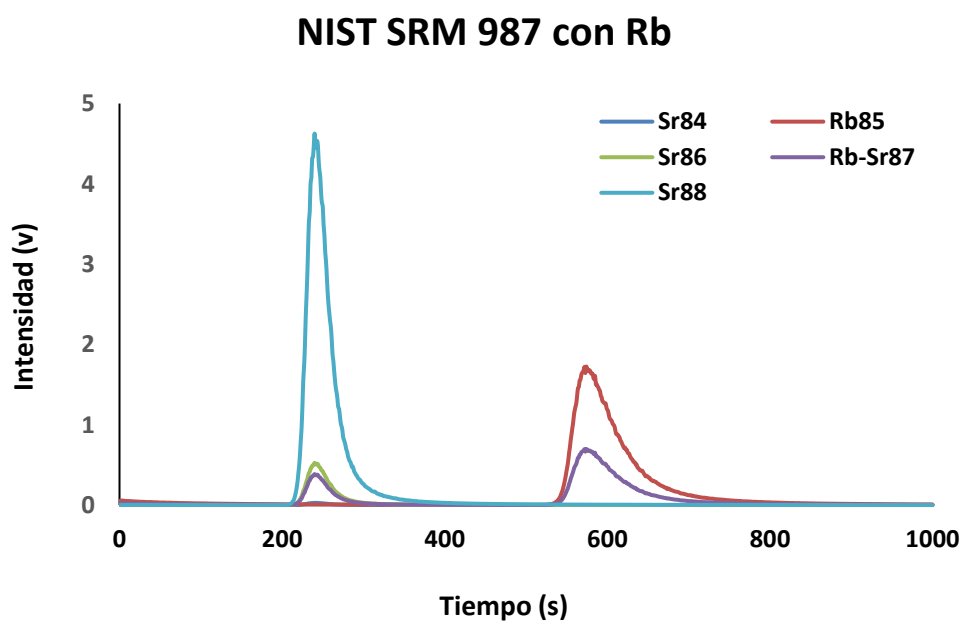
### 3.5. Medida de las relaciones isotópicas de estroncio mediante regresión lineal

El método de determinación de las relaciones isotópicas en señales transientes utilizado en el equipo multicolector se basa en la representación de las intensidades obtenidas a lo largo del cromatograma para dos (o tres) masas concretas y en la obtención de las relaciones isotópicas a partir de la pendiente de la **recta** de regresión lineal simple ( $y = a + bx$ ) o las pendientes del **plano** de regresión lineal múltiple ( $z = a + bx + cy$ ). Este procedimiento corrige automáticamente la contri-

bución de la línea de base y no está afectado por el perfil de la cola del pico, consiguiendo precisiones más cercanas a las obtenidas con el método tradicional de introducción continua de muestra y sin necesidad de integrar los picos cromatográficos.

### **3.5.1. Regresión lineal simple**

La regresión lineal simple se puede aplicar para calcular la relación isotópica entre dos masas que no estén interferidas por otros isótopos. Durante una separación cromatográfica la señal para distintos isótopos del mismo elemento está fuertemente correlacionada, es decir, cuando la señal aumenta para un isótopo lo hace a la vez para el otro. Si representamos las señales obtenidas durante el pico cromatográfico para los dos isótopos del mismo elemento obtendremos una representación lineal donde la pendiente de la recta se corresponde con la relación isotópica.



**Figura C.15.** Separación de Rb y Sr mediante intercambio catiónico. La señal del  $^{88}\text{Sr}$  aparece en azul mientras que la del  $^{86}\text{Sr}$  en verde.

Por ejemplo, suponiendo la separación de Rb y Sr mostrada en la **Figura C.15**, la representación de las señales de  $^{88}\text{Sr}$  frente a  $^{86}\text{Sr}$  para todo el cromatograma se ilustra en la **Figura C.16**. Esta representación se puede ajustar a una función lineal del tipo:

$$S_{88} = a + b S_{86}$$

Donde  $S_{88}$  son las señales medidas a masa 88 y  $S_{86}$  las señales medidas a masa 86. La pendiente de la representación,  $b$ , será la relación isotópica  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  medida experimentalmente. Los cálculos de las relaciones isotópicas se realizaron utilizando la función ESTIMACION.LINEAL en Excel.



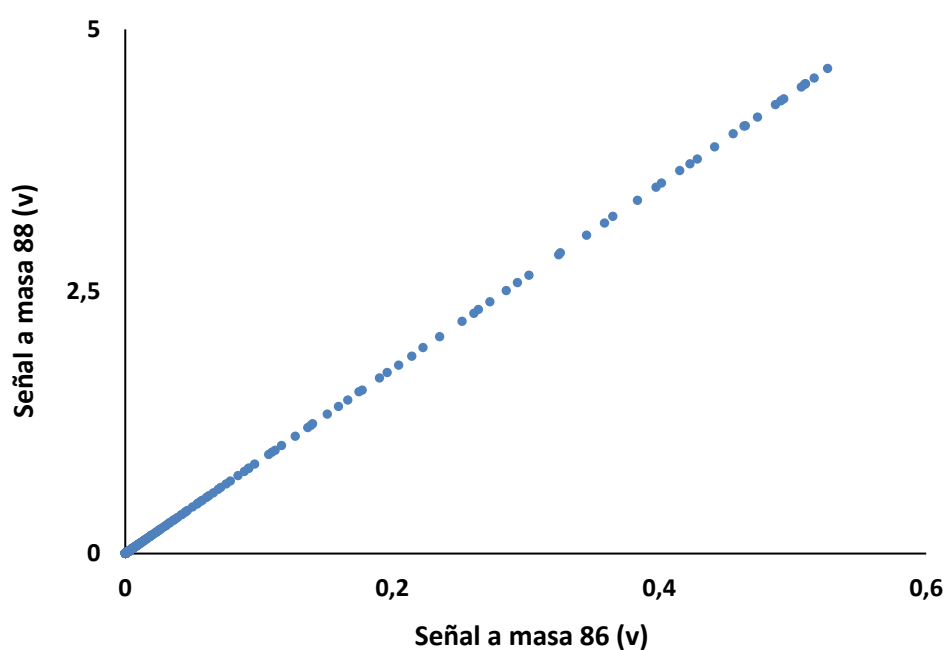
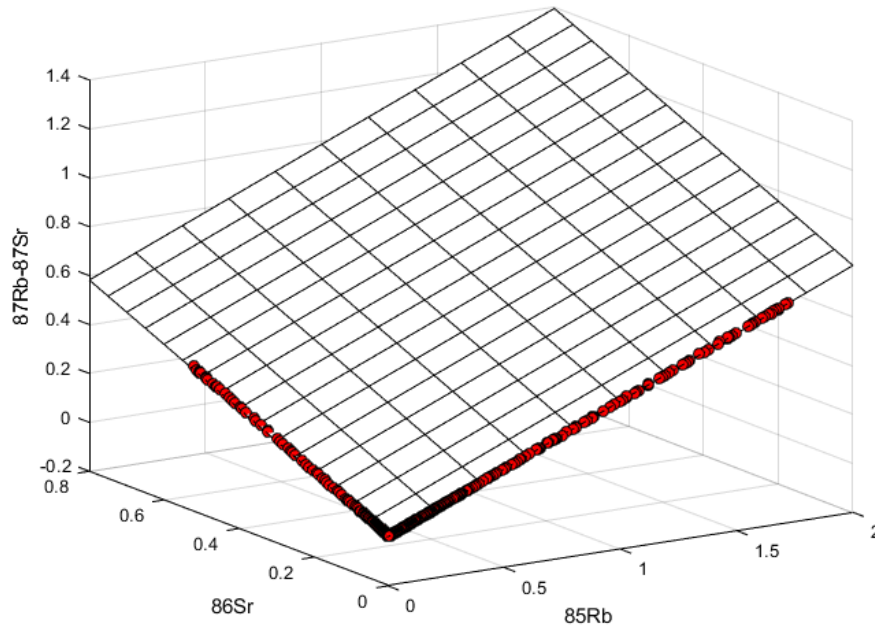


Figura C.16. Cálculo de la relación isotópica  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante regresión lineal.

### 3.5.2. Regresión lineal múltiple

La regresión lineal múltiple se puede aplicar para el caso de que un isótopo esté interferido por otro elemento y estos dos elementos hayan sido separados cromatográficamente. El caso típico es la interferencia del  $^{87}\text{Rb}$  sobre  $^{87}\text{Sr}$ . Si nos fijamos en el cromatograma de la **Figura C.15** la traza en color morado corresponde a la masa 87 y consta de dos picos: el pico del  $^{87}\text{Sr}$  al principio del cromatograma y el pico del  $^{87}\text{Rb}$  al final. Si representamos en un diagrama tridimensional las señales correspondientes a las masas 85, 86 y 87 obtenidas a lo largo del cromatograma obtendremos la representación que se ilustra en la **Figura C.17**.



**Figura C.17.** Representación tridimensional de tres señales de Rb y Sr.

Esta representación se puede modelizar según la ecuación:

$$S_{87} = a + bS_{85} + cS_{86}$$

Que se corresponde con la ecuación del plano mostrado en la **Figura C.17** Los parámetros  $b$  y  $c$  del ajuste por regresión lineal múltiple se corresponden con las relaciones isotópicas  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  y  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  respectivamente.

La ventaja que tiene la aplicación de la regresión lineal múltiple es que utiliza todos los puntos del cromatograma, incluida la línea de base, de forma que se corrige automáticamente el fondo sin necesidad de corregir los blancos ni sustraer la línea de base [113,114].

### 3.5.3. Corrección del efecto de discriminación de masas

Una vez obtenida la relación de las señales  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de todo el cromatograma mediante regresión lineal múltiple se ha de aplicar la corrección del efecto de discriminación de masas aplicando la ecuación exponencial de Russell [115] para obtener el valor exacto de la relación isotópica del estroncio. Las ecuaciones utilizadas aparecen en la **Tabla C.1**.

**Tabla C.1. Ecuaciones utilizadas para la corrección de la discriminación de masa en el estroncio.**

Modelo de corrección	Ecuación para la determinación de $f$	Ecuación de corrección
Russell	$\log\left(\frac{R_{theo}}{r_{exp}}\right) = f \times \log\left(\frac{m_i}{m_j}\right)$	$R = r_{exp} \left(\frac{m_i}{m_j}\right)^f$

El factor de discriminación de masas  $f$  es una constante que se obtiene a partir de la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  teórico ( $R_{theo}$ ) y el obtenido experimentalmente ( $r_{exp}$ ) siendo  $m_i$  y  $m_j$  las masas exactas de los isótopos 86 y 88 de estroncio. Posteriormente esta constante  $f$  se aplica a la ecuación de discriminación de masas junto con el valor experimental de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ( $r_{exp}$ ) y sus masas exactas para obtener el valor corregido de la relación. Este proceso se realiza en cada muestra utilizando el valor 8,375209 como referencia para  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  propuesto por Alfred Nier y utilizado en todos los estudios geológicos de relaciones isotópicas de estroncio. Este material se mide en las mismas condiciones que las muestras reales en una secuencia estándar- 3 muestras-estándar.

### 3.5.4. Cálculo de la precisión mediante el método de Kragten

El cálculo de la incertidumbre de las medidas se obtiene mediante el cálculo de la incertidumbre propagada utilizando la metodología de hojas de cálculo propuesta por Kragten [116]. Este modelo proporciona una incertidumbre estándar combinada teniendo en cuenta las incertidumbres experimentales de las relaciones isotópicas  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  derivadas de la corrección del efecto de discriminación de masas. Un ejemplo de la aplicación de este método se ilustra en la **Tabla C.2**. Básicamente el método consiste en sumar a los valores nominales de las relaciones isotópicas sus incertidumbres estándar y calcular nuevos valores de las relaciones isotópicas corregidas para estos dos casos (en amarillo en la tabla). La incertidumbre se calcula como la suma cuadrática de las diferencias entre las relaciones obtenidas con los valores nominales y las relaciones obtenidas cuando se adicionan las incertidumbres a dichos valores nominales. En el caso de los datos de la **Tabla C.2** la incertidumbre relativa final es del 0.01% lo que da una idea clara de la gran precisión de las medidas con el equipo multicolector. El valor certificado para la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en el NIST 987 es  $0,71034 \pm 0,00026$  lo que significa que, tras la corrección de la discriminación de masas, el valor encontrado está perfectamente de acuerdo con el valor certificado.

**Tabla C.2. Propagación de la incertidumbre para la medida del material certificado NIST 987 mediante el método de Kragten.**

	Valores nominales	$r_{88/86}$	$r_{87/86}$
<b>Incertidumbre experimental</b>		0.00030	0.000071
$r_{88/86}$	8.78928	8.789585	8.789280
$R_{88/86}$	8.375209	8.375209	8.375209
$r_{87/86}$	0.727734	0.727734	0.727805
f Russell	-2.09908	-2.10059	-2.09908
$R_{87/86}$	0.71029	0.71027	0.71036
Diferencias		-0.00001	0.00007
<b>Incertidumbre</b>	0.00007	1.53E-10	4.83E-09

### 3.6. Separación cromatográfica de renio y osmio

Las condiciones óptimas de separación cromatográfica Re-Os aparecen en la **Tabla C.3.**

**Tabla C.3. Condiciones cromatográficas para la separación Re-Os.**

<b>Columna</b>	AS9-HC 2 x 250 mm
<b>Fase móvil</b>	ácido cítrico 100 mM + amoníaco 500 mM (exceso de amoníaco)
<b>Volumen de inyección</b>	100 $\mu$ l
<b>pH</b>	básico (8-9)

## 3.7. Determinación del renio en molibdenitas mediante dilución isotópica

El análisis por dilución isotópica es una técnica analítica basada en la medida de relaciones isotópicas de muestras cuyas abundancias naturales (perfil isotópico natural) han sido alteradas mediante la adición de la cantidad conocida de un elemento enriquecido isotópicamente (trazador) obteniéndose un perfil isotópico alterado. Esta técnica se utilizó tradicionalmente en la Espectrometría de Masas por ionización térmica (TIMS) pero fue incluyéndose en el análisis por ICP-MS gracias a la buena exactitud y precisión que se obtiene en las medidas de relaciones isotópicas.

El requisito necesario para aplicar la dilución isotópica es que el elemento a analizar debe tener, al menos dos isótopos estables, o uno estable y otro radiactivo de vida media larga, que se puedan medir sin interferencias espectrales mediante un espectrómetro de masas.

Para llevar a cabo la determinación de renio en molibdenitas mediante dilución isotópica se añade una cantidad pesada del trazador de Re, enriquecido en el isótopo de masa 185 y de concentración conocida, a las muestras en el momento de su fusión alcalina. Tras el ataque se mide la composición isotópica final del renio en la muestra tras el acoplamiento del sistema cromatográfico al ICP-MS.

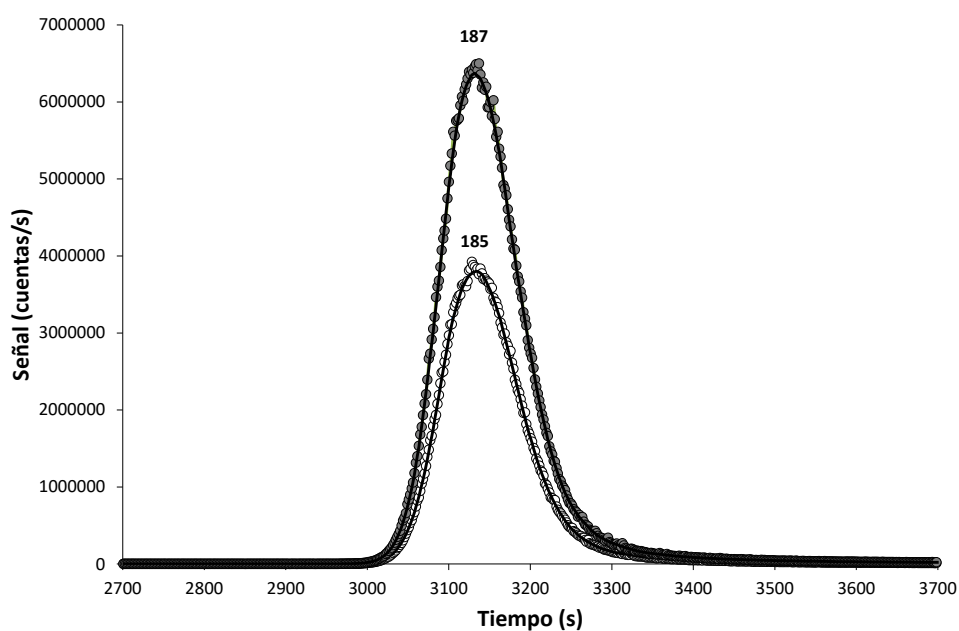
### 3.7.1. Preparación del trazador isotópico de $^{185}\text{Re}$

El patrón de renio marcado isotópicamente en la masa 185 se comercializa en forma de metal sólido. Por tanto, se disolvió en ácido nítrico ultrapuro hasta una concentración aproximada de 1000 µg/g. La concentración exacta se determinó mediante dilución isotópica inversa utilizando un patrón certificado de renio de abundancia isotópica natural. Se determinó una concentración de  $852 \pm 33$  µg/g. Las disoluciones posteriores de dicho patrón se realizaron por pesada utilizando HCl 6 M como diluyente. El enriquecimiento del isótopo  $^{185}\text{Re}$  se tomó del certificado de análisis del fabricante que indicaba un 93,60%.

### **3.7.2. Medida de la composición isotópica del renio**

Dado que las señales en el equipo de doble enfoque Element 2 eran bastante ruidosas en la detección de renio y osmio se decidió utilizar un método alternativo para la medida de las relaciones isotópicas basado en la medida de las áreas de cada pico y haciendo la relación isotópica igual a la relación de áreas. El equipo no permite la integración directa de los cromatogramas por lo que los datos se exportaron a una hoja de cálculo de Excel y se trataron como se indica a continuación.

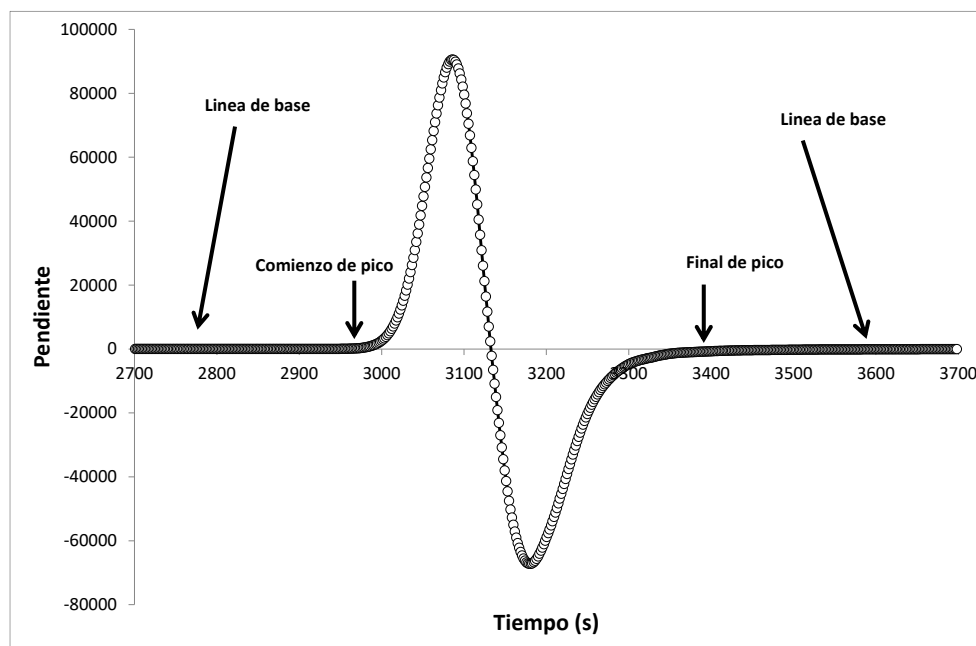
El primer paso fue el suavizado del pico cromatográfico aplicando un filtro Savitzky-Golay con  $n=25$  [117]. De forma genérica este filtro se aplica a un conjunto de datos con el fin de aumentar la precisión de los datos sin distorsionar la tendencia de la señal. Esto se logra mediante un proceso conocido como convolución, ajustando subconjuntos sucesivos de puntos de datos adyacentes con un polinomio de bajo grado mediante el método de mínimos cuadrados lineales. La **Figura C.18** muestra los resultados obtenidos al aplicar este filtro a los datos del pico cromatográfico del renio. Como se puede observar, se elimina prácticamente todo el ruido del cromatograma sin afectar a su forma.



**Figura C.18. Tratamiento de datos para la medida de las relaciones isotópicas de renio: Filtrado de los cromatogramas.**

El siguiente paso fue el cálculo de la pendiente para cada pico cromatográfico. Este cálculo nos permite determinar el comienzo y el final de cada pico cromatográfico a través de la comparación de los datos con una “pendiente mínima” determinada en cada caso. La **Figura C.19** muestra el cálculo de la pendiente para el pico de renio mostrado en la **Figura C.18**. Una vez determinada la pendiente se puede establecer el comienzo y el final del pico, así como reconstruir la línea de base antes y después del pico como se observa en la figura. Esta línea de base reconstruida se resta a todo el cromatograma para calcular seguidamente el área del pico cromatográfico.





**Figura C.19. Tratamiento de datos para la medida de las relaciones isotópicas de renio: Cálculo de la pendiente.**

El área de pico se calcula mediante el método de los trapecios asumiendo que el área de cada pico es la suma del área de los polígonos que lo configuran. Una vez calculadas las áreas de cada pico la relación isotópica será la relación de las correspondientes áreas.

### 3.7.2. Tratamiento de datos

Se utilizó la deconvolución de perfiles isotópicos para los cálculos por dilución isotópica [118]. Se asume que la composición isotópica del renio en la mezcla,  $A_m^{xxx}$ , será una función lineal de la composición isotópica del renio natural,  $A_s^{xxx}$ , y de la composición isotópica del Re en el trazador,  $A_t^{xxx}$ . Esto se ilustra con la siguiente ecuación:

$$\begin{bmatrix} A_m^{185} \\ A_m^{187} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_s^{185} & A_t^{185} \\ A_s^{187} & A_t^{187} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} x_s \\ x_t \end{bmatrix}$$

Donde  $x_s$  y  $x_t$ , las soluciones de la ecuación, son las fracciones molares de renio de abundancia natural (s) y del trazador (t) en la mezcla (m).

En el caso de la presente tesis la deconvolución de perfiles isotópicos se aplica al Renio, que presenta dos isótopos: el de masa 185 con 34,7% de abundancia y el de masa 187 con 62,6% de abundancia,  $A_s^{xxx}$ . Esta serían las abundancias para cada isótopo del Renio en la muestra de molibdenita, o su perfil isotópico natural. Por otro lado, la alteración isotópica del Renio se realiza mediante el enriquecimiento del isótopo 185 hasta el 93,6% de abundancia, siendo la del Renio 187, por tanto, del 6,4%. Este sería el perfil isotópico alterado,  $A_t^{xxx}$ .

Finalmente, con los valores de las fracciones molares se determina la concentración del Re,  $C_s$ , aplicando la siguiente ecuación:

$$C_s = C_t \times \frac{x_s}{x_t} \times \frac{m_t \times w_s}{m_s \times w_t}$$

Donde  $x_s$  y  $x_t$  son las fracciones molares del Re natural y del trazador,  $C_t$  es la concentración del trazador añadido,  $m_t$  su masa y  $w_t$  su peso atómico. De la misma manera,  $m_s$  es la masa de la molibdenita tomada para la fusión alcalina y  $w_s$  el peso atómico del Re de abundancia natural en la muestra.

## **D. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## Capítulo 1

# **Desarrollo de un método para la medida de relaciones isotópicas de estroncio mediante HPLC-ICP-MS.**



# 1. Introducción

Los procesos de separación de estroncio de su matriz para la posterior determinación de la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante espectrometría de masas se basan en el proceso de extracción en fase sólida utilizando cartuchos comerciales cargados con resinas de intercambio catiónico. Esta separación se realiza en vitrina de gases según un procedimiento general que consta de sucesivas etapas, cada una de ellas utiliza un solvente o una mezcla de solventes para separar los distintos elementos de la muestra. Estas etapas, ya explicadas en la introducción de este manuscrito, se resumen en las siguientes:

1. Etapa de acondicionamiento.
2. Etapa de carga de muestra.
3. Etapa de lavado.
4. Etapa de elución.
5. Etapa de concentración.

Una vez aislado el compuesto de interés, en este caso el estroncio, la alícuota obtenida se lleva al equipo de espectrometría de masas para la determinación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

## 2.Objetivo

En cromatografía de líquidos, las columnas cromatográficas actúan de forma similar a las resinas utilizadas en la extracción en fase sólida. Las resinas que rellenan las columnas adsorben selectivamente ciertos cationes, de forma que mientras unos no se retienen, otros son retenidos con mayor o menor fuerza y finalmente eluidos en función del solvente utilizado. Una ventaja de estas columnas es que, montadas en un sistema cromatográfico, pueden acoplarse directamente a un detector y así aislar el analito de interés y detectarlo de forma simultánea sin la necesidad de hacer una separación previa en vitrina de gases. De esta forma se evita el manejo de la muestra y las sucesivas etapas de separación del estroncio previamente descritas, ya que, en este caso, únicamente se ha de inyectar la muestra digerida en la válvula de 6 vías del sistema cromatográfico.

Teniendo en cuenta esta ventaja de la cromatografía de líquidos frente a la extracción en fase sólida, el objetivo del presente capítulo es el desarrollo de un método de determinación de relaciones isotópicas de estroncio mediante cromatografía de líquidos acoplado a detección por espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-MC-ICP-MS) como una alternativa más rápida al método de preparación de muestra y análisis existente de separación del estroncio de su matriz mediante extracción en fase sólida y la posterior determinación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  mediante espectrometría de masas de alta resolución.



## **3.Experimental**

Los equipo, reactivos y materiales empleados en el desarrollo de este método se han detallado en el capítulo 2, Experimental. En esta parte del capítulo se expondrán únicamente las muestras empleadas y su preparación

### **3.1. Muestras**

#### **3.1.1. Agua corriente**

#### **3.1.2. Agua del mar Cantábrico**

Estas muestras fueron recogidas en mar abierto por el grupo de Biología de Organismos y Sistemas de la Universidad de Oviedo durante una de sus expediciones frente a la costa asturiana.

### **3.2. Preparación de las muestras**

Todas las muestras fueron ligeramente acidificadas con HNO<sub>3</sub> 2% como única forma de preparación, solamente las muestras de agua de mar fueron además diluidas en proporción 1:3 y filtradas con un filtro de 45 µm de diámetro de poro como paso previo a su introducción en el equipo.

---

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Optimización de la separación cromatográfica

La optimización de la separación cromatográfica, que tiene como objetivo la separación de la masa 87 del estroncio de la interferencia isobárica a la misma masa del rubidio, así como otros elementos de la matriz que puedan generar interferencias espectrales. Esta optimización se realizó principalmente mediante el ajuste de dos parámetros, la columna cromatográfica y la fase móvil utilizadas. Parámetros secundarios serían el volumen de inyección y el flujo de trabajo, aunque este valor suele estar especificado por la propia casa comercial de la columna empleada en la separación cromatográfica.

Las columnas típicas de HPLC para la separación de metales alcalinos y alcalinotérreos son las columnas de intercambio catiónico que tienen como grupos funcionales ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos. Estas columnas se comercializan, entre otras, por la casa comercial Dionex con el nombre de IonPac CS12A y IonPac CS10 respectivamente. La columna CS12A, con grupos funcionales de ácido carboxílico es débilmente hidrofóbica y permite un intercambio catiónico débil con el medio. La columna CS10 posee grupos funcionales de ácidos sulfónicos, más fuertes que los carboxílicos, y su hidrofobicidad es más elevada. Como consecuencia la retención de los metales alcalinos y alcalinotérreos es mayor en la columna CS10 que en la CS12A.

Durante esta primera fase del desarrollo metodológico se compararon ambas columnas y se estudiaron varias fases móviles ( $\text{HNO}_3$  y  $\text{HCl}$ ) compatibles tanto con las columnas y el equipo de análisis como con las muestras a analizar, aunque dando prioridad al  $\text{HNO}_3$  ya que es una fase móvil que en comparación con el  $\text{HCl}$  es más inocuo para los espectrómetros de masas. Este proceso se realizó acoplando el cromatógrafo de líquidos Dionex DX-1200 en el equipo ICP-MS 7500ce de Agilent e introduciendo la muestra de agua diluída en la columna a través del inyector integrado en el propio cromatógrafo. La adquisición de las señales se realizó en la modalidad de tiempo resuelto seleccionando los isótopos de interés y empleando 0,1 s de tiempo de integración. La optimización de la separación se realizó con disoluciones patrón de Rb y Sr y se aplicó finalmente sobre muestras de agua.

#### **4.1.1. Selección de la columna de intercambio catiónico y fase móvil**

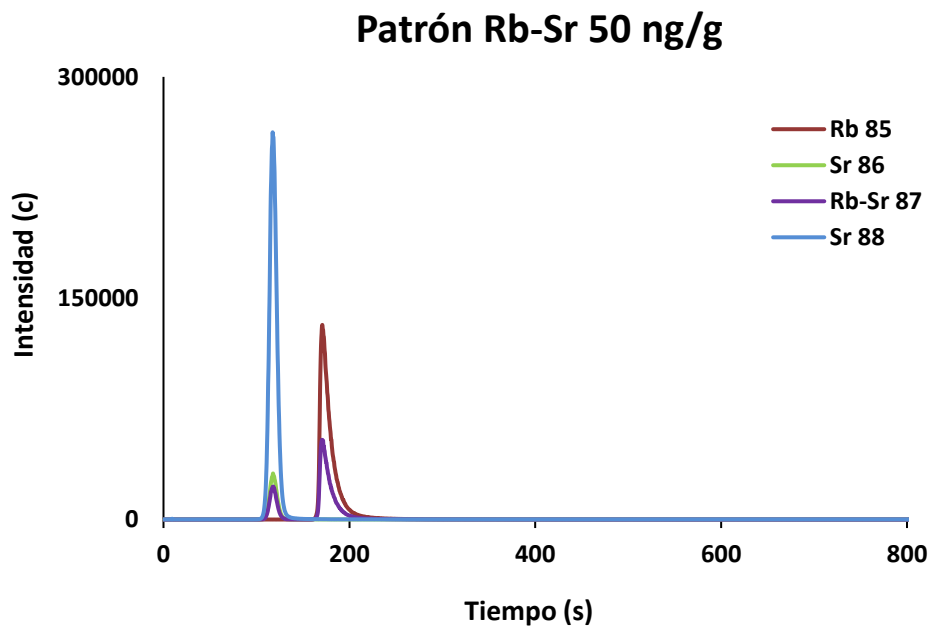
##### **4.1.1.1. Columna IonPac CS12A**

La columna analítica CS12A, está diseñada para el análisis de metales alcalinos y alcalinotérreos. Sus dimensiones son 4 x 250 mm, con ácido carboxílico como grupo funcional, tiene una capacidad de 2,8 meq/columna. El flujo recomendado de trabajo es 1 mL/min.

En este caso, para conseguir la separación del estroncio se trabajó a diferentes concentraciones de  $\text{HNO}_3$  utilizando disoluciones patrón de Rb y Sr a una concentración de 50 y 100 ng/g, utilizando un loop de 50  $\mu\text{L}$  y trabajando al flujo recomendado de 1 mL/min.

### HNO<sub>3</sub> 0,1 M

A una concentración de HNO<sub>3</sub> 0,1 M la separación es completa y se obtiene un cromatograma por debajo de los 200 s como indica la **Figura D.1.** donde el estroncio eluye aproximadamente a los 117 s y el rubidio a los 170 s.



**Figura D.1.** Separación cromatográfica Rb-Sr con la columna CS12A y fase móvil de HNO<sub>3</sub> 0,1M.

### HNO<sub>3</sub> 0,2 M

En el cromatograma de la **Figura D.2** el estroncio eluye a aproximadamente 130 s y el rubidio a 180 s. Se sigue observando una separación perfecta de ambos elementos.

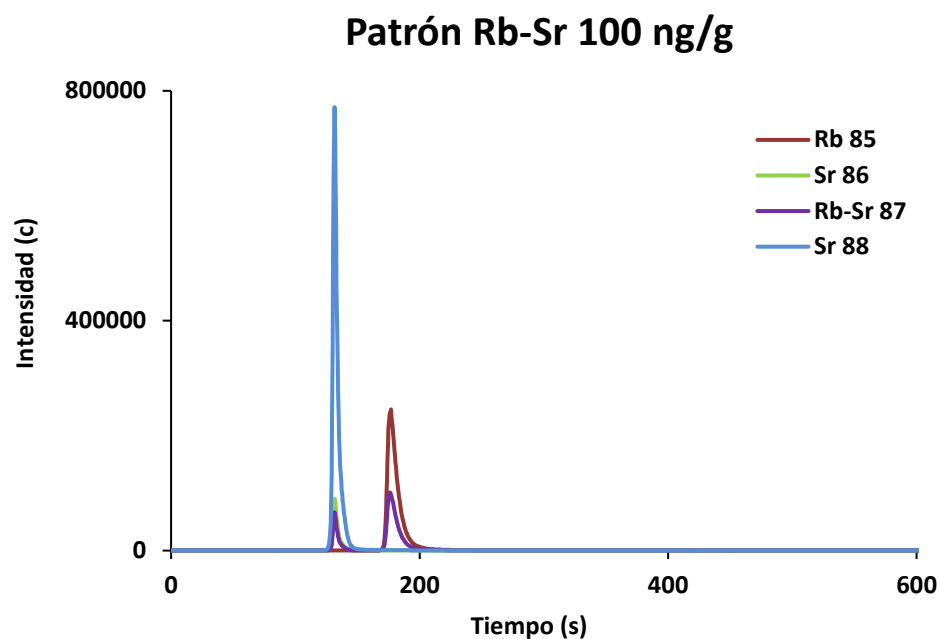


Figura D.2. Separación cromatográfica Rb-Sr con la columna CS12A y fase móvil de  $\text{HNO}_3$  0,2 M.

### $\text{HNO}_3$ 0,02 M

Para esta concentración, según indica la **Figura D.3** el estroncio eluye a dos tiempos de retención distintos, aunque entre el primero y el segundo no llega a la línea de base y la forma pico indica que no existe equilibrio entre la muestra y la fase móvil y estacionaria.

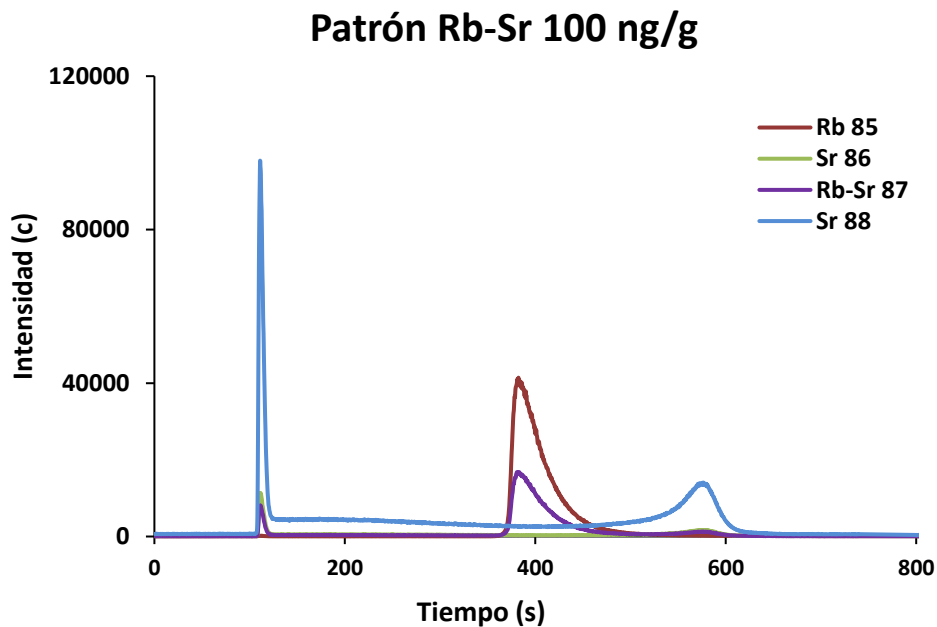


Figura D.3. Separación cromatográfica Rb-Sr con la columna CS12A y fase móvil de  $\text{HNO}_3$  0,02 M.

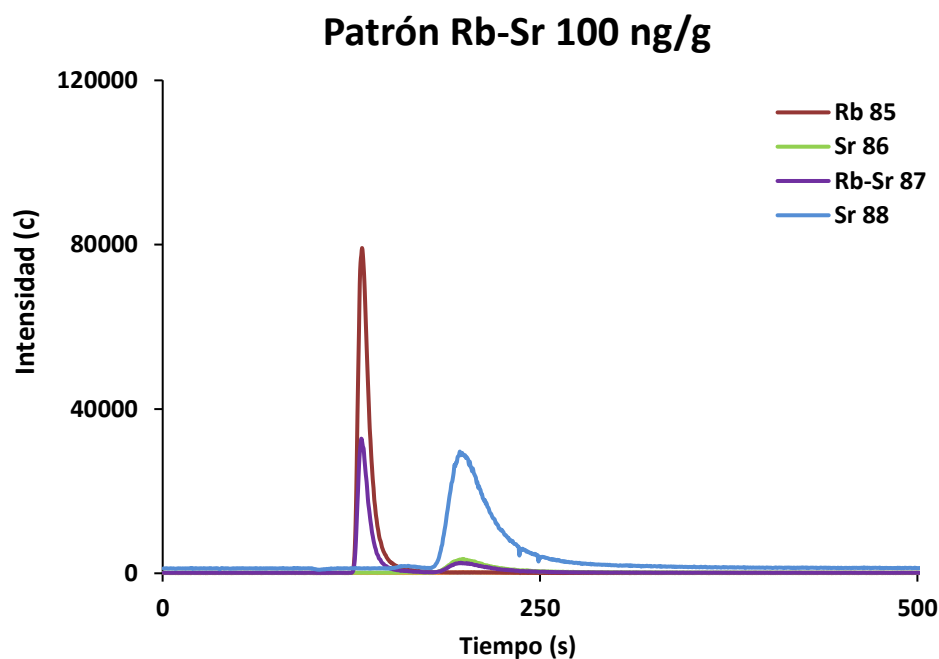
#### 4.1.1.2. Columna IonPac CS10

La columna analítica CS10, está diseñada específicamente para el análisis de metales alcalinos y alcalinotérreos. Sus dimensiones son 4 x 250 mm, su grupo funcional es ácido sulfónico y posee una capacidad de intercambio catiónico de aproximadamente 80  $\mu\text{eq}/\text{columna}$ . El flujo recomendado de trabajo es de 1mL/min.

Para ello se compararon dos fases móviles distintas;  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HCl}$ . Esta prueba se realizó en primer lugar con disoluciones patrón de Rb y Sr a una concentración de 100 ng/g utilizando un loop de 50  $\mu\text{L}$ . Se trabajó al flujo recomendado por el fabricante, 1mL/min.

## HCl 0,8 M

A continuación, la **Figura D.4** muestra los cromatogramas obtenidos para los patrones de 100 ng/g de Rb y Sr.



**Figura D.4. Separación cromatográfica Rb-Sr con la columna CS10 y fase móvil de HCl 0,8 M.**

En el cromatograma de la **Figura D.4** se puede ver como el rubidio eluye alrededor de los 130 s mientras que el estroncio lo hace a los 200 s. La separación es completa y los picos son gaussianos lo que indica que existe equilibrio entre la muestra y las fases móvil y estacionaria. Por lo tanto, la separación cromatográfica de ambos elementos para esta fase móvil es óptima.

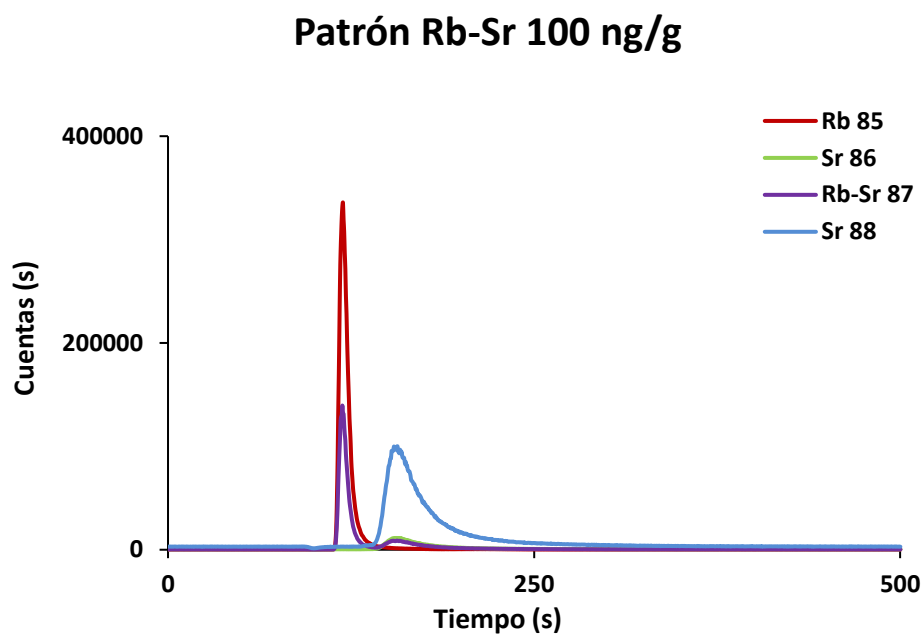
### **HNO<sub>3</sub> 0,8 M**

El mismo procedimiento se llevó a cabo con la fase móvil de 0,8 M de HNO<sub>3</sub> sobre patrones de 100 ng/g de Rb y Sr. Los tiempos de retención en este caso para los patrones son iguales que los obtenidos para la fase móvil de HCl, con una separación completa entre picos cromatográficos.

### **HNO<sub>3</sub> 1 M**

Por último, se estudia la cromatografía para la fase móvil de HNO<sub>3</sub> 1M. En este caso el poder de elución aumenta de tal forma que el rubidio eluye a 120 s y el estroncio a 150 s (**Figura D.5**).





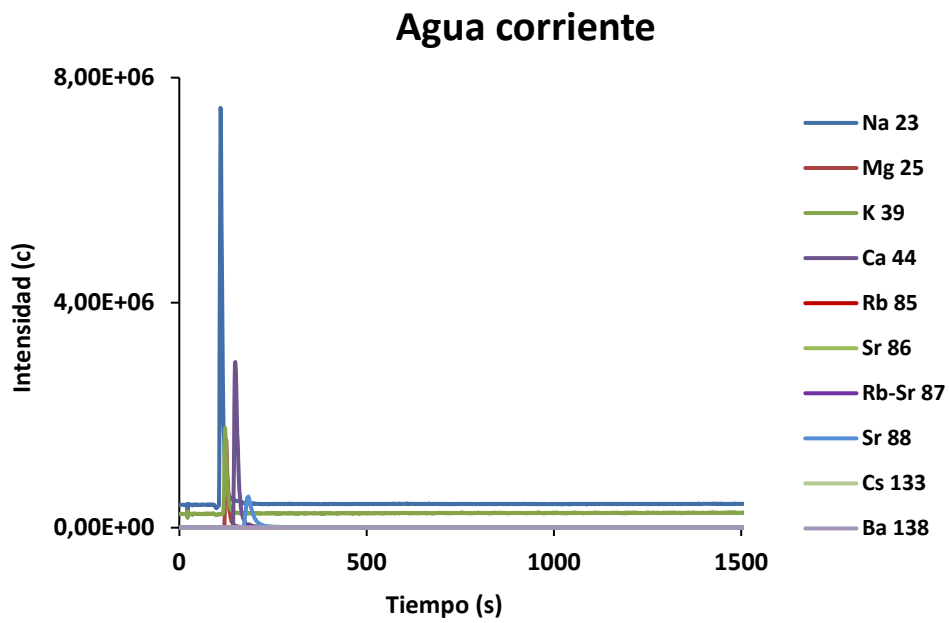
**Figura D.5. Separación cromatográfica Rb-Sr con la columna CS10 y fase móvil de  $\text{HNO}_3$  1 M.**

Comparando ambas columnas no se observan diferencias apreciables, siendo las dos óptimas para la separación del estroncio. Sin embargo, se escogió la CS10 debido a la fragilidad química mostrada por la columna CS12.

Una vez seleccionada la columna, se determinó la fase móvil a utilizar. Para esta parte del desarrollo metodológico las pruebas se realizaron con agua corriente.

## HCl 0,8 M

Las **Figura D.6** y su ampliación, **Figura D.7** muestran los tiempos de retención en una muestra de agua de grifo. En este caso, además del rubidio y el estroncio, se estudiaron otros metales alcalinos y alcalinotérreos.



**Figura D.6.** Separación cromatográfica en agua de grifo con la columna CS10 y fase móvil HCl 0,8 M.

## Agua corriente

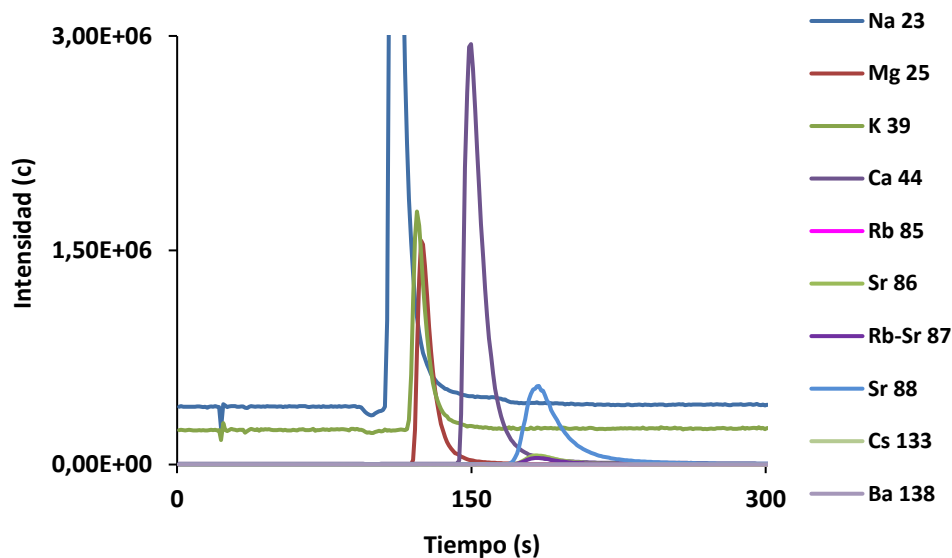


Figura D.7. Ampliación del cromatograma anterior hasta los 300 s.

Como se puede observar en la **Figura D.6** todos los elementos eluyen antes de los 500 s y aunque no hay solapamiento completo de las distintas masas sí existe un solapamiento parcial. Especial atención se debe tener con la elución del calcio (**Figura D.7**), que muestra un tiempo de retención de 150 s mientras el estroncio eluye en la cola del calcio, cerca de los 186 s.

### HNO<sub>3</sub> 0,8 M

Del mismo modo, se realizó un cromatograma (**Figura D.8**) con el fin de monitorizar todos los elementos presentes en el agua que puedan interferir con el estroncio. Aunque la cromatografía es muy similar a la observada con el HCl, en la **Figura D.9** el calcio muestra un tiempo de retención ligeramente mayor que para la fase móvil

anterior, eluyendo alrededor de los 170 s. Del mismo modo se retiene el estroncio, eluyendo a 210 s. Por lo tanto, ambas fases móviles son adecuadas para la separación de la interferencia poliatómica del calcio frente al estroncio, puesto que, aunque hay solapamiento parcial, el tratamiento por regresión lineal múltiple permite la correcta determinación de las relaciones isotópicas de estroncio.

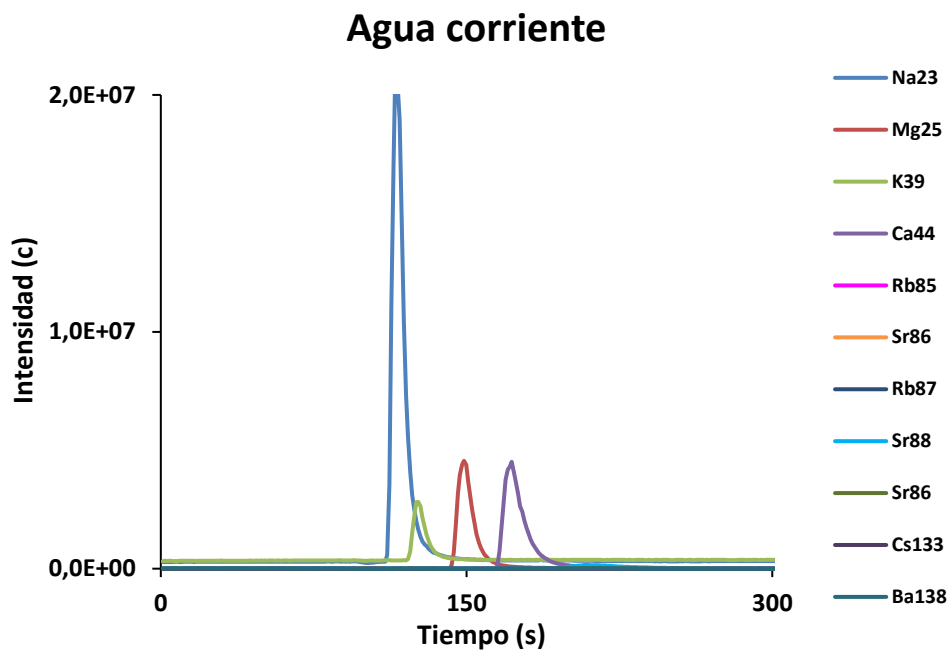


Figura D.8. Separación cromatográfica en agua de grifo con la columna CS10 y fase móvil HNO<sub>3</sub> 0,8 M.

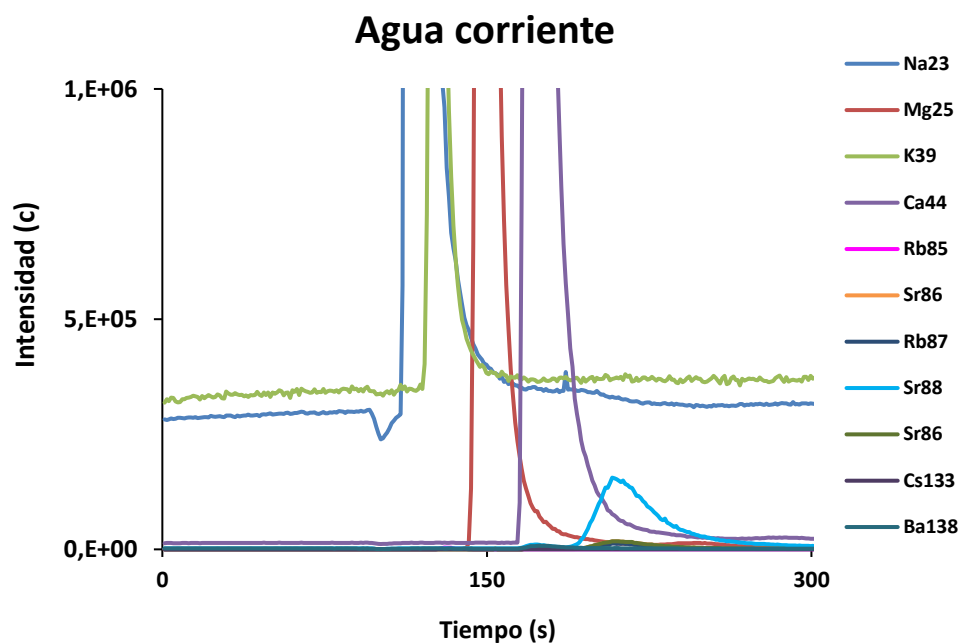


Figura D.9. Ampliación del cromatograma anterior en el que se puede apreciar el pico de  $^{44}\text{Ca}$  y  $^{88}\text{Sr}$ .

### $\text{HNO}_3$ 1 M

El cromatograma de la **Figura D.10** muestra de nuevo una ligera disminución en los tiempos de retención, eluyendo el calcio a 135 s y el estroncio a 150 s, como se ve en la **Figura D.11**, siendo por lo tanto una fase móvil inviable para la separación de la interferencia del calcio.

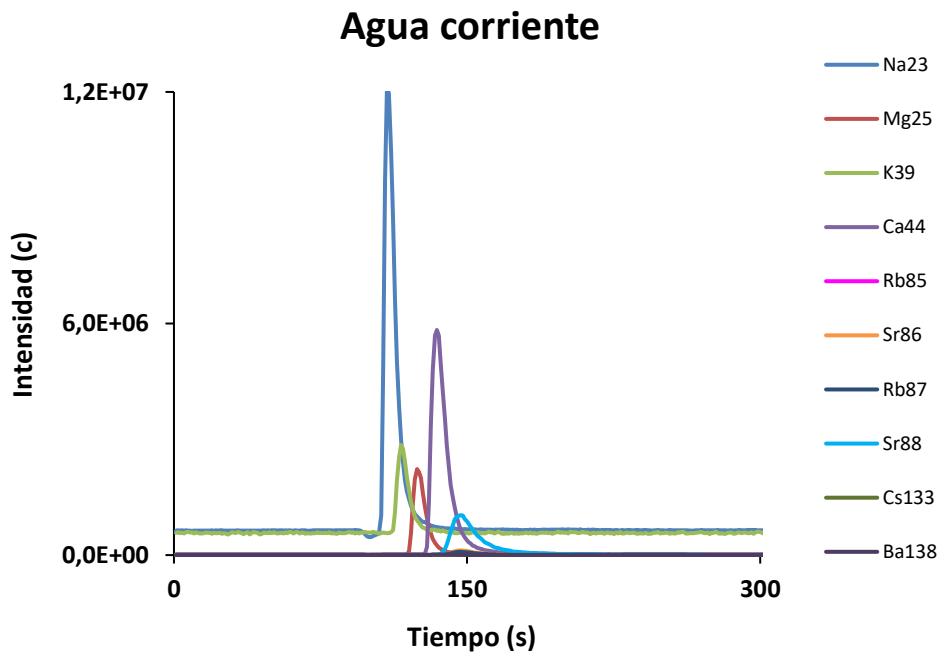


Figura D.10. Separación cromatográfica en agua de grifo con la columna CS10 y fase móvil ácido nítrico 1 M.

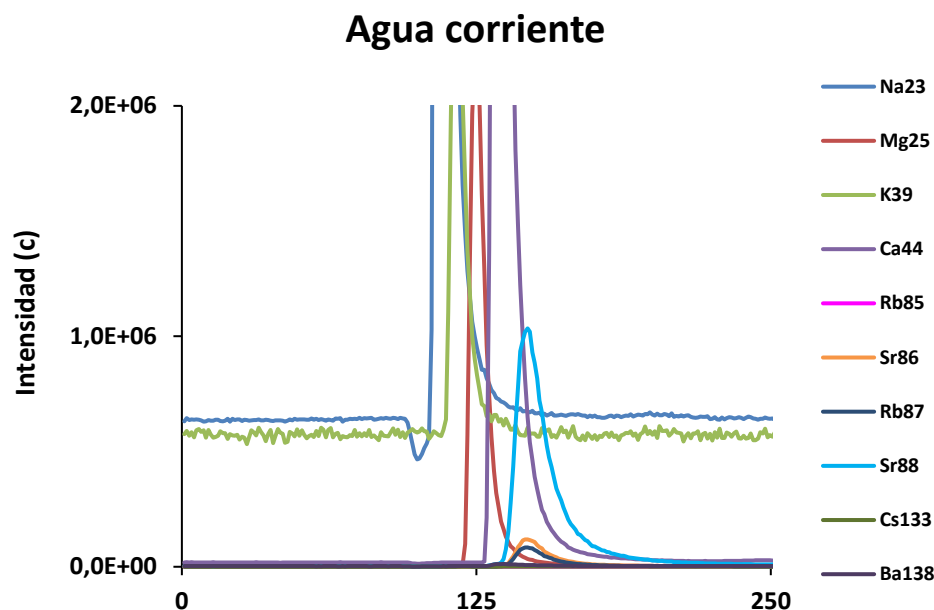


Figura D.11. Ampliación del cromatograma anterior mostrando el solapamiento parcial del  $^{44}\text{Ca}$  y  $^{88}\text{Sr}$ .

De esta forma, a modo de resumen en la **Tabla D.1** se muestran los tiempos de retención para los elementos más significativos. Atendiendo al objetivo de separar el estroncio, calcio y rubidio así como de tener una fase móvil compatible con el ICP-MS se opta por la fase móvil de ácido nítrico 0,8 M.

**Tabla D.1** Parámetros cromatográficos para la determinación de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del agua de mar.

<b>Columna</b>	Dionex Ion Pac CS10
<b>Fase móvil</b>	Ácido nítrico 0,8 M
<b>Modo</b>	isocrático
<b>Volumen de inyección</b>	100 $\mu\text{l}$
<b>Flujo</b>	1 mL/min

## 4.2. Aplicación del método a agua de mar

Una vez realizada la optimización de la cromatografía con patrones y agua en el ICP-MS 7500ce, se estudiaron las relaciones isotópicas de estroncio para esta separación cromatográfica. Este proceso se realizó acoplando las bombas LC Surveyor de Thermo Scientific en el equipo de alta resolución MC-ICP-MS Neptune Plus.

En esta parte del desarrollo metodológico se utilizó un material de referencia de composición isotópica conocida, el NIST SRM987 carbonato de estroncio, y muestras de agua recogidas en el mar Cantábrico. El agua tiene una composición isotópica media de 0,7092 [17]. En la **Tabla D.2** se muestran los parámetros utilizados para el análisis del agua. La duración de la cromatografía es de 1200 s (ciclos) para asegurar que el rubidio vuelve a línea de base antes de inyectar la siguiente muestra.



**Tabla D.2. Parámetros experimentales del equipo Neptune Plus empleados en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en agua de mar.**

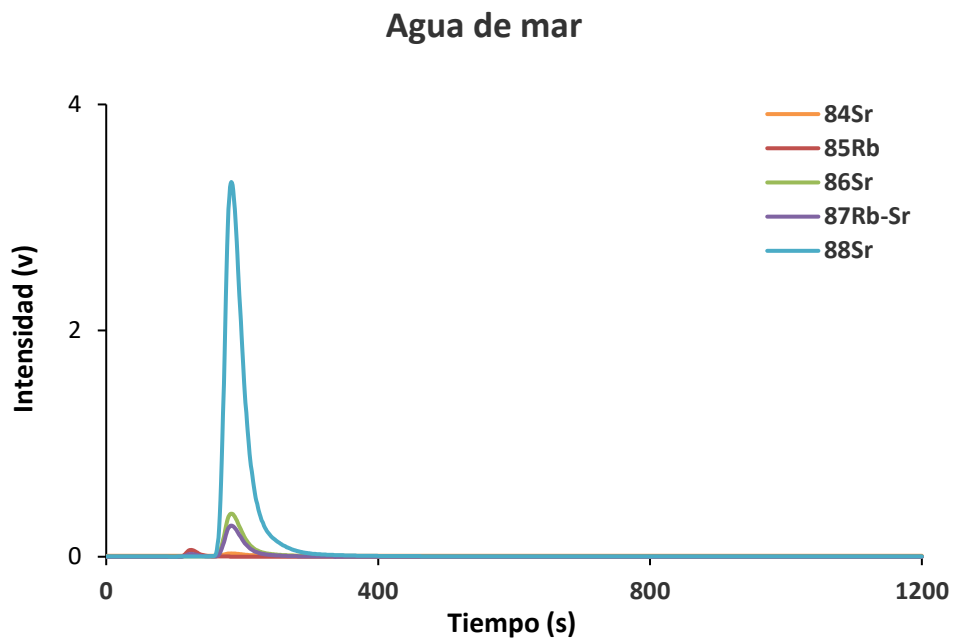
<b>Parámetros experimentales y de adquisición del MC-ICP-MS Neptune Plus</b>	
Potencia aplicada	1200 W
Flujo del gas plasmógeno	15 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas auxiliar	0,7 L min <sup>-1</sup> – 0,8 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas portador	0,8 L min <sup>-1</sup> – 1,1 L min <sup>-1</sup>
Tiempo de integración	1,049 s
Número de ciclos	1200 por bloque
Número de bloques	1

La configuración de copas utilizada en el Neptune Plus es la indicada en la **Tabla D.3.**

**Tabla D.3. Configuración de copas del Neptune Plus.**

<b>Configuración de copas del Neptune Plus MC-ICP-MS</b>							
L4	L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
<sup>82</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>83</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>84</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>85</sup> Rb <sup>+</sup>	<sup>86</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>88</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>90</sup> Sr <sup>+</sup>
		<sup>84</sup> Kr <sup>+</sup>		<sup>86</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Rb <sup>+</sup>		

A modo de ejemplo la **Figura D.12** muestra un cromatograma de agua de mar diluída en proporción 1:3, en donde la elución del estroncio se produce a los 200 s tal y como se había observado en la optimización.

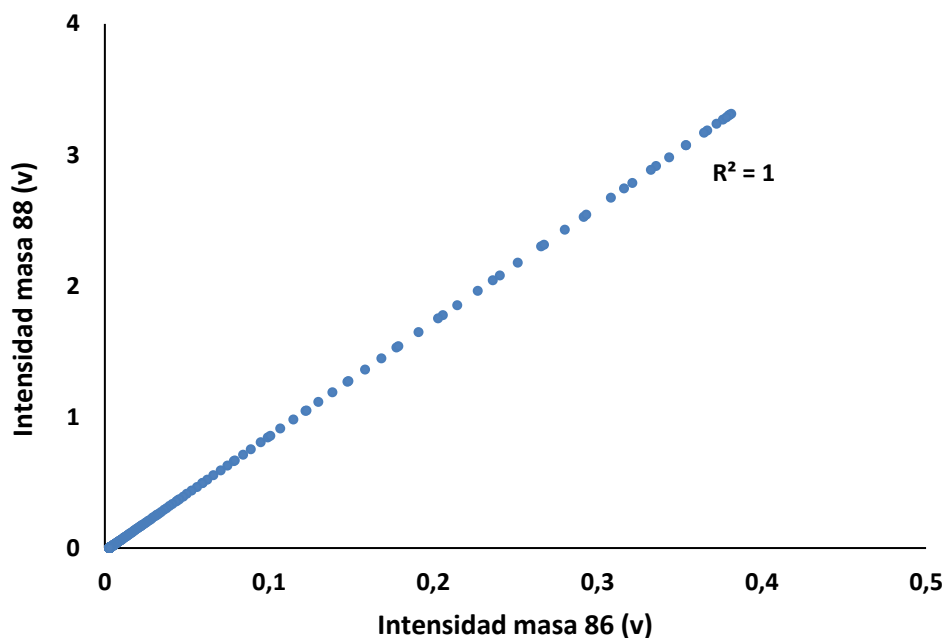


**Figura D.12. Cromatograma de una muestra de agua de mar medida mediante HPLC-MC-ICP-MS.**

Con el fin de comprobar la eficacia del método se hicieron cinco réplicas de la misma muestra durante cinco días consecutivos. Cada tres muestras se analizó el material de referencia NIST SRM 987 con el fin de controlar la discriminación de masas.

La **Figura D.13** muestra las intensidades de los isótopos de estroncio del agua de mar recogidas a lo largo de todo el cromatograma. Se observa como las masas 88 y

86 muestra una correlación perfecta, ajustándose los datos a una recta de regresión.



**Figura D.13.** Recta de regresión lineal simple de las masas 88/86 de una muestra de agua de mar.

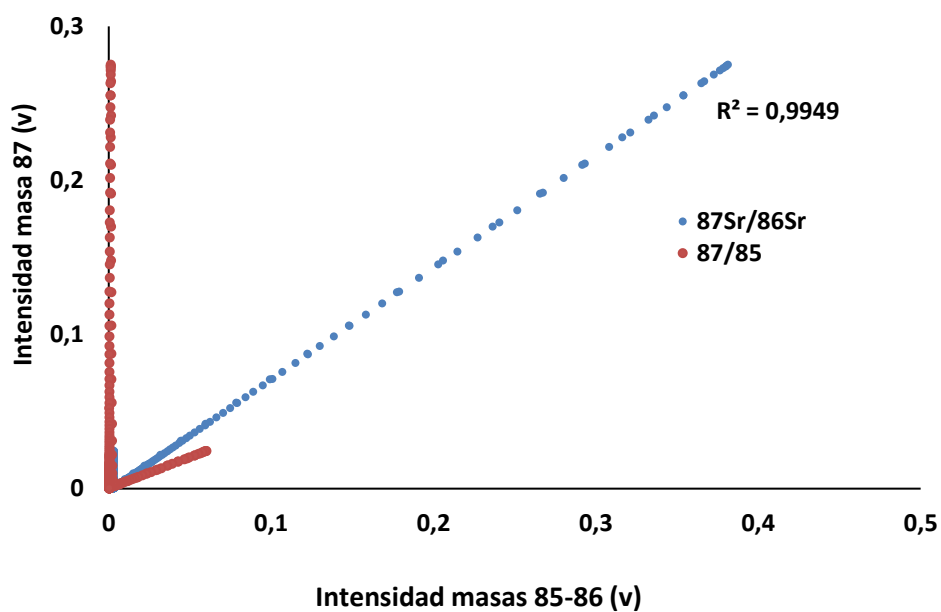
Asimismo, la **Figura D.14** muestra la representación lineal de la intensidad de la señal a la  $m/z=87$  frente a las señales 85 del rubidio y la 86 del estroncio. La relación 87/86 consta de dos rectas, cada una de ellas representa los tiempos de elución de cada elemento: una de las rectas corresponde al valor de la relación 87/86 de la muestra, obtenida durante la elución del estroncio. Es decir, es la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del agua de mar, que al poseer estroncio tiene intensidad de señal para ambas masas y se correlacionan entre sí. La recta 87/86 corresponde al momento de elución del rubidio, que al no tener contribución de la masa 86 (puesto que esa masa es del

estroncio) se distribuye sobre el eje Y. De forma opuesta ocurre con la relación 87/85, dado que la masa 85 corresponde al rubidio, se dibuja una recta en el momento de elución de este elemento donde hay intensidad de señal para ambas masas que se correlacionan ente sí, mientras que en el momento de elución del estroncio sólo hay aportación de la masa 87 pero no de la 85 (por ser del rubidio), por lo que la recta 87/85 se distribuye sobre el eje X. Esta representación gráfica constituye un plano cuya ecuación matemática es la ecuación de la regresión lineal múltiple explicada en el capítulo Experimental.

$$S_{87} = a + bS_{85} + cS_{86}$$

Donde a es la ordenada en el origen, b la relación isotópica  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  y c la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . Para obtener la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , se someten los datos de todo el cromatograma a una regresión lineal múltiple haciendo el tratamiento de datos en el programa Excel, aplicando la función "ESTIMACIÓN LINEAL", donde la señal a la masa 87 se corresponde con la "y" y las señales de la masa 85 y 86 se corresponde con la "X".

Para la corrección de la discriminación de masas se utiliza la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  experimental, calculada mediante regresión lineal simple y tomando como referencia la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  propuesta por Nier 8,37521. El error se expresa como la incertidumbre propagada obtenida mediante el método de Kragten.



**Figura D.14.** Rectas de regresión lineal múltiple para las masas 87/85 y 87/86 de una muestra de agua de mar.

La **Tabla D.4** recoge los resultados obtenidos tanto para las muestras de agua de mar. La precisión, en la quinta decimal, se expresa como dos veces el valor de la desviación estándar.

**Tabla D.4. Resultados de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del agua de mar determinada mediante HPLC-MC-ICP-MS (n=número de réplicas).**

<b>Día</b>	<b>n</b>	<b><math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>	<b>2SD</b>
1	5	0,70922	0,00015
2	5	0,70917	0,00007
3	5	0,70913	0,00006
4	5	0,70915	0,00008
5	5	0,70914	0,00006
		<b><math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>	<b>2SD</b>
<b>Valor medio</b>		<b>0,70916</b>	<b>0,00009</b>

## 5. Conclusión

En el presente capítulo de esta tesis doctoral se ha presentado una nueva metodología de análisis de las relaciones isotópicas de estroncio mediante la inyección directa de la muestra en la columna cromatográfica y la separación del estroncio en línea con la detección mediante espectrometría de masas (HPLC-MC-ICP-MS) con una reducción de tiempo de análisis con respecto al método convencional de separación mediante extracción en fase sólida y posterior detección de la fracción de interés. La aplicación del método y los resultados obtenidos para el agua de mar, coincidentes con la bibliografía, avalan la eficacia del método.

Capítulo 2

**Desarrollo de un método para  
el estudio de las relaciones iso-  
tópicas de estroncio en calizas.**





## 1. Introducción

La determinación de la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de carbonatos marinos constituye una herramienta ampliamente utilizada como trazador debido a su correlación con la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del agua de mar donde los organismos marinos fueron depositados hace millones de años. [119-121]. Este hecho hace posible la datación y correlación de rocas carbonatadas. Una forma de correlación es su aplicación en el campo de la arqueología, puesto que la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de una muestra arqueológica (por ejemplo, una piedra utilizada para la construcción de un edificio) podría correlacionarse con la cantera de origen comparando el valor de las relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

## 2. Objetivo

El método propuesto surge como una alternativa más sencilla al método tradicional de determinación de las relaciones isotópicas de estroncio, explicado en más detalle en la Introducción de la presente Tesis Doctoral, que consiste en el aislamiento del estroncio mediante extracción en fase sólida para posteriormente ser analizado por espectrometría de masas.

En este caso se propone un método de determinación de las relaciones isotópicas de estroncio que sigue la metodología del capítulo anterior, en el que la separación del estroncio de su matriz y su determinación se realiza en línea mediante HPLC-MC-ICP-MS, utilizando el cromatógrafo de líquidos Surveyor LC de Thermo Scientific acoplado al MC-ICP-MS Neptune Plus, de Thermo Fisher Scientific.

Para el desarrollo y validación de este método analítico se trabajó en colaboración con el Servicio General de Geocronología y Geoquímica Isotópica, integrado en los Servicios Generales de Investigación SGIker de la Universidad del País Vasco, UPV/EHU.

Finalmente, el método desarrollado fue aplicado en el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio a una roca característica del este de Normandía, un tipo de caliza denominado chalkstone (*craie* en francés) que se utilizó como roca ornamental entre los siglos X-XIV y que, por su singularidad y su significado histórico y cultural está propuesta como Global Heritage Stone Resource (GHSR) [122].

## 3.Experimental

### 3.1. Muestras y materiales de referencia

#### 3.1.1. Muestras utilizadas en la optimización de la separación cromatográfica

Para la optimización de la separación cromatográfica se utilizaron muestras de calcita (carbonato cálcico). Puesto que este mineral no suele presentar rubidio dentro de su estructura cristalina, la calcita fue dopada con 500 ng/g de un patrón de rubidio de composición isotópica natural.

#### 3.1.2. Materiales de referencia utilizados en la validación del método

### **3.1.2.1. NIST SRM 987**

Es un material de referencia certificado por el “National Institute of Standards and Technology” de carbonato de estroncio.

### **3.1.2.2. *Porites sp.* JCp-1**

El coral *Porites sp.* JCp-1 [104] procede de un arrecife de las islas Ryukyu (Japón) y su composición mineralógica es íntegramente aragonito, una de las formas cristalinas del carbonato cálcico. Preparado por el Servicio Geológico de Japón (GSJ), es un material de referencia para veintiún elementos mayores, menores y traza. Aunque no está caracterizado para el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio, su pureza, homogeneidad y falta de materiales de referencia para este estudio hacen que se utilice para tal fin, habiendo sido analizado por diferentes laboratorios mediante distintas técnicas analíticas. Los resultados, obtenidos de la base de datos Georem [123], pueden consultarse en la última página de este capítulo.

### **3.1.3. Preparación de las muestras**

La calcita utilizada para la optimización de la separación cromatográfica se fragmentó y molió hasta alcanzar tamaño polvo y se disolvió en HNO<sub>3</sub> 65% en proporción 1:1, posteriormente se diluyó en agua ultrapura hasta alcanzar una concentración de 1000 ppm de calcio y 1 ppm de estroncio. A la calcita finalmente, se le añadieron 500 ng/g de una disolución patrón de rubidio de composición isotópica natural.

El material de referencia SMR NIST 987 se disolvió en HNO<sub>3</sub> ultrapuro hasta alcanzar una concentración final de 500 ng/g al que se añadieron 500 ng/g de un patrón de rubidio de composición isotópica natural.

La disolución del coral JCp-1, al tratarse de un aragonito puro y homogéneo se puede realizar con cualquier ácido, ya sea fuerte como HNO<sub>3</sub> o HCl o débil como el HAc. Sin embargo, en previsión de la metodología de preparación de muestras reales, que se disolvieron con HAc, se realizaron, sobre este material, disoluciones mediante HNO<sub>3</sub> y HAc para comprobar la respuesta de estos ácidos sobre la columna cromatográfica. En ambos casos los resultados fueron idénticos. Una vez disuelto, el coral se diluyó en una proporción 1:50.

Todas las muestras fueron filtradas previamente a su introducción en el equipo.

## 3.2. Muestras investigadas: el Chalkstone de Normandía

Una vez validado el método sobre el material de referencia, este se aplicó sobre muestras reales de caliza. En este caso se estudió un tipo característico de caliza, denominado chalkstone, que históricamente se utilizó como roca ornamental para la construcción de edificios en el Noreste de Europa.

Las muestras fueron seleccionadas como parte del proyecto *Archéomatériaux: Territoire, Patrimoine (ATP)* concedido a la Universidad de Ruán (Normandía-Francia) que tiene como objetivo conocer la distribución espacial del chalkstone utilizado para la construcción de ciertos edificios en el este de Normandía durante la Alta Edad Media [124,125]. Para ello se estudiaron las relaciones isotópicas de estroncio

de diez muestras pertenecientes a dos canteras y cinco edificios de esta región. Las calizas analizadas forman parte de la cuenca Londres-París y se correlacionan con las estudiadas por McArthur *et al.* [22,23] en el suroeste de Inglaterra, lo que permitió utilizar los resultados de las relaciones isotópicas de estroncio de las canteras como valores de referencia.

### **3.2.1. Selección de las áreas de estudio**

Las canteras estudiadas fueron Caumont (>200.000 m<sup>2</sup> de superficie) **Figura D.1.** Vernon (40.000 m<sup>2</sup>) y Fécamp (< de 10.000 m<sup>2</sup>) escogidas por su importancia como canteras de roca ornamental durante el intervalo de tiempo estudiado [125].



**Figura D.1** Entrada a la cantera de Caumont.

Los edificios estudiados fueron la iglesia de La-Trinité-de-Thourberville y tres castillos situados en las localidades de Hautot-sur-Mer, Maulévrier-Sainte-Gertrude y Lyons-la-Forêt. Un ejemplo de estas edificaciones se muestra en la **Figura D.2.**



**Figura D.2.** Fotografía de la iglesia de Sainte-Trinité-de-Thourberville.

### **3.2.2. Toma de muestra**

La toma de muestra se realizó siguiendo criterios arqueológicos, de conservación y geológicos. Los criterios arqueológicos y de conservación se basaron en la selección de los edificios cuya fecha de construcción fuera conocida y coincidente con el intervalo de tiempo estudiado y evitando en la medida de lo posible la alteración del patrimonio cultural durante la recogida de muestra. Los criterios geológicos se

basaron en la búsqueda de muestras de chalkstone que fueran representativas de cada tipología estudiada e intentando seleccionar muestras sin alterar de las mismas. En las canteras se recogieron muestras pertenecientes a los bancos de explotación más importantes, identificados estos visualmente (**Figura D.3**).



**Figura D.3.** Fotografía de la explotación en bancos de la cantera de Caumont.

### **3.2.3. Molienda de las muestras**

Todas las muestras se molieron en el laboratorio de trituración de rocas del Departamento de Geología de la Universidad de Oviedo. Puesto que la caliza estudiada tiene baja dureza se utilizó para su molienda un molino de anillos de carburo de tungsteno de la marca Herzog (**Figura D.4**).





**Figura D.4.** Imagen de la muestra de chalkstone antes y después de su molienda en el molino de anillos.

### 3.2.4. Preparación de las muestras

Una vez validado el método en materiales de referencia se debe aplicar a muestras reales. Puesto que los materiales de referencia son homogéneos, la respuesta de las muestras reales, normalmente muy heterogéneas, puede ser diferente. La preparación de la muestra es esencial para obtener resultados concluyentes, de forma que tanto la recogida de la muestra como la separación de la alícuota a analizar, así como el proceso de digestión son claves para obtener resultados fiables de los valores a estudiar.

Dado que uno de los objetivos parciales de este capítulo es comparar los resultados obtenidos a partir de los análisis de las muestras de las canteras con los resultados



obtenidos por McArthur *et al.* [22,23] la preparación de la muestra se realizó sobre la base de la propuesta de este autor con la que se dibujó la curva isotópica de estroncio para el Cretácico y a artículos posteriores de este y otros autores [38-39] Para ello se contó con la colaboración del Servicio General de Geocronología y Geoquímica Isotópica, de la Universidad del País Vasco.

## **4.Resultados**

### **4.1. Optimización de la separación cromatográfica**

El objetivo del método de separación cromatográfica es eliminar las interferencias espectrales que afecten al estroncio y que puedan arrojar un resultado erróneo de la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de la muestra objeto de estudio. En este caso, al igual que en el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio en aguas, se atiende a la interferencia isobárica a masa 87, producida por la posible presencia de rubidio en las muestras. En el caso especial de las calizas se deben estudiar las interferencias poliatómicas derivadas del alto contenido en calcio de estas, lo que podría provocar la formación de dímeros de este elemento en el plasma cuya masa total es igual a la masa de alguno de los isótopos de estroncio. De igual forma pueden producirse interferencias espectrales mediante la unión de algún isótopo de calcio con un

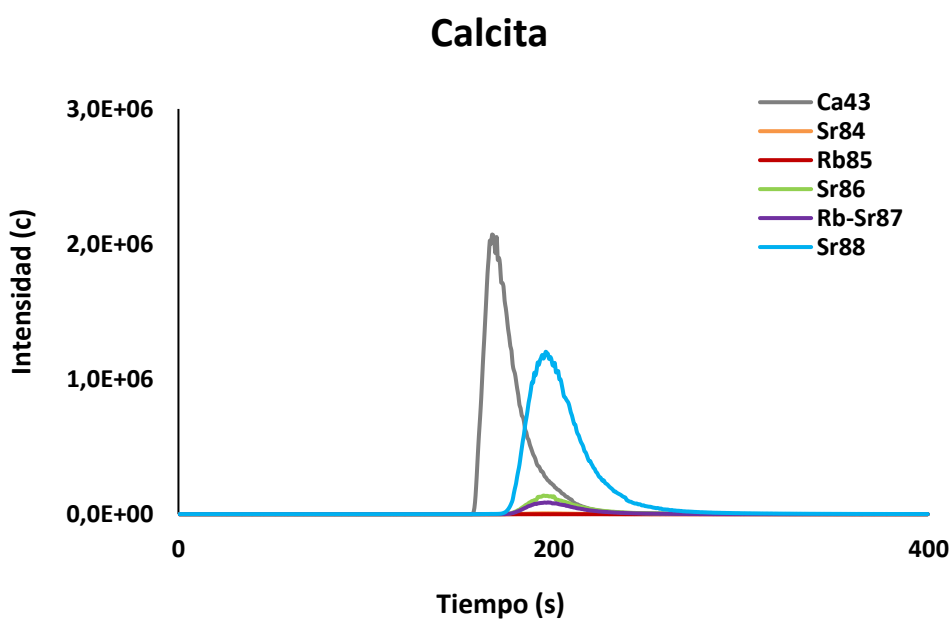
isótopo del nitrógeno atmosférico o de argón, gas utilizado para la formación del plasma [126].

Por lo tanto, con el objetivo de obtener una buena separación del estroncio del resto de interferentes se debe optimizar la cromatografía, que incluye la selección correcta de la fase móvil, de la columna cromatográfica, del modo de trabajo y del volumen de inyección.

La optimización de la cromatografía se realizó acoplando las bombas LC Surveyor de Thermo Scientific en el equipo ICP-MS 7500ce de Agilent. La adquisición de la señal, igual que en el capítulo anterior se realizó en la modalidad de tiempo resuelto, con 0,1 s tiempo de integración. Las masas monitorizadas son la 43 del calcio, 85 y 87 del rubidio y 86, 87 y 88 del estroncio.

#### **4.1.1. Columna CS10**

En primer lugar, se utilizó la misma fase móvil y columna cromatográfica que para el estudio de las relaciones isotópicas de estroncio en aguas, esto es, la columna de intercambio catiónico CS10 y  $\text{HNO}_3$  0,8 M como fase móvil. Para la optimización se optó por disolver la calcita en  $\text{HNO}_3$ . En esta primera fase se estudió la separación del estroncio frente al calcio.



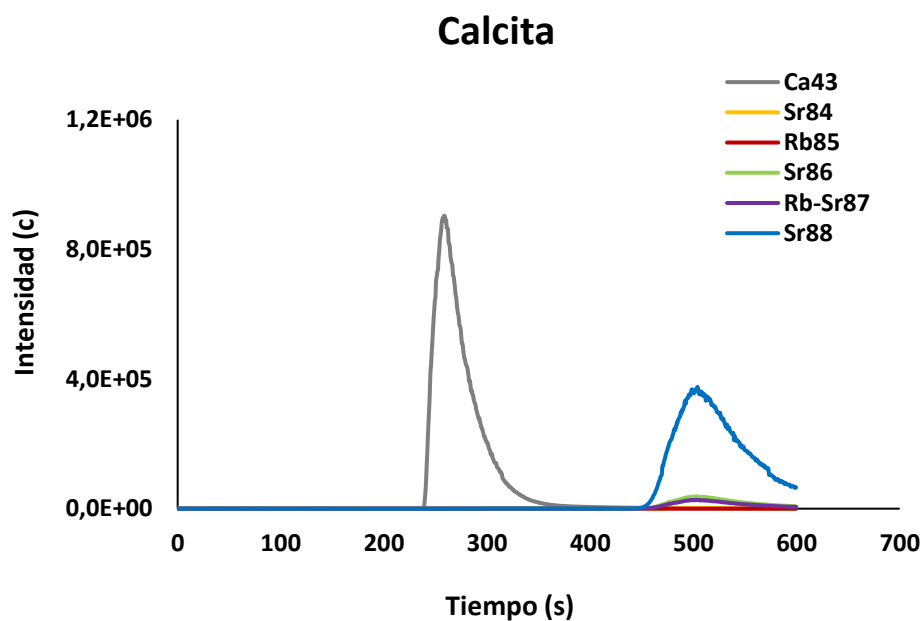
**Figura D.5. Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS10 y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1M.**

La **Figura D.5** muestra el cromatograma obtenido con estos parámetros. Como se puede observar, existe un cierto solapamiento del pico del calcio y del estroncio, siendo el tiempo de retención para el calcio de 170 s mientras que para el estroncio es de 200 s, por lo que, para intentar separarlos, se varía la concentración de la fase móvil.

Una variación en la concentración del HNO<sub>3</sub> en la fase móvil produce una variación en los tiempos de retención de los analitos, pudiendo obtenerse una mejor separación cromatográfica del estroncio con respecto al calcio.

### Fase móvil HNO<sub>3</sub> 0,4M

La **Figura D.6** muestra como disminuyendo la concentración del HNO<sub>3</sub> en la fase móvil se consigue la separación, sin embargo, al disminuir su concentración, disminuye el poder de elución y los tiempos de retención aumentan. El calcio pasa a eluir a 260 s y el estroncio a 500 s. Por otro lado, se obtienen picos muy anchos y con largas colas tanto para el calcio como para el estroncio.



**Figura D.6. Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS10 y fase móvil HNO<sub>3</sub> 0,4 M.**

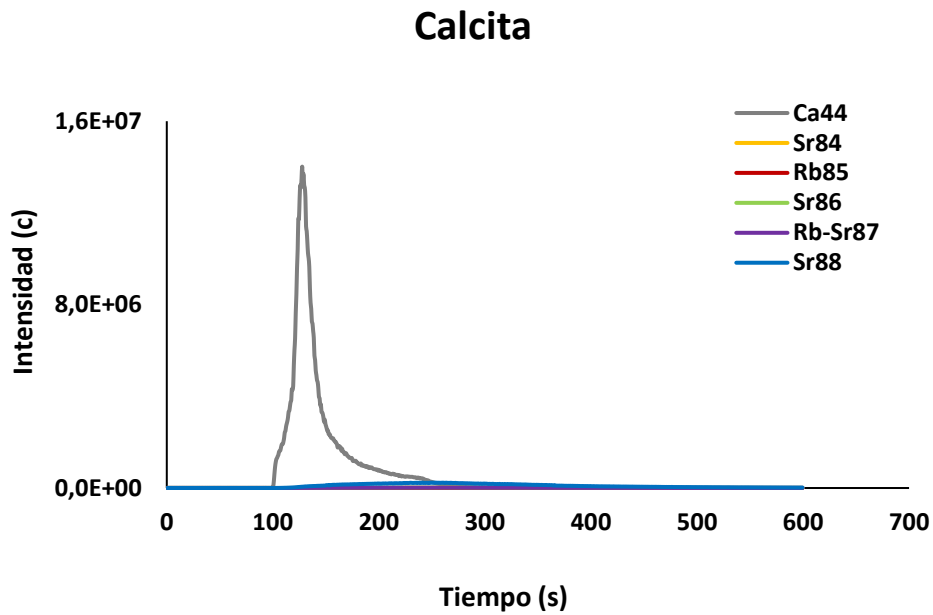
Esta fase móvil indica que es necesario emplear una mayor concentración de HNO<sub>3</sub> para disminuir los tiempos de retención tanto del calcio como del estroncio. Además, el perfil de pico mejora con el aumento de la concentración de la fase móvil. Por lo tanto, se opta por seguir utilizando la fase móvil de partida (HNO<sub>3</sub> 1 M)

introduciendo un agente complejante para intentar solventar el problema del solapamiento parcial entre el calcio y el estroncio.

### **Adición de éter 18-corona-6 a la fase móvil**

Para corregir el efecto de la matriz de la muestra sobre el comportamiento del calcio y del estroncio, y puesto que, variando la concentración de la fase móvil se obtenían peores resultados se optó por utilizar como base el trabajo de García Ruiz *et al.* [89] añadiendo a la fase móvil una concentración de 5 mM de éter 18-corona-6. Los éteres corona son agentes complejantes que actúan sobre los metales alcalinos y alcalinotérreos. El seleccionado fue el éter 18-corona-6 debido a la alta selectividad de este compuesto por el  $\text{Sr}^{2+}$  con respecto al  $\text{Rb}^+$  y a otros metales alcalinos y alcalinotérreos [127,128]. El éter 18-corona-6, cuando se añade a la fase móvil, como en este caso, es adsorbido por la fase estacionaria de la columna mediante interacciones hidrofóbicas, creando puntos de retención adicionales para el intercambio de cationes. La retención aumenta en cationes monovalentes en el sentido:  $\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{K}^+$  y para los cationes divalentes en el sentido:  $\text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$ .

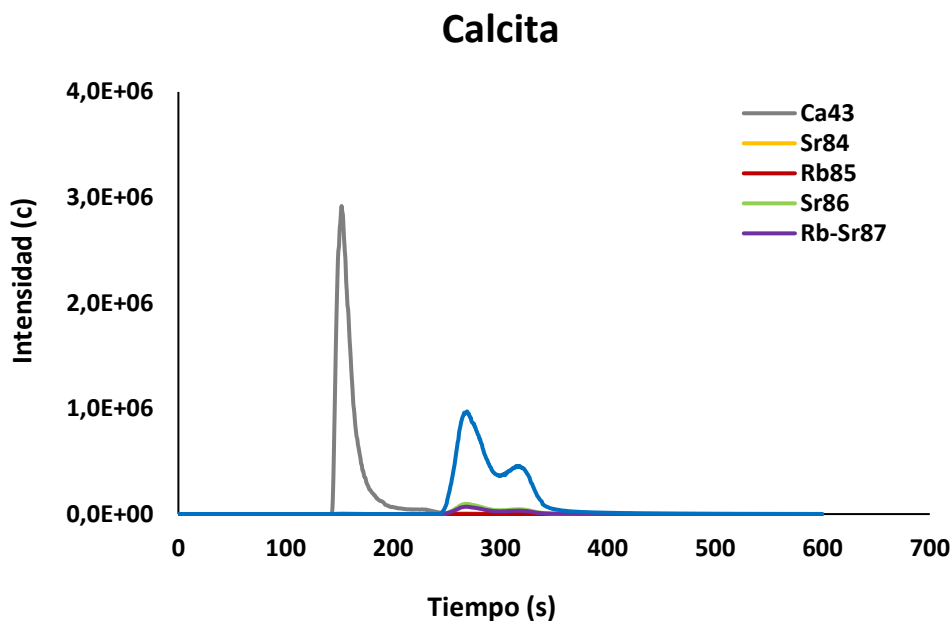
Por lo tanto, partimos de una fase móvil de  $\text{HNO}_3$  0,8 M (**Figura D.5**) a la que se le añade una concentración de 5 mM de éter 18-corona-6 para tener un exceso de éter 18-corona-6 y evitar la competencia del estroncio con otros cationes alcalinos presentes en la muestra por la complejación con el éter corona. Como se puede ver en la **Figura D.7** se obtiene un cromatograma que muestra un pico de calcio muy ancho que no muestra variación en los tiempos de retención con respecto a la fase móvil inicial. Sin embargo, el tiempo de retención para el estroncio aumenta significativamente, pasando de los 200 s iniciales a 1600 s, quedando fuera del tiempo de adquisición del cromatograma.



**Figura D.7.** Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS10 y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1 M con 5 mM de éter 18-corona-6.

### **Adición de éter 18-corona-6 a la muestra**

Se opta por añadir éter 18-corona-6 a la muestra en una concentración variable, sin embargo, no se obtienen resultados favorables puesto que el estroncio eluye en dos picos como indica la **Figura D.8**.



**Figura D.8. Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS10 y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1 M adicionando éter 18-corona-6 a la muestra.**

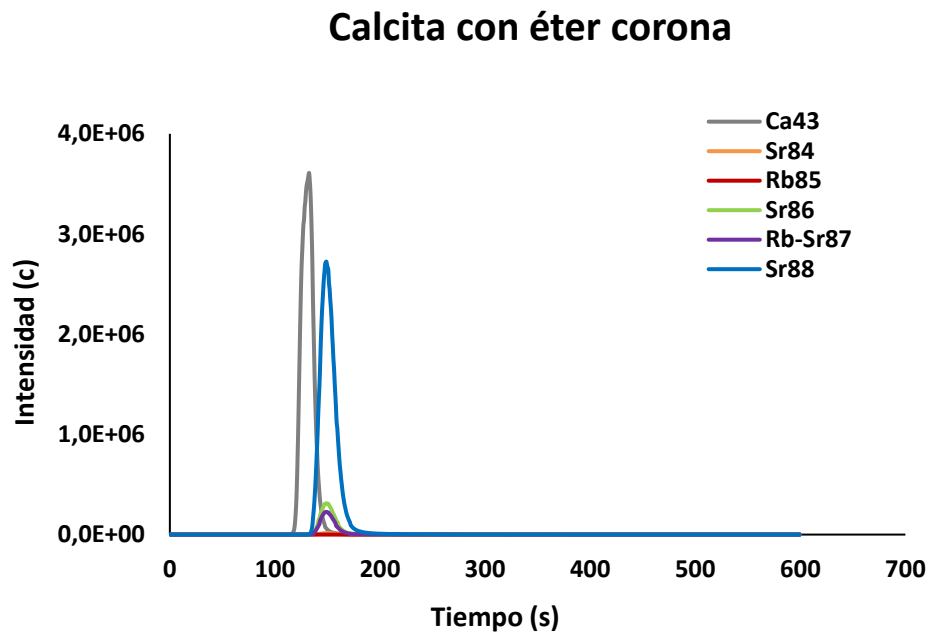
A modo de resumen, con la columna CS10 y con fase móvil de HNO<sub>3</sub> 0,8 M el calcio y el estroncio no se separa adecuadamente, mientras que una disminución de la concentración de la fase móvil empeora los tiempos de retención y el perfil de pico. Por otro lado, añadiendo éter 18-corona-6 a la fase móvil, el estroncio se retiene demasiado y añadiéndolo a la muestra este eluye en dos tiempos de retención. Además, en todos los casos los picos cromatográficos son muy anchos y muestran largas colas.

Por lo tanto, en ninguna situación la cromatografía es adecuada para la óptima separación de los elementos estudiados. Con estos resultados se opta por probar de nuevo la columna CS12A, añadiendo en primer lugar éter 18-corona-6 tanto a la fase móvil como a la muestra.

#### 4.1.2. Columna CS12A

##### Adición de éter 18-corona-6 a la fase móvil y a la muestra

Con la columna CS12A, la primera prueba que se realiza consiste en añadir éter 18-corona-6 a la fase móvil de HNO<sub>3</sub> 1 M en una concentración de 0,25 mM y 0,02 g a la muestra. En este caso se observa (**Figura D.9**) un solapamiento de los picos cromatográficos, pero estos resultan ser más estrechos que los obtenidos con la columna CS10.

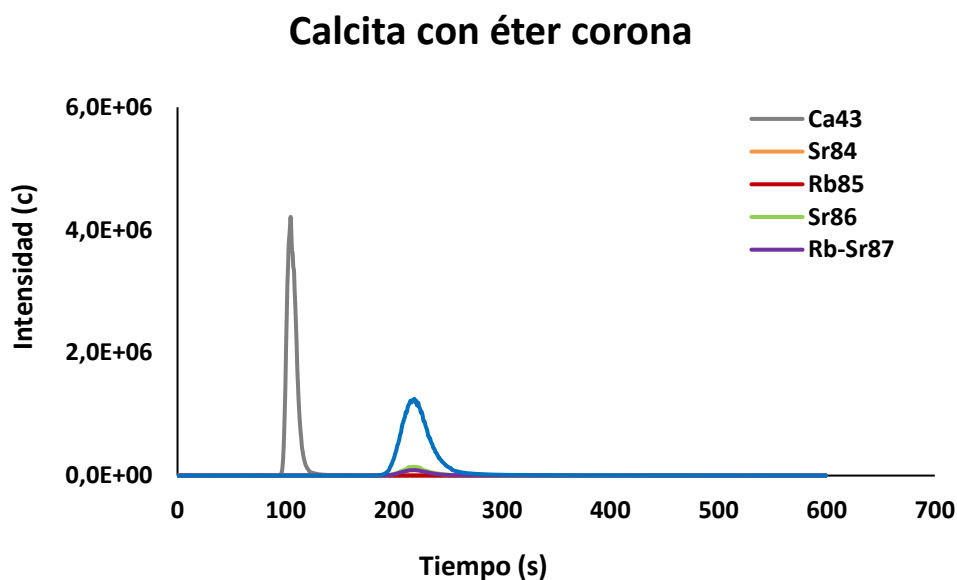


**Figura D.9.** Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS12A y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1 M añadiendo éter 18-corona-6 a la muestra y a la fase móvil.

Variando la concentración de éter 18-corona-6 en la muestra no se observa variación en los tiempos de retención, sin embargo, un aumento del agente

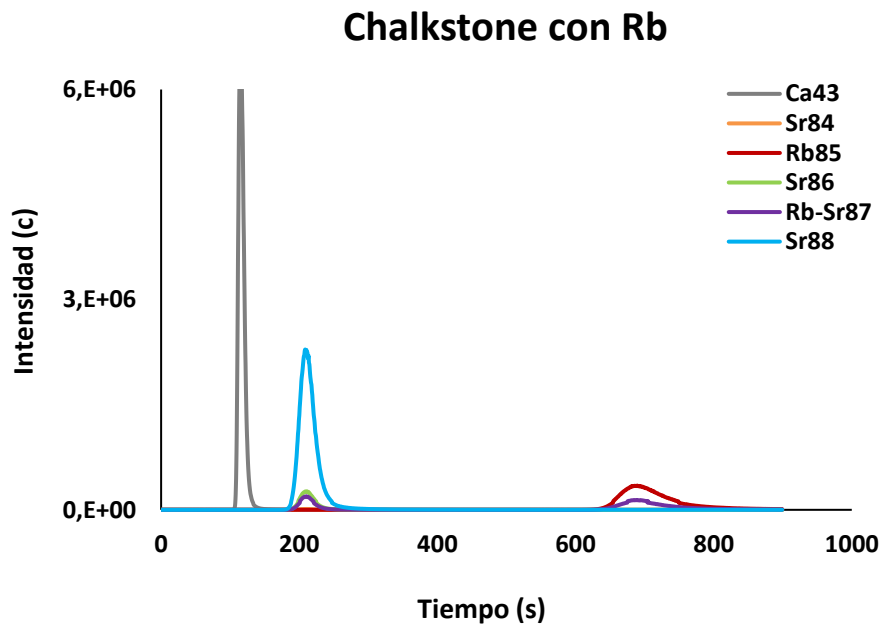


complejante en la fase móvil hasta 3,8 mM permite separar el calcio del estroncio de forma eficaz. Como se puede ver en la **Figura D.10** el calcio eluye a los 100 s y el estroncio a los 200 s.



**Figura D.10.** Separación cromatográfica Sr-Ca en calcita con la columna CS12A y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1 M con 3,8 mM de éter 18-corona-6.

Finalmente, con esta fase móvil, se comprueban los tiempos de retención del rubidio añadiendo un patrón de composición isotópica natural de este elemento a la calcita. Con esta configuración de fase móvil y columna se obtiene el cromatograma de la **Figura D.11** en el que el calcio tiene un tiempo de retención de 100 s aproximadamente, el estroncio de 200 s y el rubidio de 700 s.



**Figura D.11. Separación cromatográfica Sr-Ca-Rb en calcita con la columna CS12A y fase móvil HNO<sub>3</sub> 1 M con 3,8 mM de éter 18-corona-6.**

Por lo tanto, la optimización de la cromatografía queda como se recoge en la **Tabla D.1.**

**Tabla D.1. Parámetros cromatográficos para el análisis de las calizas.**

<b>Columna</b>	Dionex Ion Pac CS12A
<b>Fase móvil</b>	1M HNO <sub>3</sub> + 3,8 mM éter 18-corona-6
<b>Volumen de inyección</b>	100 µl

## 5. Validación del método

Una vez optimizada la separación cromatográfica se procedió a realizar la validación del método mediante HPLC-MC-ICP-MS acoplando las bombas LC Surveyor al MC-ICP-MS Neptune Plus (Thermo Scientific). En este caso, el método se validó con dos materiales de referencia, el NIST SRM 987, carbonato de estroncio y el JCp-1, carbonato cálcico. En este apartado, se comprobará la respuesta de la disolución con HAc del JCp-1 sobre la cromatografía optimizada.

La **Tabla D.2** muestra los parámetros experimentales y la **Tabla D.3** la configuración de copas del MC-ICP-MS, siendo son los mismos que los utilizados en las aguas.

**Tabla D.2. Parámetros instrumentales y de adquisición del Neptune Plus MC-ICP-MS.**

### Parámetros experimentales del Neptune Plus MC-ICP-MS

Potencia aplicada	1200 W
Flujo del gas plasmógeno	15 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas auxiliar	0,7 L min <sup>-1</sup> – 0,8 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas portador	0,8 L min <sup>-1</sup> – 1,1 L min <sup>-1</sup>
Tiempo de integración	1,049 s
Número de ciclos	1200 por bloque
Número de bloques	1

**Tabla D.3. Configuración de copas del Neptune Plus MC-ICP-MS.**

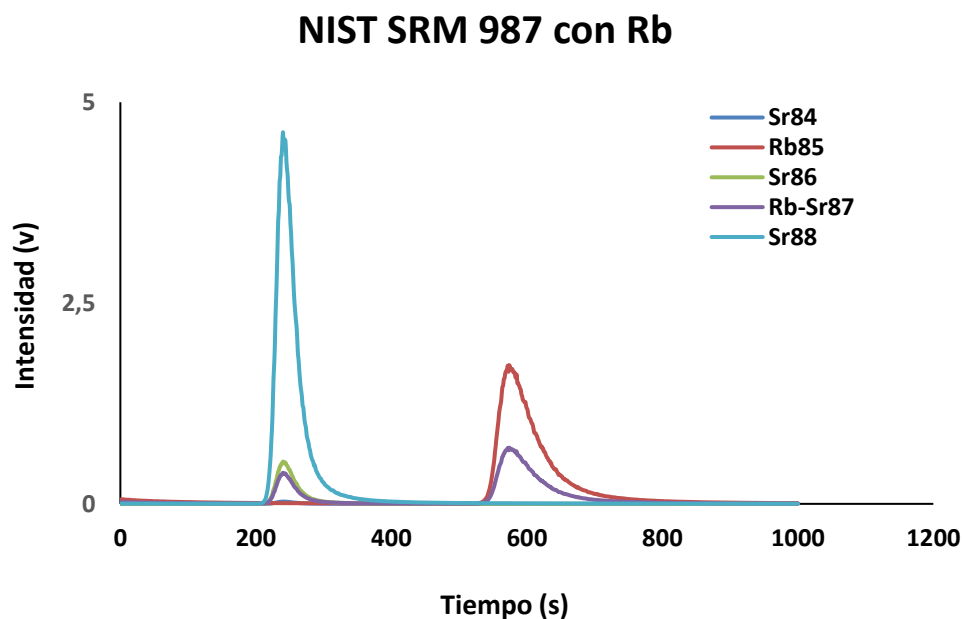
**Configuración de copas del Neptune MC-ICP-MS**

L4	L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
$^{82}\text{Kr}^+$	$^{83}\text{Kr}^+$	$^{84}\text{Sr}^+$	$^{85}\text{Rb}^+$	$^{86}\text{Sr}^+$	$^{87}\text{Sr}^+$	$^{88}\text{Sr}^+$	$^{90}\text{Sr}^+$
		$^{84}\text{Kr}^+$	$^{86}\text{Kr}^+$	$^{87}\text{Rb}^+$			

## 5.1. Resultados obtenidos para el NIST SRM 987

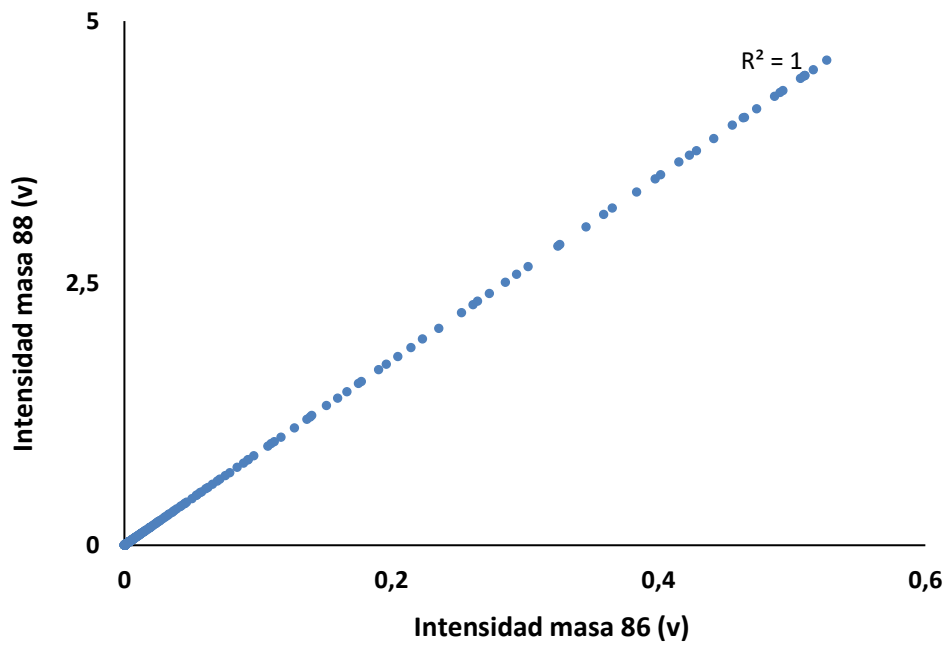
El NIST SRM 987 se utiliza en análisis de rutina para comprobar la discriminación de masas del equipo. En este caso, al igual que con las aguas, cada tres muestras se midió una muestra de NIST SRM 987. Los resultados obtenidos se trataron mediante regresión lineal múltiple y la corrección de la discriminación de masas se realizó utilizando el valor 8,37521 como referencia para el  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

A continuación, en la **Figura D.12.** se muestra el cromatograma obtenido para el NIST SRM 987 al que se añadieron 500 ng/g de un patrón de rubidio de composición isotópica natural. El estroncio eluye aproximadamente a los 200 s y el rubidio a los 600 s. La separación de ambos elementos es coincidente con lo observado en la optimización de la cromatografía para la calcita aunque con una disminución en el tiempo de retención del rubidio. El cromatograma muestra perfiles de pico gaussianos con una ligera cola para ambos elementos.



**Figura D.12.** Separación cromatográfica mediante HPLC-MC-ICP-MS de Rb-Sr en una muestra de NIST SMR 987 con 500 ng/g de un patrón de Rb.

La siguiente gráfica (**Figura D.13**) muestra la recta de regresión de NIST SRM 987 para la masa  $^{88}\text{Sr}$  frente a la  $^{86}\text{Sr}$ , con una pendiente de 1, lo que indica que existe una correlación perfecta entre ambas masas.



**Figura D.13.** Recta de regresión para las masas 88/86 del Sr del material de referencia NIST SRM 987 medido mediante HPLC-MC-ICP-MS.

Asimismo, la **Figura D.14** muestra las rectas de regresión lineal múltiple de la intensidad de la señal a la masa 87 frente a las señales 85 del rubidio y la 86 del estroncio.

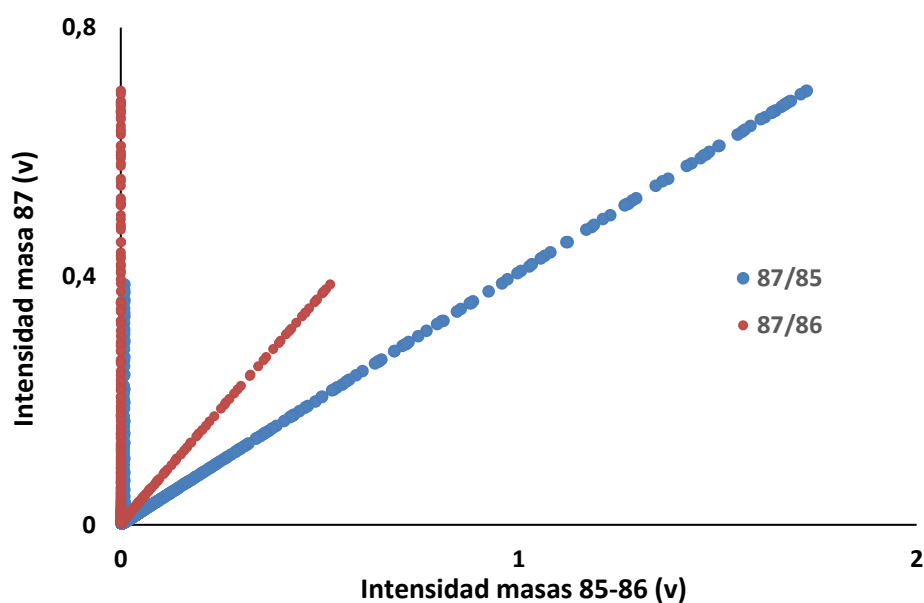


Figura D.14. Rectas de regresión lineal múltiple para las masas 87/85 y 87/86 del NIST SMR 987.

Para la corrección de la discriminación de masas del material de referencia se utiliza la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  experimental, calculada mediante regresión lineal simple y tomando como referencia la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  natural 8,37521. El error se expresa como la incertidumbre propagada obtenida mediante el método de Kragten.

Finalmente, en la **Tabla D.4.** se muestran los resultados obtenidos para diez días de medida, expresado el error como dos veces la desviación estándar de la media. El valor medio obtenido está en consonancia con los resultados obtenidos para este material de referencia.

**Tabla D.4. Relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el NIST SRM 987 obtenidas mediante HPLC-MC-ICP-MS (n= número de réplicas por día).**

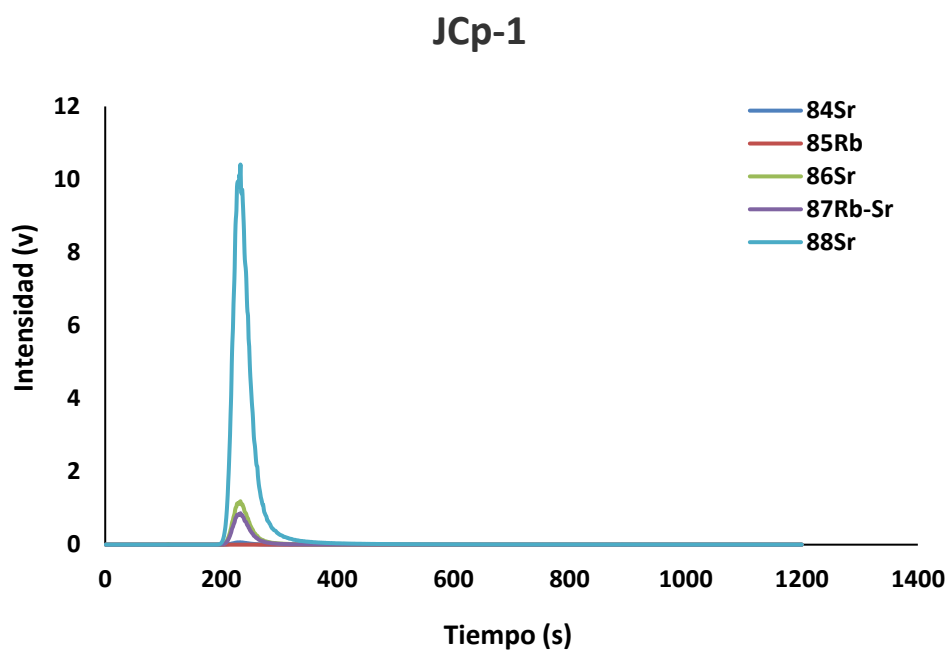
Día	n	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD
1	4	0,71032	$\pm 0,00010$
2	3	0,71022	$\pm 0,00008$
3	2	0,71022	$\pm 0,00009$
4	3	0,71027	$\pm 0,00003$
5	3	0,71027	$\pm 0,00003$
6	3	0,71027	$\pm 0,00002$
7	3	0,71029	$\pm 0,00001$
8	2	0,7102	$\pm 0,00009$
9	2	0,71025	$\pm 0,00004$
10	2	0,71029	$\pm 0,00003$
<b>Valor medio</b>		<b>0,71026</b>	<b><math>\pm 0,0007</math></b>

## 5.2. Resultados obtenidos para el coral JCp-1

Durante esta parte del proceso se llevó a cabo la separación cromatografía para el material de referencia JCp-1 preparando la muestra tanto con HAc como con  $\text{HNO}_3$ , en ambos casos se obtuvieron idénticos resultados. La **Figura D.15** muestra el



cromatograma para el JCp-1. Puesto que este material carece de rubidio, solamente se observa el pico de estroncio, eluyendo al mismo tiempo de retención que los patrones y la calcita.



**Figura D.15. Cromatograma obtenido mediante HPLC-MC-ICP-MS para el material de referencia JCp-1.**

Al igual que en el caso anterior la recta de regresión de la **Figura D.16** muestra una relación perfecta entre las masas <sup>88</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr y la **Figura D.17**, de la regresión lineal múltiple indica una separación perfecta de las masas.

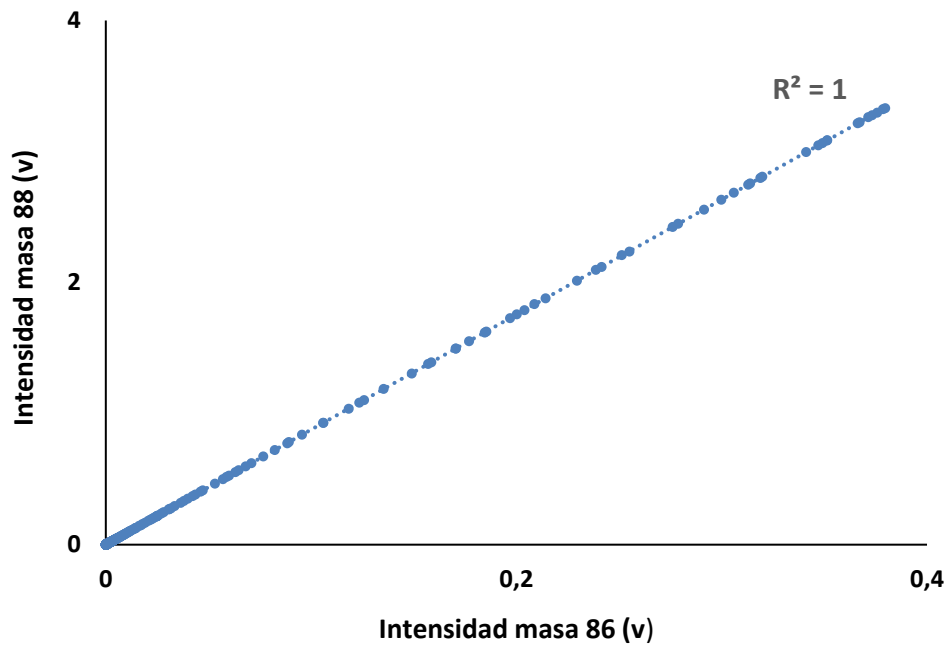


Figura D.16. Recta de regresión para las masas 88/86 del Sr del material de referencia JcP-1 medido mediante HPLC-MC-ICP-MS.

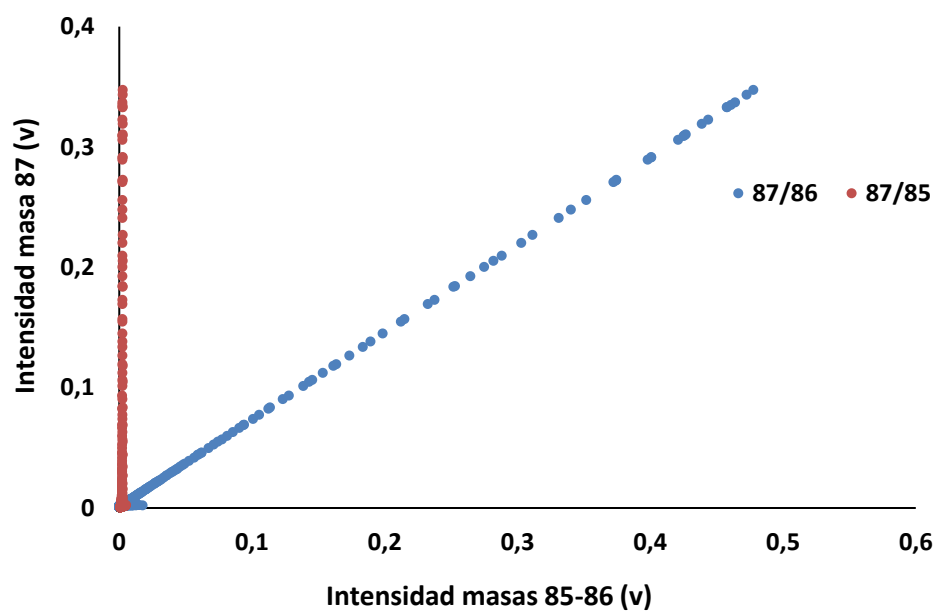


Figura D.17. Rectas de regresión lineal múltiple para las masas 87/85 y 87/86 del material de referencia JCp-1.

La **Tabla D.5** muestra los valores obtenidos de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del coral JCp-1 para cinco réplicas realizadas durante cinco días consecutivos.

**Tabla D.5. Relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el material de referencia JCp-1 obtenidas mediante HPLC-MC-ICP-MS (n=número de réplicas por día).**

Día	n	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD
1	5	0,709154	$\pm 0,000028$
2	5	0,709152	$\pm 0,000031$
3	5	0,709151	$\pm 0,000032$
4	5	0,709164	$\pm 0,000034$
5	5	0,709164	$\pm 0,000042$
Valor medio		<b>0,709157</b>	<b><math>\pm 0,000034</math></b>

### 5.3. Análisis del material de referencia JCp-1 por SGIker

Esta nueva metodología fue comparada con los resultados obtenidos para el material de referencia JCp-1 en la Unidad de Geocronología y Geoquímica Isotópica-SGIker de la Universidad del País Vasco. La preparación de muestra se realizó en una cabina de flujo laminar clase-A (ISO-5) de polipropileno situada en el interior de una sala limpia clasificada como ISO-7, empleando los reactivos de calidad similar a los utilizados en la presente tesis doctoral.

Se disolvieron alrededor de 0,05 g del material de referencia JCp-1 en 1,5 ml de HNO<sub>3</sub> 7 M, la purificación del estroncio se realizó mediante extracción en fase sólida con la resina comercial Sr-resin (TrisKem International, Bruz, France). El proceso de purificación se basó en Pin *et al.* [88], pero utilizando una disolución de carga de la muestra de HNO<sub>3</sub> 7 M en vez de HNO<sub>3</sub> 2 M como especifica este autor para evitar la extracción del rubidio por la resina. Después de la separación del estroncio de la resina en HNO<sub>3</sub> 0,05 M, cada muestra se diluyó en HNO<sub>3</sub> 3% hasta una concentración final del estroncio de 200 ng/g en la disolución. Posteriormente las muestras fueron introducidas en un equipo MC-ICP-MS Neptune de Thermo Scientific utilizando un nebulizador ESI de PFA de 100 µl/min y una cámara de nebulización dual ciclónica Scott de doble paso. Los parámetros instrumentales se muestran en la **Tabla D.6**. Las líneas de base de los amplificadores se reiniciaron al comienzo de cada bloque. La corrección de la discriminación de masas y de las interferencias del kriptón se corrigieron siguiendo las indicaciones de Balcaen [129].

**Tabla D.6. Parámetros de análisis del Neptune Plus MC-ICP-MS empleados por la unidad de Geocronología y Geoquímica isotópica de la Universidad del País Vasco.**

<b>Tiempo de integración</b>	8 s
<b>Número de ciclos</b>	25
<b>Número de bloques</b>	3

Los resultados obtenidos por la Universidad del País Vasco se recogen en la **Tabla D.7** y son coincidentes tanto con la metodología propuesta como con la bibliografía.

**Tabla D.7. Relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el material de referencia JCp-1 obtenidas mediante MC-ICP-MS (n=número de réplicas por día).**

<b>Día</b>	<b>n</b>	<b><math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>	<b>2SE</b>
<b>1</b>	1	0,709157	$\pm 0,000011$
<b>6</b>	1	0,709167	$\pm 0,000011$
<b>7</b>	1	0,709176	$\pm 0,000011$
<b>11</b>	1	0,709165	$\pm 0,000012$
<b>Valor medio</b>		<b>0,709166</b>	<b><math>\pm 0,000016</math></b>

## **5.4. Estudio de las relaciones $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en el chalkstone de Normandía**

Una vez validado el método en materiales de referencia, este se aplicó a muestras reales de caliza. Para ello se estudiaron varias muestras de un tipo específico de caliza denominado chalkstone en una serie de canteras y edificios del este de Normandía con la finalidad de establecer la trazabilidad entre estos en el contexto del estudio de esta caliza como roca ornamental. Este capítulo se desarrolló en colaboración con la Universidad de Ruán.

El objetivo de este apartado es validar el método en muestras reales de dos formas diferentes. Por un lado, comparar las muestras de las canteras estudiadas con el

chalkstone estudiado en el sur de Inglaterra por McArthur *et al.* [22,23] y por otro lado establecer una correlación mediante los isótopos de estroncio entre las muestras de las canteras y de las de los edificios, de forma que se pueda estudiar la trazabilidad del chalkstone de Normandía. Para ello se estudiaron tres canteras y cinco edificios.

### 5.4.1. Muestras de canteras

La **Tabla D.8** recoge el nombre de las canteras estudiadas con el código de sus muestras. En el caso de la cantera de Caumont se recogieron muestras de tres estratos diferentes nombrados CAU-04, CAU-06 y CAU-10.

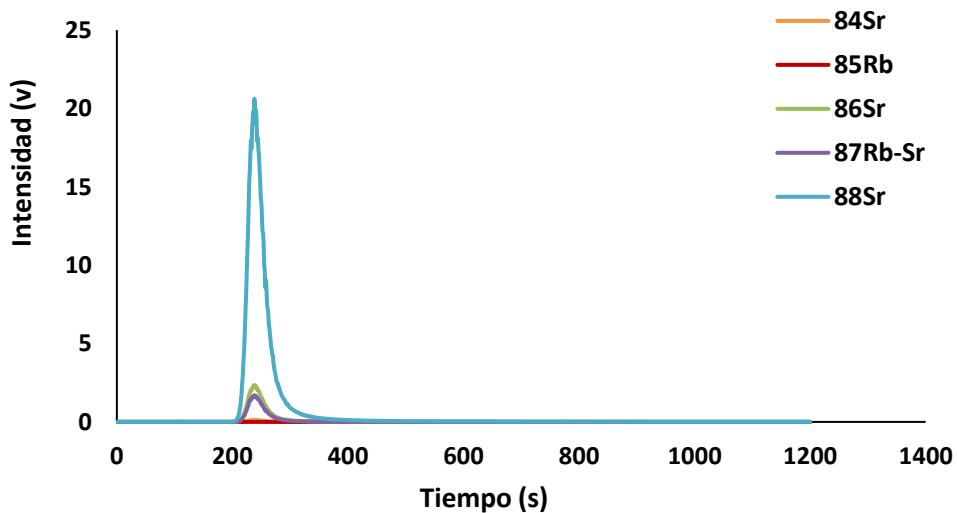
**Tabla D.8. Relación de muestras estudiadas y sus canteras de procedencia.**

<b>Muestra</b>	<b>Cantera</b>
CAU-04	Caumont
CAU-06	Caumont
CAU-10	Caumont
C-NVD-02	Vernon
C-FEC-01	Fècamp

Para el análisis de las muestras reales, se hicieron extracciones secuenciales empleando HAc 20% y siguiendo las indicaciones de McArthur *et al.* como se explica en el apartado de Experimental.

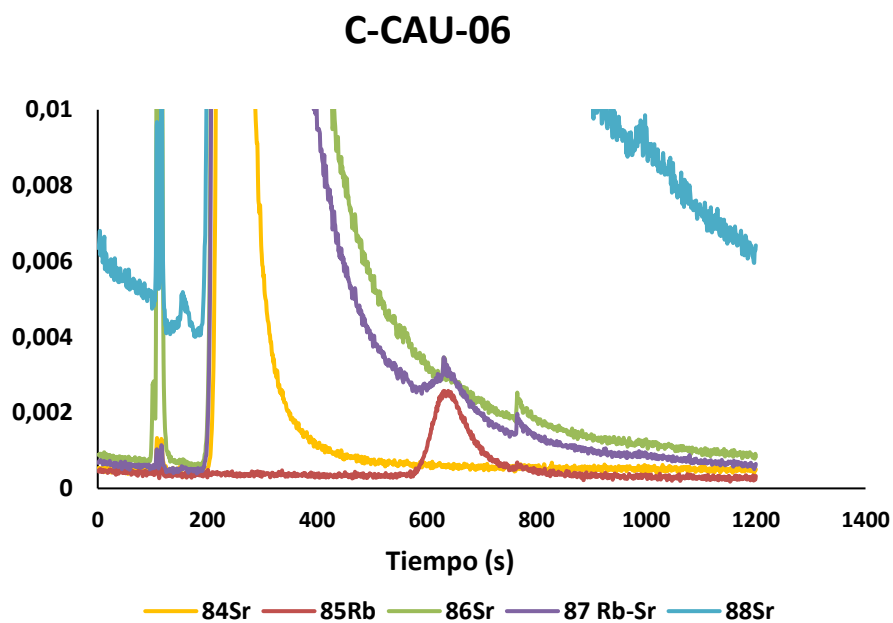
A continuación, a modo de ejemplo, se muestra un cromatograma perteneciente a la muestra C-CAU-06, extraída de la cantera de Caumont. La **Figura D.18** muestra la señal de  $^{88}\text{Sr}$  aproximadamente a los 240 s con una intensidad de 20 voltios. La ampliación del cromatograma mostrada en la **Figura D.19** permite ver la señal del  $^{85}\text{Rb}$  en la cola del estroncio con una intensidad de 0,002 voltios. La intensidad de ambas señales se corresponde con la diferente concentración de ambos elementos en la muestra, como se indica en la **Tabla D.9**. Cabe destacar el pico observado a los 100 s, correspondiente posiblemente a un ión poliatómico de  $\text{NO}_2\text{Ca}^+$  (con la interferencia principal a la masa 86).

### C-CAU-06



**Figura D.18.** Cromatograma de la muestra C-CAU-06 mostrando el pico para la masa 88 del Sr a los 200 s.





**Figura D.19. Ampliación del cromatograma mostrando el pico de la masa 85 de Rb a los 600 s.**

En la **Figura D.20** se muestran las rectas de regresión para las masas del  $^{88}\text{Sr}$  frente al  $^{86}\text{Sr}$ , mostrando una correlación perfecta de los datos.

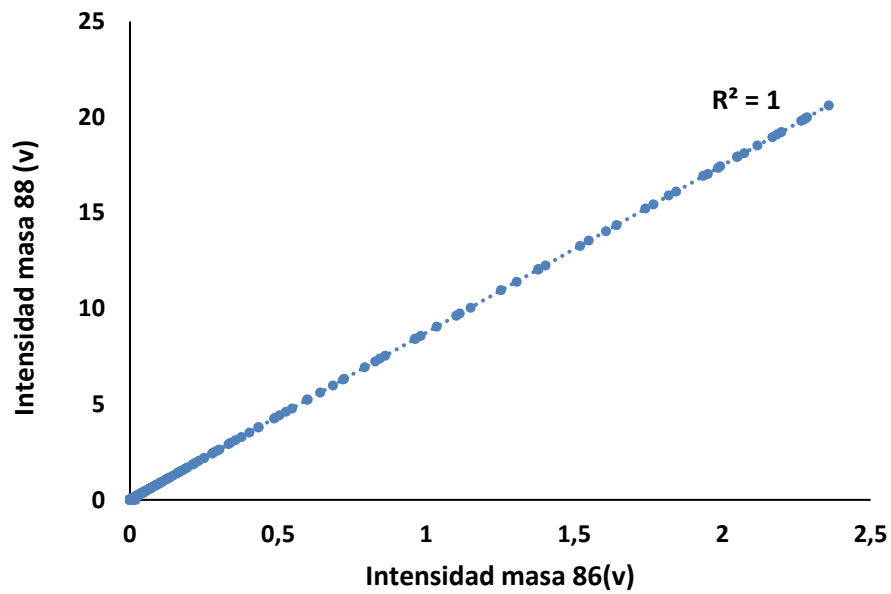
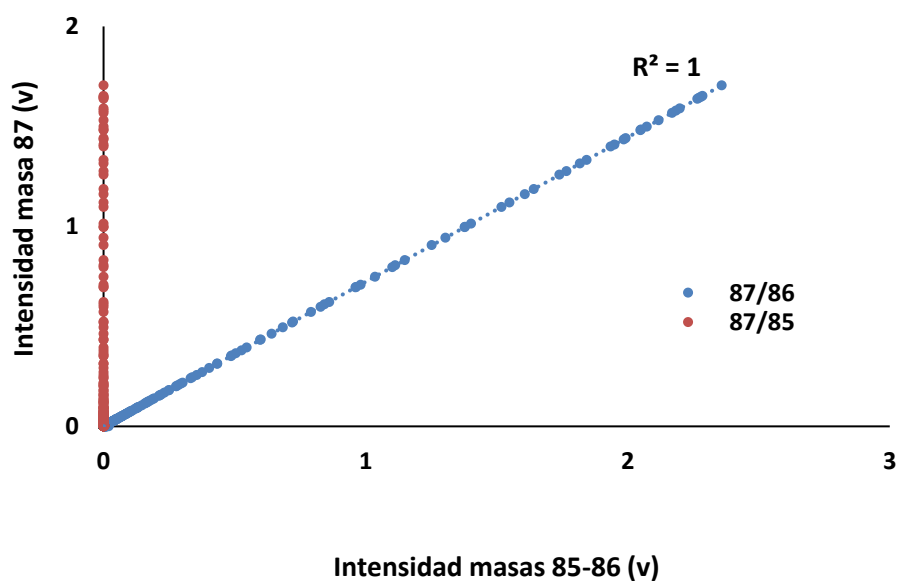


Figura D.20. Rectas de regresión lineal para las masas 88/86 de la muestra C-CAU-06.

La **Figura D.21** muestra la regresión lineal múltiple para las masas 87/85 y 87/86, como la muestra apenas tiene rubidio, la recta 87/85 solamente aparece en el eje de ordenadas.



**Figura D.21. Rectas de regresión lineal múltiple para las masas 87/85 y 87/86 de la muestra C-CAU-06.**

Finalmente, en la siguiente tabla se exponen los resultados de las relaciones isotópicas de estroncio obtenidas para las canteras en los que se incluyen los datos de concentración del rubidio y el estroncio determinados por el *Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques* (CNRS/ Universidad de Lorraine, Francia) [124].

**Tabla D.9. Resultados analíticos de las muestras de canteras.**

<b>Muestra</b>	<b>[Rb]</b>	<b>[Sr]</b>	<b><math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>	<b>2SD</b>
CAU-04	1,8414	539,4515	0,707358	0,000022
CAU-06	1,1156	426,9286	0,707351	0,000021
CAU-10	-	-	0,707349	0,000018
C-NVD-02	1,8372	330,5584	0,707376	0,000030
C-FEC-01	12,3929	213,4901	0,707548	0,000026

### 5.4.2. Muestras de edificios

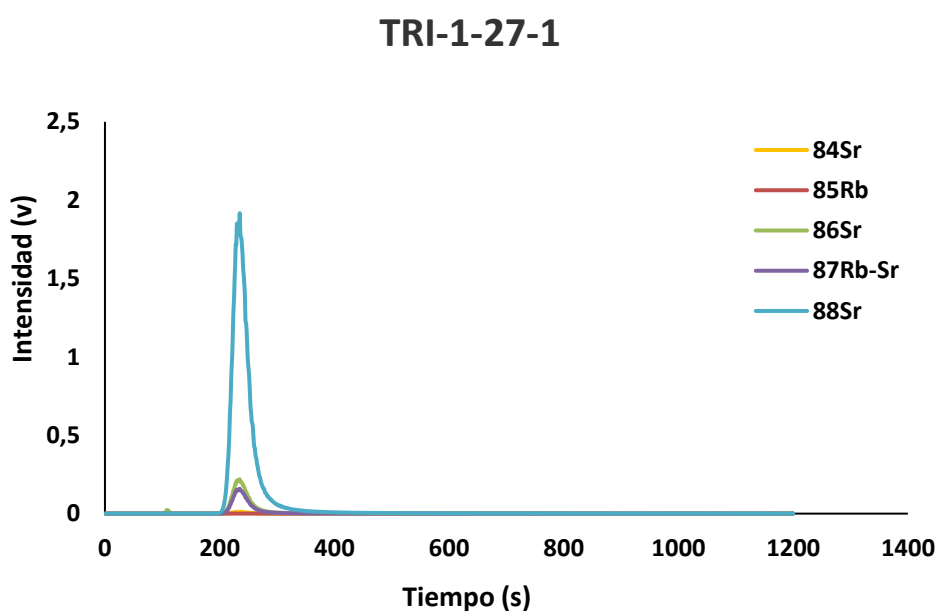
La Tabla D.10 indica el código de la muestra y el nombre de cada población y el tipo de edificación donde se recogieron las muestras.

**Tabla D.10. Códigos de las muestras de los edificios estudiados.**

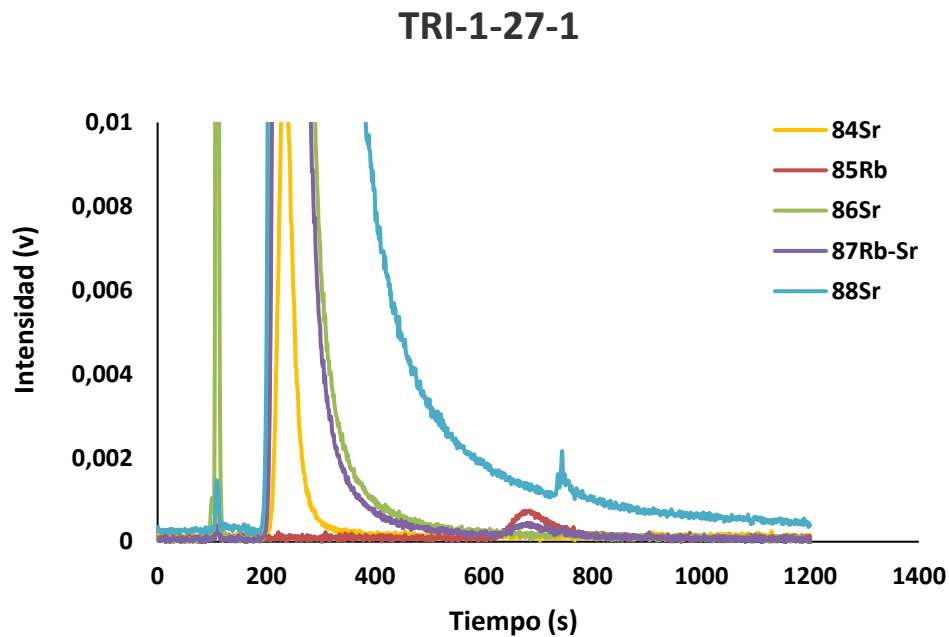
<b>Muestra</b>	<b>Población (edificio)</b>
TRI-1-27-2	La-Trinité-de-Thourberville (iglesia)
MAU-101-1	Maulévrier-Sainte-Gertrude (castillo)
MAU-127-5	Maulévrier-Sainte-Gertrude (castillo)
LYO-27-1	Lyons-la-Forêt (castillo)
HAU-36-761	Hautot-sur-Mer (castillo)

Estas muestras se analizaron del mismo modo que en los casos anteriores, realizando tres réplicas con el tratamiento de datos mediante regresión lineal múltiple.

A modo de ejemplo se muestra un cromatograma (**Figura D.22**) y su ampliación (**Figura D.23**) de la muestra TRI-1-27 perteneciente a la iglesia situada en la localidad de La-Trinité-de-Thourberville.



**Figura D.22. Cromatograma de la muestra TRI-1-27-1 perteneciente a la iglesia de La-Trinité-de-Thourberville.**



**Figura D.23. Ampliación del cromatograma mostrando la señal de rubidio a los 700 s.**

Como se puede observar en la gráfica los tiempos de retención de los analitos son iguales a los del cromatograma obtenido para la muestra C-CAU-10. La intensidad de la señal para el estroncio es de 2 voltios mientras que para el rubidio es de 0,001 voltios.

Los valores de las relaciones isotópicas para los diferentes edificios se muestran en la **Tabla D.11**

**Tabla D.11. Resultado de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para los edificios medidos mediante HPLC-MC-ICP-MS.**

Muestra	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD
TRI-1-27-2	0,70734	0,000014
MAU-101-1	0,70732	0,000017
MAU-127-5	0,707337	0,000032
LYO-27-1	0,707361	0,000037
HAU-36-761	0,707320	0,000031

## 6. Discusión

### 6.1. Las áreas de difusión de las rocas de construcción

El estudio de procedencia de las rocas utilizadas en la construcción de edificios, así como el conocimiento de las áreas de difusión de las canteras dan información sobre las rutas comerciales y la organización territorial de las sociedades históricas [130]. Estos materiales de construcción se seleccionaban en función de su alta consistencia, durabilidad, viabilidad y funcionalidad [131]. Sin embargo, el transporte del material resultaba costoso, incrementando el precio de las rocas con la distancia [132] por lo que, hasta la alta edad media, las rocas utilizadas en la construcción de

los edificios de un área geográfica determinada provenían principalmente de las canteras más cercanas.

Sin embargo, a partir de este periodo, las transformaciones sociales que afectaron a la organización de los territorios fomentaron la construcción de ciudades, fortificaciones y edificios religiosos, intensificando la extracción de la roca de construcción y abriéndose nuevas rutas de transporte de material [133], variando las áreas de difusión de las canteras a nivel local, regional e interregional [134,135]. El tamaño de estas áreas de difusión dependía de la situación sociopolítica, el entorno geográfico (ej, corredores fluviales) y la disponibilidad de materiales geológicos adecuados. Un área de difusión de gran interés se encuentra en la región de Normandía que durante la edad media experimentó un fuerte crecimiento económico que se ve reflejado en sus construcciones. El estudio de su roca ornamental, el chalkstone, por parte de un grupo multidisciplinar integrado por arqueólogos, geógrafos, historiadores y geólogos de la Universidad de Ruán busca determinar cual fue la extensión del área de difusión del chalkstone durante la alta edad media.

### **6.1.1. Contexto histórico**

Normandía se creó en tres periodos [136,137]; el primero comienza en el año 911, cuando se creó el Ducado de Normandía, que rendía vasallaje a la corona de Francia Occidental. El segundo, entre los años 924 y 933 [138] definido por un periodo de expansión del ducado y el tercero, y más importante, comenzó en el año 1066 cuando Guillermo I el Conquistador, duque de Normandía, conquistó Inglaterra y se convirtió en Guillermo I de Inglaterra, situando a este ducado en el centro del Imperio Anglonormando. Normandía vivió un periodo de estabilidad hasta el fallecimiento del monarca Inglés Enrique I de Inglaterra en 1135, periodo en el que se inició una guerra civil que duraría hasta 1144. A partir de esta fecha el ducado pasó



a formar parte del Imperio Plantagenet hasta la conquista de Felipe II de Francia, en 1204. Posteriormente, Normandía sufrió la devastación producida por la guerra de los cien años entre Inglaterra y Francia desde 1337 a 1453. La historia de Normandía durante la Alta Edad Media, pasando de ser un ducado independiente para formar parte alternativamente de la corona francesa e inglesa, se refleja en la construcción de ciudades, villas, abadías, iglesias y fortificaciones que simbolizaban la autoridad cristiana y el poder del ducado [139,140] observándose varios estilos de construcción; el Carolingio-prerrománico durante el siglo X, el románico en el siglo XI y finalmente el Gótico Normando durante los siglos XII y XIII, periodo en el que se mejoraron las técnicas de edificación, extracción del material y transporte.

### **6.1.2. Técnicas de estudio de las áreas de difusión**

El estudio de las edificaciones construidas durante el periodo de esplendor de Normandía, sus canteras y su área de difusión permite profundizar en la historia de las rutas comerciales y en la organización territorial de esta región a través de su roca ornamental. Sin embargo, existe una limitación a este estudio debido a la falta de documentación histórica, de forma que se deben emplear otras técnicas que puedan identificar el área de procedencia de las rocas de construcción de los edificios estudiados. Estas técnicas se basan en el estudio de ciertas características geológicas que muestran las rocas debido a su alta heterogeneidad [135]. Las características principales distintivas de las rocas son la litología, mineralogía y textura que se describen por medio de un detallado estudio de la roca al microscopio petrográfico [141]. La composición de los elementos traza y elementos de tierras raras son útiles en rocas magmáticas mientras que, para las rocas sedimentarias, en concreto, carbonatos y evaporitas, son muy útiles las relaciones isotópicas de oxígeno, carbono y estroncio para estudios de procedencia.

## 6.2. El chalkstone

Representa el 5% de las rocas de la superficie de Centroeuropa (**Figura D.24**), cubriendo más de 120000 km<sup>2</sup> desde en el norte de Francia, Inglaterra, Bélgica, el sur de los Países Bajos, Alemania, Dinamarca, Suecia y Polonia [142]. En estas zonas el chalkstone se utilizó profusamente como piedra de construcción de catedrales, iglesias, abadías, puentes, castillos, viviendas y otras edificaciones [143].



**Figura D.24. Distribución del chalkstone en Centroeuropa [124].**

En Normandía el chalkstone constituye el 90% de las rocas que afloran en su superficie, lo que contribuyó a que esta roca se utilizara desde el periodo romano en la construcción de monumentos históricos. Durante la edad media el empleo de la caliza aumentó de forma notable para posteriormente ser desplazada por otras rocas más propicias para la construcción. En la actualidad, solamente una cantera

permanece activa, Vernon, que aporta chalkstone para trabajos de restauración y escultura.

### **6.2.1. Geología del chalkstone de Normandía**

Según la clasificación de Folk [144], el chalkstone es una caliza biomicrítica que consta de matriz y bioclastos; la matriz está formada por cocolitos y algas de tamaño menor a 10  $\mu\text{m}$ , mientras que los bioclastos, que son fragmentos de organismos marinos, comprenden tamaños entre los 20  $\mu\text{m}$  y 500  $\mu\text{m}$  [145].

El chalkstone es una de las rocas más características del centro y el norte de Europa. Los sedimentos que dieron lugar a esta roca se depositaron durante el Cretácico Superior en una cuenca marina sedimentaria que se extiende desde Inglaterra hasta Polonia. La orogenia Alpina que tuvo lugar durante el Cenozoico (hace 65 ma) compartimentó la cuenca en pequeñas áreas dando lugar a pequeñas cuencas como la del Mar del Norte o la cuenca Londres-París [146].

El chalkstone de Normandía pertenece a la cuenca Londres-París y se correlaciona con el chalkstone del sur de Inglaterra [147]. Las rocas de esta cuenca se caracterizan por aparecer en capas de espesores de decenas de centímetros a varios metros con intercalaciones de margas [146,147].

Las edades de las rocas estudiadas en las canteras, datadas mediante fósiles, están comprendidas entre los 97 ma y los 87 ma y su descripción es la que sigue [125]:

**Caumont y Vernon:** De edad Turoniense superior-Coniaciense medio (90 Ma-87 Ma). Es un chalk dedolomitizado con numerosos niveles de hardgrounds. Macroscópicamente esta roca es de color blanco con una matriz de grano fino homogénea moteada con óxidos de manganeso de más o menos 0,4 mm de diámetro. La

abundancia de CaO representa el 55% en peso de la roca. Un rasgo característico de este chalkstone es la presencia de moldes de dolomita romboédrica (10-200  $\mu\text{m}$ ), que proviene de la disolución de cristales de dolomita precipitados y la expulsión de fluidos de Mg durante el enterramiento y los esfuerzos compresivos Alpinos. Reciben el nombre de piedra de Caumont y piedra de Vernon [148] en construcción.

**Fécamp:** De edad Cenomaniense inferior (99.6 a 97 Ma). Se trata de un chalk margoso con glauconita y hardgrounds. Macroscópicamente es de color gris verdoso y la abundancia de CaO en esta roca baja hasta el 46% debido a la presencia de cuarzo, glauconita (que puede alcanzar hasta el 15%) y otros silicatos. A este tipo de roca se le denomina Chalk cuarzo-glauconítico o piedra de Fécamp y constituye la piedra tradicional de construcción en esta zona.

### 6.2.2. Propiedades físicas y mecánicas

El chalkstone es una roca blanda debido a su matriz porosa y su baja cementación, aunque sus propiedades varían en función de su contenido de humedad y su grado de diagénesis [149]. La caliza glauconítica muestra un 10-15% de porosidad mientras que la dedolomitizada asciende al 20-40%.

### 6.3. Comparación de los resultados con la curva de isótopos de estroncio para el Cretácico superior

Los resultados obtenidos de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para las canteras estudiadas se compararon con la curva dibujada para el Cretácico Superior por McArthur *et al.*

Este estudio propone por primera vez una curva de isótopos de estroncio para este periodo basado en el análisis del chalk de Trunch, en el sur de Inglaterra donde el Servicio Geológico inglés estudió una sección de 460 m de chalkstone de edades comprendidas entre el Cenomaniense al Maastrichtiense (100 Ma -72 Ma). Este chalkstone se depositó de forma coetánea al chalkstone de Normandía. La **Figura D.25** muestra un mapa del afloramiento del chalkstone en la cuenca Londres-París.

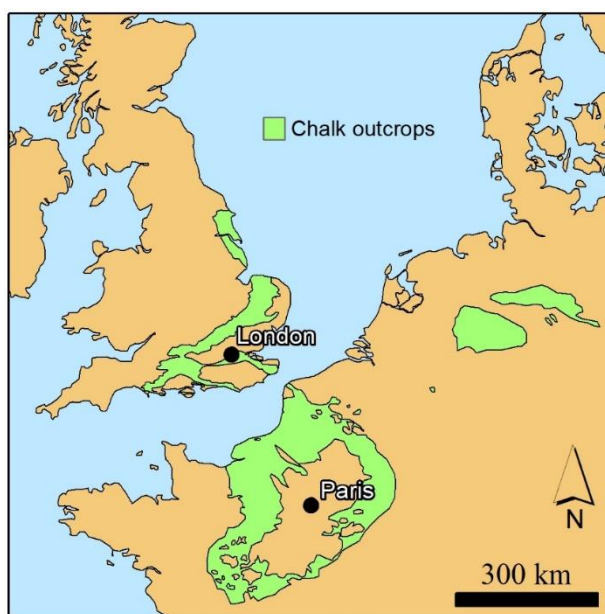
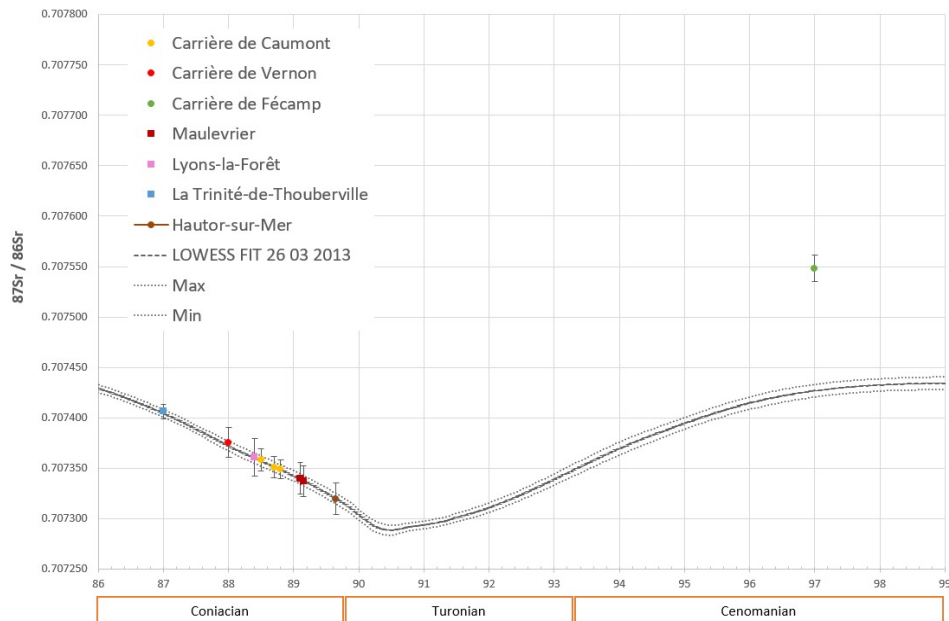


Figura D.25. Distribución del chalkstone en la cuenca Londres-París

Esta curva constituye una referencia de las relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el periodo de tiempo en el que se formó el chalkstone de Normandía. La proyección de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de obtenida de cada muestra sobre la curva se muestra en la **Figura D.26**.



**Figura D.26** Proyección de las muestras estudiadas sobre la curva de isótopos de estroncio de McArthur.

Por lo estudios estratigráficos se sabe que las canteras estudiadas son de edad Coniaciense (Vernon y Caumont) y Cenomaniense (Fécamp). Las relaciones isotópicas de estroncio se proyectan sobre la curva tanto para las muestras de Vernon como de Caumont. No ocurre lo mismo, sin embargo, con la muestra de la cantera de Fécamp (C-FEC-01) donde el valor obtenido de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  se proyecta por encima de la curva. Esto se debe a que se ha analizado una caliza glauconítica cuya

relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  es más elevada que la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  del carbonato original debido a la presencia de glauconita en la roca.

Con relación a las muestras de Caumont y Vernon, como se indica en el artículo de Mckenzie los resultados obtenidos para las relaciones pueden ser superiores a lo esperado ya que nos encontramos con un chalkstone donde las alteraciones diagenéticas son tan profundas que el proceso de preparación de muestra con extracciones secuenciales no es suficiente para limpiar la roca del cemento diagenético. En cualquier caso, la curva isotópica dibujada por Mckenzie tiene en cuenta estas consideraciones.

## 6.4. Comparación de los resultados de las canteras con las muestras de los edificios

En la **Tabla D.12** se muestran de nuevo los resultados de las relaciones isotópicas  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para los edificios y las canteras.

**Tabla D.12. Valores de las relaciones isotópicas de Sr de edificios y canteras.**

Muestra	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD	Muestra	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD
TRI-1-27-2	0,70734	0,000014	CAU-04	0,707358	0,000022
MAU-101-1	0,70732	0,000017	CAU-06	0,707351	0,000021
MAU-127-5	0,707337	0,000032	CAU-10	0,707349	0,000018
LYO-27-1	0,707361	0,000037	C-NVD-02	0,707376	0,000030
HAU-36-761	0,707320	0,000031	C-FEC-01	0,707548	0,000026

En este caso, todos los edificios estudiados muestran valores muy similares entre sí y muy cercanos a los valores de las canteras tanto de Caumont como de Vernon, descartando Fécamp. El edificio que muestra la mayor relación isotópica es el correspondiente a la muestra HAU-36-761, el castillo de Hautot-sur-Mer puede relacionarse con la cantera con el valor más elevado (C-NVD-02) correspondiente a Vernon mientras que el resto de los edificios podría correlacionarse con Caumont. Sin embargo, los valores de las relaciones isotópicas de estroncio son tan cercanos entre sí que no son determinantes para establecer una cantera de origen, haciéndose imprescindible la aportación de la información petrológica, geológica y arqueológica.

## 7. Conclusión

Como conclusión a este capítulo podemos indicar que se ha desarrollado un método de análisis mediante HPLC-MC-ICP-MS como alternativa a los métodos ya existentes de separación de la interferencia isobárica de la masa 87 del Rb frente al Rb y de determinación de las relaciones isotópicas de Sr en calizas alcanzando un alto grado de exactitud y precisión comparables a otros métodos analíticos.

La comparación con los resultados expuestos en la tabla D.13. indica que el valor obtenido de 0,709157 mediante HPLC-MC-ICP-MS de la relación isotópica de Sr, metodología desarrollada en la presente tesis, es acorde con los valores obtenidos mediante MC-ICP-MS, SIMS y TIMS, por diferentes instituciones. Dado que los mayores valores de exactitud y precisión se obtienen con el TIMS, estos son los que se utilizan de referencia para los demás. Los datos obtenidos indican que la cromatografía de líquidos acoplada al equipo de espectrometría de masas con detectores en línea aporta alta precisión a los resultados lo que permite obtener valores



similares a los obtenidos con el TIMS ya que elimina la contribución de la matriz a los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ .

La segunda parte del capítulo, en el que se aplica la metodología desarrollada a muestras reales confirma la eficacia del método.

**Tabla D. 13. Valores obtenidos de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el material de referencia JcP-1, *Porites.sp.***

Valor	Incertidumbre	Tipo de incertidumbre	Método	Institución	Año	id_citación
0,70916	0,00003	SD	MC-ICPMS	Tokyo Institute of Technology	2007	GeoReM 3209
0,70916	0,00002	SD	MC-ICPMS	Tokyo Institute of Technology	2007	GeoReM 3209
0,70915	0,00021	2SIGMA	SIMS	University of Tokyo	2008	GeoReM 3808
0,709164	0,000005	2SE	TIMS	Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR	2009	GeoReM 4720
0,709164	0,000008	2SD	TIMS	Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC)	2013	GeoReM 7436
0,709168	0,000019	2SD	TIMS	National Cheng Kung University (NCKU)	2013	GeoReM 7436
0,709176	0,000027	2SD	TIMS	GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research	2016	GeoReM 9339
0,709168	0,000019	2SIGMA	MC-ICPMS	Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR	2015	GeoReM 9105
0,709172	0,000022	2SD	TIMS	Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR	2014	GeoReM 8201
0,70913	0,00008	2SIGMA	LA-MC-ICPMS	Max-Planck-Institut fuer Chemie	2017	GeoReM 10228
0,70917	0,00006	2SIGMA	LA-MC-ICPMS	Max-Planck-Institut fuer Chemie	2017	GeoReM 10228
0,70917	0,000006	2SE	MC-ICPMS	Università di Modena e Reggio Emilia	2018	GeoReM 10359
0,709182	0,000064	2SE	LA-MC-ICPMS	Max-Planck-Institut fuer Chemie	2018	GeoReM 10359
0,709171	0,000064	2SE	LA-MC-ICPMS	Max-Planck-Institut fuer Chemie	2018	GeoReM 10359

Capítulo 3

**Estudio de las relaciones isotópicas de  
estroncio en viñedos de Castilla-La  
Mancha.**



# **1.Introducción**

## **1.1. Trazabilidad, autenticidad y Denominación de Origen en alimentación**

La Real Academia Española de la lengua define trazabilidad como “Posibilidad de identificar el origen y las diferentes etapas de un proceso de producción y distribución de bienes de consumo.”

Dentro de la industria de la alimentación el concepto de trazabilidad está íntimamente ligado al de autenticidad. La Real Academia Española de la lengua define el término auténtico como “Acreditado como cierto y verdadero por los caracteres o requisitos que en ello concurren.” Un producto no auténtico es aquel que se adultera mediante una serie de prácticas como son, por ejemplo, la falsificación del etiquetado, la adición de aromas para ensalzar su sabor o de ingredientes no especificados para aumentar su volumen [151]. Todas estas técnicas se encaminan a reducir costes de producción, lo que permite vender un producto a menor precio sacrificando su calidad o incluso comercializar un producto de baja calidad a un precio superior haciéndolo pasar por otro de mayor calidad. Todas estas prácticas menoscaban la confianza del consumidor e incluso pueden provocar un riesgo para su salud. Por otro lado, aumentan la competencia desleal en el sector de la alimentación.

Para controlar la autenticidad de los productos, se han establecido una serie de Normativas y Reglamentos con el fin de evitar prácticas desleales y que puedan producir riesgo para la salud del consumidor. En esta línea se publica el Reglamento (CE) nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo [152], de 28 de enero de

2002, por el que se establecen los principios y requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. En el artículo 12 de este Reglamento se especifica que “Para asegurar la inocuidad de los alimentos es necesario tomar en consideración todos los aspectos de la cadena de producción alimentaria y entenderla como un continuo desde la producción primaria pasando por la producción de piensos para animales, hasta la venta o el suministro de alimentos al consumidor, pues cada elemento tiene el potencial de influir en la seguridad alimentaria”. De esta forma hace hincapié en el concepto de trazabilidad y lo define como “la capacidad de rastrear y seguir un alimento, pienso, animal productor de alimentos o sustancia destinada a ser incorporada en un alimento o pienso, a través de todas las etapas de producción, procesamiento y distribución.”

Previamente, la legislación europea, en su Reglamento CEE nº 2081/92 del Consejo [153] definía los conceptos de Denominación de Origen Protegida (DOP) y de Indicación de Origen Protegida (IOP) con el objetivo, entre otros, de fomentar la diversificación de la producción agrícola para conseguir un mayor equilibrio en el mercado entre la oferta y la demanda favoreciendo la economía de las zonas rurales a la vez que permite a los consumidores disponer de productos específicos con garantías sobre su método de fabricación y su origen.

A efectos de este Reglamento, se entiende como Denominación de Origen “el nombre de una región, de un lugar determinado o, en casos excepcionales, de un país, que sirve para designar un producto agrícola o un producto alimenticio: originario de dicha región, de dicho lugar determinado o de dicho país, y cuya calidad o características se deban fundamental o exclusivamente al medio geográfico con sus factores naturales y humanos, y cuya producción, transformación y elaboración se realicen en la zona geográfica delimitada.

Asimismo se define como Indicación geográfica “el nombre de una región, de un lugar determinado o, en casos excepcionales, de un país, que sirve para designar un producto agrícola o un producto alimenticio: originario de dicha región, de dicho lugar determinado o de dicho país y que posea una cualidad determinada, una reputación u otra característica que pueda atribuirse a dicho origen geográfico, y cuya producción y/o transformación y/o elaboración se realicen en la zona geográfica delimitada.

Por lo tanto, para que un producto agrícola o alimentario se pueda comercializar como perteneciente a una Denominación de Origen Protegida o una Indicación Geográfica Protegida su origen debe estar inequívocamente vinculado a la región que ha recibido esta distinción, por lo que, establecer su trazabilidad y demostrar su autenticidad se hace imprescindible para determinar este origen.

### **1.1.1. Denominación de Origen Protegida e Indicación Geográfica Protegida de vinos de España**

El Reglamento (CE) nº 479/2008 del Consejo [154] y sus posteriores variaciones [155,156] asientan nuevas directrices para el establecimiento de Denominaciones de Origen e Indicaciones de Origen Protegidas en el marco de la producción y comercialización de vinos, estableciendo mayores medidas de control que puedan prevenir fraudes durante su proceso de producción, procesamiento y distribución.

En concreto, para establecer una Denominación de Origen para zonas vitivinícolas, a los requisitos previamente señalados se incluye el siguiente: “las uvas utilizadas en su elaboración proceden exclusivamente de esa zona geográfica, y se obtiene de variedades de vid de la especie *Vitis vinifera*.”

De igual forma la Indicación Geográfica Protegida especifica que “al menos el 85 % de la uva utilizada en su elaboración procede exclusivamente de esa zona geográfica

ca y se obtiene de variedades de vid de la especie *Vitis vinifera* o de un cruce entre esta especie y otras especies del género *Vitis*.”

La calificación de Denominación de Origen Protegida incluye subcategorías que atienden a especificaciones más restrictivas, como son la Denominación de Origen y Denominación de Origen Calificada (Doca), el Vino de Calidad con indicación geográfica (VC) y el Vino de Pago (VP). La Indicación Geográfica Protegida también incluye al Vino de la Tierra (VT), cuya regulación es menos exigente que las anteriores.

En España existen 95 Denominaciones de Origen Protegidas, de ellas:

- 70 Denominaciones de Origen (DO), 2 calificadas como (Doca)
- 18 Vinos de Pago (VP)
- 7 Vinos de Calidad (VC)

#### **1.1.1.1. Los vinos de Castilla la Mancha**

Los viñedos en la Comunidad Autónoma de Castilla La Mancha se extienden a lo largo de 473.811 hectáreas [157], convirtiéndola en una de las zonas de cultivo de vid más extensas de Europa. En ella se incluyen nueve Denominaciones de Origen, una Indicación Geográfica Protegida y diez Pagos, entendiéndose el Pago como el paraje o sitio rural con características edáficas y de microclima propias que lo diferencian y distinguen de otros de su entorno [158]. En Castilla La Mancha existen zonas donde la mayor parte del vino que se comercializa pasa por la venta a granel y solo es embotellado una pequeña parte [159] lo que impide establecer la trazabilidad y autenticidad del vino que llega al consumidor. Conseguir diferenciar las áreas geográficas de procedencia de los diferentes vinos de Castilla La Mancha sienta la base que permite establecer zonas calificadas como Denominaciones de Origen Protegidas o Indicaciones Geográficas Protegidas dentro de la Comunidad, lo



que les permitiría diferenciarse de otras regiones vitivinícolas, con el fin último de comercializar un producto diferenciado y de calidad, que permita a los vinos de Castilla La Mancha competir en el mercado mundial del vino, fomentar la economía de la comunidad y evitar el fraude y la competencia desleal dentro del sector.

Como se mencionó previamente, para que un vino pueda pertenecer a una Denominación de Origen Protegida o a una Indicación Geográfica Protegida su producción y/o transformación y/o elaboración se deben realizar en una zona geográfica delimitada. Demostrar este supuesto pasa por establecer la trazabilidad del producto en origen hasta llegar al consumidor.

## **1.2. Parámetros ambientales diferenciadores del vino**

Existen una serie de parámetros ambientales que influyen en la calidad y la diferenciación del vino. Estos son la climatología, el paisaje (pendiente, exposición y el entorno biológico y físico), el suelo y la geología [160]. La interacción de estos factores, junto con la variedad de vid cultivada van a generar un vino con unas características propias y exclusivas, diferente al de otras regiones con el mismo tipo de vid. Sobre estos parámetros diferenciadores, cobra una importancia relevante el suelo ya que rasgos derivados de su formación, como son la textura, profundidad, composición química, fertilidad y disponibilidad del agua son determinantes en el crecimiento de la viña y en la calidad del vino, pudiendo ser, a igualdad del resto de parámetros ambientales, el único factor de diferenciación de un vino de una zona vitivinícola con respecto a los vinos de otras zonas [161].

### **1.2.1. Los nutrientes del suelo**

El suelo posee una cantidad variable de minerales del grupo de la arcilla. Las arcillas son aluminosilicatos hidratados provenientes de la descomposición de la roca madre que se caracterizan por poseer una estructura en forma de capas de tetraedros y octaedros de silicio superpuestas y unidas entre sí mediante enlaces de Van Der Waals, su composición más sencilla es  $\text{Al}_2[\text{Si}_2\text{O}_5](\text{OH})_4$  aunque puede incluir cationes como  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}$ , formando estructuras más complejas. Los cationes ocupan posiciones entre las capas unidas por enlaces de Van Der Waals o bien rellenan huecos octaédricos. Tienen elevada capacidad de intercambio catiónico con el medio debido a las sustituciones atómicas que se dan dentro de su red cristalina, a las cargas negativas en superficie que pueden generar los grupos OH, a la capacidad de disociación de estos y a los propios enlaces de Van Der Waals.

De mismo modo, la materia orgánica presente en el suelo tiene incluso mayor capacidad de intercambio catiónico que las arcillas debido también a la disociación de los grupos OH (hidroxilo) y COOH (carboxilo). La capacidad de intercambio catiónico está fuertemente ligado al pH del suelo, puesto que a pH bajos los  $\text{H}^+$  están fuertemente retenidos mientras que a pH elevados se produce la disociación y por tanto los  $\text{H}^+$  pueden ser intercambiados por cationes.

Como consecuencia de este intercambio catiónico entre el suelo, la materia orgánica y el medio acuoso, se retienen los nutrientes necesarios que absorben las raíces de la vid para su crecimiento. A su vez, la aportación de estos nutrientes al suelo está condicionada por la fertilidad del suelo y su asimilación por las raíces está condicionada por el pH del medio. Los cationes que mayoritariamente ocupan las posiciones de cambio en los suelos son:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ .

## **2.Objetivo**

El objetivo del presente capítulo es determinar las relaciones isotópicas de estroncio de un conjunto de muestras de suelo, vid, uva y vino de cuatro viñedos de distintas bodegas ubicadas en Castilla La Mancha para determinar su trazabilidad.

Para este fin se tomó el procedimiento de análisis de relaciones isotópicas de estroncio previamente desarrollado en calizas y se ha adaptado para estas muestras.

Las medidas de relaciones isotópicas de estroncio en suelo, hoja de vid, uva y vino de Castilla-La Mancha se realizaron en colaboración con el grupo de investigación "Suelos Vitícolas" compuesto por profesores de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Ciudad Real (UCLM) y de la Universidad Autónoma de Madrid.

## **3.Experimental**

### **1.3. Patrones y materiales de referencia**

Todos los análisis se realizaron directamente sobre muestras reales de suelo, hoja, uva y vino. Para la preparación de la muestra de uva y vino se realizaron pruebas sobre uvas y vino comerciales.

### **1.4. Muestras investigadas: suelo, hoja de vid, uva y vino**

### **1.4.1. Selección de las áreas de estudio**

El objetivo de esta sección es estudiar viñedos de los diferentes suelos representativos de Castilla-La Mancha, por lo tanto, las zonas geográficas donde se recogieron las muestras cumplen dos requisitos; pertenecer a bodegas ya estudiadas previamente, por lo que se conoce el tipo de suelo sobre el que el que se desarrollan las vides y asegurar que el vino producido proviene de esos suelos.

Las localidades seleccionadas y las bodegas a las que pertenecen son:

- Fuentealbilla (Albacete), Bodegas Iniesta.
- Valdepeñas (Ciudad Real), Bodegas Corcovo.
- Cogolludo (Guadalajara), Bodegas Finca Río Negro.
- Villarrobledo (Albacete), Bodegas Bro Valero.
- Anchuras (Ciudad Real). Bodegas Eldoze.

### **1.4.2. Evaluación del procedimiento de extracción del estroncio en suelos en función de su composición**

Las muestras de suelo provienen del horizonte A, el más superficial y donde se sustentan las raíces de las plantas. Es, por lo tanto, la parte del suelo que aportará los nutrientes que absorbe la vid y que llegarán posteriormente a la hoja y al vino.

Como consecuencia de las transformaciones bioquímicas de la roca aparecen en el suelo abundantes iones tales como  $H^+$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$ . De estos, los dos primeros general acidez en el suelo mientras que los cuatro últimos generan basicidad [161]. De esta forma se define el pH del suelo, término que se utiliza para definir la composición de los suelos y por lo tanto sus características geoquímicas y bioquímicas. Así, los suelos se clasifican como:

*Suelos ácidos.* Aquellos que presentan alta concentración de cationes  $H^+$  y  $Al^{3+}$ . Son aquellos cuyo pH es neutro o inferior a 7, ricos en arcillas y su porcentaje de carbonato cálcico es bajo o nulo.

*Suelos básicos.* Los que presentan alta concentración de cationes  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  y  $Na^+$ . Son aquellos cuyo pH es superior a 7, ricos en carbonato cálcico.

El procedimiento de digestión de las muestras fue, en un inicio el seguido para los carbonatos. Las muestras de suelo con alto contenido en carbonato cálcico (pH básico), e inyectando 50  $\mu$ l de muestra, mostraban una elevada intensidad de señal lo que demuestra que el sistema de extracción del estroncio mediante disolución con ácido acético 20% tiene la misma eficacia sobre suelos que sobre caliza. Sin embargo, la misma extracción para suelos arenosos (pH ácido-neutro) no ofrecía la misma eficacia, obteniéndose señales para el estroncio de aproximadamente 0,5V para 100  $\mu$ l de muestra, un valor muy por debajo de 1 V, el mínimo necesario para obtener resultados suficientemente precisos.

Para solventar este problema se cambió el método de extracción del estroncio, realizándose diferentes pruebas.

- *Extracción con  $HNO_3$  65% ultrapuro;* añadiendo a los 2 ml de agua ultrapura desde 0,5 ml a 2 ml de  $HNO_3$ . Tampoco se obtuvieron resultados satisfactorios.
- *Extracción con acetato amónico ( $NH_4CH_3CO_2$ ) 1M ultrapuro;* representa la forma más común de la extracción del estroncio en suelos que se consigue mediante un proceso de intercambio catiónico donde el amonio ( $NH_4^+$ ) sustituye al  $Sr^{2+}$ .

Las digestiones se realizaron a pH 5, 6 y 7 en todos los suelos objeto de estudio, tanto ácidos como básicos lo que, además, permitió comparar la extracción del

estroncio mediante acetato amónico 1M con la extracción secuencial mediante ácido acético 20% utilizada en esta tesis para las calizas.

A continuación, la **Tabla D.13** muestra los resultados de la extracción del estroncio para todos los suelos básicos (carbonatados).

**Tabla D.13 Comparativa de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para extracción mediante ácido acético y acetato amónico en suelos básicos.**

		<b>Suelos básicos (carbonatados)</b>	
		<b>Bodegas Iniesta</b>	<b>Bodegas Corcovo</b>
<b>Acetato amónico</b>	<b>Ácido acético</b>	0,708350 ± 0,000019	0,708959 ± 0,000019
	<b>pH5</b>	0,708069 ± 0,000029	0,708322 ± 0,000026
	<b>pH6</b>	0,708007 ± 0,000106	0,708516 ± 0,000038
	<b>pH7</b>	0,708422 ± 0,000072	0,708432 ± 0,000068

Según los resultados mostrados, se evidencia que, en general, para la preparación de muestra mediante ácido acético los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  son más elevados que para la extracción con acetato amónico, aunque, estos valores, sin una comparativa con el resto de las muestras de la misma zona de estudio no arroja datos significativos. En cuanto al valor de la precisión, sí se puede concluir que los datos son mejores con el ácido acético.

Por otro lado, la comparación entre valores de pH en los suelos ácidos muestra que, de igual forma que para lo explicado en suelos básicos, los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  no son determinantes, de forma que es la precisión obtenida en cada pH lo que va a determinar el valor escogido. Como se puede apreciar en la **Tabla D.14**, los mejores valores de precisión se alcanzan para las Bodegas Río Ne-

gro y Eldoze a pH 7. Con el fin de unificar criterios para simplificar el proceso se decidió hacer la extracción a pH 7.

Cabe destacar que la precisión disminuye con la utilización de acetato amónico con respecto al ácido acético en la preparación de la muestra, por lo que los resultados se unifican al valor de la menor precisión obtenida, situándose en la quinta decimal.

**Tabla D.14 Comparativa de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para los suelos de ácidos para diferentes valores de pH de acetato amónico.**

	<b>Bodegas Bro Valero</b>	<b>Bodegas Río Negro</b>	<b>Bodegas Anchuras</b>
<b>pH5</b>	0,70760 ± 0,00017	0,70966 ± 0,00011	0,71218 ± 0,00010
<b>pH6</b>	0,708049 ± 0,000054	0,70948 ± 0,00013	0,711814 ± 0,000077
<b>pH7</b>	0,707953 ± 0,00039	0,709586 ± 0,000034	0,712063 ± 0,000058

Por lo tanto, finalmente la digestión de las muestras se realizó de la siguiente manera:

*Suelos neutros-ácidos.* La extracción del estroncio se realizó añadiendo 100 ml de acetato amónico 1M ultrapuro a pH 7 a 100 gr de muestra, y agitando a 200 rpm durante 30 minutos.

*Suelos básicos.* En este caso se siguió la metodología propuesta para el análisis de calizas comentado en el capítulo anterior.

## 4.Resultados

La determinación de las relaciones isotópicas de estroncio se realizó para todas las muestras mediante cromatografía de líquidos acoplada a detección por espectro-

metría de masas siguiendo el método explicado en el capítulo anterior de estudio de relaciones isotópicas de estroncio para calizas. En este caso todos los análisis se realizan directamente acoplando el cromatógrafo de líquidos LC Surveyor al MC-ICP-MS, Neptune Plus. Los parámetros de trabajo de este equipo son los mismos que los especificados para las calizas (**Tabla D.15**) así como la configuración de copas (**Tabla D.16**).

**Tabla D.15 Parámetros de análisis de las muestras de viñedos mediante HPLC-MC-ICP-MS.**

**Parámetros experimentales del Neptune Plus MC-ICP-MS**

<b>Potencia aplicada</b>	1200 W
<b>Flujo del gas plasmógeno</b>	15 L min <sup>-1</sup>
<b>Flujo del gas auxiliar</b>	0,7 L min <sup>-1</sup> – 0,8 L min <sup>-1</sup>
<b>Flujo del gas portador</b>	0,8 L min <sup>-1</sup> – 1,1 L min <sup>-1</sup>
<b>Tiempo de integración</b>	1,049 s
<b>Número de ciclos</b>	1200 por bloque
<b>Número de bloques</b>	1

**Tabla D.16 Configuración de copas del Neptune Plus MC-ICP-MS.**

**Configuración de copas del Neptune MC-ICP-MS**

L4	L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
<sup>82</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>83</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>84</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>85</sup> Rb <sup>+</sup>	<sup>86</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>88</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>90</sup> Sr <sup>+</sup>
		<sup>84</sup> Kr <sup>+</sup>		<sup>86</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Rb <sup>+</sup>		

De igual forma se mantienen las mismas condiciones cromatográficas que las utilizadas en el capítulo anterior. Son las especificadas en la **Tabla D.17**:



**Tabla D.17. Condiciones cromatográficas para la determinación de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en viñedos.**

<b>Columna</b>	CS12A
<b>Fase móvil</b>	1 M $\text{HNO}_3$ con 3,8 mM éter 18-corona-6.
<b>Flujo</b>	1 ml/min
<b>Loop</b>	50 $\mu\text{l}$ -100 $\mu\text{l}$

Solamente en el caso del vino se realizó previamente un cromatograma en el ICP-MS con cuadrupolo 7500ce de Agilent (**Figura D.29**) para determinar los tiempos de retención de los metales alcalinos y alcalinotérreos y comprobar que no hubiera solapamiento de ninguno de sus elementos con el estroncio. Este procedimiento se realizó sobre una muestra de vino comercial procedente de uva de la variedad Verdejo. La adquisición se realizó en la modalidad de tiempo resuelto con 0,1 s de tiempo de integración.

## Verdejo

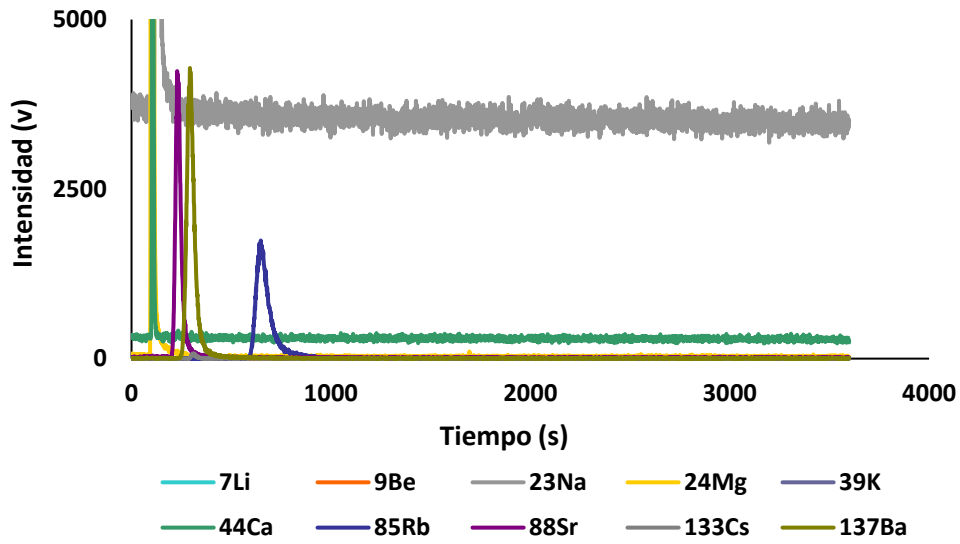
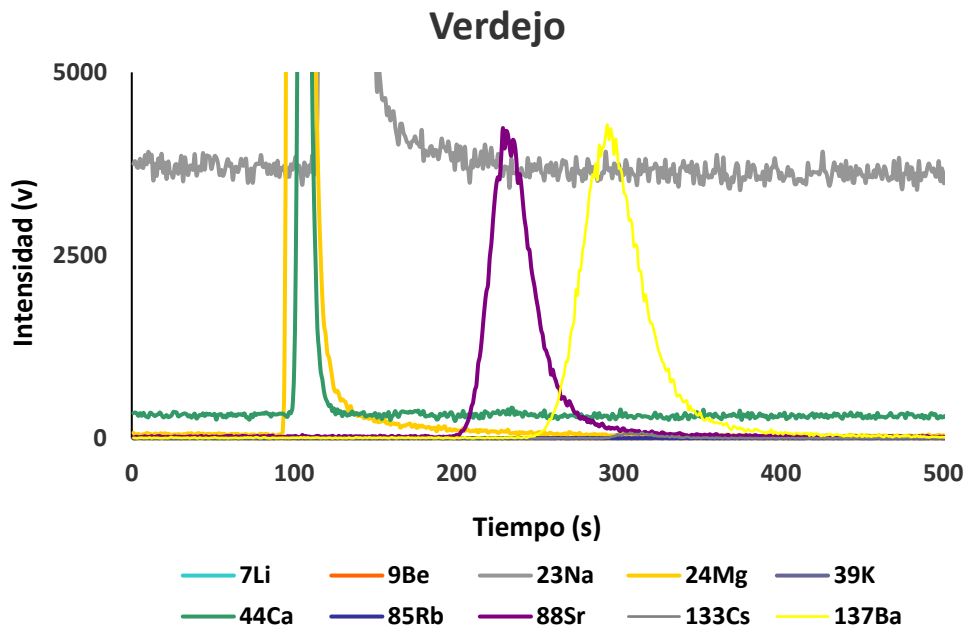


Figura D.29. Cromatograma de una muestra de vino de la variedad Verdejo realizado en el equipo 7500ce de Agilent.



**Figura D.30.** Ampliación en el eje X del cromatograma del vino de la variedad Verdejo.

La **Figura D.29** muestra al rubidio eluyendo en su máximo de pico a los 650 s aproximadamente. La **Figura D.30** muestra una ampliación de eje X de los primeros 500 s en el que se ve como el estroncio eluye cerca de los 300 s pero sin solaparse con otro elemento. Por lo tanto, para el vino, se mantiene la misma cromatografía que para las demás muestras.

## 4.1. Estudio de las relaciones isotópicas de estroncio mediante HPLC- MC-ICP-MS

A continuación, se muestran los cromatogramas obtenidos para cada una de las muestras analizadas correspondientes a Bodegas Iniesta, constituyendo estos un ejemplo representativo de los cromatogramas obtenidos para el resto de las bodegas. Además, para los suelos se añade un cromatograma ejemplo de extracción con acetato amónico de Bodegas Eldoze.

### 4.1.1. Muestras de suelo

En la **Figura D.31** se muestra el cromatograma obtenido para el suelo de la finca de Bodegas Iniesta, en Fuentealbilla (Albacete), de pH básico, extraído con ácido acético 20%. En la **Figura D.32** se muestra una ampliación el cromatograma en el eje Y.

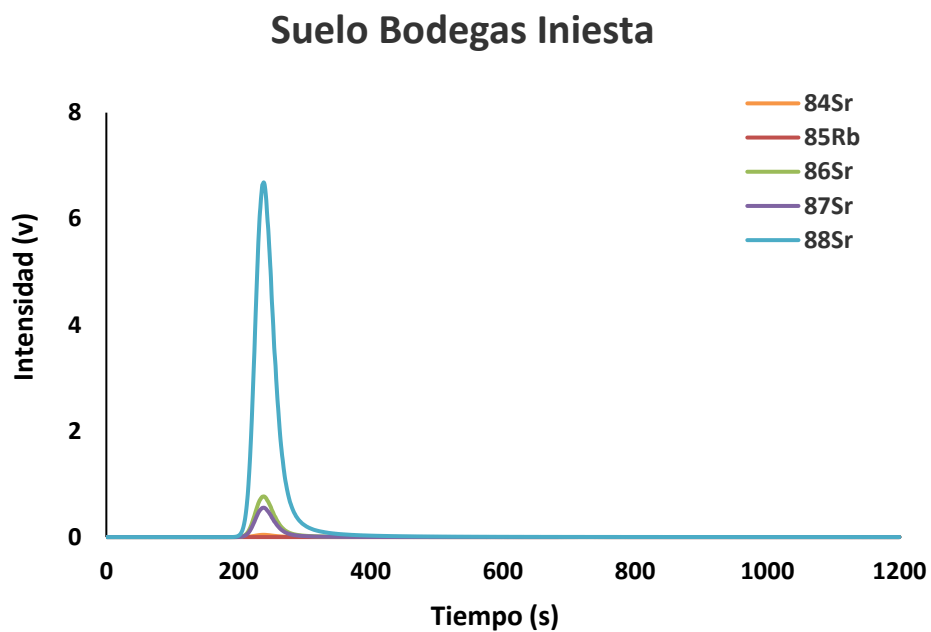
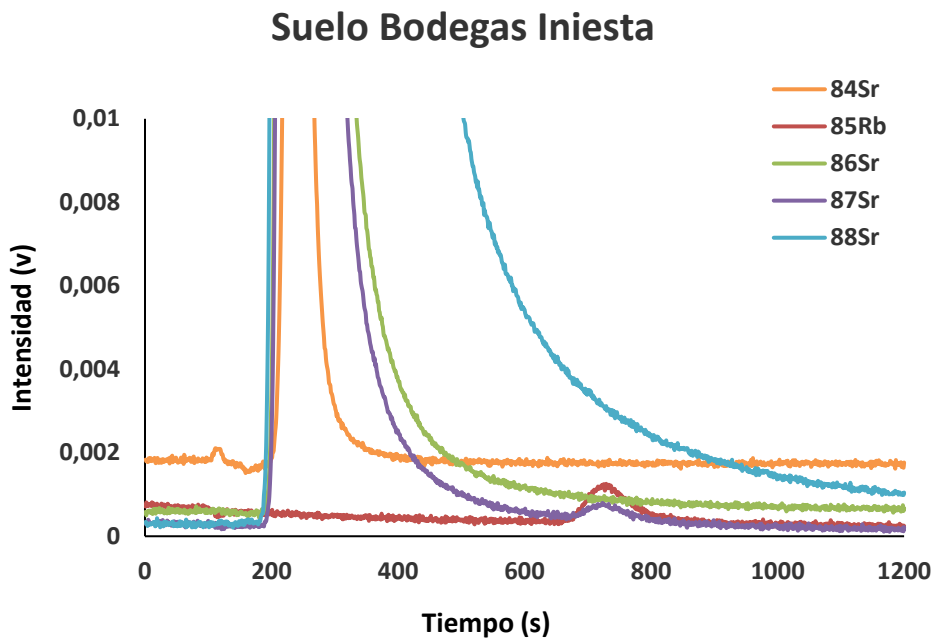


Figura D.31. Separación cromatográfica de una muestra de suelo de Bodegas Iniesta mediante HPLC-MC-ICP-MS.



**Figura D.32. Ampliación del cromatograma de suelo de Bodegas Iniesta mostrando el pico de rubidio a los 700 s.**

Como se puede observar en ambas figuras los tiempos de retención del estroncio y del rubidio son idénticos a los obtenidos en el capítulo anterior. El volumen muerto eluye a aproximadamente 120s, el estroncio eluye a aproximadamente 200 s y el rubidio a 700 s, saliendo en la cola del pico del estroncio. El calcio, como en el caso del capítulo anterior eluye en el volumen muerto. Tanto para el estroncio como para el rubidio los picos son gaussianos, lo que indica que los cationes se encuentran en equilibrio con la fase móvil y la estacionaria.

Los siguientes cromatogramas (**Figura D.33** y **Figura D.34**) pertenecen al suelo de Bodegas Eldoze, extraído con acetato amónico a pH 7.

### Suelo Bodegas Eldoze

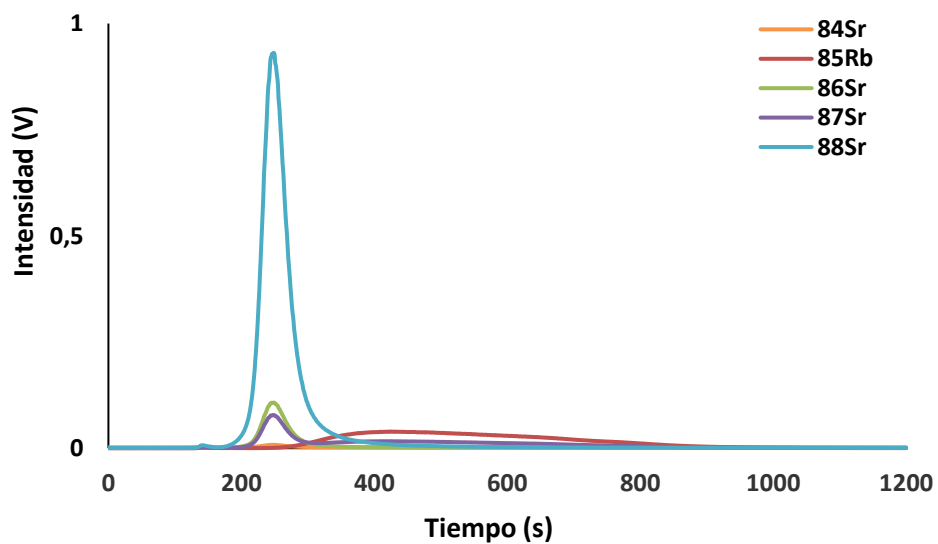
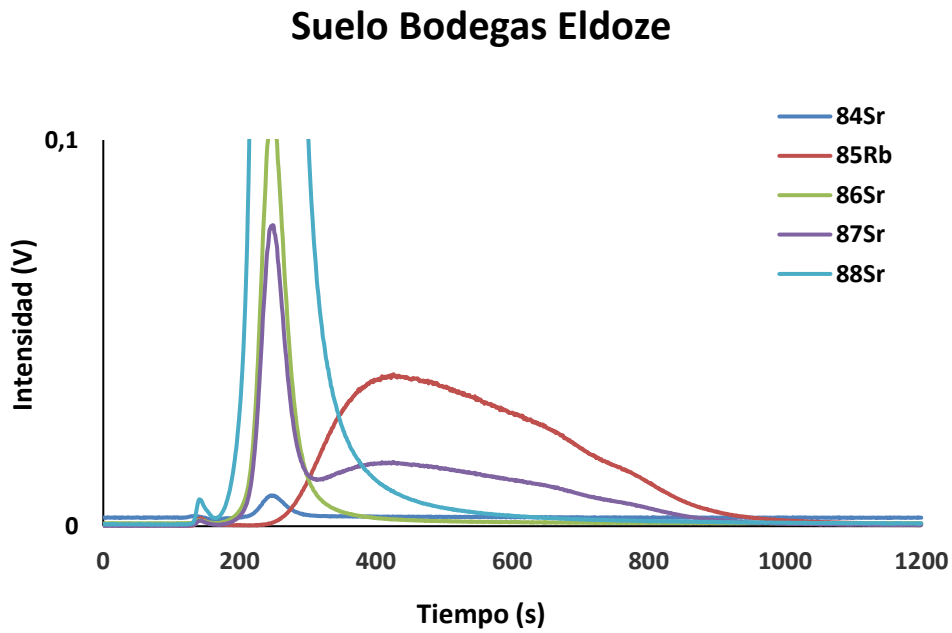


Figura D.33. Separación cromatográfica de una muestra de suelo de Bodegas Eldoze.



**Figura D.34. Ampliación del cromatograma previo mostrando el pico de rubidio.**

Utilizando este sistema de extracción los picos de estroncio y rubidio eluyen a los mismos tiempos de retención que para la extracción con acetato amónico con la salvedad de que el rubidio no tiene un pico gaussiano, su elución comienza a los 240 s y vuelve de nuevo a línea de base a los 940 s.

#### **4.1.2. Muestras de hojas de vid**

A continuación, se muestran los cromatogramas para las hojas de vid de Bodegas Iniesta.



## Hojas Bodegas Iniesta

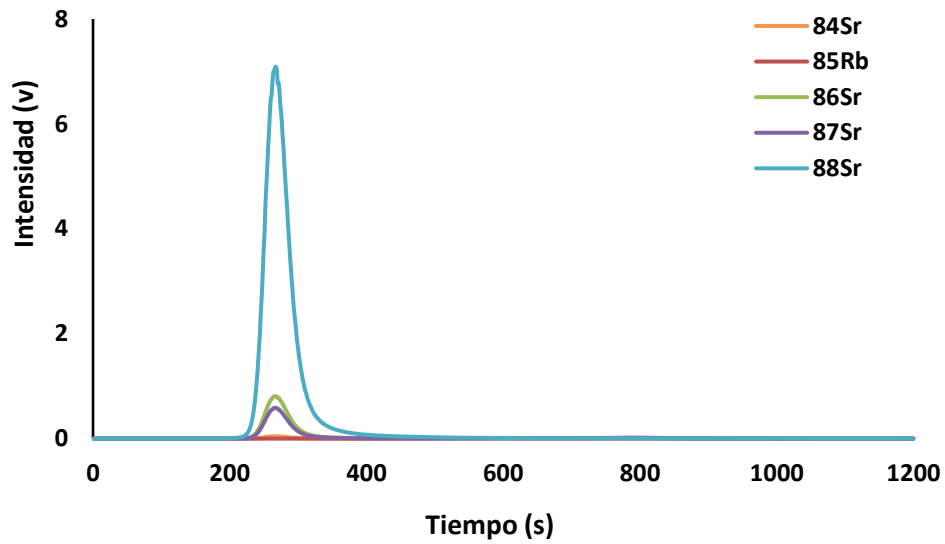
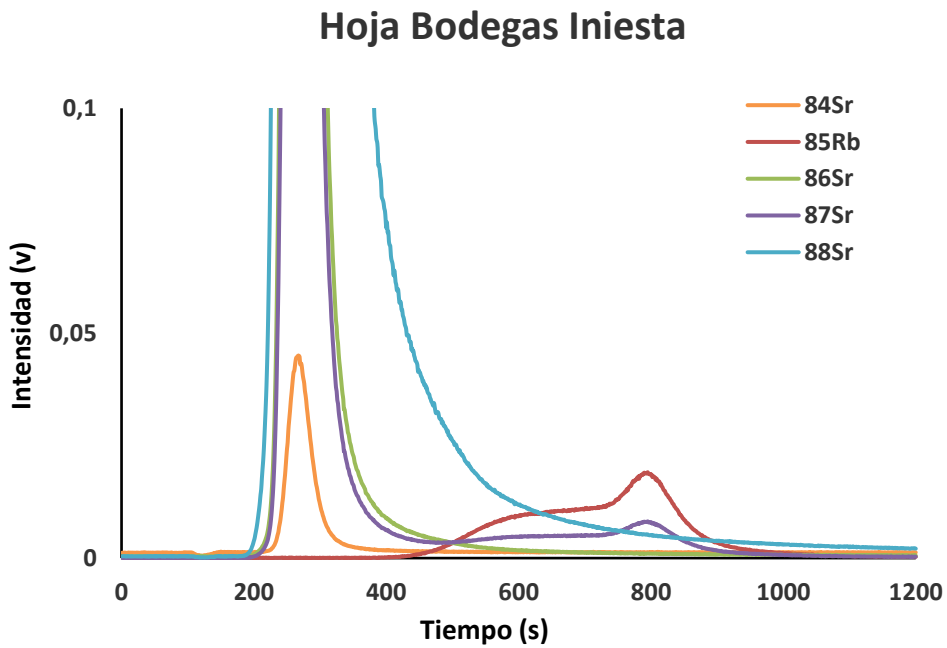


Figura D.35. Cromatograma de las hojas de vid de Bodegas Iniesta.



**Figura D.36. Ampliación del cromatograma de las hojas de bodegas Iniesta.**

En el caso de las hojas, los tiempos de retención para el estroncio son iguales que para el suelo, sin embargo, el rubidio se retiene más y su pico no es gaussiano y muy ancho, eluyendo desde los 500 s (cogiendo la cola del pico de estroncio) hasta los cerca de 900 s. lo que indica que la muestra no se encuentra en equilibrio para el rubidio.

#### **4.1.3. Muestras de uvas**

### Uvas Bodegas Iniesta

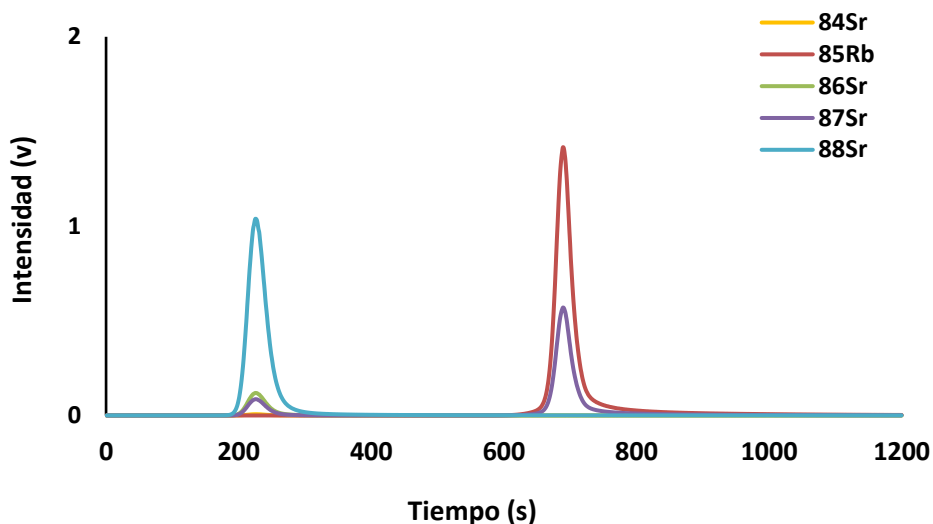
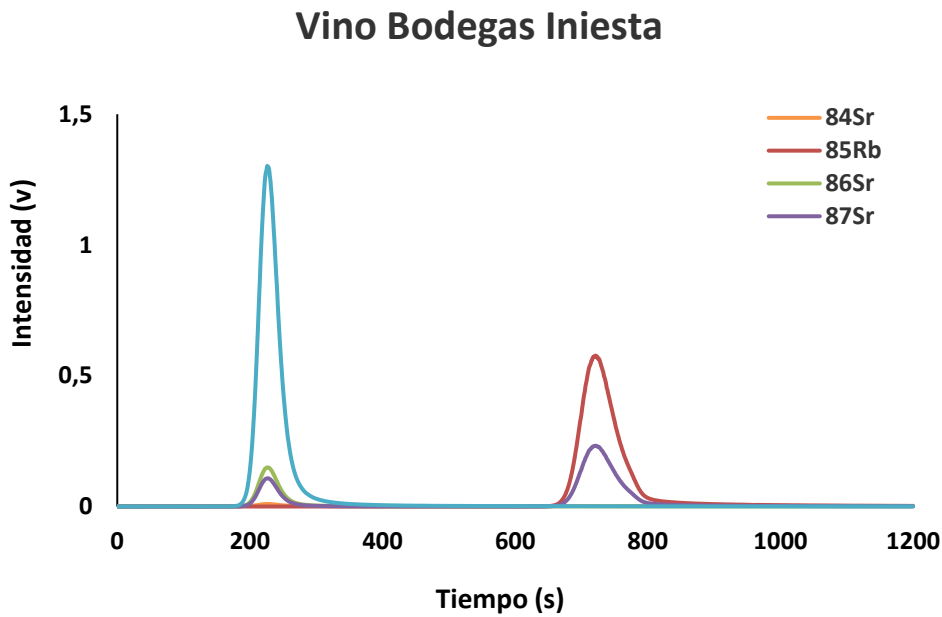


Figura D.37. Cromatograma de una muestra de uvas de Bodegas Iniesta.

Como se puede ver en la **Figura D.37** las uvas muestran tiempos de retención iguales a los del suelo, sus picos son gaussianos. Los picos están bien separados y el rubidio eluye cuando el estroncio se encuentra en línea de base. Cabe resaltar que la intensidad de la señal de estroncio ha caído con respecto a los casos anteriores mientras que la de rubidio es notablemente más elevada. Este es una dinámica que se observa en todas las uvas analizadas.

#### 4.1.4. Muestras de vinos

En lo referente a los vinos, los cromatogramas tienen picos gaussianos y con los mismos tiempos de retención que para otras muestras, sin embargo, la intensidad de la señal para el rubidio cae en los vinos con respecto a las uvas.



**Figura D.38. Cromatograma de una muestra de vino de Bodegas Iniesta.**

Una vez obtenidos los cromatogramas el tratamiento de los resultados se realizó mediante regresión lineal múltiple igual que en los capítulos anteriores utilizando en todos los casos la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para normalizar propuesta por Nier de 8,37521. La **Tablas D.18** y **D.19** muestran los resultados para las cuatro muestras de cada una de las bodegas estudiadas, los resultados de la incertidumbre se expresan como dos veces la desviación estándar de la media.

**Tabla D.18. Valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de las muestras de las bodegas con suelos básicos.**

Bodegas Iniesta		Bodegas Corcovo	
$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD

*Acoplamiento LC-ICP-MS para la separación en línea de elementos radiogénicos (Rb/Sr y Re/Os) y su aplicación a tres problemas prácticos de geoquímica isotópica*

<b>Suelo</b>	0,70835	0,00002	0,70896	0,00002
<b>Hoja</b>	0,70841	0,00002	0,70820	0,00003
<b>Uva</b>	0,70835	0,00007	0,70901	0,00009
<b>Vino</b>	0,70869	0,00009	0,70871	0,00005

**Tabla D.19. Valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de las muestras de las bodegas con suelos ácidos.**

	<b>Bodegas Río Negro</b>		<b>Bodegas Bro Valero</b>		<b>Bodegas Eldoze</b>	
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	2SD
<b>Suelo</b>	0,70959	0,00003	0,70795	0,00004	0,71206	0,00006
<b>Hoja</b>	0,71317	0,00005	0,70780	0,00001	0,71456	0,00001
<b>Uva</b>	0,71290	0,00017	0,70782	0,00021	0,71426	0,00009
<b>Vino</b>	0,71366	0,00005	0,70802	0,00004	0,71457	0,00012

## 5. Discusión

Según los resultados obtenidos existe una correlación de las relaciones isotópicas de estroncio que se pueden seguir desde el suelo hasta el vino pasando por la hoja y la uva para cada una de las bodegas estudiadas. Y atendiendo a los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  de referencia podemos concluir que tanto los suelos de Bodegas Iniesta como los de Bodegas Corcovo así como los valores de Bodegas Bro Valero están dentro del rango de las rocas carbonatadas (0,707-0,709). Por otra parte, Bodegas Río Negro y Eldoze entran dentro de los valores de referencia para las rocas detríticas (>0,710). Sin embargo, los valores de las relaciones isotópicas del suelo no siempre son coincidentes que las de la roca madre de la que procede, ya que ciertas transformaciones ocurridas en el suelo, como la aparición de aluminosilicatos de neoformación, el aporte de estroncio de aguas superficiales o profundas, de polvo y las actividades antrópicas pueden variar la composición isotópica del suelo respecto a la roca madre. De forma que lo ideal sería comparar los valores obtenidos con el mapa de suelos de estas zonas, por desgracia, Castilla-La Mancha carece de este tipo de mapas lo que impide comprobar el tipo de suelo sobre los que se cultivaron los viñedos. Como alternativa se ha comparado con el mapa geológico de España 1:50.000, MAGNA50 para conocer, al menos el sustrato sobre el que se ha desarrollado dicho suelo, aunque teniendo siempre en cuenta que la composición puede diferir por los motivos mencionados.

### 5.1. Bodegas Iniesta y Bodegas Corcovo

Bodegas Iniesta se encuentra en las coordenadas X = 624303, Y=4349363 Huso 30 s, localizada en la hoja 743, Madrigueras [162]. Su posición se ubica sobre Arenas,

areniscas, arcillas, conglomerados y calizas del Turolense Superior (Terciario) (**Figura D39**). La variedad de uva cultivada en esta Bodega es Bobal.



**Figura D.39.** Mapa geológico con la ubicación del viñedo de Bodegas Iniesta.

Las coordenadas de Bodegas Corcovo son X=458773, Y=4292116 Huso 30 s, corresponde a la hoja 812, Valdepeñas [163]. El punto de muestreo se encuentra ubicado sobre costras carbonatadas del Pleistoceno inferior (Cuaternario) (**Figura D.40**).



**Figura D.40. Mapa geológico con la ubicación del viñedo de Bodegas Corcovo.**

Por sus características físicas, químicas y su valor de pH (básico) la composición del suelo en ambos puntos de recogida es de carbonato cálcico.

Los valores de relaciones isotópicas de estroncio en ambos puntos para el suelo son las propias de las rocas carbonatadas. Este valor se mantiene desde el suelo hasta el vino, pasando por la hoja y la uva.

## 5.2. Bodegas Finca Río Negro y Eldoze



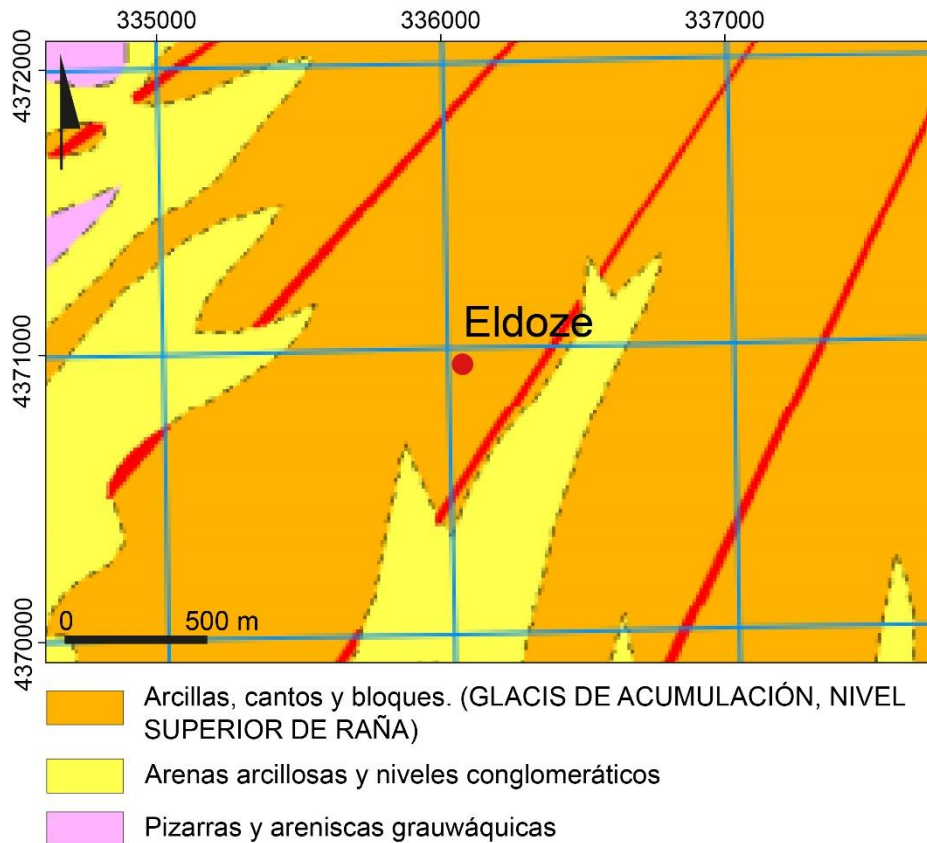
La **Figura D.41** indica la posición del viñedo de Bodegas Finca Río Negro en el mapa geológico de la hoja 486 Jdraque [164]. Se sitúa en las coordenadas x = 495104 e Y = 4535444, huso 30t, sobre gravas y cantos poligénicos, arenas, arcillas arenosas y carbonatos (Terrazas de los ríos) del Pleistoceno medio (Cuaternario). La variedad de uva es Gewürztraminer.



**Figura D.41. Mapa geológico con la ubicación del viñedo de Finca Río Negro.**

El suelo recogido en las Bodegas Eldoze se encuentra en las coordenadas X = 336004, Y= 4370923, huso 30 s, punto ubicado en la hoja 708, de Santa Quiteria

[165]. Su litología corresponde a conglomerados, gravas arenas y limos del Terciario del Cuaternario (**Figura D.42**). La variedad de uva es Syrah.



**Figura D.42.** Mapa geológico con la ubicación del viñedo de Bodegas Eldoze.

En ambos casos las relaciones isotópicas de estroncio del suelo son propias de las arenas, y sus relaciones se mantienen a lo largo de todo el ciclo.

### 5.3. Bodegas Bro Valero

En el mapa de la **Figura D.43** se indica la posición de bodegas Bro Valero en las coordenadas X=525505 Y=4351568 huso 30s. de la hoja 740 del MAGNA, Villaro-

bledo [166]. La roca madre es de acumulación de arenas eólicas del holoceno (Cuaternario). La variedad de uva cultivada por esta Bodega es Cabernet Sauvignon.

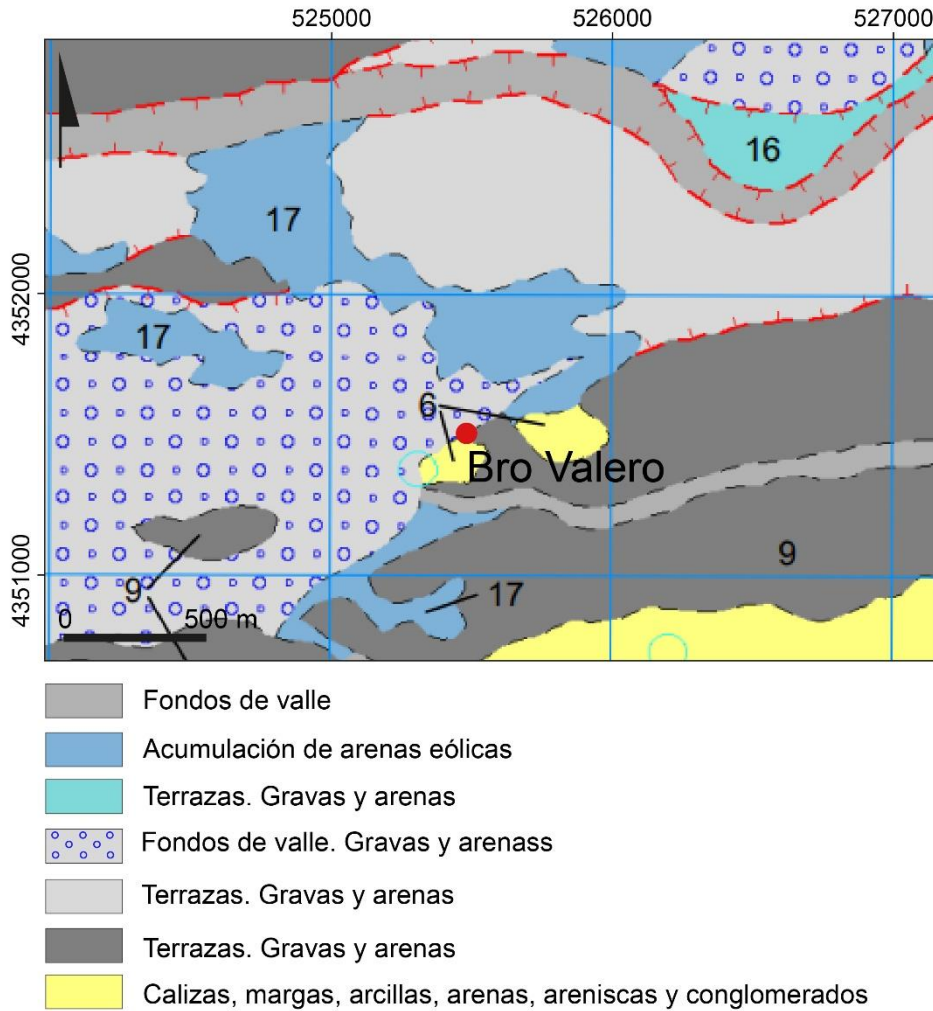


Figura D.43. Mapa geológico con la ubicación del viñedo de Bodegas Bro Valero.

En este caso los valores de relaciones isotópicas están dentro del rango de los carbonatos, manteniéndose constante para el resto de las muestras. Por lo tanto existe una discrepancia entre la litología cartografiada y el valor de las relaciones isotópicas de estroncio, simplemente puede deberse a que, aunque la litología es de

arenas, la proporción de arena de origen carbonatado podría ser mayoritaria lo que explicarían la composición isotópica de estroncio de estos viñedos. Sin embargo, la extracción del estroncio de este suelo mediante ácido acético no dio buenos resultados, obteniéndose valores de intensidad de 0,4 V en la cromatografía, lo que hace indicar que la composición del suelo es arenoso.

Por lo tanto, encontramos en estos viñedos de Castilla-La Mancha unas rocas madre del suelo cuya litología se corresponde con rocas sedimentarias (arenas y carbonatos) del cuaternario. Los valores de las relaciones isotópicas de estroncio para los suelos se corresponden en la mayor parte de los casos con los de la roca madre, si bien es cierto, que, en algunos casos, la roca madre consta de conglomerados de diferentes litologías (arenas y carbonatos).

Por los resultados expuesto podemos concluir que, desde el punto de vista geológico, la litología de la roca madre arroja cierta información sobre las relaciones isotópicas de estroncio que se pueden encontrar en el suelo pero no son un indicador determinante puesto que estas relaciones pueden variar en función de los procesos físico químicos y antrópicos que se producen en el horizonte superior del suelo, que es el involucrado en los procesos de transferencia del estroncio lábil a la vid, este extremo queda patente en las Bodegas Bro Valero, que, siendo un suelo arenoso muestra valores de las relaciones isotópicas de estroncio correspondientes a los carbonatos manteniéndose estos en la hoja, la uva y el vino. En este caso concreto la variación puede estar ligada al arrastre de minerales del agua, o polvo, o actividades antrópicas. En este caso concreto es posible que la proximidad de un río haya aportado materiales que hagan variar la composición isotópica del suelo dando valores distintos a los propios de las arenas.

En todo caso, lo ideal sería poder estudiar las relaciones isotópicas sobre una muestra de roca, en el caso de tener interés en ello. Independientemente de ello, para el estudio del estroncio a lo largo del ciclo suelo, hoja, uva, vino no es determinante el

conocimiento de los valores de la roca madre, pero sí sería ideal poder ubicar estas zonas de muestreo sobre mapas de suelos. Sin embargo, si se deseara realizar un estudio de contaminación antrópica, el conocimiento de las relaciones isotópicas de la roca madre sí resulta muy útil y esclarecedor.

En relación con la variedad de uva, la otra variable introducida, todas ellas muestran conductas iguales en el transporte del estroncio, sin observarse fraccionamiento isotópico en ellas, por otra parte, no existe variación en la absorción del estroncio dependiendo de la variedad de uva estudiada.

## **6. Conclusión**

En este capítulo se ha adaptado una metodología desarrollada en la presente tesis doctoral para esclarecer el origen de los vinos de Castilla-La Mancha en base a la huella isotópica de estroncio. Los resultados obtenidos para cada uno de los viñedos muestran una correlación muy precisa para cada una de sus muestras, de forma inequívoca se puede establecer una correlación desde el vino hasta el suelo, que, además, muestra en la mayoría de los casos una relación clara con la geología de la zona, lo que puede indicar, a falta de otros análisis más específicos, una posible vinculación del suelo a la roca madre subyacente.

## Capítulo 4

# **Desarrollo de un método para la separación Re-Os en molibdenitas.**



## 1.Introducción

El método de datación basado en el decaimiento radiactivo de renio-187 en osmio-187 en molibdenitas permite establecer la edad de la etapa hidrotermal a la que se ha visto sometido el granito durante los sucesivos procesos de formación del yacimiento mineral. Esto hace que este método cobre un valor muy relevante en la datación de yacimientos minerales en relación con otros métodos cuya aplicación no permite datar estos procesos. Un inconveniente de la determinación de la edad de las molibdenitas es la costosa preparación de muestra, en la que se ve involucrada la problemática relacionada con la separación del renio del osmio, la volatilidad en medio ácido de este elemento y las bajas concentraciones que suele presentar en la muestra. Por este motivo tanto la preparación de la muestra como los procesos de separación y análisis son muy complejos involucrando largas etapas hasta obtener un resultado final.

## 2.Objetivo

En la presente Tesis doctoral se intenta establecer un principio en el que la separación del renio y del osmio se pueda realizar en línea con la detección mediante espectrometría de masas mediante HPLC-ICP-MS sin necesidad de separar y analizar el renio y el osmio por separado y simplificando considerablemente el tiempo de preparación y análisis de muestra.



## **3.Experimental**

### **3.1. Muestras**

Las muestras utilizadas para el desarrollo de este método fueron:

Molibdenita de San Finx. Procedente de la mina de San Finx, en Galicia.

Molibdenita Henderson. Material de referencia NIST 8599.

Molibdenita de Linares. Procedente del yacimiento de Linares, en Pola de Allande.

## **4.Resultados y discusión**

Las tres molibdenitas fueron empleadas para llegar a la cuantificación del renio mediante la separación por HPLC-ICP-MS. Cada una de ellas se utilizó en fases diferentes de la investigación.

### **4.1. Optimización de la separación cromatográfica**

Puesto que como resultado de la fusión alcalina se obtiene una disolución en la que tanto el renio como el osmio se encuentran en forma aniónica, se utilizó para la cromatografía la columna de intercambio aniónico Ion Pac AS9-HC con grupos alcanoles amino cuaternario como fase estacionaria.

La optimización de la cromatografía se realizó en el equipo ICP-MS con cuadrupolo 7500ce de Agilent, la adquisición de los isótopos de interés se realizó en el mo-

do tiempo resulto, con 0,1 s de tiempo de integración y 1800 s de duración del cromatograma.

**Tabla D.20** Isótopos del renio y el osmio con sus masas exactas y abundancias.

Isótopo	Masa exacta	Abundancias (%)
<sup>185</sup> Re	184,952977	37,4
<sup>187</sup> Re	186,955765	62,6
<sup>184</sup> Os	183,952514	0,002
<sup>186</sup> Os	185,953852	1,59
<sup>187</sup> Os	186,955762	1,96
<sup>188</sup> Os	187,955850	13,24
<sup>189</sup> Os	188,958156	16,15
<sup>190</sup> Os	189,958455	26,26
<sup>192</sup> Os	191,961487	40,78

La **Tabla D.20** muestra los isótopos del renio, el osmio, de estos los isótopos monitorizados son los siguientes:

Renio: Se monitorizaron todos sus isótopos; 185 y 187.

Osmio: Los isótopos de masa 187, 190 y 192. Los dos últimos son los isótopos más abundantes, lo que facilita el seguimiento de la señal del osmio.

Además de estos se monitorizaron varios isótopos de zirconio y molibdeno.

Zirconio: Los isótopos de masa 90 y 94. Este elemento procede del crisol con el que se hicieron las fusiones alcalinas. Dado que a la masa 94 se genera una interferencia isobárica del zirconio con el molibdeno se monitoriza también la masa 90 del zirconio.

Molibdeno: Para estudiar el molibdeno, en los primeros cromatogramas, se monitorizó el isótopo de masa 94, sin embargo, para evitar la interferencia isobárica con el zirconio, y puesto que el molibdeno es el elemento mayoritario, se optó por

sustituir el isótopo de masa 94 por el óxido de molibdeno, de masa 110, puesto que cualquier otro isótopo, más abundante que el de masa 94 provocaría la saturación del detector.

La selección de la fase móvil se centró en la búsqueda de una fase alcalina, en consonancia con el pH de la muestra. Por lo tanto, a modo de introducción, se enumeran los reactivos probados sobre la fusión con mechero Bunsen de la molibdenita de San Finx con patrones de Re y Os, trabajando con la columna AS9-HC 4 X 250 mm (**Tabla D.21**) sobre las cuatro primeras fases y con la AS9-HC 2 X 250 mm sobre las siguientes (**Tabla D.22**):

**Tabla D.21 Fases móviles utilizadas con la columna AS9-HC 4 X 250 mm.**

**Fases móviles AS9-HC 4 X 250 mm**

Sal de AEDT  
Hidróxido de sodio (NaOH)  
Hidróxido de sodio con sal de AEDT  
AEDT con amoníaco

**Tabla D.22. Fases móviles utilizadas con la columna AS9-HC 2 X 250 mm.**

**Fases móviles AS9-HC 2 x 250 mm**

Citrato amónico  
Sulfato amónico  
Fosfato amónico

#### **4.1.1. Columna AS9-HC 4 X 250 mm**

##### ***4.1.1.1. Fases móviles de sal de AEDT y NaOH***

Las primeras fases móviles utilizadas fueron la sal de AEDT, NaOH y la combinación de estas a distintas concentraciones. Por un lado, el uso de la sal de AEDT tiene como objetivo la formación de complejos de esta sal con los aniones de renio y osmio para así extraerlos de la fase estacionaria donde se encuentran retenidos. Sin embargo, con una concentración de 5 mM de sal de AEDT se consigue extraer de la columna solamente el zirconio y el molibdeno. En el caso del renio y del osmio se asume que están retenidos en la columna y que los complejos que forman el AEDT hacen que estos se retengan fuertemente en la fase estacionaria. Por lo tanto, se requiere una fase móvil alcalina que no forme complejos, por lo que se opta por el NaOH, el solvente en el que se encuentra la muestra. Con una fase móvil de NaOH 50 mM todas las masas eluyen en el volumen muerto, lo que indica que no interactúan con la fase estacionaria. Para mejorar la separación cromatográfica se opta por combinar los dos reactivos utilizados con el fin de que ambos se compensen disminuyendo los tiempos de retención de los aniones de interés. Para una concentración 20 mM NaOH con 5 mM de sal de AEDT el tiempo de retención para el renio es muy elevado y el osmio no eluye durante la duración del cromatograma. Sucesivos incrementos de la concentración de la sal de AEDT provocan incrementos en los tiempos de retención del renio y en ningún caso se consigue la elución del osmio, aunque si se distinguen picos de baja intensidad de  $^{192}\text{Os}$ , el isótopo mayoritario del osmio.

Sin embargo, el renio y el osmio, ambos con el mismo radio ( $2,16 \text{ \AA}$ ) y, por lo tanto, menor que el del molibdeno, se retienen tan fuertemente que el renio tarda como mínimo 1800 s en eluir y el osmio no llega a hacerlo.

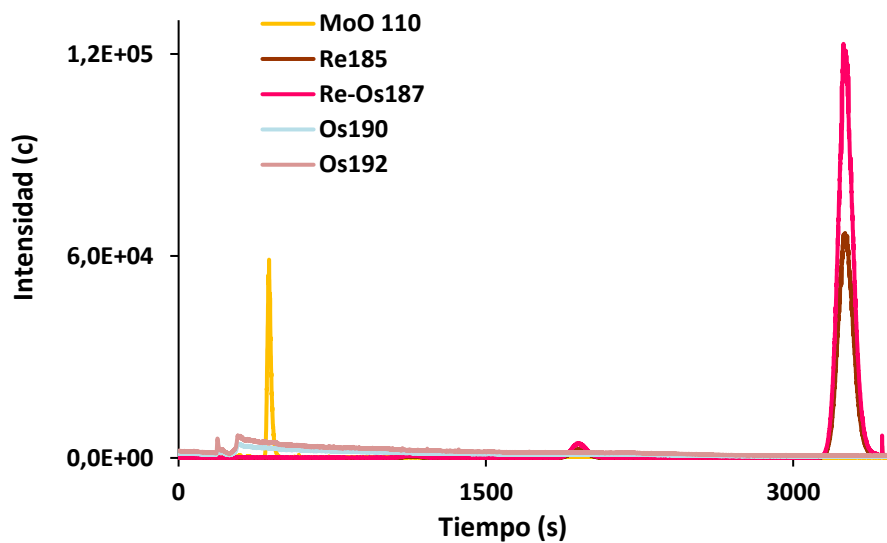
Como resumen, un aumento de la concentración de NaOH aumenta el poder de elución de la fase móvil y por otro lado la sal de AEDT compleja los aniones retenidos de forma selectiva. Por separado la fase móvil de NaOH no retiene los elementos y la fase móvil de sal de AEDT aumenta significativamente sus tiempos de retención. La combinación de ambos reactivos disminuiría los tiempos de retención puesto que los grupos  $\text{OH}^-$  del NaOH aumentarían la ionización de la sal de AEDT al arrancar sus  $\text{H}^+$  e incrementando su poder de elución al tener más cargas negativas en superficie que puedan sustituir al renio y al osmio de la fase estacionaria donde se encuentran muy retenidos. Por lo que un aumento de la cantidad de grupos  $\text{OH}^-$  con un incremento de la concentración de la sal de AEDT permitiría aumentar el poder de elución de la fase móvil. Una prueba del fuerte poder de elución de estas fases móviles es la retención que experimenta el molibdeno, un ión de gran radio iónico ( $2,17 \text{ \AA}$ ) que se extrae de la columna antes de los 600 s. Sin embargo, el efecto sobre el renio y el osmio cuyo radio iónico es  $2,16 \text{ \AA}$  (menor que el del molibdeno) no es suficiente, aumentando progresivamente la retención de los aniones con el incremento de la concentración de la sal de AEDT. La adición del NaOH para movilizar a los aniones no es suficiente para compensar el efecto de la sal de AEDT, siendo necesario un aumento de la concentración del NaOH en la fase móvil. Sin embargo, la concentración de NaOH empleada está limitada por el efecto negativo que causa a los conos del espectrómetro de masas. Por este motivo se opta por cambiar la fase móvil a amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) que en medio acuoso se transforma en  $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ , lo que aportaría grupos  $\text{OH}^-$  a la fase móvil. Por otro lado, se cambia la sal de AEDT por su ácido ya que admite mayor concentración de NaOH en la mezcla sin llegar a saturación del ácido.

#### 4.1.1.2. Fase móvil: AEDT con amoníaco ( $\text{NH}_3$ )

**Muestra:** Fusión alcalina de molibdenita de San Finx con 600  $\mu\text{g/g}$  de patrones de renio y osmio en mechero Bunsen.

Con la fase móvil 20 mM de EDTA con 100 mM de  $\text{NH}_3$  se consigue obtener un pico gaussiano de renio a los 3300 s, mucho más estrecho que con las fases móviles previas (**Figura D.42**). Sin embargo, en un aumento de la escala, mostrado en la **Figura D.43**, se muestran otros dos picos para el renio a 1200 s y 2000 s de menor intensidad que el de 3300 s. Esto puede indicar distintos estados de oxidación del renio o una contaminación del sistema de entrada de muestra.

#### Molibdenita de San Finx con patrones



**Figura D.42.** Cromatograma de la molibdenita de San Finx con patrones de renio y osmio y fase móvil de 20 mM de AEDT con 100 mM de  $\text{NH}_3$ .

## Molibdenita de San Finx con patrones

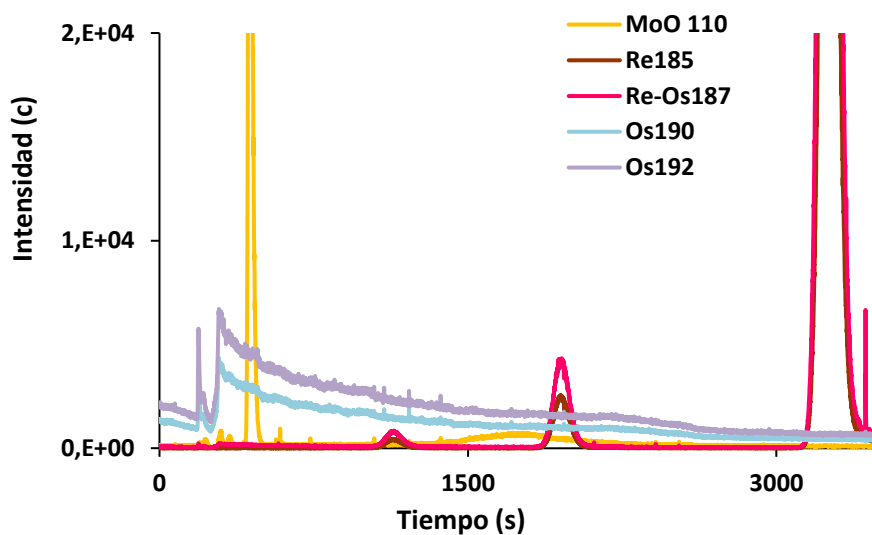


Figura D.43 Ampliación del cromatograma anterior mostrando los tres picos de renio.

### Molibdenita de San Finx con patrones

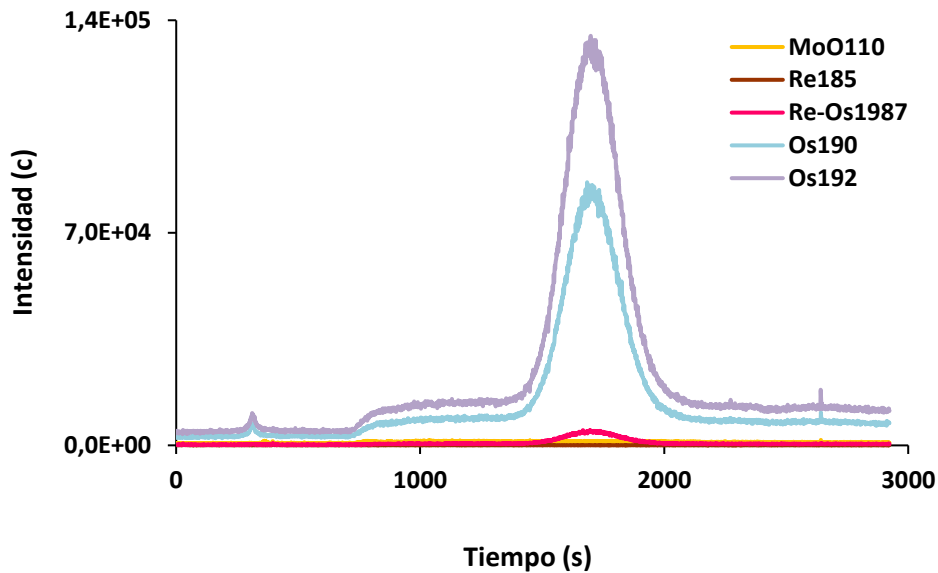


Figura D.44. Continuación del cromatograma de la Figura D.43. mostrando el pico de osmio.

También se observa la elución del pico de osmio por primera vez, el cromatograma mostrado en la **Figura D.44** es la continuación del anterior, por lo que eluye a los 5400 s, aunque en este caso el pico es más ancho que el del renio debido a la fuerte retención que experimenta.

La **Tabla D.23** muestra los tiempos de retención para el renio y el osmio de todas las fases móviles utilizadas con la columna AS9-HC 4 X 250 mm. Únicamente con el el AEDT y el  $\text{NH}_3$  se consigue una elución del osmio a 5400 s (1,5h). Estos tiempos de elución en cromatografía se consideran extremadamente elevados, siendo lo ideal la elución en menos de 15 minutos.



**Tabla D.23. Relación de tiempos de retención para las fases móviles utilizadas con la columna AS9-HC 4 X 250 mm.**

Fase móvil	tr Re (s)	tr Os (s)
Sal de AEDT		
50 mM NaOH	Vm	
20 mM NaOH + 5 mM Sal AEDT	1800	
10 mM NaOH + 10 mM Sal AEDT	2800	
5 mM NaOH + 15 mM Sal AEDT	2800	
50 mM AEDT + 250 mM amoniaco	3300	5400
21 mM AEDT + 100 mM amoniaco	3300	5400

#### 4.1.2. Cambio de la columna cromatográfica

Puesto que con estas fases móviles se consiguió la elución del renio y del osmio de la columna, aunque con tiempos de retención muy elevados, se intentó disminuir estos tiempos acortando la longitud de la columna, puesto que en el tiempo de retención está incluido el movimiento de los aniones a lo largo de esta. Por tanto, se cambió la columna AS9-HC de 250 mm de longitud por la precolumna AG9-HC de 50 mm de longitud, lo que disminuiría en cinco veces el tiempo de retención de los analitos. Las sucesivas pruebas realizadas con las fases móviles previas no mostraron retención de los elementos en la fase estacionaria, esto se debe a que la precolumna AG9-HC posee muchos menos grupos funcionales que la columna, pasando de 190  $\mu\text{eq}/\text{columna}$  de la AS9-HC 4 X 250 mm a solamente 6  $\mu\text{eq}/\text{columna}$  de la precolumna AG9-HC. Los grupos funcionales son los puntos de interacción entre la fase móvil y la estacionaria, por lo que, a menor número de grupos, menor es la retención de los analitos.

Después de esto se cambió a la columna AS9-HC 2 X 250 mm, cuyas características son iguales a las de AS9-HC 4 X 250 mm pero con disminución del diámetro interno a la mitad y menor número de grupos funcionales, en este caso 47,5  $\mu\text{eq}/\text{columna}$ . La disminución de diámetro interno obligó a disminuir el flujo de trabajo de 1ml/min a 0,25 ml/min y el volumen de inyección de 50  $\mu\text{l}$  a 5 $\mu\text{l}$  por lo que finalmente los tiempos de retención para los analitos son los mismo que con la columna AS9-HC 4 X 250 mm.

#### **4.1.2.1 Cambio de la fase móvil**

La fase móvil utilizada hasta ahora, el AEDT tanto en sal como en ácido consigue extraer al renio de la columna en 2700 s y al osmio en 5600 s aproximadamente. El AEDT, a mayor número de cargas negativas se estimaba que aumentaría la eficiencia del intercambio aniónico con la fase estacionaria, extrayendo antes al renio y al osmio de la columna. Sin embargo, estas cargas podrían estar formando complejos con los analitos que hacen que se retengan más. Por este motivo se optó por probar otras fases móviles; citrato amónico y fosfato amónico, con tres cargas negativas ambas y sulfato amónico, con dos cargas negativas. De esta manera, no formarían complejos tan fuertes con el renio y el osmio y disminuirían los tiempos de retención.

#### **Sulfato amónico ( $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{NH}_3$ )**

**Muestra:** Fusión alcalina de molibdenita de San Finx con 600  $\mu\text{g}/\text{g}$  de patrones de renio y osmio en mechero Bunsen.

## Molibdenita San Finx con patrones

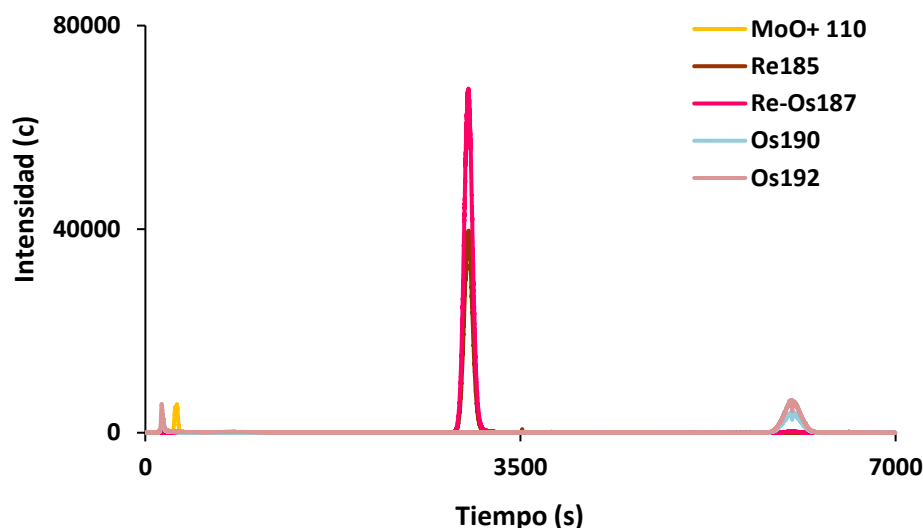


Figura D.45. Separación cromatográfica con fase móvil H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 200 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y NH<sub>3</sub> 1000 mM.

Con esta fase móvil se partió de una concentración 50 mM de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con 250 mM de NH<sub>3</sub>, los tiempos de retención para el renio están en 4000 s y para el osmio en 8000 s. El aumento de concentración del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 100 mM y del NH<sub>3</sub> a 500 mM consigue extraer el renio a 3600 s y el osmio a 7200 s aproximadamente. Un nuevo aumento hasta 200 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 1000 mM para el NH<sub>3</sub> disminuye nuevamente los tiempos de retención a 2900 s para el renio y 6000 s para el osmio. La **Figura D.45** y su ampliación en la **Figura D.46** muestra el cromatograma para esta última concentración. Los picos son gaussianos y la cola del renio, además de su amplia separación con respecto al osmio, rápidamente llega a línea de base, por lo que no interfiere en el pico del osmio.

### Molibdenita San Finx con patrones

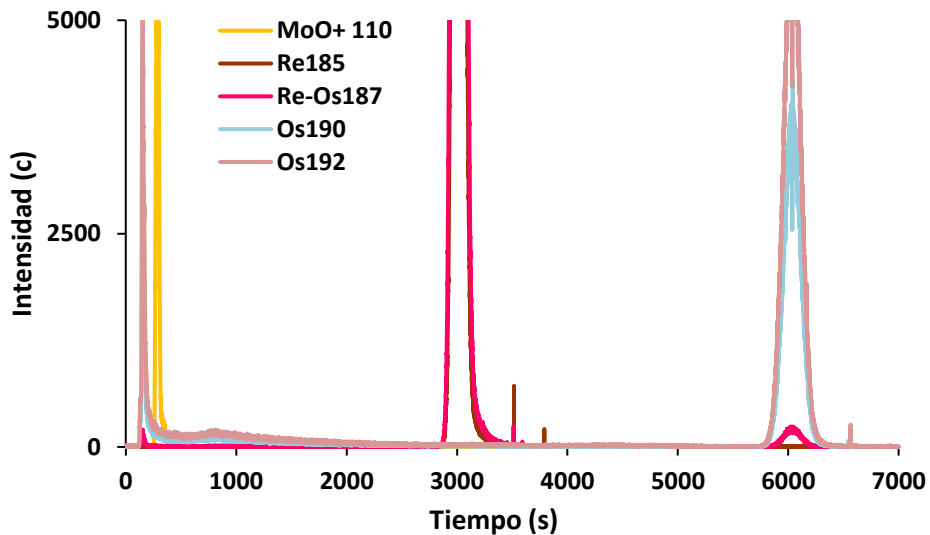


Figura D.46. Ampliación del cromatograma anterior.

### Citrato amónico ( $C_6H_8O_7 + NH_3$ )

Las pruebas con esta fase móvil se iniciaron con una concentración de 100 mM de  $C_6H_8O_7$  y 500 mM de  $NH_3$  incrementándose a 200 mM de  $C_6H_8O_7$  y 1000 mM de  $NH_3$  y finalmente a  $C_6H_8O_7$  400 mM con  $NH_3$  2000 mM. En este caso, al contrario que en el anterior, un incremento de la concentración del citrato amónico supone un aumento de los tiempos de retención, pasando de los 2300 s de retención del renio y 4600 del osmio para la menor concentración de citrato amónico a los 2600 s de retención del renio y 5200 s del osmio para la máxima concentración de la fase móvil. El zirconio y el molibdeno eluyen al volumen muerto, hacia los 160 s.

### Molibdenita San Finx con patrones

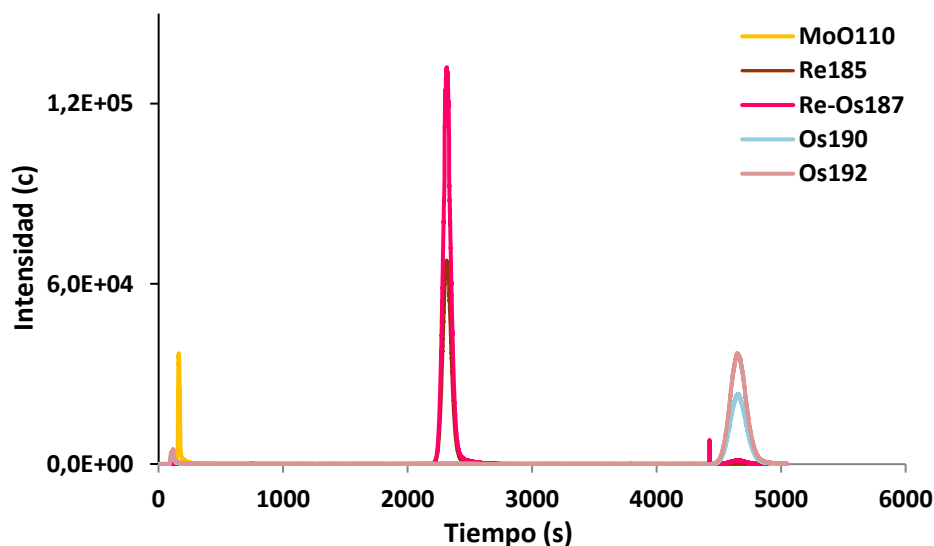


Figura D.47. Cromatograma con la fase móvil de 100 mM de ácido cítrico y 500 mM de amoníaco.

La **Figura D.47** muestran la cromatografía de la fusión en mechero Bunsen de la molibdenita de San Finx con los patrones de renio y osmio. Ambos picos son gaussianos, únicamente el renio muestra una pequeña cola y la separación entre ambos picos es completa. Es reseñable que para la misma concentración de renio y de osmio la intensidad de la señal es muy diferente siendo mucho mayor la de renio, esto indica que muy posiblemente se esté perdiendo osmio en la fusión o en el sistema de entrada del equipo o que el osmio forme distintos compuestos que eluyan a distintos tiempos de retención (diferentes estados de oxidación).

### Fosfato amónico ( $\text{HPO}_4$ 100 mM + $\text{NH}_3$ 500 mM)

En este caso el renio tarda 6000 s (100 minutos) en eluir. Puesto que el tiempo de retención es más elevado que para otros compuestos se descarta esta fase móvil.

A modo de resumen en la **Tabla D.24** hasta ahora se indican las diferentes fases móviles y los tiempos de retención utilizados con la comuna AS9-HC 2 X 250 mm.

**Tabla D.24 Tiempos de retención para las fases móviles utilizadas con la columna AS9-HC 2 X 250 mm.**

Fase móvil	tr Re (s)	tr Os (s)
50 mM ácido sulfúrico + 250 mM amoniaco	4000	8000
100 mM ácido sulfúrico + 500 mM amoniaco	3600	7200
200 mM ácido sulfúrico + 1000 mM amoniaco	2900	6000
100 mM ácido cítrico + 500 mM amoniaco	2300	4600
200 mM ácido cítrico + 1000 mM amoniaco	2500	5000
400 mM ácido cítrico + 2000 mM amoniaco	2600	5200
100 mM ácido fosfórico + 500 mM amoniaco	6000	

## **4.1.3 Otras pruebas realizadas**

### **4.1.3.1. Reducción del pH**

Las fases móviles típicas empleadas en cromatografía de intercambio aniónico no tienen el suficiente poder de elución para extraer estos aniones  $\text{Re}^-$  y  $\text{Os}^{2-}$  de la columna. Las últimas estudiadas, citrato amónico y sulfato amónico son las que mejores perfiles de picos consiguen debido a la menor retención del renio y el osmio en la columna, aunque estos siguen siendo muy elevados. De estas fases el citrato amónico es la mejor opción, sin embargo, no está clara la concentración óptima de ácido cítrico a utilizar puesto que la variación en los tiempos de retención puede deberse a un cambio en el pH de la fase móvil, una variación en la concentración de  $\text{H}^+$  hace que el citrato reaccione de forma diferente con los analitos, sacándolos antes o después de la columna. Es posible que, a mayor pH, al haber menos  $\text{H}^+$  en el medio la interacción con la fase estacionaria sea menor y se retengan más. A menor pH la interacción será mayor y el renio y el osmio eluirían antes. Sin embargo, a bajo pH el citrato deja de tener tres cargas negativas para tener dos, lo que disminuirá su poder de elución. Es por esto por lo que es importante estimar cual es el pH óptimo para obtener una separación cromatográfica en el menor tiempo posible.

Sin embargo, las pruebas de la fase móvil citrato amónico 100 mM a diferentes pH 7, 8 y 9 no arrojaron ninguna mejora en la cromatografía.

### **4.1.3.2. Adición de TMAH a la fase móvil**

El TMAH es una sal de amonio cuaternario, cuya fórmula es  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+\text{OH}^-$ . Tiene la misma composición que la fase estacionaria y se espera que pueda actuar como

contrapunto a esta evitando que el renio y el osmio se retengan tan fuertemente en dicha fase. Se añadió en una concentración de 1 mM a la fase móvil de citrato amónico 100 mM sin obtenerse ningún resultado satisfactorio.

#### **4.1.3.3. Acidificación de las fases móviles**

En este apartado se estudió el efecto de la reducción del pH de las fases móviles. Dado que renio y el osmio se encuentran en forma aniónica se retienen en la fase estacionaria catiónica. El renio, con una carga negativa se encuentra en equilibrio dinámico con la fase estacionaria sin embargo el osmio al poseer dos cargas negativas se retiene muy fuertemente. Si se disminuye el pH se aumenta la concentración de  $H^+$  en la fase móvil de forma que el osmio puede ganar un  $H^+$  quedándose con una única carga negativa y formando un enlace más débil con la fase estacionaria, siendo por tanto más fácil de sustituir por la fase móvil. Puesto que la fase móvil siempre ha de tener grupos  $OH^-$  debe haber un equilibrio entre estos y los  $H^+$  añadidos a esta misma fase y evitando que la muestra precipite en la columna. Las fases móviles, acidificadas con HCl, son las siguientes:

- Citrato amónico (100 mM  $C_6H_8O_7$  + 500 mM  $NH_3$ ) a pH 3, 4 y 5
- 50 mM AEDT a pH 5

Y se añadieron 4 nuevas:

- Cloruro amónico (200 mM HCl + 1000 mM  $NH_3$ ) a pH 5.
- 100 mM de nitrato amónico ( $NH_4NO_3$ ).
- Ácido nítrico ( $HNO_3$ ) 2% 4% 5%.



Estas fases móviles se probaron con la columna AS9-HC 4 x 250 sobre la muestra de la fusión alcalina de molibdenita de San Finx con 600 µg/g de patrones de Re y Os en mechero Bunsen.

### Citrato amónico (100 mM C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> + 500 mM NH<sub>3</sub>) pH 3, 4 y 5

A pH 5 se obtiene un cromatograma en el que el renio eluye a 1500 s y el osmio a 3000 s. A pH 4 se reduce a 1400 s y a 2800 s y finalmente a pH 3 la elución es a 1300 s y 2600 s. Esta última separación cromatográfica se representa en la **Figura D.48**.

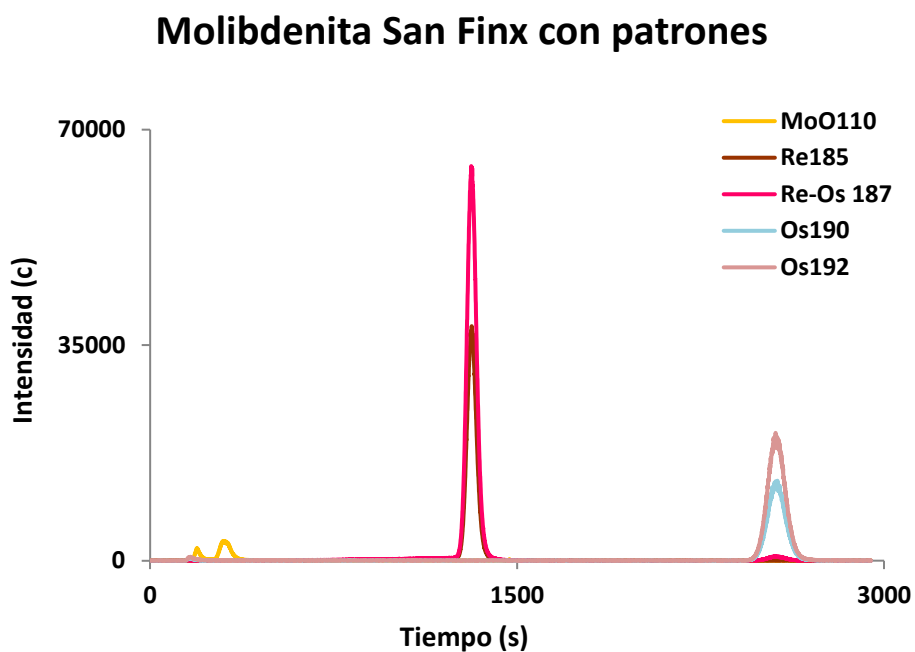


Figura D.48. Cromatograma con la fase móvil de citrato amónico a pH 5.

**AEDT 50 mM pH 4-5**

A lo largo de un cromatograma de 3000 s no hay elución de ninguno de los elementos de interés.

**Cloruro amónico (200 Mm HCl + 1000mM NH<sub>3</sub>) pH 5**

Con esta fase móvil el renio tarda 1800 s en eluir y el osmio 3600 s. La cromatografía es igual a la de las otras fases.

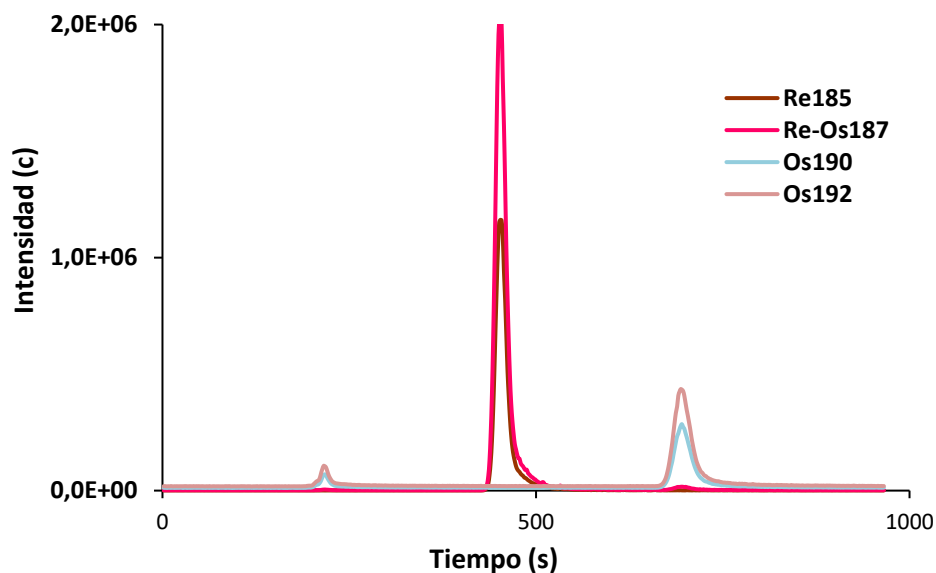
**Nitrato amónico (100 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) pH 5**

El pico de renio eluye a 1300 s y el de osmio a 2600 s, los perfiles son gaussianos y sin ruido.

**HNO<sub>3</sub> 2%, 4%, 5%**

Con la fase móvil de HNO<sub>3</sub> 2% el renio eluye a los 30 minutos y el osmio lo hace a los 60 minutos. Los tiempos de retención son elevados y los picos son anchos y están mal definidos. Un aumento de la concentración de HNO<sub>3</sub> mejora los tiempos de retención y el perfil de pico, con HNO<sub>3</sub> 4% el renio tiene un tiempo de retención de 15 minutos y el Os de 30. Un aumento a 5% disminuye aún más el tiempo de retención hasta los 6 minutos para el renio y los 12 para el osmio.

### Molibdenita San Finx con patrones



**Figura D.49. Molibdenita de San Finx y patrones de renio y osmio con fase móvil de HNO<sub>3</sub>.**

A pesar de que los tiempos de retención (**Figura D.49**) son mucho más cortos que para fases móviles básicas y sales esta fase tiene el problema de que la cola del <sup>187</sup>Re no llega a línea de base cuando comienza a eluir el <sup>187</sup>Os, por lo que ambos elementos se interfieren. La **Figura D.50** muestra este hecho. Dado que se espera baja señal del <sup>187</sup>Os en muestras reales, es imprescindible que el renio llegue a línea de base antes de la elución del osmio.

### Molibdenita San Finx con patrones

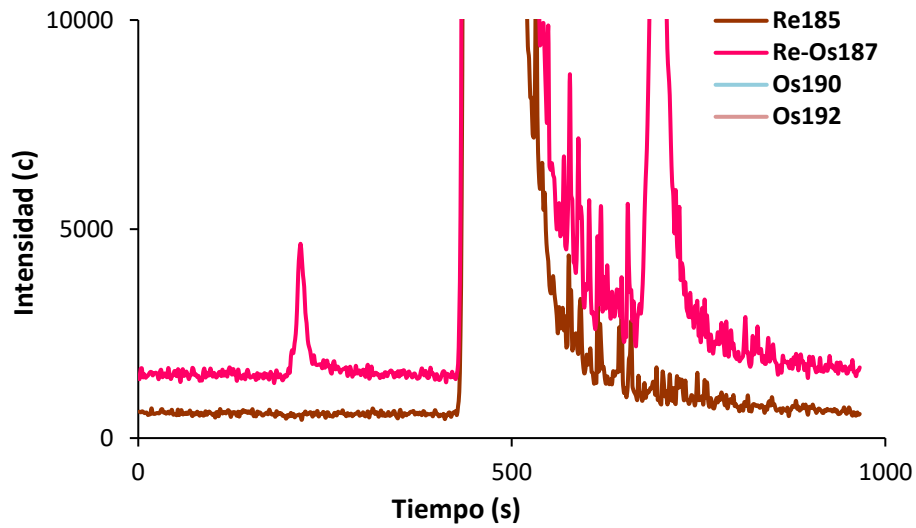


Figura D.50. Ampliación del cromatograma mostrando la cola del renio en el pico del osmio.

En el caso de la acidificación de las sales, el citrato amónico y el nitrato amónico a pH 5 son los que mejor respuesta tienen completando la separación en 2600 s como se muestra en la **Tabla D.25**.

**Tabla D.25 Tiempos de retención para diferentes fases móviles acidificadas.**

<b>Fase móvil</b>	<b>pH</b>	<b>tr Re (s)</b>	<b>tr Os (Os)</b>
Citrato amónico	3	1500	3000
Citrato amónico	4	1400	2800
Citrato amónico	5	1300	2600
AEDT	5	-	-
Cloruro amónico	5	1800	3600
Nitrato amónico	5	1800	

Finalmente, para la separación Re-Os en la columna AS9-HC 4 X 250 mm se obtuvo una fase móvil óptima, la de citrato amónico 100 mM a pH básico, cuyos tiempos de retención son los descritos en la **Tabla D.25**.

En conclusión, una vez realizadas pruebas con distintas columnas cromatográficas, fases móviles y distintos pH se determinó que las condiciones cromatográficas óptimas para la separación Re-Os en medio básico son las indicadas en la **Tabla D.26**. A pesar de que la separación cromatográfica es más rápida con la misma fase móvil a pH 5 se ha optado por utilizar el pH 8-9 para evitar la acidificación del osmio en la columna cromatográfica.

**Tabla D.26. Condiciones cromatográficas para la separación Re-Os en molibdenitas.**

<b>Columna</b>	AS9-HC 2 x 250 mm
<b>Fase móvil</b>	ácido cítrico 100 mM + amoníaco 500 mM (exceso de amoníaco)
<b>Volumen de inyección</b>	100 µl
<b>pH</b>	básico (8-9)

## 4.2. Cuantificación del renio

Una vez optimizada la separación cromatográfica y escogida la fase móvil se hizo un seguimiento de la cromatografía en el espectrómetro de masas DF-ICP-MS Element 2, equipo que permite obtener la precisión necesaria para realizar la cuantificación del renio. En la **Tabla D.27** se indican los parámetros instrumentales aplicados para el análisis de las muestras, trabajando siempre en baja resolución.

**Tabla D.27 Parámetros experimentales aplicados en Element 2 para el análisis de la molibdenita.**

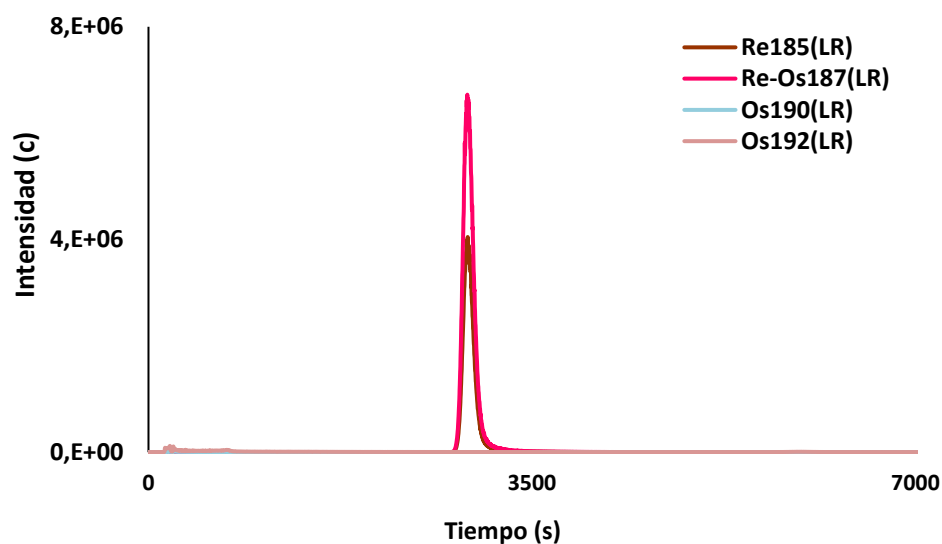
### Parámetros experimentales del Element 2 DF-ICP-MS

Potencia aplicada	1200 W
Flujo del gas plasmógeno	15 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas auxiliar	0,8 L min <sup>-1</sup> - 1 L min <sup>-1</sup>
Flujo del gas portador	0,9 L min <sup>-1</sup> - 1 L min <sup>-1</sup>
Tiempo de integración	1 s
Número de ciclos (" <i>Runs</i> ")	6500 por bloque
Número de bloques (" <i>Passes</i> ")	1

### 4.2.1. Molibdenita Henderson

En este caso los análisis se realizaron con la fusión alcalina en mufla del material de referencia certificado NIST 8599 Molibdenita Henderson con la fase móvil de 100 mM de citrato amónico con 500 mM de amoniaco. El pH de esta fase móvil está entre 8 y 9.

## Molibdenita Henderson



**Figura D.51 Separación cromatográfica Re-Os en la molibdenita Henderson con fase móvil de citrato amónico.**

El cromatograma de la **Figura D.51** muestra un pico de renio estrecho y gaussiano con la una señal de más de 6 millones de cuentas para el <sup>187</sup>Re, el isótopo mayoritario del renio. La **Figura D.52** muestra la ampliación del pico cromatográfico del renio a los 3000 s y el pico del osmio a los 6000 s. En este caso es importante resaltar que la molibdenita Henderson no tiene más osmio que el procedente del decaimiento radiactivo del <sup>187</sup>Re, por lo que la señal presente de otros isótopos de osmio en el cromatograma se debe a contaminación procedente seguramente de la columna cromatográfica o el sistema de entrada de la muestra.

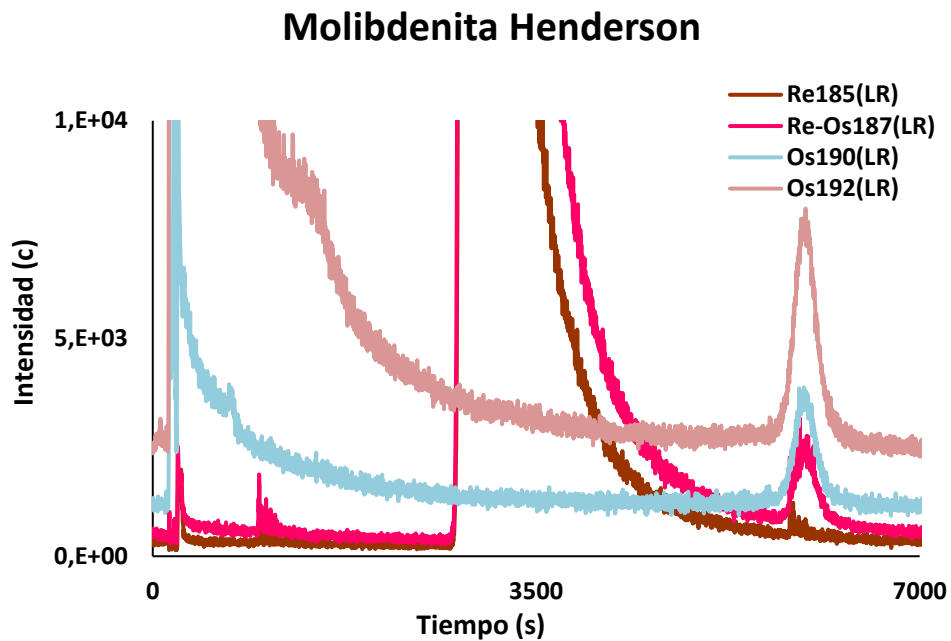


Figura D.52. Ampliación del cromatograma mostrando la cola del renio y el pico del osmio.

Una vez limpiada la columna y el sistema de entrada se analizó una nueva fusión alcalina de Molibdenita Henderson a la que se le añadió el trazador de  $^{185}\text{Re}$  y el patrón de osmio. Como resultado, la **Figura D.53** muestra la señal del renio en el que se puede ver como el isótopo mayoritario ahora es el 185 proveniente del trazador añadido a la molibdenita.



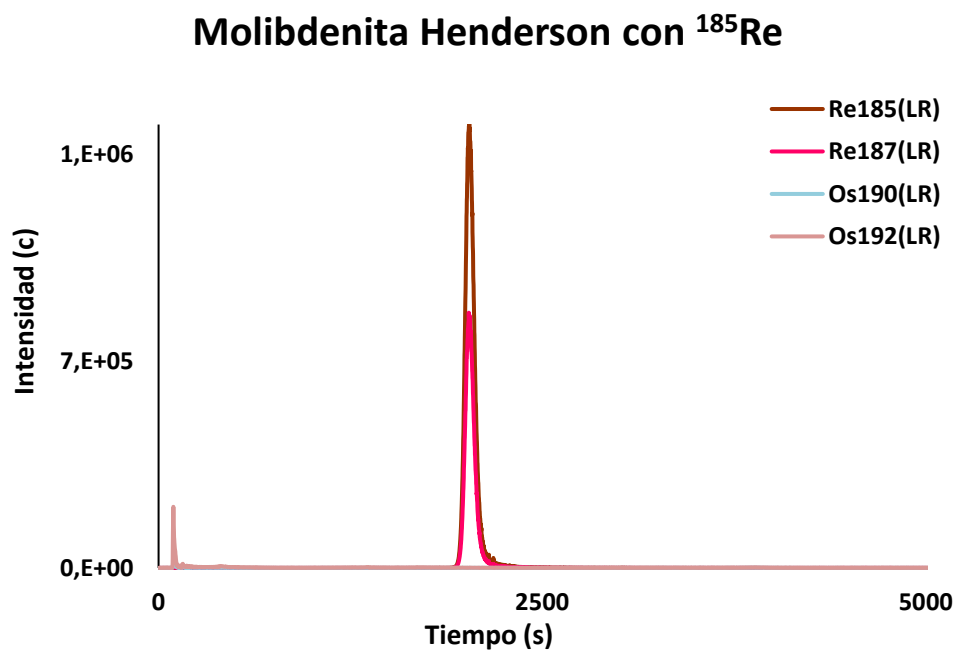


Figura D.53. Molibdenita Henderson marcada con  $^{185}\text{Re}$ .

La ampliación del cromatograma (Figura D.54) muestra una señal de osmio muy escasa, el isótopo mayoritario tiene 1500 c mientras que el minoritario, el 187 no se distingue apenas del fondo y se asume que la señal de la masa 187 es la suma del natural más el patrón. En este caso, debido a la baja concentración del osmio en la muestra el espectrómetro de masas no es capaz de detectarlo imposibilitando, por tanto, la cuantificación del osmio.

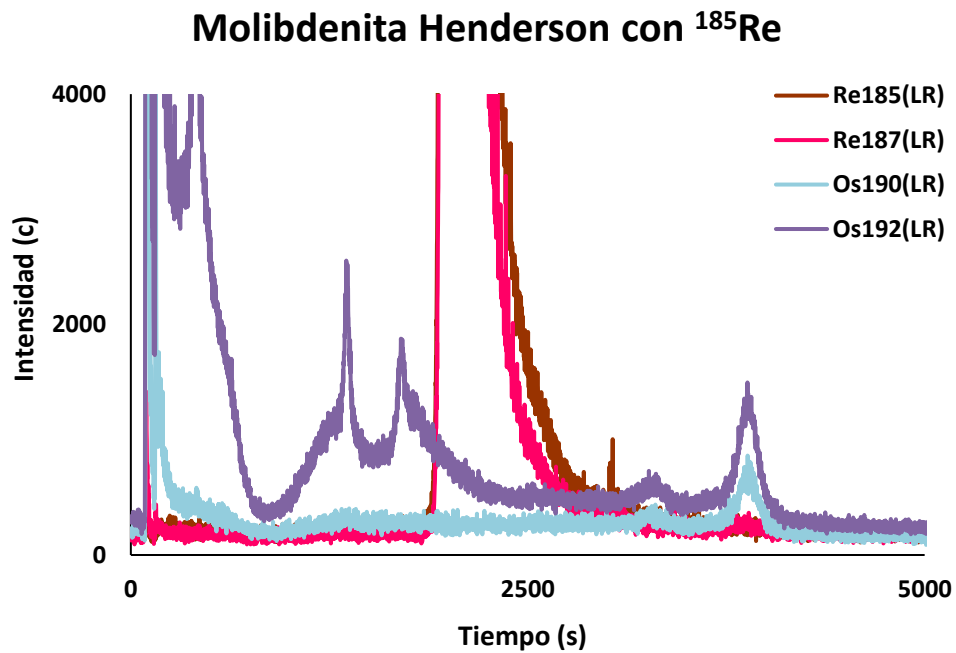


Figura D.54. Ampliación de la Figura D.58

Con el fin de obtener una mayor señal de osmio se realizaron dos pruebas sobre las muestras, extracción en fase sólida para preconcentrar el osmio y una separación con vapor frío.

#### 4.2.1.1. *Extracción en fase sólida*

Puesto que el osmio del material de referencia Molibdenita Henderson no tiene suficiente señal se intentó preconcentrar mediante extracción en fase sólida. Para ello se utilizó una resina cuyo relleno es igual al de la columna cromatográfica utilizada. El objetivo es dejar eluir la matriz preconcentrando el renio y el osmio en el cartucho para luego extraerlo con un eluyente.

La muestra utilizada en esta prueba fue la de fusión alcalina de la molibdenita Henderson mediante los siguientes pasos:

1. Activación y acondicionamiento de la resina con 10 ml de una mezcla 1:1 de metanol y agua ultrapura.
2. Acondicionamiento de los cartuchos con 5 ml de hidróxido de sodio 0,1M.
3. Adición de 1 ml de muestra
4. Limpieza con 5 ml de agua ultrapura
5. Extracción del renio y el osmio con 10 ml de una concentración 100 mM de cloruro amónico. Este proceso se repitió 10 veces sobre la misma muestra para intentar separar el Re del Os.

Además de sin diluir, se hicieron pruebas con la muestra diluída 1:10 y 1:20.

Las muestras recogidas se midieron en el ICP-MS Element 2 mediante nebulización convencional. Los resultados no fueron satisfactorios puesto que a lo largo de las 10 extracciones secuenciales no hubo separación de los analitos y para la masa 187 la señal máxima fue de 30.000 cuentas.

#### **4.2.1.2. Generación de vapor frío**

Otra opción que se barajó para aumentar la señal del osmio en el ICP-MS Element 2 fue evitar la nebulización del osmio. La nebulización tiene menos del 10% de eficacia de transporte sin embargo utilizando el método generación de vapor frío se aumentaría la eficacia de transporte aumentando la sensibilidad. El proceso consiste en retirar el nebulizador de la cámara de nebulización y conectar directamente la columna a la cámara. El flujo de argón que pasa a través de la cámara provocaría la vaporización del osmio pasando este al analizador, el resto de com-

puesto no volátiles no entrarían en el equipo. Esta prueba se realizó con la fase móvil de ácido nítrico a distintas concentraciones añadiendo varios oxidantes postcolumna para aumentar la volatilidad del Os:

- HNO<sub>3</sub> 4% con permanganato potásico (KMnO<sub>4</sub>) 0,1M.
- HNO<sub>3</sub> 2% con permanganato potásico (KMnO<sub>4</sub>) 0,1M.
- HNO<sub>3</sub> 10% con permanganato potásico (KMnO<sub>4</sub>) 0,1M.
- HNO<sub>3</sub> 2% con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 0,1M.
- HNO<sub>3</sub> 10% con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 0,1M.

En todos los casos se obtiene un incremento de señal en el volumen muerto mientras que el osmio apenas incrementa su señal. Por lo tanto, a pesar de introducir oxidantes fuertes y probar distintas concentraciones de estos, no se ha obtenido ninguna respuesta a la generación de vapor frío.

Puesto que en ningún caso se consiguió obtener una buena señal de osmio en la molibdenita Henderson se optó por trabajar sobre la molibdenita de Linares cuya concentración de renio y osmio es conocida y suficientemente elevada.

#### **4.2.2. Molibdenita de Linares**

Según estudios previos realizados en la Universidad de British Columbia (Vancouver, Canadá) las muestras de molibdenita de Linares tienen dos concentraciones de renio y osmio distintas:

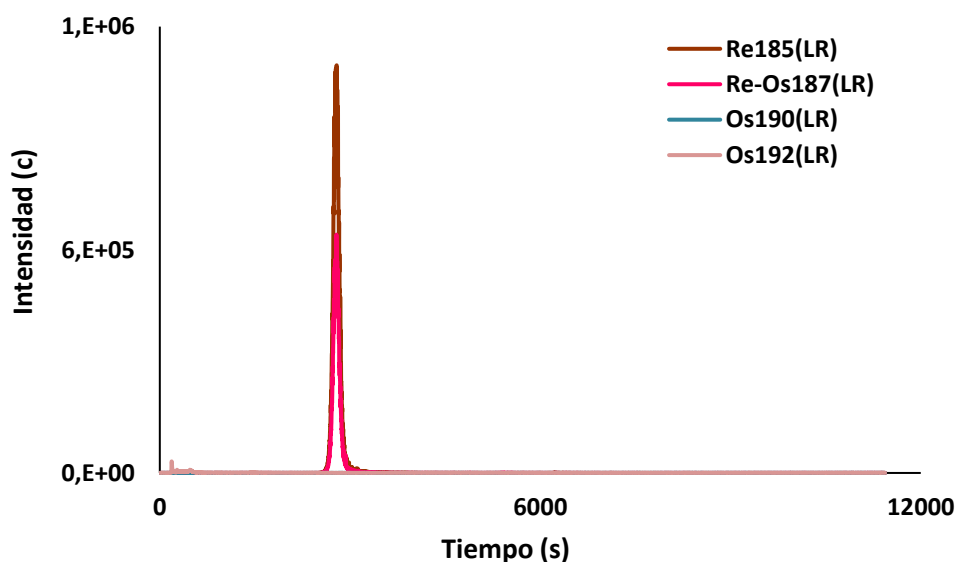
**Tabla D.28. Concentración de renio y de osmio para la molibdenita de Linares y su edad estimada.**

Muestra	Re ppm	± 2s	<sup>187</sup> Os ppb	± 2s	Edad (Ma)	± 2s (Ma)
LIN1X-157.4	20,1	0,05	61,61	0,04	291,9	1,2
LIN4X-197	0,0982	0,0003	0,301	0,002	292	2,1

La zona de recogida de muestras en el campo es la misma que la de referencia LIN1X-157.4, por lo que, estas deberían tener una concentración de 20 ppm de renio y de 60 ppb de <sup>187</sup>Os, lo que permitiría detectar la señal de osmio mediante espectrometría de masas.

Por lo tanto, después de la separación de la molibdenita del granito, se hizo una fusión alcalina en mufla a la que se añadió solamente el trazador de renio para poder monitorizar la señal de osmio presente en la muestra de forma natural.

### Molibdenita Linares con <sup>185</sup>Re



**Figura D.55. Cromatograma de la molibdenita de Linares.**

En el cromatograma de la fusión alcalina (**Figura 55 y 56**) de Linares, el renio alcanza una señal de 600.000 cuentas para el isótopo 187 y un millón de cuentas para el isótopo 185, el marcado. Como en este caso no se añadió un patrón de osmio, el único pico de osmio es el que corresponde con el natural presente en la muestra, el  $^{187}\text{Os}$  proveniente del decaimiento radiactivo del  $^{187}\text{Re}$ .

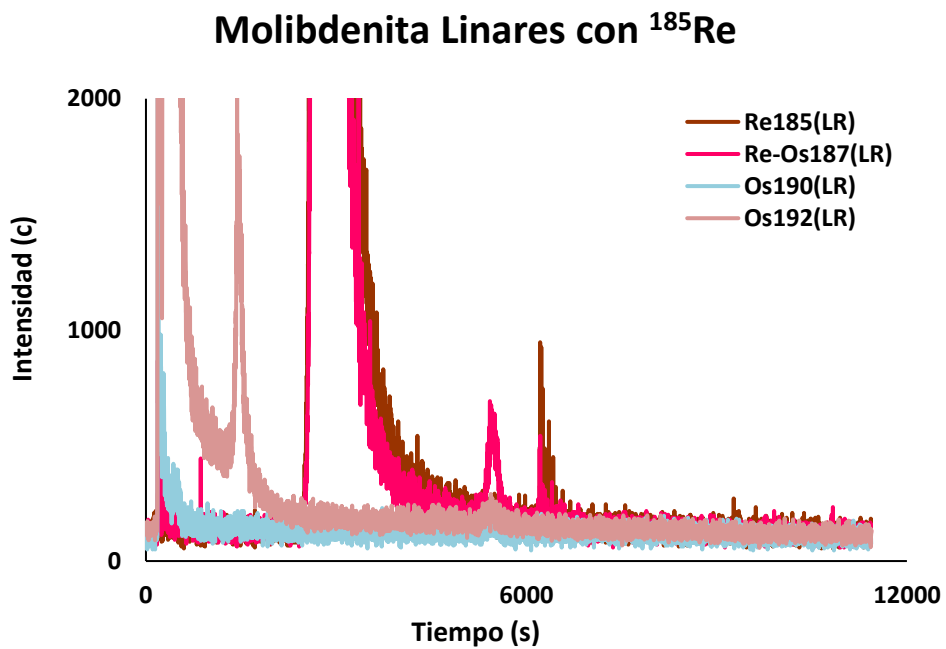


Figura D.56. Ampliación de la Figura D.55 mostrando el pico de  $^{187}\text{Os}$  a los 6000 s.

#### 4.2.2.1. Tratamiento de los datos y resultados obtenidos

El tratamiento de los datos se realizó siguiendo los pasos explicados en el capítulo de Experimental, a modo de resumen estos son:

1. Suavizado de los picos cromatográficos.
2. Integración de los picos cromatográficos.
3. Dilución isotópica.

El primer paso tiene la finalidad de suavizar cada pico cromatográfico, eliminando el ruido. Una vez obtenidos los nuevos puntos de cada pico se calcula la línea de base de cada uno de ellos mediante regresión lineal múltiple y se integran mediante el método de los trapecios. Las áreas experimentales de todos los picos cromatográficos corresponden con las abundancias obtenidas de forma experimental. Posteriormente se calculan mediante regresión lineal múltiple las fracciones molares del renio teniendo en cuenta las abundancias naturales, las del trazador y las experimentales.

Aplicando esta ecuación y con los datos de dos cromatogramas realizados sobre la misma fusión alcalina se obtuvieron los siguientes resultados de concentración de renio. La **Tabla D.29** indica los valores de concentración para este elemento. Como se indica estos valores son coincidentes con el obtenido por el método tradicional expuesto en la **Tabla D.28**.

**Tabla D.29. Concentración de renio para dos réplicas del análisis de la molibdenita de Linares.**

<b>Día</b>	<b>n</b>	<b>Re ppm</b>
1	1	19,810
2	1	19,419

Sin embargo, el tratamiento realizado sobre el osmio no arrojó resultados, puesto que debido a la baja señal del osmio y la poca resolución alcanzada por el equipo fue imposible determinar la concentración de este elemento en la muestra.

## 5. Conclusión

En el presente capítulo se ha desarrollado un método de separación de renio y osmio on-line, mediante HPLC-ICP-MS como método alternativo a la separación off-line que implica preparación de muestra y separación del renio y el osmio mediante procedimientos mucho más largos, complejos y en algunos casos peligrosos y el posterior análisis mediante espectrometría de masas de ambos elementos por separado.



## **E. CONCLUSIONES**



Las técnicas analíticas basadas en el uso de la espectrometría de masas son la base sobre la que se fundamenta el estudio de ciertos procesos geológicos ocurridos en la Tierra tanto en el pasado como en la actualidad.

Por un lado, los métodos de datación geocronológica fechan de forma precisa el momento de cristalización de ciertas fases minerales, lo que permite incluir en una escala temporal el proceso geológico bajo el que esos minerales se formaron.

Por otro lado, el estudio de la variabilidad natural de ciertos isótopos de un mismo elemento, cuya mínima variación natural estudiada frente a un isótopo estable, ha permitido determinar el origen de ciertas rocas o sedimentos, así como establecer la correlación entre estos y con otros procesos y materiales a los que se encuentren vinculados.

La presente Tesis Doctoral se basa en el desarrollo de métodos de análisis de muestras de naturaleza geológica mediante técnicas de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas. Las conclusiones a este trabajo se detallan a continuación

### **1. Desarrollo de un método de determinación de la relación $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ mediante HPLC-MC-ICP-MS.**

La relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ha permitido diferenciar el origen de ciertas rocas o sedimentos, así como establecer la curva de isótopos de estroncio para el agua de mar. Una consecuencia directa es la posibilidad de correlacionar las rocas carbonatadas con esta curva a nivel mundial. Otra de las consecuencias del estudio de la variabilidad natural del estroncio es su aplicación en procesos de trazabilidad.

- Se ha desarrollado un método mediante cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas con tratamiento de datos mediante regresión lineal múltiple.
- Los resultados obtenidos con la aplicación de este método a muestras de calizas en la región de Normandía son coincidentes con la curva de isótopos de estroncio para el agua de mar dibujada para el periodo de tiempo en el que se formaron.
- Los edificios estudiados en esta región no se pueden correlacionar con las canteras de origen únicamente en base a los valores de los isótopos de estroncio, en este caso se hace necesario otro tipo de análisis geológicos que apoyen el origen de la piedra de construcción.
- La aplicación de este método sobre muestras de viñedos permite correlacionar de forma inequívoca el vino producido en una viña con el suelo de origen mediante la trazabilidad de estroncio desde el suelo, pasando por la vid y la uva hasta llegar al vino. Los resultados obtenidos en distintos viñedos prueban la eficacia del método en suelos de diversos orígenes.

## **2. Desarrollo de un método de separación Re-Os en molibdenitas mediante HPLC-ICP-MS.**

El periodo de formación de un yacimiento consta de sucesivas etapas que se extiende en el tiempo a lo largo de millones de años. En el caso de los granitos o pegmatitas el único método que permite fechar de forma precisa una de estas etapas,

denominada hidrotermal en la que cristaliza la molibdenita, es el método de datación Re-Os. Esta datación permite obtener una información muy valiosa de la formación del yacimiento mineral.

- Mediante cromatografía de líquidos de intercambio aniónico es posible separar el renio del osmio en medio alcalino, y por lo tanto corregir la interferencia isobárica de la masa 187 del renio sobre el osmio. No obstante, el tiempo de retención de ambos elementos se encuentra muy por encima de lo deseable para una separación cromatográfica.
- Mediante HPLC-ICP-MS y aplicando el tratamiento de datos mediante deconvolución de perfiles isotópicos es posible determinar la concentración del renio presente en la muestra de molibdenita. Sin embargo, la detección del osmio mediante esta técnica se hace más complicada debido a la baja concentración que suele presentar en el mineral. Este factor sumado a la alta retención que experimental el osmio en la columna cromatográfica se traducen en la formación de picos anchos y de baja intensidad que impiden su cuantificación.

## **E. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- [1] White, W.M. (2013). *Geochemistry*. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex.
- [2] Goldschmidt, V. M. (1958). *Geochemistry*. Oxford University Press, New York.
- [3] Auboin. J. (1981). *Tratado de Geología*. Ediciones Omega, S.A. Barcelona.
- [4] Faure, G. (1991). *Principles and applications of inorganic geochemistry: a comprehensive textbook for geology students*. Collier Macmillan, London.
- [5] Mason, B. Carleton, B.M. (1982). *Principles of geochemistry*. John Wiley and Sons, New York.
- [6] Goldschmidt, V. M. (1937). The principles of distribution of chemical elements. *J. Chem. Soc.*, 655–673.
- [7] De Laeter J.R., Böhlke J.K., De Bièvre P., Hidaka H., Peiser H.S., Rosman K.J.R., Taylor P.D.P (2003). Atomic weight of the elements: review 2000 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 75, 683-800.
- [8] Attendorn. H. G., Bowen. N.C. (1997). *Radioactive and Stable Isotope Geology*. Chapman and Hall, London.
- [9] Balcaen L, Moens L, Vanhaecke F. (2010) Determination of isotope ratios of metals (and metalloids) by means of inductively coupled plasma-mass spectrometry for provenancing purposes - a review. *Spectrochimica Acta Part B, Atomic Spectroscopy*, 65, 769-786.
- [10] Bowen. R. (1994). *Isotopes in Earth Sciences*. Springer, Dordrecht.



- [11] Steiger, R. H., & Jäger, E. (1977). Subcommittee on geochronology: Convention on the use of decay constants in geo- and cosmochemistry. *Earth and Planetary Science Letters*, 36(3), 359–362.
- [12] Veizer, J. (1989). Strontium Isotopes in. *Ann. Rev. Earth Planet Sci.*, 717(3), 141–167.
- [13] Noll, W. (1934). Geochemie des Strontiums; mit Bemerkungen zur Geochemie des Bariums. *Chemie der Erde*, 8, 507.
- [14] Wickman, F. E. (1948). Isotope Ratios: A Clue to the Age of Certain Marine Sediments. *The Journal of Geology*, 56(1), 61-66.
- [15] De Paolo, D. J., & Ingram, B. L. (1985). High-resolution stratigraphy with strontium isotopes. *Science*, 227(4689), 938–941.
- [16] Hedge C.E. and Walthall F.G. (1963). Radiogenic Strontium-87 as an Index of Geologic Processes Abstract. *Science*, 140, 1214–1217.
- [17] Elderfield, H. (1986). Strontium isotope stratigraphy. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 57(1), 71–90.
- [18] Peterman, Z. E., Hedge, C. E., & Tourtelot, H. A. (1970). Isotopic composition of strontium in sea water throughout Phanerozoic time. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 34(1), 105–120.
- [19] Burke, W. H., Denison, R. E., Hetherington, E. A., Koepnick, R. B., Nelson, H. F., & Otto, J. B. (1982). Variation of seawater  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  throughout Phanerozoic time. *Geology*, 10, 516–519.

- 
- [20] Palmer, M.R., Elderfield, H. (1985). Sr isotope composition of sea water over the past 75 Myr. *Nature*, 314, 526-528.
- [21] Hess, J., Bender, M. L., & Schilling, J. G. (1986). Evolution of the ratio of strontium-87 to strontium-86 in seawater from cretaceous to present. *Science*, 231(4741), 979–984.
- [22] McArthur, J. M., Thirlwall, M. F., Gale, A. S., Kennedy, W. J., Burnett, J. A., Matthey, D., & Lord, A. R. (1993). Strontium isotope stratigraphy for the Late Cretaceous: A new curve, based on the English Chalk. *Geological Society Special Publication*, 70, 195–209.
- [23] McArthur, J. M., Howarth, R. J., & Shields, G. A. (2012). *Strontium isotope stratigraphy*. *The Geologic Time Scale 2012*, 127–144. Elsevier, Amsterdam.
- [24] Amorós Ortíz Villajos, J. A., Bravo Martín Consuegra, S., García Navarro, F. J., Pérez de los Reyes, C., Chacón Vozmediano, J. L., Martínez Gascueña, J., & Jiménez Ballesta, R. (2015). *Atlas de Suelos Vitícolas de Castilla-La Mancha*. F. J. Martínez Carrión. Universidad de Castilla-La Mancha.
- [25] Bastida, F. (2005). *Geología. Una visión moderna de las ciencias de la Tierra (Vol.2)*. Ediciones Trea S.L. Gijón.
- [26] Douchauford, P. (1987). *Manual de Edafología*. Masson, Barcelona.
- [27] Kabata-Pendías. (2001). *Trace elements in soils and plants*. Boca Ratón, London.
- [28] Moyen, C., & Roblin, G. (2010). Uptake and translocation of strontium in hydroponically grown maize plants, and subsequent effects on tissue ion

- content, growth and chlorophyll a/b ratio: comparison with Ca effects. *Environmental and Experimental Botany*, 68(3), 247–257.
- [29] Andersen, A. (1963). Influence of liming and mineral fertilization on plant uptake of radiostrontium from Danish soils. *Soil Science*, 95, 52–59.
- [30] Juo, A., & Barber, S. (1970). The retention of strontium by soils as influenced by pH, organic matter and saturation cations. *Soil Science*, 109, 143–148.
- [31] Horn, P., Schaaf, P., Holbach, B., Hölzl, S., & Eschnauer, H. (1993).  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  from rock and soil into vine and wine. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 196(5), 407–409.
- [32] Lin, J., Zhang, P., Pan, Z., Xu, H., Luo, Y., & Wang, X. (2013). Discrimination of oolong tea (*Camellia sinensis*) varieties based on feature extraction and selection from aromatic profiles analysed by HS-SPME/GC–MS. *Food Chemistry*, 141(1), 259-265.
- [33] Lagad, R. A., Alamelu, D., Laskar, A. H., Rai, V. K., Singh, S. K., & Aggarwal, S. K. (2013). Isotope signature study of the tea samples produced at four different regions in India. *Analytical Methods*, 5(6), 1604-1611
- [34] Reguera-Galan, A., Moldovan, M., & Garcia Alonso, J. I. (2018). The combined measurement of  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratios and  $^{88}\text{Sr}/^{85}\text{Rb}$  elemental ratios using laser ablation MC-ICP-MS and its application for food provenance studies: The case for Asturian beans. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 33(5), 867–875.
- [35] McArthur, J.M., Kennedy, W.J., Chen, M., Thirlwall, M.F., Gale, A.S. (1994). Strontium isotope stratigraphy for the Late Cretaceous: Direct numerical age

- calibration of the Sr-isotope curve for the U.S. Western Interior Seaway. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 108, 95-119.
- [36] Elderfield, H. and Gieskes, J. M. (1982). Sr isotopes in interstitial waters of marine sediments from Deep Sea Drilling Project Cores. *Nature*, 300, 493-497
- [37] Gieskes, J. M., Elderfield, H. and Palmer, M. R. (1986). Strontium and its isotopic composition in interstitial waters of marine carbonate sediments. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 77, 229-235.
- [38] Bailey, T. R., McArthur, J. M., Prince, H., & Thirlwall, M. F. (2000). Dissolution methods for strontium isotope stratigraphy: Whole rock analysis. *Chemical Geology*, 167(3-4), 313-319.
- [39] Li, D., Shields-Zhou, G. A., Ling, H. F., & Thirlwall, M. (2011). Dissolution methods for strontium isotope stratigraphy: Guidelines for the use of bulk carbonate and phosphorite rocks. *Chemical Geology*, 290(3-4), 133-144.
- [40] Bertacchini, L., Durante, C., Marchetti, A., Sighinolfi, S., Silvestri, M., & Cocchi, M. (2012). Use of X-ray diffraction technique and chemometrics to aid soil sampling strategies in traceability studies. *Talanta*, 98, 178-184.
- [41] Durante, C., Baschieri, C., Bertacchini, L., Cocchi, M., Sighinolfi, S., Silvestri, M., & Marchetti, A. (2013). Geographical traceability based on  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  indicator: A first approach for PDO Lambrusco wines from Modena. *Food Chemistry*, 141(3), 2779-2787.
- [42] DIN ISO 19730 (2009-07). Soil quality-Extraction of trace elements from soil using ammonium nitrate solution.

- [43] Milićević, T., Relić, D., Škrivanj, S., Tešić, Ž., & Popović, A. (2017). Assessment of major and trace element bioavailability in vineyard soil applying different single extraction procedures and pseudo-total digestion. *Chemosphere*, 171, 284–293.
- [44] Cocchi, M., Durante, C., Marchetti, A., Li Vigni, M., Baschieri C., Bertacchini, L., et al. (2011). *Microwaves: Theoretical aspects and practical applications in chemistry*. Editor Andrea Marchetti. ISBN: 978-81-7895-508-7
- [45] Durante, C., Baschieri, C., Bertacchini, L., Bertelli, D., Cocchi, M., Marchetti, A., Manzini, D., Papotti, G., & Sighinolfi, S. (2015). An analytical approach to Sr isotope ratio determination in Lambrusco wines for geographical traceability purposes. *Food Chemistry*, 173, 557–563.
- [46] Catarino, S., Trancoso, I. M., Bruno de Sousa, R., & Curvelo-Garcia, A. S. (2010). Grape must mineralization by high pressure microwave digestion for trace element analysis: Development of a procedure. *Ciencia e Técnica Viti-vinicola*, 25(2), 87–93.
- [47] Stevenson, R., Desrochers, S., & Hélie, J. F. (2015). Stable and radiogenic isotopes as indicators of agri-food provenance: Insights from artisanal cheeses from Quebec, Canada. *International Dairy Journal*, 49, 37–45.
- [48] Marchionni, S., Braschi, E., Tommasini, S., Bollati, A., Cifelli, F., Mulinacci, N., Mattei, M., & Conticelli, S. (2013). High-precision  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  analyses in wines and their use as a geological fingerprint for tracing geographic provenance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(28), 6822–6831.

- [49] De Muynck, D., Huelga-Suarez, G., Van Heghe, L., Degryse, P., & Vanhaecke, F. (2009). Systematic evaluation of a strontium-specific extraction chromatographic resin for obtaining a purified Sr fraction with quantitative recovery from complex and Ca-rich matrices. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24(11), 1498–1510.
- [50] Emsley, J. (2011). *Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements*, Oxford University Press, New York.
- [51] Faure, G. (1986). *Principles of Isotope Geology*. John Wiley & Sons, New York.
- [52] Shirey, S. B.; Walker, R. J (1998). Re-Os isotopes in cosmochemistry and high-temperature geochemistry. *Annual Reviews of Earth and Planetary Sciences*, 26, 423-500.
- [53] Correia, C. T., Kirk, J. D., Frick, L. R., Petronilho, L. A., Tassinari, C. C. G., & Sato, K. (2007). The Re-Os isotopic system: Geochemistry and methodology at the Geochronological Research Center (CPGeo) of the University of São Paulo, Brazil. *Geologia USP - Serie Cientifica*, 7(1), 45–56.
- [54] Hart, S.R., Ravizza, G. (1993). Os partitioning in lherzolite and basalts (abstract). *Eos*, 74, 120.
- [55] Rankama, K., Sahama, T.G. (1950). *Geochemistry*. University of Chicago Press.
- [56] Suzuki, K., Shimizu, H., & Masuda, A. (1996). Re-Os dating of molybdenites from ore deposits in Japan: Implication for the closure temperature of the Re-Os system for molybdenite and the cooling history of molybdenum ore deposits. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(16), 3151–3159.

- [57] Ishihara, S., Holly, J. S., & Tanaka, R. (2002). Re-Os age of molybdenite from the Busetsu two-mica granite, central Japan. *Bulletin of the Geological Survey of Japan*, 53(5–6), 479–482.
- [58] Newberry, R.J. (1979b). Polytypism in molibdenite (II): relationship between polytypism, ore deposition/alteration stages and rhenium contents. *American Mineralogist*, 64, 768-775.
- [59] Luck, J. M.; Allègre, C. J. (1982). The study of molybdenites through the  $^{187}\text{Re}$ - $^{187}\text{Os}$  chronometer. *Earth and Planetary Science Letters*, 61, 291-296.
- [60] Sardi, F. G. (2010). Geoquímica del método cronológico Re-Os en molibdenita y su aplicación en un yacimiento de la sierra de Paimán (La Rioja, Argentina). *Acta Geológica Lilloana*, 22(1–2), 3–17.
- [61] Marques, J. C., & Marques, J. C. (2012). Overview on the Re-Os isotopic method and its application on ore deposits and organic-rich rocks. *Geochimica Brasiliensis, Ouro Preto*, 26(1), 49–66.
- [62] Smoliar, M. I., Walker, R. J., Morgan, J. W. (1996) Re-Os ages of group IIa, IIIA, IVA, and IVB iron meteorites. *Science*, 271, 1099-1102.
- [63] Reisberg, L., & Meisel, T. (2002) The Re-Os Isotopic System: A Review of Analytical Techniques. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 26(3), 249–26.

- [64] Herr W., Wolfe R., Eberhardt P. and Kopp E. (1961b) Development and recent applications of the Re/Os dating method. *Radioactive dating and methods of low level counting*. IAEA (Vienna), 499-508.
- [65] Hirt B., Tilton G., Herr W. and Hoffmeister W. (1963) Earth science and meteoritics. North-Holland Publishing Company. Amsterdam, 273-280.
- [66] Fehn U., Teng R., Elmore D. and Kubik P.W. (1986) Isotopic composition of osmium in terrestrial samples determined by accelerator mass spectrometry. *Nature*, 323, 707-710.
- [67] Luck J.M. (1982) Géochimie du rhénium-osmium: Méthode et applications. Ph.D. dissertation, Université de Paris VII.
- [68] Creaser R.A., Papanastassiou D. and Wasserburg G.J. (1991) Negative thermal ion mass spectrometry of osmium, rhenium and iridium. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 55, 397-401.
- [69] Völkening J., Walczyk T. and Heumann K.G. (1991) Osmium isotope determinations by negative thermal ionization mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Physics*, 105, 147-159.
- [70] Schoenberg R., Nögler T.F. and Kramers J.D. (2000) Precise Os isotope ratio and Re-Os isotope dilution measurements down to the picogram level using multicollector inductively coupled plasma-mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 197, 85-94.
- [71] Russ III G.P., Bazan J.M. and Date A.R. (1987) Osmium isotopic ratio measurements by inductively coupled plasma source mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 59, 984-989



- [72] Stein, H.J., Markey, R. J., Morgan, J.W., Hannah, J.L., Scherstén, A. (2001) The remarkable Re-Os chronometer in molybdenite: how and why it Works. *Terra Nova*, 13, 479-486.
- [73] Shirey S.B. and Walker R.J. (1995) Carius tube digestion for low-blank rhenium-osmium analysis. *Analytical Chemistry*, 67, 2136-2141
- [74] Carius L. (1860) Über die Elementaranalyse organischer Verbindungen. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, 116, 1-30.
- [75] Markey, R., Stein, H., & Morgan, J. (1998). Highly precise Re-Os dating for molybdenite using alkaline fusion and NTIMS. *Talanta*, 45(5), 935–946.
- [76] Cohen A.S. and Waters F.G. (1996) Separation of osmium from materials by solvent extraction for analysis by TIMS. *Analytical Chimica Acta*, 22, 269-275.
- [77] Shen J.J., Papanastassiou D.A. and Wasserburg G.J. (1996) Precise Re-Os determinations and systematics of iron meteorites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60, 2887-2900.
- [78] Morgan J.W., Golightly D.W. and Dorrzapf Jr. A.F. (1991) Methods for the separation of rhenium, osmium and molybdenum applicable to isotope geochemistry. *Talanta*, 38, 259-265.
- [79] Walker R.J. (1988) Low-blank chemical separation of rhenium and osmium from gram quantities of silicate rock for measurement by resonance ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 60, 1231-1234.
- [80] Conrads, H., & Schmidt, M. (2000). Plasma generation and plasma sources. *Plasma Sources Science and Technology*, 9(4), 441–454.

- [81] Esteban, L. (1993) La espectrometría de masas en imágenes. Editorial ACK. D.I. Madrid.
- [82] Thomas, R. (2013) Practical guide to ICP-MS. A tutorial for beginners. CRC, Press. Boca Ratón. London.
- [83] Mongay, C. (2005). *Quimiometría*. Universitat de València. Valencia.
- [84] Tan S.H., Horlick G. (1986) Background spectral features in inductively coupled plasma/mass spectrometry. *Applied Spectroscopy*, 40, 445-460.
- [85] Tan S.H., Horlick G. (1987) Matrix-effect observations in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2, 745-763.
- [86] García-Alonso, J.I., Rodríguez-González, P. (2013). *Isotope Dilution Mass Spectrometry*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- [87] Fortunato. G., Mumić. K., Wunderli. S., Pillonel. L., Bosset. J.O., Gremaud. G. (2004) Application of strontium abundance ratios measured by MC-ICP-MS for food authentication. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19, 227-234
- [88] Pin, C., Briot, D., Bassin, C., Poitrasson, F. (1994). Concomitant separation of strontium and samarium-neodymium for isotopic analysis in silicate samples, based on specific extraction chromatography. *Analytical Chimica Acta*, 298, 209–217
- [89] García-Ruiz, S., Moldovan, M., & García Alonso, J. I. (2007). Large volume injection in ion chromatography. Separation of rubidium and strontium for on-

- line inductively coupled plasma mass spectrometry determination of strontium isotope ratios. *Journal of Chromatography A*, 1149(2), 274–281.
- [90] Grindlay. G., Mora, J., De Loos-Vollebregt. M.T.C., Vanhaecke. F., (2014) Evaluation of the multi-element capabilities of collision/reaction cell inductively coupled plasma-mass spectrometry in wine analysis. *Talanta*, 128, 379–385.
- [91] Jakubowski N., Moens. L., Vanhaecke. F. (1998) Sector field mass spectrometers in ICPMS. *Spectrochimica Acta Part B*, 53,1739-1763.
- [92] Tanner S.D. (1992) Space-charge in ICP-MS: calculation and implications. *Spectrochimica Acta Part B*, 47, 809-823.
- [93] Haverkort C.M., Weber A., Katzenberg. M.A., Goriunova. O.I., Simonetti. A., Creaser. R.A. (2008) Hunter-gatherer mobility strategies and resource use based on strontium isotope ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) analysis: a case study from Middle Holocene Lake Baikal, Siberia. *Journal of Archaeological Science*, 35, 1265-1280.
- [94] Rehkämper. M., Halliday. A.N. (1998) Accuracy and long-term reproducibility of lead isotopic measurements by multiple-collector inductively coupled plasma mass spectrometry using an external method for correlation of mass discrimination. *International Journal of Mass Spectrometry*, 181, 123-133.
- [95] Galer. S.J.G. (1999) Optimal double and triple spiking for high precision lead isotopic measurement. *Chemical Geology*, 157, 255-274
- [96] Ingle C.P., Sharp. B.L., Horstwood. M.S.A., Parrish. R.R., Lewis. D.J. (2003) Instrument response functions, mass bias and matrix effects in isotope ratio measurements and semi-quantitative analysis by single and multi-collector ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, 219-229.

- [97] Yang L. (2009) Accurate and precise determination of isotope ratios by MC-ICP-MS: a review. *Mass Spectrometry Reviews*, 28, 990-1011.
- [98] Nelms. S.M., Quérel. C.R., Prohaska. T., Vogl. J., Taylor. P.D.P. (2001) Evaluation of detector dead time calculation models for ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16, 333-338.
- [99] Vanhaecke. F., Moens. L., Dams. R. (1996) Precise measurement of isotope ratios with a double-focusing magnetic sector ICP-mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 68, 567-569.
- [100] Vanhaecke. F., Moens. L., Dams. R., Papadakis. I., Taylor. P. (1997) Applicability of high resolution ICP-mass spectrometry for isotope ratio measurements. *Analytical Chemistry*, 69, 268-273.
- [101] Polo, L.M. (2015). *Fundamentos de Cromatografía*. Dextra editorial. Madrid.
- [102] Papanastassiou, D.A., Wasserburg, G.J.,(1968) Initial strontium isotopic abundances and the resolution of small time differences in the formation of planetary objects. *Earth and Planetary Science Letters* 5, 361–376.
- [103] Weis, D., Kieffer, B., Maerschalk, C., Barling, J., De Jong, J., Williams, G. A., Hanano, D., Pretorius, W., Mattielli, N., Scoates, J. S., Goolaerts, A., Friedman, R. M., & Mahoney, J. B. (2006). High-precision isotopic characterization of USGS reference materials by TIMS and MC-ICP-MS. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 7(8).
- [104] Okai, T., Suzuki, A., Kawahata, H., Terashima, S., & Imai, N. (2002). Preparation of a new Geological Survey of Japan geochemical reference material: Coral JCp-1. *Geostandards Newsletter*, 26(1), 95–99.

- [105] Cepedal, A., Fuertes-Fuente, M., Martín-Izard, A., García-Nieto, J., & Boiron, M. C. (2013). An intrusion-related gold deposit (IRGD) in the NW of Spain, the Linares deposit: Igneous rocks, veins and related alterations, ore features and fluids involved. *Journal of Geochemical Exploration*, 124, 101–126.
- [106] Mortensen, J. K., Martin-Izard, A., Hernandez, M. A. C., Fuertes-Fuente, M., Lima, A., & Creaser, R. (2014). Gold metallogeny of northwestern Iberia: Superimposed orogenic and intrusion-related mineralization in an evolving Variscan Orogen. *SEG Denver 2014 Conference*.
- [107] Garófano Medina, D., Fuertes-Fuente, M., Cepedal, A., & Martin-Izard, A. (2021). The Buenaventura Sector of the San Finx W-Sn Deposit (NW Spain): Ore Mineralogy, Host Rocks and Associated Hydrothermal Alterations. *Environmental Sciences Proceedings*, 6(11), 9358.
- [108] Mangas, J., Arribas, A. (1989) Características de los fluidos hidrotermales asociados a los filones de cuarzo con Sn y W del yacimiento de San Finx, La Coruña, España. *Bol. Soc. Esp. Mineral*, 12 (1), 74-75.
- [109] Seedorff, E.; Einaudi, M.T. (2004) Henderson Porphyry Molybdenum System, Colorado: II. Decoupling of Introduction and Deposition of Metals During Geochemical Evolution of Hydrothermal Fluids; *Economic Geology*, 99, 39–72.
- [110] Markey, R.; Stein, H.J.; Hannah, J.L., Morgan, J.W.; Zimmerman, A.; Selby, D.; Creaser, R.A. (2007) Standardizing Re–Os geochronology: A new molybdenite Reference Material (Henderson, USA) and the stoichiometry of Os salts. *Chemical Geology*, 244, 74–87.

- [111] Morgan, J. W., & Walker, R. J. (1989). Isotopic determinations of rhenium and osmium in meteorites by using fusion, distillation and ion-exchange separations. *Analytica Chimica Acta*, 222(1), 291–300.
- [112] Mc Candless, T.E. (1994). Evaluation of the molybdenite rhenium-osmium geochronometer, and its application to base metal porphyry mineralization. University of Arizona.
- [113] Fietzke, J., Liebetrau, V., Günther, D., Gürs, K., Hametner, K., Zumholz, K., Hansteen, T. H., & Eisenhauer, A. (2008). An alternative data acquisition and evaluation strategy for improved isotope ratio precision using LA-MC-ICP-MS applied to stable and radiogenic strontium isotopes in carbonates. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23(7), 955–961.
- [114] Epov, V. N., Berail, S., Jimenez-Moreno, M., Perrot, V., Pecheyran, C., Amouroux, D., & Donard, O. F. X. (2010). Approach to measure isotopic ratios in species using multicollector-ICPMS coupled with chromatography. *Analytical Chemistry*, 82(13), 5652–5662.
- [115] Russel, L.D. (1971). The systematic of double spiking. *Journal of Geophysical Research*, 76, 4949-4953.
- [116] Kragten, J. (1994). Calculating Standard Deviations and Confidence Intervals with a Universally Applicable Spreadsheet Technique. *Analyst*, 119(10), 2161–2165.
- [117] Savitzky, A., Golay, M. J. E. (1964) Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Analytical Chemistry*, 36, 1627-1639.

- [118] Rodríguez-Castrillón, J.A., Moldovan, M., Ruiz Encinar, J., García Alonso, J.I. (2008) Isotope pattern deconvolution for internal mass bias correction in the characterisation of isotopically enriched spikes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23, 318-324.
- [119] Wickman, F. E. (1948). Isotope Ratios: A Clue to the Age of Certain Marine Sediments. *The Journal of Geology*, 56(1), 61-66
- [120] Gast, P. W. (1955). Abundance of Sr87 during geologic time. *Bulletin of the Geological Society of America*, 66, 1449–1454
- [121] Hedge C.E. and Walthall F.G. (1963). Radiogenic Strontium-87 as an Index of Geologic Processes. *Science*, 140(3572), 1214–1217.
- [122] Pereira, D., & Marker, B. (2016). The value of original natural stone in the context of architectural heritage. *Geosciences (Switzerland)*, 6(1), 1–9.
- [123] Jochum, K. P., Nohl, U., Herwig, K., Lammel, E., Stoll, B., & Hofmann, A. W. (2005). GeoReM: A new geochemical database for reference materials and isotopic standards. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 29(3), 333–338.
- [124] Ballesteros D., Painchault A., Puente-Berdasco B., Nehme C., Todisco D., García Alonso J.I., Varano M., Mouralis D. Sourcing of the chalkstone used for medieval building in Eastern Duchy of Normandy (10th-14th centuries). Submitted for publication.
- [125] Ballesteros D., Painchault A., Nehme C., Todisco D., Varano M., Mouralis D. (2021) Normandy chalkstone (France): geology and historical uses from quarries to monuments. *Episodes* 44(1), 31-42.

- [126] De Muynck, D., Huelga-Suarez, G., Van Heghe, L., Degryse, P., & Vanhaecke, F. (2009). Systematic evaluation of a strontium-specific extraction chromatographic resin for obtaining a purified Sr fraction with quantitative recovery from complex and Ca-rich matrices. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 24(11), 1498–1510.
- [127] Haidekker, A., & Huber, C. G. (2001). Ion chromatography on chelating stationary phases: Separation of alkali metals. *Journal of Chromatography A*, 921(2), 217–226.
- [128] Richens, D. A., Simpson, D., Peterson, S., McGinn, A., & Lamb, J. D. (2003). Use of mobile phase 18-crown-6 to improve peak resolution between mono- and divalent metal and amine cations in ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1016(2), 155–164.
- [129] Balcaen, L., De Schrijver, I., Moens, L., & Vanhaecke, F. (2005). Determination of the  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratio in USGS silicate reference materials by multi-collector ICP-mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 242(2–3), 251–255.
- [130] Baker I. (2018). *Stone. Fifty Materials That Make the World*. Cham: Springer, 229-234.
- [131] Klemm, A., & Wiggins, D. (2016). *Sustainability of natural stone as a construction material. Sustainability of Construction Materials* (Second Edition). Elsevier. United Kindom.
- [132] Wilson, A., & Bowman, A. (2018). *Trade, commerce and the State in the Roman World*. Oxford. Oxford University Press.
- [133] van Lanen, R.J., Jansma, E., van Doesburg, J., & Groenewoudt, B.J. (2016).



- Roman and early-medieval long-distance transport routes in north-western Europe: Modelling frequent-travel zones using a dendroarchaeological approach. *Journal of Archaeological Science*, 73, 120-137.
- [134] Bone, D.A. (2016). Historic building stones and their distribution in the churches and chapels of West Sussex, England. *Proceedings of the Geologists' Association*, 127, 53–77.
- [135] Picavet, P., Reniere, S., Cnudde, V., Clercq, W.D.E., Dreesen, R., Fronteau, G., Goemaere, E., & Hartoch, E. (2018). The Macquenoise sandstone (Devonian – Lochkovian), a suitable raw material for ancient querns and millstones: quarries, properties, manufacture and distribution in France and Belgium. *Geologica Belgica*, 21, 27–40.
- [136] Searler, E. (1988). *Predatory Kinship and the Creation of Norman Power, 840-1066*. Berkeley: University of California Press.
- [137] Webber, N. (2005). *The evolution of Norman Identity, 911-1154*. Woodbridge: Boydell Press
- [138] McNair, F. (2015). The politics of being Norman in the reign of Richard the Fearless, Duke of Normandy (r. 942-966). *Early Medieval Europe*, 23, 308–328.
- [139] Deroin, J.P., & Arribet-Deroin, D. (2001). La pierre de construction en Normandie: extractions à usage local, exploitations d'ampleur régionale. In J. Lorenz & J.P. Gély (Eds.), *Carrières et constructions en France et dans les pays limitrophes. Carrières et Constructions IV* (pp. 67–81). Paris: Comité des travaux historiques et scientifiques.

- [140] Dujardin, L. (2004). Le commerce de la pierre à bâti en Normandie (époques médiévale et moderne). *Matériau et Construction en Normandie du Moyen Âge à nos jours* (pp. 151–159). Saint-Lô: Société d'archéologie et d'histoire de la Manche. G. Gosset & J. Leroy.
- [141] Rožič, B., Gale, L.K., Brajković, R., Popit, T., & Žvab Rožič, P. (2018). Lower Jurassic succession at the site of potential Roman quarry Staje near Ig (central Slovenia). *Geologija*, 61, 49–71.
- [142] Mc Cann, T. (ed.), (2008), *The Geology of Central Europe; Volume 2: Mesozoic and Cenozoic*. Geological Society, London.
- [143] Turcanu-Carutiu, D., and Ion, R.M., (2014). Pre-restoration investigations of the Basarabi chalk monuments diagnosis, treatment and implications. *European Scientific Journal*, 3, 124–134.
- [144] Folk, R.L. (1959). Practical petrographic classification of limestones. *American Association of Petroleum Geologist Bulletin*, 43, 1-38.
- [145] Mortimore, R.N. (2011). A chalk revolution: What have we done to the Chalk of England? *Proceedings of Geologists Association*, 122, 232–297.
- [146] Mortimore, R.N. (2019). Late Cretaceous to Miocene and Quaternary deformation history of the Chalk: Channels, slumps, faults, folds and glacitectonics. *Proceedings of Geologists Association* 130, 27–65.
- [148] Lasseur, E., Guillocheau, F., Robin, C., Hanot, F., Vaslet, D., Coueffe, R., & Neraudeau, D. (2009). A relative water-depth model for the Normandy Chalk (Cenomanian-Middle Coniacian, Paris Basin, France) based on facies patterns

of metre-scale cycles. *Sedimentary Geology*, 213, 1–26.

- [149] Blanc, A., (1991) La pierre de Vernon (Eure) et son utilisation dans les monuments. Carrières et constructions en France et dans les pays limitrophes. In: Lorenz, J., and Beniot, P. (Eds.), Carrières et constructions en France et dans les pays limitrophes. Comité des Travaux Historiques et Scientifiques, Paris, pp. 237–246.
- [150] Faÿ-Gomord, O., Soete, J., Katika, K., Galaup, S., Caline, B., Descamps, F., Lasseur, E., Fabricius, I.L., Saïag, J., Swennen, R., and Vandycke, S., (2016) New insight into the microtexture of chalks from NMR analysis. *Marine and Petroleum Geology*, 75, 252–271
- [151] van Leeuwen, K. A., Prenzler, P. D., Ryan, D., & Camin, F. (2014). Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry for Traceability and Authenticity in Foods and Beverages. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 814–837.
- [152] European Commission. (2002). Reglamento (CE) N° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo. *Diario Oficial de Las Comunidades Europeas*, 9, L 128/8.
- [153] Consell de les Comunitats Europees. (1992). Reglamento (CEE) N° 2081/92 Del Consejo relativo a la protección de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen de los productos agrícolas y alimenticios. 4, 1–9.
- [154] Consejo de la Unión Europea. (2008). Reglamento (CE) n o 479/2008 del Consejo, de 29 de abril de 2008, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola, se modifican los Reglamentos (CE) n o 1493/1999,

- (CE) n o 1782/2003, (CE) n o 1290/2005 y (CE) n o 3/2008. *Diario Oficial de La Unión Europea*, L 148, 1–61.
- [155] Europa. Comissió Europea. (2009). Reglament (CE) 607/2009, de 14 juliol 2009 pel qual s'estableixen determinades disposicions d'aplicació del Reglament (CE) 479/2008 del Consell en quant a les denominacions d'origen i indicacions geogràfiques protegides, als termes tradicionals, a l'etiqu. *Diari Oficial de La Unió Europea. Serie L*, 2009 (193, 24 julio 2009), 60–139.
- [156] Comisi, L. A., Adoptado, H. A., & Presente, E. L. (2010). 11.5.2010. *Diario Oficial de La Unión Europea. L*, 117(3), 13–59.
- [157] MAGRAMA. Encuesta Sobre Superficie y Rendimientos de Cultivos. Available online: [https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/comentariosespana2018\\_tcm30-503558.pdf](https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/comentariosespana2018_tcm30-503558.pdf)
- [158] Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea. (2013). Reglamento (UE) N° 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de diciembre de 2013. *Diario Oficial de La Unión Europea*, L 347/671, 1–184.
- [159] Jiménez-Ballesta, R., Bravo, S., Amorós, J. A., Los Reyes, C. P. De, García-Pradas, J., & García-Navarro, F. J. (2020). Understanding the quality of local vineyard soils in distinct viticultural areas: A case study in alcubillas (la mancha, central Spain). *Agriculture (Switzerland)*, 10(3).
- [160] van Leeuwen, C., & Seguin, G. (2006). The concept of terroir in viticulture. *Journal of Wine Research*, 17(1), 1–10.
- [161] De Andrés-De Prado, R., Yuste-Rojas, M., Sort, X., Andrés-Lacueva, C., Torres, M., & Lamuela-Raventós, R. M. (2007). Effect of soil type on wines produced

from *Vitis vinifera* L Cv. grenache in commercial vineyards. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 779–786.

- [162] Bascones, L., & Martín, D. (1977). Mapa geológico de la Hoja nº 743 (Madri-gueras). Mapa Geológico de España E. 1:50.000. Segunda Serie (MAGNA), Primera edición. IGME.
- [163] Martín, R., Monteserín, V., Rey, C., Martín-Serrano, A., & Herrero, A. (2003). Mapa geológico de la hoja nº 812 (Valdepeñas). Mapa Geológico de España E. 1:50.000. Segunda Serie (MAGNA), Primera edición. IGME.
- [164] Portero, J.M., & Aznar, J.M. (1983). Mapa geológico de la hoja nº 486 (Jadra-que). Mapa Geológico de España E. 1:50.000. Segunda Serie (MAGNA), Pri-mera edición. IGME.
- [165] Nozal, F. (1981). Mapa geológico de la hoja nº 708 (Minas de Santa Quiteria). Mapa Geológico de España E. 1:50.000. Segunda Serie (MAGNA), Primera edición. IGME.
- [166] Hernandez, J., & Pérez, A. (1976). Mapa geológico de la hoja nº 740 (Villarro-bledo). Mapa Geológico de España E. 1:50.000. Segunda Serie (MAGNA), Pri-mera edición. IGME.