



Universidad de Valladolid



TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Determinación de componentes en espeleotemas con fines paleoclimatológicos

Autor: Vanesa Medina Galarza

Tutores:

Dr. Luis Debán Miguel. Depto. Q. Analítica

Universidad Valladolid

Dr. Fernando Jiménez Barredo (CENIEH)

Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana

AGRADECIMIENTOS

El siguiente trabajo ha sido realizado por la alumna Vanesa Medina Galarza del Grado en Química de la Universidad de Valladolid, en el Departamento de Química Analítica con la colaboración del Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), bajo la supervisión del Dr. Luis Debán Miguel y del Dr. Fernando Jiménez Barredo.

El trabajo ha sido realizado con el apoyo financiero de la Junta de Castilla y León (proyecto Ref. VA068G18). "IDENTIFICACIÓN Y MODELIZACIÓN QUIMIOMÉTRICA DE FACTORES NATURALES Y ANTROPOGÉNICOS QUE REGULAN LA MOVILIDAD Y ECOTOXICIDAD DE ELEMENTOS TRAZA TÓXICOS Y RADIONUCLEIDOS EN LA LISTOSFERA"

De la misma forma, agradecer a Francisco de la Rosa, Rosario Gómez y M. Dolores Vázquez la ayuda que me han proporcionado a lo largo de todo el proceso de realización del trabajo.

Por último, pero no menos importante, agradecer el apoyo a todas las personas que han estado día a día conmigo en todo este proyecto, sin ellas no lo hubiera conseguido.

“El 99% del éxito
consiste en insistir”

ÍNDICE

RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
1. ANTECEDENTES E INTRODUCCIÓN	11
1.1. Antecedentes	11
1.2. Fundamento teórico de las técnicas analíticas utilizadas	14
1.2.1. Espectroscopía atómica.....	14
1.2.2. Espectroscopía de emisión con plasma de acoplamiento inductivo (ICP)....	16
1.2.3. Cromatografía de cambio iónico.....	17
1.2.4. Voltamperometría	17
2. OBJETIVOS.....	21
3. MÉTODO ANALÍTICO PARA LA TOMA Y EL TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	25
3.1. Toma y tratamiento de las muestras.....	25
3.1.1. Materiales y reactivos usados	25
3.1.2. Toma de muestra	26
3.2. Digestión de las muestras.....	30
4. MÉTODOS Y RESULTADOS DE LAS MEDIDAS ANALÍTICAS	32
4.1. Absorción y emisión atómica de llama.....	32
4.1.1. Materiales y reactivos para las medidas	32
4.1.2. Discusión de resultados de Espectroscopía Atómica	33
4.2. ICP-OES	37
4.2.1. Material y reactivos:	37
4.2.2. Discusión de resultados de ICP-OES	38
4.3. Voltamperometría	40
4.3.1. Material y Reactivos	40
4.3.2. Discusión de resultados de voltamperometría	40
4.4. Cromatografía.....	48
4.4.1. Material y Reactivos	48
4.4.2. Discusión de resultados de cromatografía.....	49
5. CONCLUSIONES.....	55
6. ANEXOS.....	57
6.1. Sumario de tablas, ilustraciones y gráficos.....	57
6.1.1. Tablas.....	57
6.1.2. Ilustraciones	57
6.1.3. Gráficos	58
7. BIBLIOGRAFÍA.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS EMPLEADAS

Abreviatura	Significado
EA	Espectroscopía Atómica
ICP	Espectroscopía de Emisión con Plasma de acoplamiento Inductivo
LTI	Laboratorio de Técnicas Instrumentales
EAEL	Espectroscopía Atómica de emisión de llama
EAAL	Espectroscopía Atómica de absorción de llama
ICP-OES	Espectroscopía de Emisión con Plasma de acoplamiento Inductivo con Espectrómetro de emisión óptico

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es la determinación de elementos presentes en una estalagmita de entre 50 mil y 150 mil años de antigüedad, cedida por el Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), procedente del levante español.

Las muestras se analizaron por Espectroscopía Atómica, ICP-OES, Voltamperometría y Cromatografía de cambio iónico, determinándose las concentraciones de los metales: sodio, potasio, magnesio, hierro, titanio, estroncio, bario y calcio.

Estos metales tienen importancia debido a que su presencia es indicadora de procesos de formación de suelos, de precipitación-deposición que pueden explicar cambios en la climatología de la región.

Las concentraciones, así como el grosor de las muestras han servido para determinar la climatología de la región colindante a donde se obtuvo la muestra, el magnesio puede ser indicador de hidrotermalismo, esto significa que la relación Mg/Ca revela dichos cambios como consecuencia de la interacción entre la tierra y la atmósfera, también se observan diferencias de grosor de las muestras que dan constancia también de los cambios citados anteriormente.

ABSTRACT

The objective of this work is the determination of elements present in a stalagmite between 50 thousand and 150 thousand years old, assigned by the Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), from the Spanish east.

The samples were analyzed by atomic spectroscopy, ICP-OES, Voltammetry and ion exchange chromatography, determining the concentrations of metals: sodium, potassium, magnesium, iron, titanium, strontium, barium and calcium.

These metals are important because their presence is indicative of soil formation and precipitation-deposition processes that can explain changes in the climate of the region.

The concentrations, as well as the thickness of the samples have been used to determine the climatology of the adjacent region where the sample was obtained, magnesium can be an indicator of hydrothermalism, this means that the Mg/Ca ratio reveals these changes as a consequence of the interaction between the earth and the atmosphere, there are also differences in the thickness of the samples that also show the changes mentioned above.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1. ANTECEDENTES E INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

En el siguiente trabajo se trata la relación que existe entre ciertos metales presentes en sedimentos procedentes de la costa del levante: Potasio, Sodio, etc., y las fluctuaciones del clima en dicha zona durante el periodo correspondiente en el que se originaron dichas muestras, las cuales han sido datadas en el CENIEH siendo entre 50 mil y 150 mil años de antigüedad.

Los cambios climáticos son procesos recurrentes, se han repetido a lo largo de la historia de la Tierra en distintos periodos y a menudo responden a causas poco conocidas (Rubio, 2012). El cambio climático, es un tema de actualidad del que hacen eco los medios de comunicación sobre todo durante las dos últimas décadas, tratado en bastantes casos desde una visión meramente especulativa y catastrófica, sin embargo, dado que estos cambios se han producido en distintos periodos, el estudio de las modificaciones climáticas en el pasado puede servir para comprender mejor los cambios derivados de la acción asociada a nuestro sistema solar, a la propia del planeta o a la derivada de la actividad antropogénica.

Es bien conocido que periodos de grandes variaciones climáticas, como por ejemplo etapas de glaciación (Rob Raiswell, 2006), inducen cambios abruptos y radicales en el proceso de erosión, este hecho tiene relación directa con los procesos de sedimentación posteriores. Es interesante desde esta perspectiva, relacionar la composición de los espeleosedimentos datados en diferentes épocas con las modificaciones climáticas que ocurrieron en dicho periodo.

Cada cambio en la climatología lleva asociado no solo variaciones en los procesos de sedimentación-deposición, si no también biológicos, la mayor presencia de ciertos metales, como el hierro o el potasio (S.W. Poulon, 2002), hacen alusión a la extinción, en cierta medida, de organismos, normalmente microorganismos, como consecuencia de variaciones en la climatología de la región, haciendo así la determinación de algunas posibles variaciones climatológicas.

Las muestras de estudio utilizadas proceden de una misma estalagmita, cortada en tres caras de las que se obtuvieron las muestras (véase **Ilustraciones 5-7**, apartado **3.1.2 Toma de muestra**).

Las muestras proceden de depósitos tobáceos. Se puede definir una toba como una piedra caliza muy porosa y ligera, formada por la reacción del dióxido de carbono presente en la atmósfera con la geosfera, cuando las precipitaciones llegan al suelo, vegetación u organismos provocan procesos hidrotermales con el resultado de la difusión de los elementos, procedentes de la biosfera, en el interior de los sedimentos espeleológicos (Gonzalez-Amuchastegui.MJ & Serrano-Cañadas.E, 2008).

Los depósitos tobáceos son importantes indicadores paleoambientales y geocronológicos en las regiones kársticas emplazadas en diversos ámbitos morfoclimáticos (Arenas-Abad.C, 2014). Estos depósitos ofrecen datos paleoambientales, se pueden estudiar los elementos de los que se componen a través de distintas técnicas para obtener información y ponerlo en contexto cronoestratigráfico.

La formación de estos sedimentos que son objeto de estudio, se produce a ritmo muy reducido, expresándose el crecimiento de los sedimentos en milímetros de crecimiento anual.

Las muestras que se emplearon para su estudio fueron del tipo de roca caliza, toba calcárea, piedra caliza muy porosa y ligera. Este tipo de rocas están formadas por los carbonatos que llevan en disolución las aguas procedentes de distintas fuentes de la zona y que se van depositando en los suelos que se encuentran en su paso. La acumulación de sedimentos para la formación de tobas implica un conjunto de procesos donde, además de los hidrológicos, también intervienen otros factores geoambientales

Los procesos físicos químicos que dan lugar a las formaciones de los carbonatos tobáceos vienen derivados de la precipitación del carbonato cálcico como consecuencia de los procesos de intercambio de CO₂ tal y como se puede apreciar en la **Ilustración 1**. A estos procesos contribuyen de forma significativa los cambios en la climatología, sin olvidar el efecto de los organismos vivos y sus reacciones bioquímicas.

Para que se den las formaciones tobáceas mencionadas, se tienen que dar las reacciones correspondientes del dióxido de carbono con el agua y los minerales presentes en el suelo, siendo el calcio uno de los elementos mayoritarios.

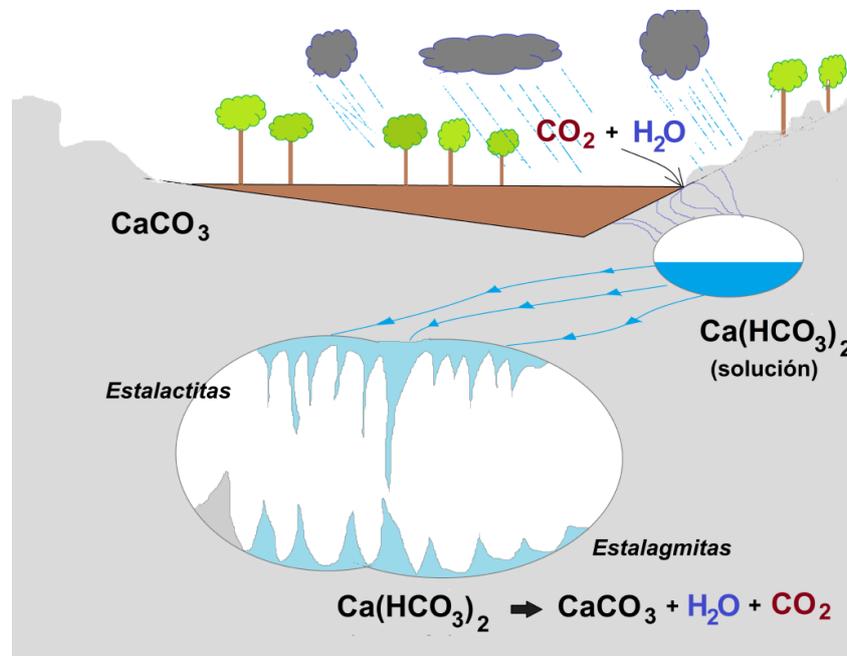


Ilustración 1: Reacción del dióxido de carbono en suelos (Photos, 2020)

Las acumulaciones tobáceas ofrecen un desarrollo estacional contrastado ya que las tasas de crecimiento, en distintas facies carbonáticas alcanzan valores del orden de los 5 mm durante las etapas más cálidas, finales de primavera y verano, aproximadamente el doble de los registrados durante los periodos más fríos, unos 2,26 mm (C, 2014) (M, G, & Sancho-Marcén.C, 2010; J.A. Cruz, 2015).

La calcificación de láminas superpuestas con diferentes características en cuanto a la variación del color, tamaño etc., permite evaluar la mayor o menor rapidez de la sedimentación en función de los flujos de caudal, pero también otras variaciones asociadas a procesos biológicos y de insolación.

En este trabajo se contó con muestras procedentes de una estalagmita, cedida por el Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), obtenida en una zona próxima a la costa del levante. El método analítico usado, desde la toma de muestra hasta su tratamiento y posterior análisis, se ha realizado según un protocolo

desarrollado por el CENIEH (Galarza, 2017). Según la información recibida, el sedimento debe estar formado por carbonatos, como anión mayoritario, y cationes calcio, como catión mayoritario. Al tratarse de una muestra que pertenece a una estalagmita, se conocen otros componentes minoritarios que pueden estar presentes en este tipo de sedimentos, de los cuales se van a estudiar Mg, Na, K, Sr, Ti, Fe y Ba ya que se sospecha que su ausencia o presencia en una mayor o menor concentración con respecto al catión mayoritario, Ca, puede estar relacionados con cambios geoambientales.

Como base del trabajo se planteó la determinación en el sedimento de otros elementos minoritarios como: Mg, Na, K, Sr, Ti y Fe por diferentes técnicas con el fin de contrastar los resultados obtenidos por las mismas. Además se estudió la idoneidad de las técnicas empleadas para el análisis de estos elementos en este tipo de muestras, a partir de los resultados obtenidos poder proponer alguna explicación sobre posibles rastros de cambios climático durante la formación del citado espeleotema.

1.2. Fundamento teórico de las técnicas analíticas utilizadas

Previa digestión de las muestras, las muestras se analizan por diferentes técnicas cuyo fundamento teórico se describe a continuación.

1.2.1. Espectroscopía atómica

Las técnicas de espectroscopía atómica se clasifican en función de la forma de atomizar la muestra:

- Absorción
- Emisión

1.2.1.1. Atomización por llama

Tanto en los procesos de emisión como en los de absorción, la muestra se nebuliza y se mezcla con comburente y combustible para ser arrastrada a la una llama de

aire/acetileno. El disolvente se evapora en la base de la llama, las partículas que resultan son arrastradas a la región central de la llama, donde se forman los átomos.

La llama de aire/acetileno, alcanza temperatura de 2100-2400°C, con esta llama se favorece la formación de átomos neutros y se minimiza la formación de óxidos no deseados que serán difíciles de eliminar y causarán interferencias en la medida.

1.2.1.2. Espectroscopía de emisión de llama

Los átomos de la muestra son excitados, la radiación la emiten a diferentes longitudes de onda según el elemento a determinar. La intensidad de la misma a la longitud de onda elegida, está relacionada con la concentración del elemento en la muestra

1.2.1.3. Espectroscopía de absorción de llama

La espectroscopía de absorción atómica (Douglas A.Skoog, Sexta Edición) de llama, emplea una fuente de radiación externa, una lámpara de cátodo hueco (**Ilustración 2**), adecuada para cada elemento, emite radiación a la misma longitud de onda que las absorbidas por dicho elemento cuando se atomiza en la llama, a una determinada temperatura.

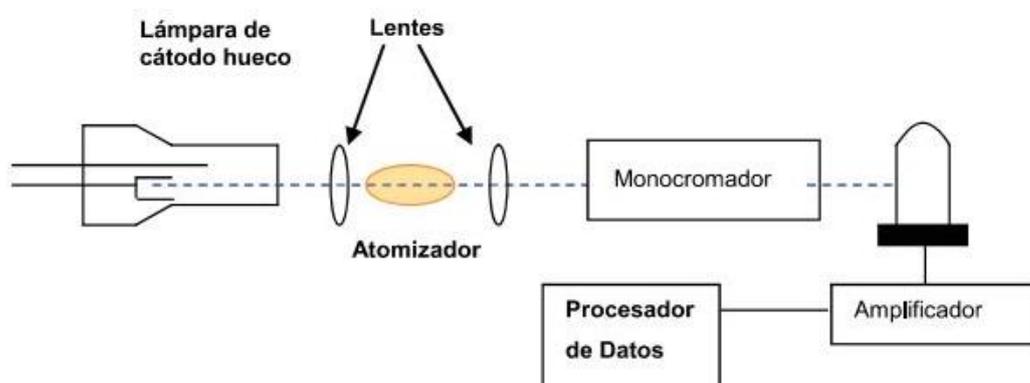


Ilustración 2: Esquema de espectrómetro de absorción atómica (Douglas A.Skoog, Sexta Edición)

1.2.2. Espectroscopía de emisión con plasma de acoplamiento inductivo (ICP)

Un plasma, tal como se puede apreciar en la **Ilustración 3**, es una mezcla gaseosa eléctricamente conductora que contiene una concentración importante de cationes y electrones. En el plasma de argón, los iones una vez formados en el plasma son capaces de absorber suficiente energía de una fuente externa para conservar la temperatura en un nivel en el que la ionización pueda alcanzar hasta temperatura de 10 000 K.

La muestra en disolución es succionada, nebulizada y arrastrada hasta la antorcha donde se descompone en iones en estado excitado, emitiendo una radiación con una longitud de onda asociada y característica de cada elemento.

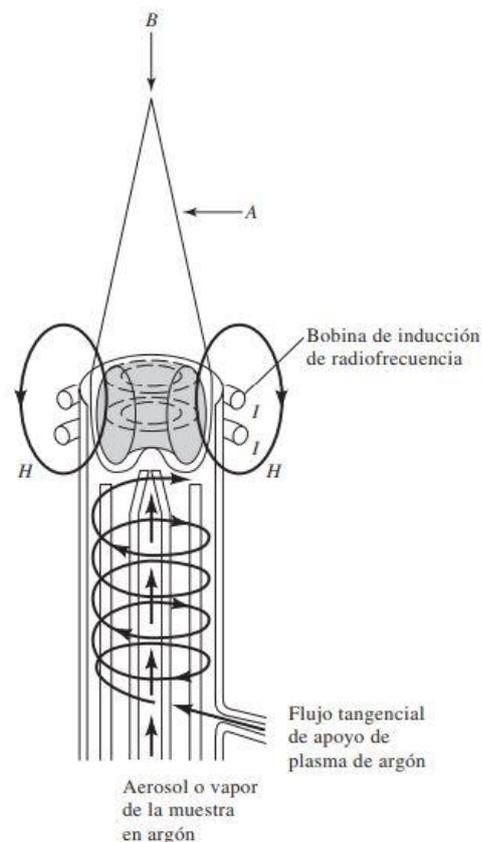


Ilustración 3: Esquema de llama de ICP (Douglas A.Skoog, Sexta Edición)

1.2.3. Cromatografía de cambio iónico

La cromatografía es un método de separación de componentes en mezclas. En esta técnica la muestra en disolución, se inyecta y mezcla con una fase móvil, la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria, inmisible y fija en una columna con grupos funcionales iónicos que interaccionan con los de la especie a determinar.

La elección de ambas fases es crucial para la separación de los componentes de la mezcla. Los componentes de la muestra se distribuyen en diferentes grados entre la fase móvil y la estacionaria. Los componentes que sean muy retenidos por la fase estacionaria se moverán con menor velocidad a través de la columna, sin embargo, aquellos componentes que no sean muy retenidos por la fase estacionaria se moverán con más rapidez a través de la columna. Los picos resultantes son la respuesta de detectores conductimétricos como resultado de la separación de los componentes (M. Valcárcel, 1998).

1.2.4. Voltamperometría

La voltamperometría es una técnica electroquímica en la que se estudia cómo varía la intensidad de la corriente al pasar a través de una muestra en una celda de trabajo en función de un potencial aplicado. La intensidad medida, a un determinado potencial, está relacionada con la especie presente en la misma y su concentración. En este trabajo, se realiza un análisis por voltamperometría cíclica sobre un electrodo de pasta de carbono grafito, a fin de identificar las especies de hierro y de titanio presentes en la muestra, en estado sólido, para comprobar el estado de oxidación de dichos elementos.

Los sistemas del hierro (II)/ hierro (III) y titanio (III)/ titanio (IV) son reversibles. (véase **Tabla 7**, apartado **4.3 Voltamperometría**).

Los análisis se registran empezando por el potencial de la celda a intensidad de corriente cero. El potencial varía desde el potencial inicial hasta el potencial final de oxidación o

reducción en función del proceso que se quiera estudiar, luego el sentido del barrido se invierte y vuelve hasta el potencial original.

En el caso de análisis, se hicieron dos barridos. El primero hacia potenciales de oxidación, siendo el primer potencial 0.9 V hasta llegar a -0.65 V. En el segundo barrido, hacia potenciales de reducción el primer potencial fue -0.65 V hasta 0.9 V.

En ambos barridos se fijaron ciertos parámetros:

- Velocidad de barrido: 0.001 V/s
- Ventana de potencial: de 0.9 V hasta -0.9V

El sistema de medida consta de tres electrodos: electrodo de trabajo, de referencia y auxiliar tal y como se puede apreciar en la **Ilustración 4**. El electrodo auxiliar junto con el electrodo de trabajo miden la intensidad de la celda en función de las reacciones que tienen lugar en la misma, el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo regulan el potencial.

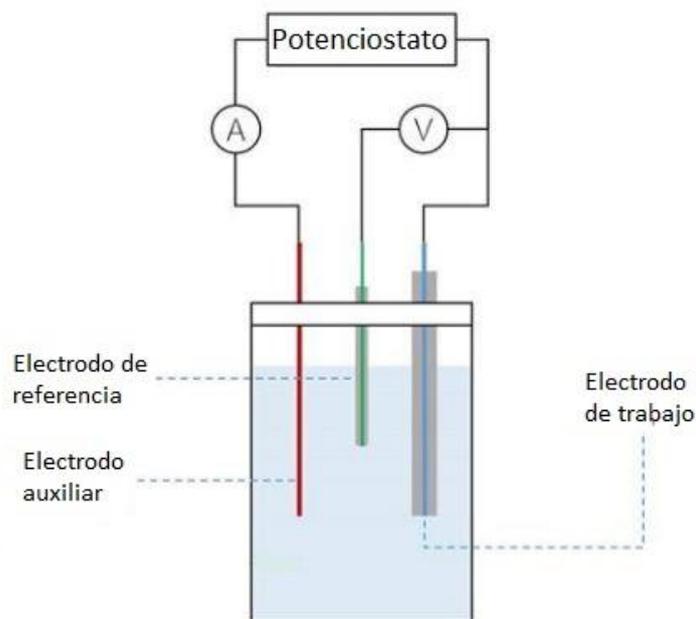


Ilustración 4: Sistema de electrodos voltamperometría (Photos, 2020)

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Este trabajo tiene los siguientes objetivos:

- Determinación de sodio, potasio, magnesio, hierro, bario, estroncio, titanio y calcio por espectrometría de emisión o de absorción.
- Determinar el estado de oxidación del hierro y titanio por voltamperometría.
- Discusión de los resultados obtenidos mediante las distintas técnicas.
- Relacionar las cantidades de algunos metales determinados presente en la muestra y valorar su relación con posibles cambios climáticos.

CAPÍTULO 3: MÉTODOS ANALÍTICOS Y RESULTADOS

3. MÉTODO ANALÍTICO PARA LA TOMA Y EL TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

3.1. Toma y tratamiento de las muestras

3.1.1. Materiales y reactivos usados

Material

- Herramienta Dremell
- Broca del 0.032514568
- Balanza analítica
- Filtros de nylon de 0.45 μm
- Jeringas
- Botes de polietileno
- Centrífuga
- Material de vidrio
- Horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE
- Seis tubos de digestión de teflón, con sus correspondientes tapas, aros de sujeción y placas adaptadoras.
- Un rotor donde se acoplan los seis tubos de teflón.
- Carrusel donde se acopla el rotor con los tubos.
- Llave dinamométrica para abrir y cerrar los tubos.

Reactivos

- Ácido nítrico concentrado 65%
- Agua oxigenada 30%
- Agua desionizada calidad MiliQ

3.1.2. Toma de muestra

Se tomaron muestras de diferentes zonas de la estalagmita, tal y como se indica en las **Ilustraciones 5-7**. Para ello se utilizó un sistema de taladro con brocas de 0.25mm de diámetro para llevar a cabo una toma de muestra de alta precisión, dada la importancia de las capas.

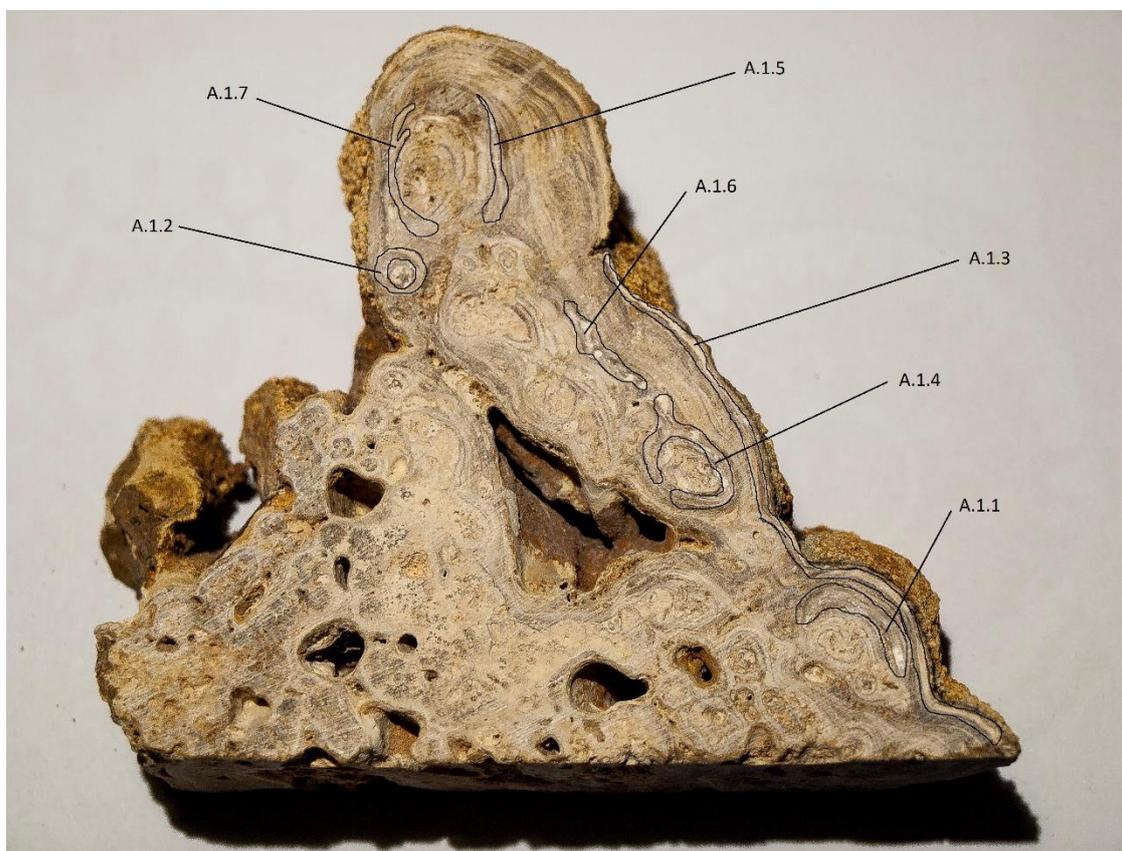


Ilustración 5: Localización de las muestras de la cara A.1

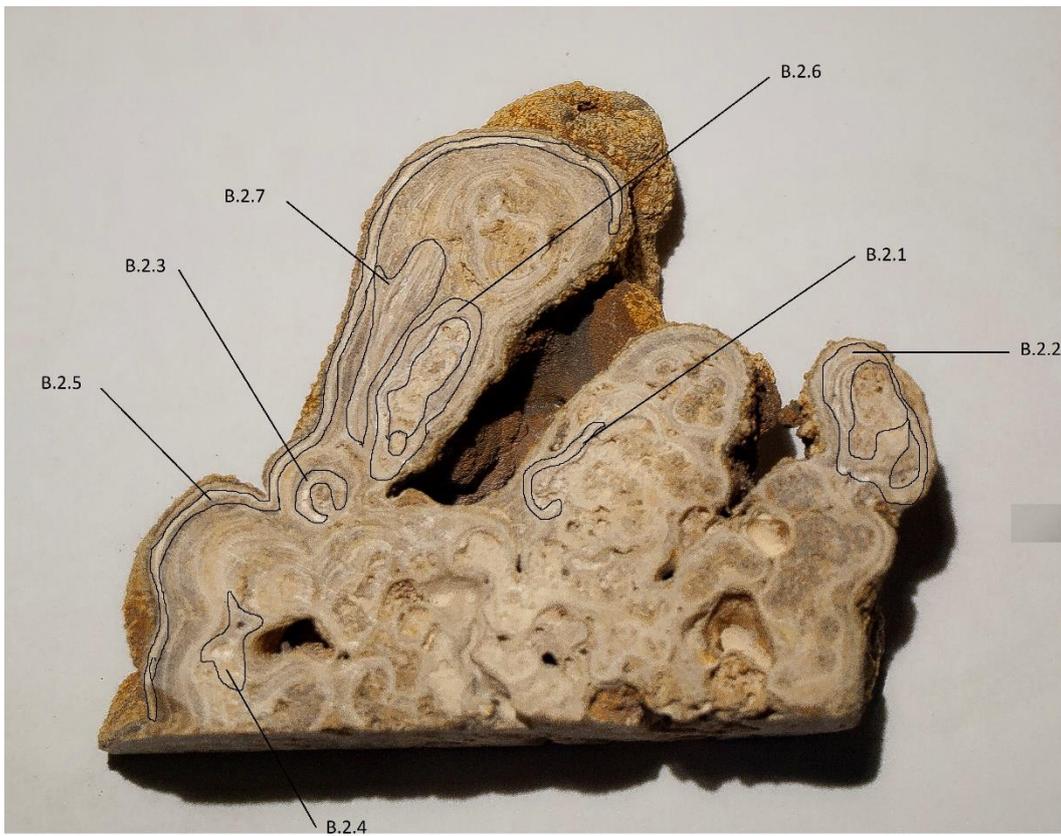


Ilustración 6: Localización de las muestras de la cara B.2

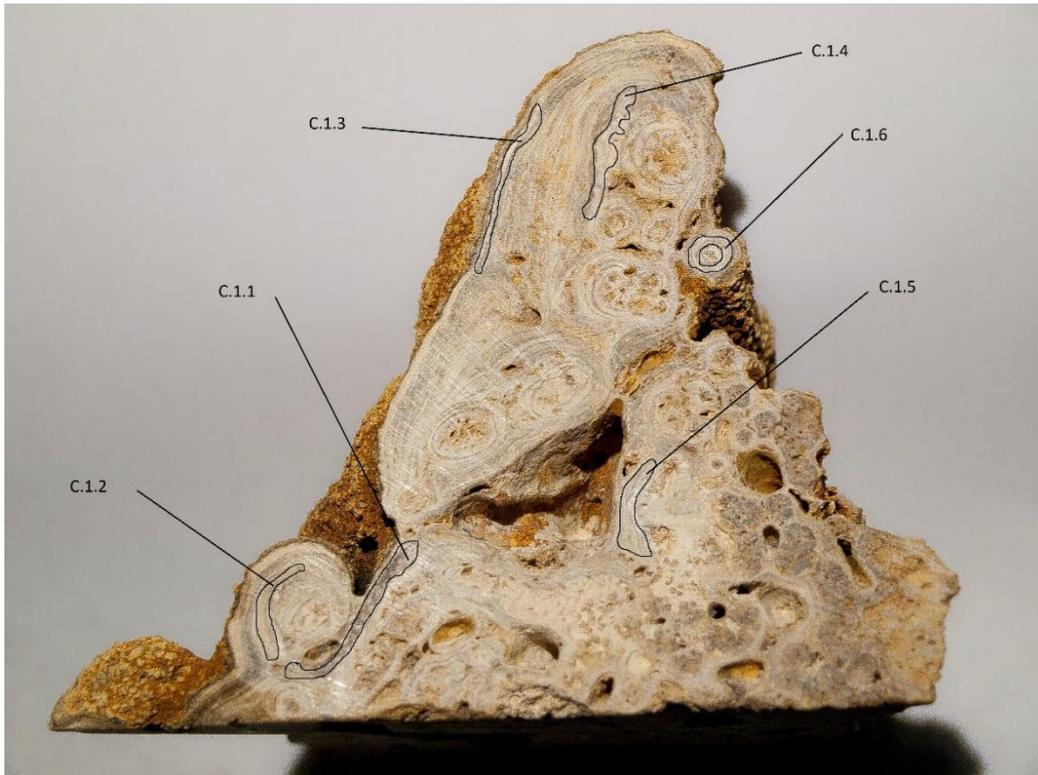


Ilustración 7: Localización de las muestras de la cara C.1

El proceso de toma fue complicado por la precisión que exige. Consistió en primer lugar, en señalar las zonas de interés, seguido del uso de un taladro de forma manual y minuciosa de forma que cada muestra estuvo formada por una de las capas señaladas, es relevante señalar la dificultad del proceso, ya que estas son producto de la difusión de agua con minerales a través de la tierra y de la estalagmita, y por tanto cada capa varía en color, grosor y espesor, en función de los procesos geoambientales que afectaron a su formación.

La elección de las zonas se realizó en base a dos parámetros, su profundidad y distancia al exterior del sedimento, haciendo un total de 7 muestras para dos de las caras (A.1 y B.2) y 6 muestras para la tercera cara (C.1). La cantidad de muestra que se extrajo fue pequeña debido a los problemas mencionados anteriormente. No se extrajeron muestras cercanas a huecos en el sedimento como al exterior del mismo, para evitar zonas sometidas a agentes externos que podrían falsear los resultados.

Las muestras se nombraron, acorde con la cara del sedimento de donde se tomaron, fueron tres caras: A.1 para la primera, B.2 para la segunda y C.1 para la tercera. Siendo las pesadas de las muestras las siguientes:

Cara	Recipiente vacío (g)	Recipiente lleno (g)	Diferencia (g)	Diferencia (mg)
A.1.1	8.4399	8.4613	0.0214	21.4
A.1.2	8.3842	8.3992	0.0150	15.0
A.1.3	8.3348	8.3786	0.0438	43.8
A.1.4	8.3783	8.4026	0.0244	24.4
A.1.5	8.3967	8.4122	0.0155	15.5
A.1.6	8.5331	8.5499	0.0168	16.8
B.2.1	8.5004	8.5139	0.0135	13.5
B.2.2	8.3500	8.3782	0.0282	28.2
B.2.3	8.3535	8.3740	0.0205	20.5
B.2.4	8.6871	8.3703	0.0132	13.2
B.2.5	8.3331	8.3773	0.0442	44.2
B.2.6	8.3368	8.3729	0.0361	36.1
C.1.1	8.5858	8.6015	0.0157	15.7
C.1.2	8.3351	8.3512	0.0180	15.8
C.1.3	8.5675	8.6056	0.0381	38.1
C.1.4	8.3391	8.3598	0.0207	20.7
C.1.5	8.4572	8.4718	0.0146	14.6
C.1.6	8.5230	8.5348	0.0118	11.8

Tabla 1: Pesada de muestras

3.2. Digestión de las muestras

Para la determinación de metales presentes en sedimentos se realizó una digestión ácida por microondas siguiendo el procedimiento descrito por la EPA 3052.

La EPA 3052 (EPA METHOD 3052. MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SILICEOUS AND ORGANICALLY BASED MATRICES) es aplicable para una digestión ácida de sedimentos con matrices de sílice, materia orgánica y otras matrices más complejas, a su vez es aplicable a los elementos que se determinan en este trabajo.

El método analítico para el análisis de sedimentos consta de: una pesada de muestras, digestión de las mismas seguido de diluciones hasta llegar al volumen y concentración adecuada para la técnica usada, ICP-OES, espectroscopía atómica por emisión y absorción y cromatografía de cambio iónico.

Para el proceso de digestión se emplea un microondas, tal y como se puede apreciar en la **Ilustración 8**, se eligieron para este proceso cinco de las muestras que tuvieron mayor masa al ser pesadas. Se introdujeron las muestras en los correspondientes vasos de teflón, seguido de los reactivos necesarios para la digestión, se añadieron 9ml de HNO_3 , 1ml H_2O_2 y 3ml de H_2O desionizada. El HNO_3 aporta el medio ácido, hace posible la oxidación de la materia orgánica que pudiera haber junto con el agua oxigenada que también favorece esta oxidación.

Se transfirieron las muestras pesadas a cada uno de los vasos de teflón y se adicionó los correspondientes reactivos mencionados. Se realiza la digestión comprobando previamente que cada uno de los tubos digestores estén perfectamente cerrados con sus correspondientes tapas.

En el rotor hay seis tubos, cinco de ellos van a ser para las muestras junto con los reactivos, y el sexto es el blanco, que únicamente contiene los reactivos mencionados para la digestión. La digestión acelerada sigue una rampa de temperaturas, empezando por la temperatura de laboratorio (20°C), aumentando la temperatura de forma progresiva hasta $180^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ la cual se mantiene por 19 minutos. El proceso entero de digestión dura aproximadamente 1h 30 min. Una vez pasado ese tiempo se dejó enfriar

el microondas hasta la temperatura de laboratorio, a continuación, se abren los tubos digestores y se sacan las muestras para su posterior análisis.



Ilustración 8: Horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE

En las siguientes tablas se muestran las masas y posiciones de las muestras en cada digestión por microondas.

1. DIGESTIÓN NÚMERO UNO:

Rotor	1	2	3	4	5	6
Muestra	A.1.5	A.1.3	A.1.4	A.1.1	A.1.6	BLANCO
Masa (mg)	15.5 mg	43.8 mg	24.4 mg	21.4 mg	16.8 mg	-

Tabla 2: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara A.1

2. DIGESTIÓN NÚMERO DOS:

Rotor	1	2	3	4	5	6
Muestra	B.2.3	B.2.5	B.2.7	B.2.2	B.2.6	BLANCO
Masa (mg)	20.5 mg	44.2 mg	34.7 mg	28.2 mg	36.1 mg	-

Tabla 3: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara B.2

3. DIGESTIÓN NÚMERO TRES:

Rotor	1	2	3	4	5	6
Muestra	C.1.5	C.1.1	C.1.2	C.1.3	C.1.4	BLANCO
Masa (mg)	14.6 mg	15.7 mg	15.8 mg	38.1 mg	20.7 mg	-

Tabla 4: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara C.1

Terminado el proceso de digestión, con el fin de separar de la disolución posibles partículas sólidas presentes en la misma, se llevaron las muestras a tubos de centrifuga y se centrifugó a 2750 rpm durante diez minutos. Las disoluciones de las muestras, una vez centrifugadas se filtraron con filtros de nylon de 0.45 μm de poro y se pasan a matraces de 25 ml enrasando con agua desionizada para su posterior análisis.

4. MÉTODOS Y RESULTADOS DE LAS MEDIDAS ANALÍTICAS

Se realizaron una serie de pruebas analíticas a las muestras una vez se realizó el tratamiento y digestión de las mismas.

4.1. Absorción y emisión atómica de llama

4.1.1. Materiales y reactivos para las medidas

Material

- Espectrómetro de emisión y absorción atómica VARIAN (**Ilustración 9**)
- Material de vidrio y plástico

Reactivos

- Agua desionizada calidad MiliQ
- Patrones de sodio, potasio y magnesio

4.1.2. Discusión de resultados de Espectroscopía Atómica

El procedimiento más adecuado para la determinación espectroscópica de los elementos de estudio, en concreto sodio y potasio, es por EAEL mientras que para el magnesio resulta más adecuada la técnica de EAAL el equipo de trabajo se muestra en la **Ilustración 9**.



Ilustración 9: Equipo de espectroscopía de absorción atómica

Previo a la realización de los análisis de las muestras se hicieron unas líneas de calibrado (**Gráficos 1-3**) entre 0.5-20 ppm correspondientes a cada metal. Los patrones utilizados se prepararon a partir de cloruro magnésico, potásico y sódico.

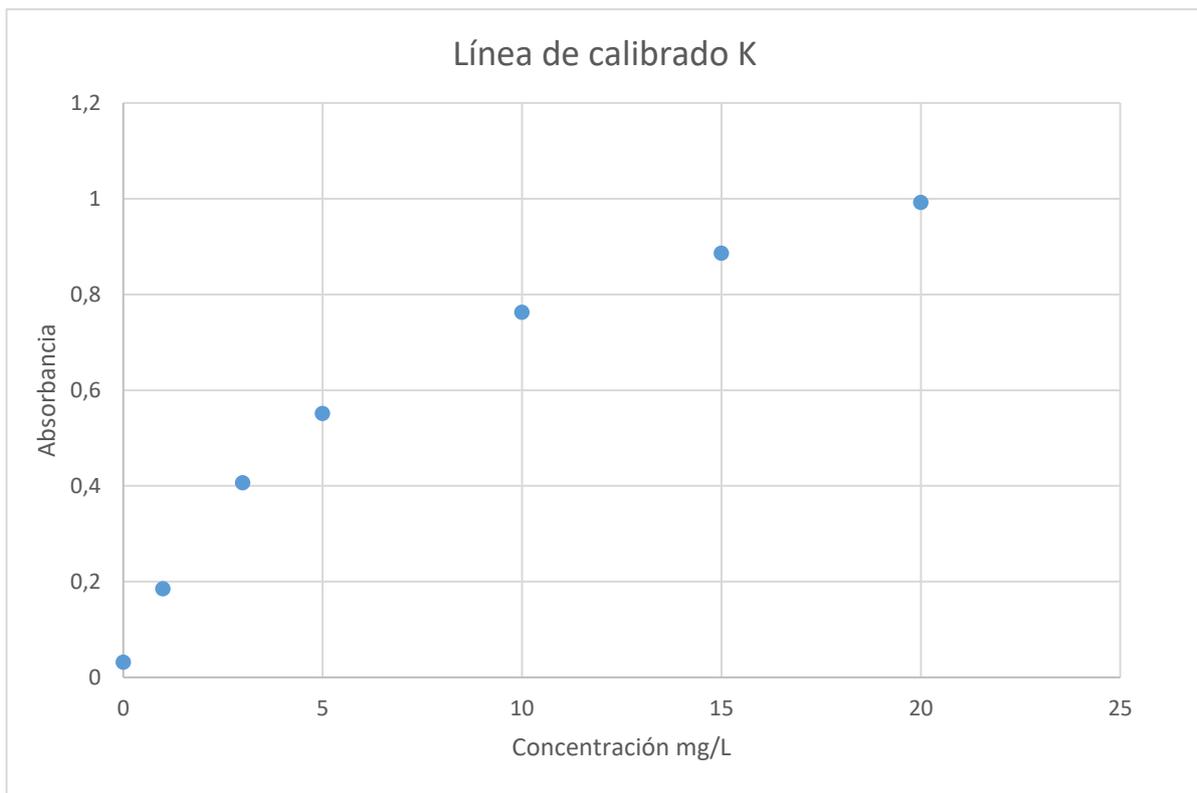


Gráfico 1: Línea de calibrado para el potasio

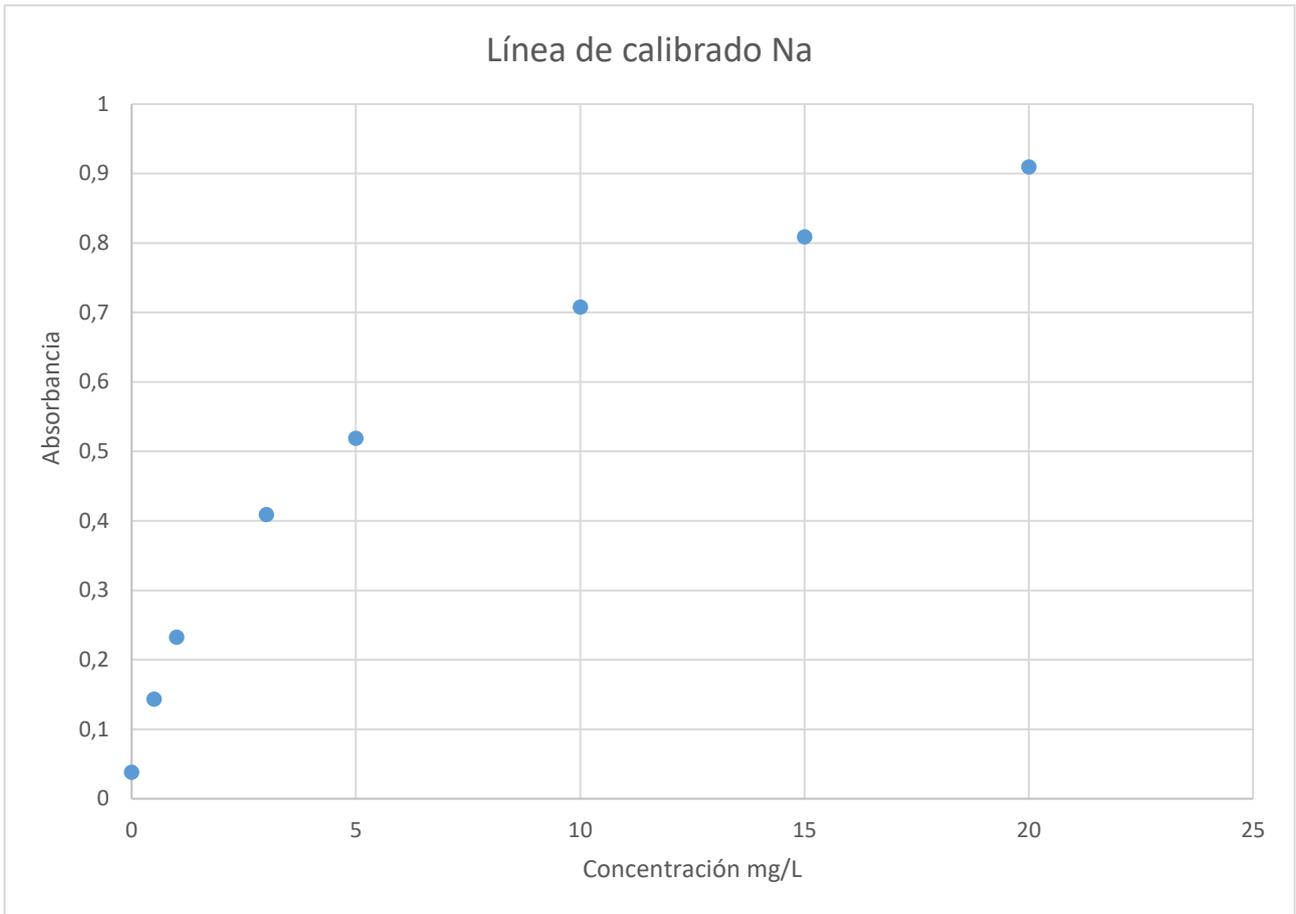


Gráfico 2: Línea de calibrado para el sodio

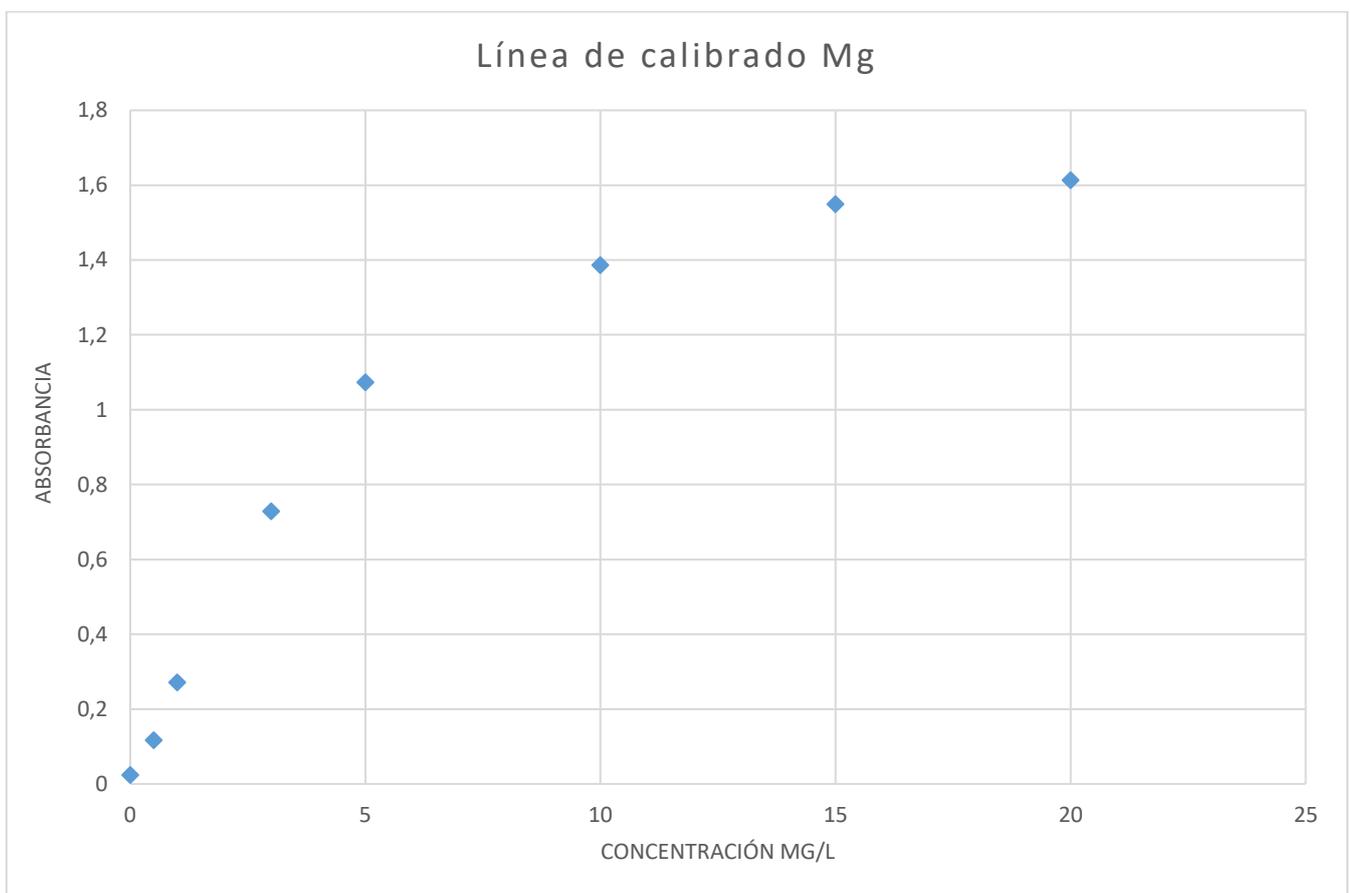


Gráfico 3: Línea de calibrado para el magnesio

Una vez obtenidas las líneas de calibrado, se realizaron las medidas de las muestras, los resultados se recogen en la siguiente tabla:

Concentración muestras mg/20mL			
Muestra	Mg	Na	K
A.1.1	0,479	0,139	0,019
A.1.2	1,544	0,258	0,024
A.1.3	0,632	0,178	0,020
A.1.4	0,555	0,206	0,021
A.1.5	0,435	0,219	0,019
B.2.1	0,559	0,195	0,021
B.2.2	1,426	0,199	0,027
B.2.3	0,793	0,291	0,029
B.2.4	0,600	0,198	0,021
B.2.5	0,656	0,214	0,020
C.1.1	0,359	0,176	0,023
C.1.2	0,388	0,159	0,020
C.1.3	0,302	0,221	0,019
C.1.4	1,026	0,201	0,020
C.1.5	0,485	0,217	0,020

Tabla 5: Concentraciones por AA

Como se puede observar en la **Tabla 5**, para la cara A.1 las concentraciones de Mg son superiores a las encontradas de Na y K. Esta tendencia se mantiene en las caras B.2 y C.1.

4.2. ICP-OES

4.2.1. Material y reactivos:

Material

- Equipo de ICP AGILENT
- Material de vidrio y plástico

Reactivos

- Calibración multielemental ICP con 8 elementos: Ba, Ca, Sr, Ti, Fe, Mg, K y Na

4.2.2. Discusión de resultados de ICP-OES

El análisis se lleva a cabo en Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI) de la UVa, los resultados obtenidos se recogen en la **Tabla 6**.

Los resultados obtenidos por AA para sodio, potasio y magnesio presentan variaciones respecto a las medidas de sodio, potasio y magnesio mediante la técnica de ICP-OES, aunque la tendencia en la concentración se mantiene. Esto se puede atribuir a las posibles interferencias en la medida por la presencia de elementos mayoritarios como el calcio. Como hemos indicado anteriormente, en el CENIEH se realizó un estudio con muestras similares con el fin de minimizar estas interferencias mediante variación de las longitudes de onda de medida, sin embargo, en las determinaciones realizadas en el LTI, no pudimos llevar a cabo estas modificaciones, pues las medidas se realizaron según el protocolo habitual de dicho Centro, pues un estudio similar al CENIEH conllevaría costes imposibles de asumir.

Muestra	Concentración muestras mg/20mL							
	K	Mg	Na	Ba	Ca	Fe	Sr	Ti
A.1.1	0,045	0,013	0,002	0,000	0,084	0,007	-0,007	0,000
A.1.2	0,206	0,034	0,003	0,000	11,869	0,080	-0,004	0,000
A.1.3	0,029	0,008	0,001	0,000	7,271	0,011	-0,006	0,000
A.1.4	0,045	0,017	0,002	0,000	6,140	0,018	-0,006	-0,001
A.1.5	0,056	0,028	0,002	0,000	4,995	0,007	-0,006	0,000
B.2.1	0,083	0,029	0,003	0,000	6,235	0,026	-0,006	0,000
B.2.2	0,101	0,014	0,002	0,000	12,127	0,140	-0,004	0,000
B.2.3	0,077	0,028	0,003	0,000	10,550	0,015	-0,005	-0,001
B.2.4	0,091	0,030	0,003	0,000	8,482	0,018	-0,006	0,000
B.2.5	0,030	0,010	0,001	0,000	10,801	0,015	-0,005	-0,001
C.1.1	0,046	0,022	0,003	0,000	4,279	0,059	-0,007	0,000
C.1.2	0,049	0,020	0,003	0,000	4,573	0,078	-0,006	0,000
C.1.3	0,016	0,012	0,001	0,000	4,719	0,026	-0,007	0,000
C.1.4	0,099	0,019	0,002	0,000	11,206	0,038	-0,005	0,000
C.1.5	0,066	0,030	0,003	0,000	6,106	0,028	-0,006	0,000

Tabla 6: Concentraciones por ICP

Como se mencionó en el apartado de introducción, la relación que existe entre el Mg/Ca, sugiere una variación en la climatología de la región. Esto combinado con los grosores de las capas de las muestras, menos decisivo que la relación Mg/Ca dado que pueden estar afectado por otros factores biológicos, permitiría corroborar la existencia de las variaciones climatológicas.

Para ello se ha calculado la relación, Mg/Ca, recogida en la **Tabla7**, y se han medido los grosores de las muestras de estudio recogida en la misma.

Muestra tratada	Relación Mg/Ca	Grosor (mm)
A.1.1	0,154	2.2
A.1.2	0,003	1
A.1.3	0,001	1
A.1.4	0,003	1.3
A.1.5	0,006	1.1
B.2.1	0,005	1.2
B.2.2	0,001	1.7
B.2.3	0,003	1.1
B.2.4	0,004	1.4
B.2.5	0,001	1
C.1.1	0,005	1.5
C.1.2	0,004	1.3
C.1.3	0,002	1
C.1.4	0,002	2
C.1.5	0,005	2

Tabla 7: Relación Mg/Ca y grosores de las muestras

Estos datos revelan que hay variaciones en la relación Mg/Ca dentro de una misma cara y entre las caras de los sedimentos estudiados, para la cara A.1 la relación Mg/Ca en la muestra A.1.3 es menor que en A.1.5. Para la cara B.2, dicha relación en la muestra B.2.2 es menor que la muestra B.2.1 y lo mismo ocurre con la cara C.1, la relación Mg/Ca en la muestra C.1.3 es menor que la C.1.1.

4.3. Voltamperometría

4.3.1. Material y Reactivos

Material

- Voltamperímetro
- Celda de vidrio
- Electrodo: Trabajo (pasta de carbono); Referencia (Ag/AgCl) y Auxiliar (Pt)
- Material de laboratorio, de vidrio y plástico
- Equipo informático con software de medida

Reactivos

- Carbono pureza mínima del 99,9%
- Muestras: A.1.7 y C.1.7
- Disolución de HCl 1M

4.3.2. Discusión de resultados de voltamperometría

El contenido en hierro y titanio de las muestras elegidas fue aportado por medidas previas por ICP-OES en el CENIEH, se trata por lo tanto de comprobar el grado de oxidación de dichos elementos en la muestra sólida de estudio. Esto presenta cierta importancia, pues contribuye a dilucidar si en determinados periodos de la formación del espeleotema, este estuvo en mayor o menor contacto con agentes externos, tanto atmosféricos como biológicos.

Para llevar a cabo el estudio, se procedió a realizar medidas con electrodos de pasta de carbono grafito, técnica que nos permite trabajar con muestras sólidas.

Se procedió a preparar diferentes electrodos de pasta de carbono según el siguiente procedimiento (Tascón, 1989) (Sedano, 2004.) (Encinas, 1993):

- En primer lugar, se pesó alrededor de 300mg de carbono y se añadió entre 3 y 5 mg de muestra problema, **Ilustración 10**:



Ilustración 10: Mezcla de carbono con muestra de sedimentos

- Se añadió 50 μ L de HCl 1M por cada 100mg de carbono adicionado, formándose una pasta, **Ilustración 11**.

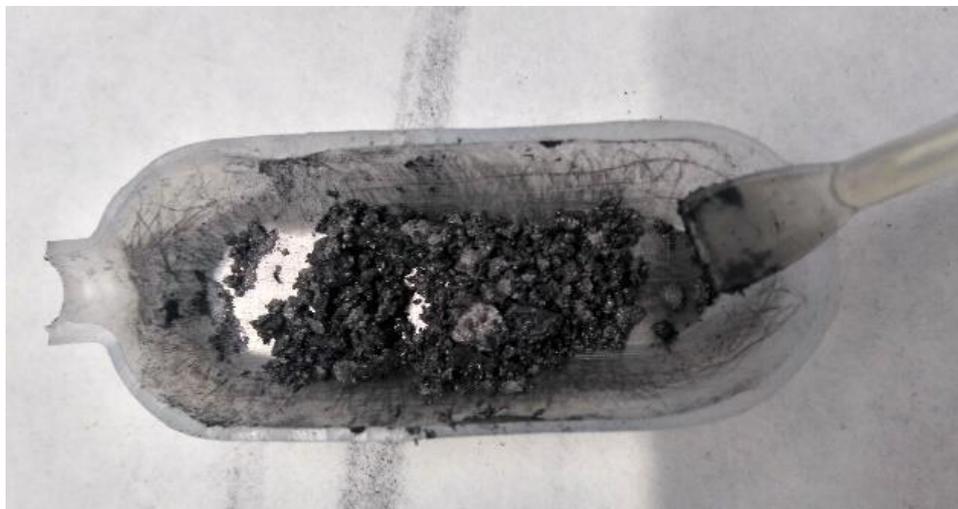


Ilustración 11: Adición de ácido clorhídrico a la mezcla de carbono y muestra

- Se introdujo la pasta en la cazoleta del electrodo con la ayuda de espátulas de plástico, como se muestra en la **Ilustración 13**, usando varillas de vidrio para para

apelmazar la mezcla, compactándola para evitar su dispersión al introducir este electrodo en la disolución presente en la celda.

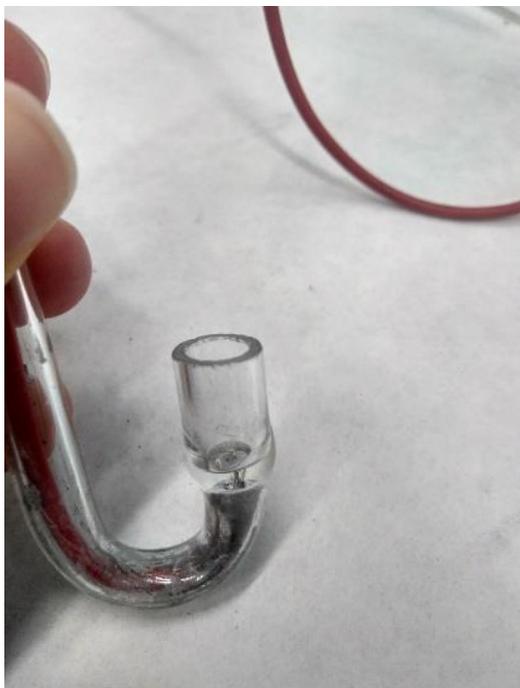


Ilustración 12: Electrodo vacío



Ilustración 13: Adición de la mezcla al electrodo



Ilustración 14: Electrodo listo para su uso

- Por último, como se muestra en la **Ilustración 15**, se monta el sistema de electrodos. Para ello se introducen los tres electrodos (referencia, trabajo y auxiliar) en una celda de vidrio que contiene unos 25 ml de HCl 1M, como medio más adecuado para llevar a cabo este tipo de voltamperometrías. El equipo donde se realizaron las medidas se observa en la **Ilustración 16**.

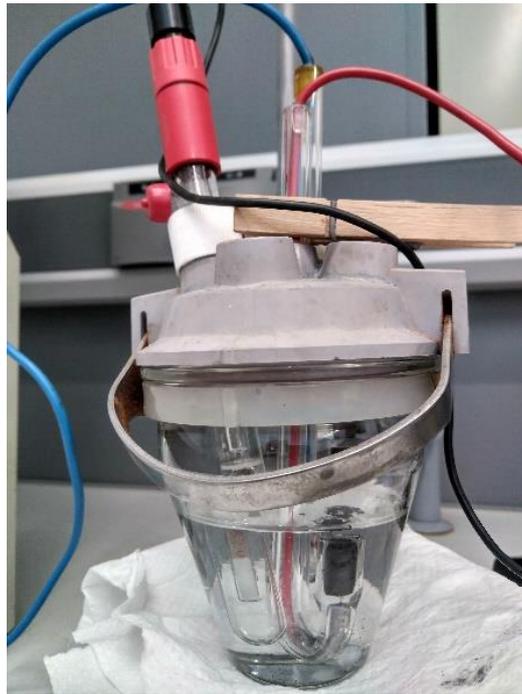


Ilustración 15: Sistema de electrodos para voltamperometría

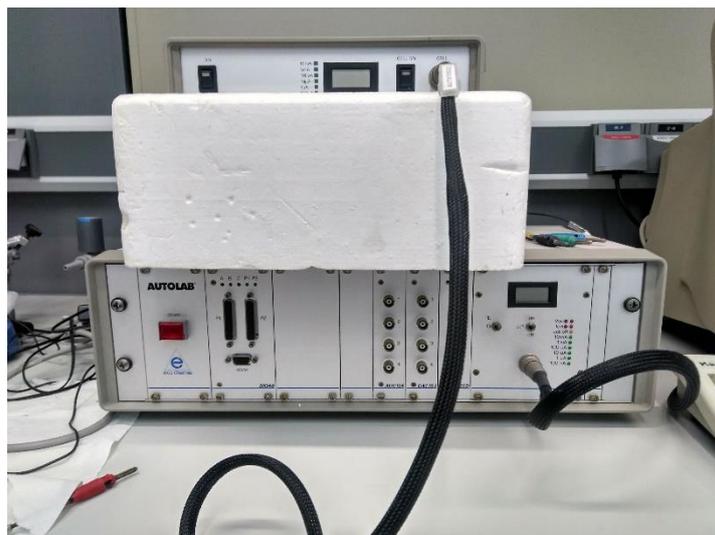


Ilustración 16: Equipo de Voltamperometría

Se hicieron en los diferentes estudios dos barridos, uno hacia potenciales de oxidación y otro hacia potenciales de reducción, para conocer el estado de oxidación del hierro y el titanio presentes en las muestras.

Los intervalos de los potenciales de barrido se eligieron de tal forma que incluyeran tanto los potenciales de oxidación como los de reducción del hierro y titanio tal y como se puede ver en la **Tabla 8**.

Las especies electroactivas con sus respectivos potenciales se recogen en la siguiente tabla.

Especies electroactivas	Potenciales (V)
Fe^{+2}/Fe^{3+}	0.77
Ti^{+3}/Ti^{+4}	-0.28

Tabla 8: Especies electroactivas y sus potenciales (Douglas A.Skoog, Sexta Edición) (P. Encinas, 1996)

El resultado del análisis del primer barrido, hacia potenciales de oxidación fue el presentado en los **Gráficos 4-6**:

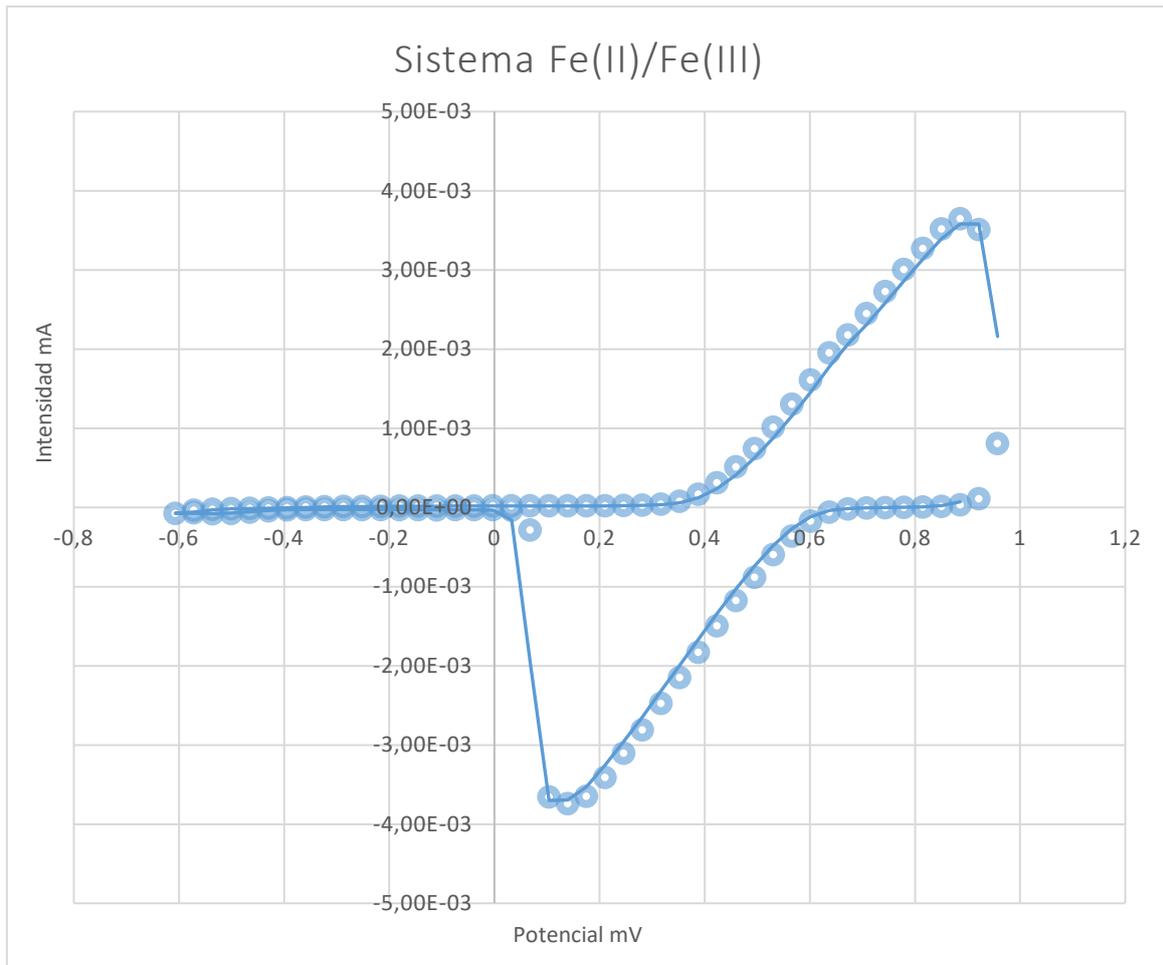


Gráfico 4: Sistema reversible de hierro

Se inicia el barrido a potencial de intensidad cero, alrededor de 0,3 V, como se puede apreciar aparece una curva a intensidades positivas en la zona correspondiente al proceso de oxidación del hierro (II) a hierro (III). Cuando se invierte el proceso, hacia potenciales de reducción, aparece otra curva de igual intensidad a la primera correspondiente al proceso de reducción de hierro (III) a hierro (II).

Dado que la intensidad de las dos curvas es idéntica, esto implicaría según la relación $I_{lim} = K \times [Concentración]$, que en la muestra inicialmente solo existe hierro (II), pues la segunda curva se correspondería con el hierro (III) que se reduce a hierro (II) en la interfase del electrodo como consecuencia del proceso de oxidación del hierro (II).

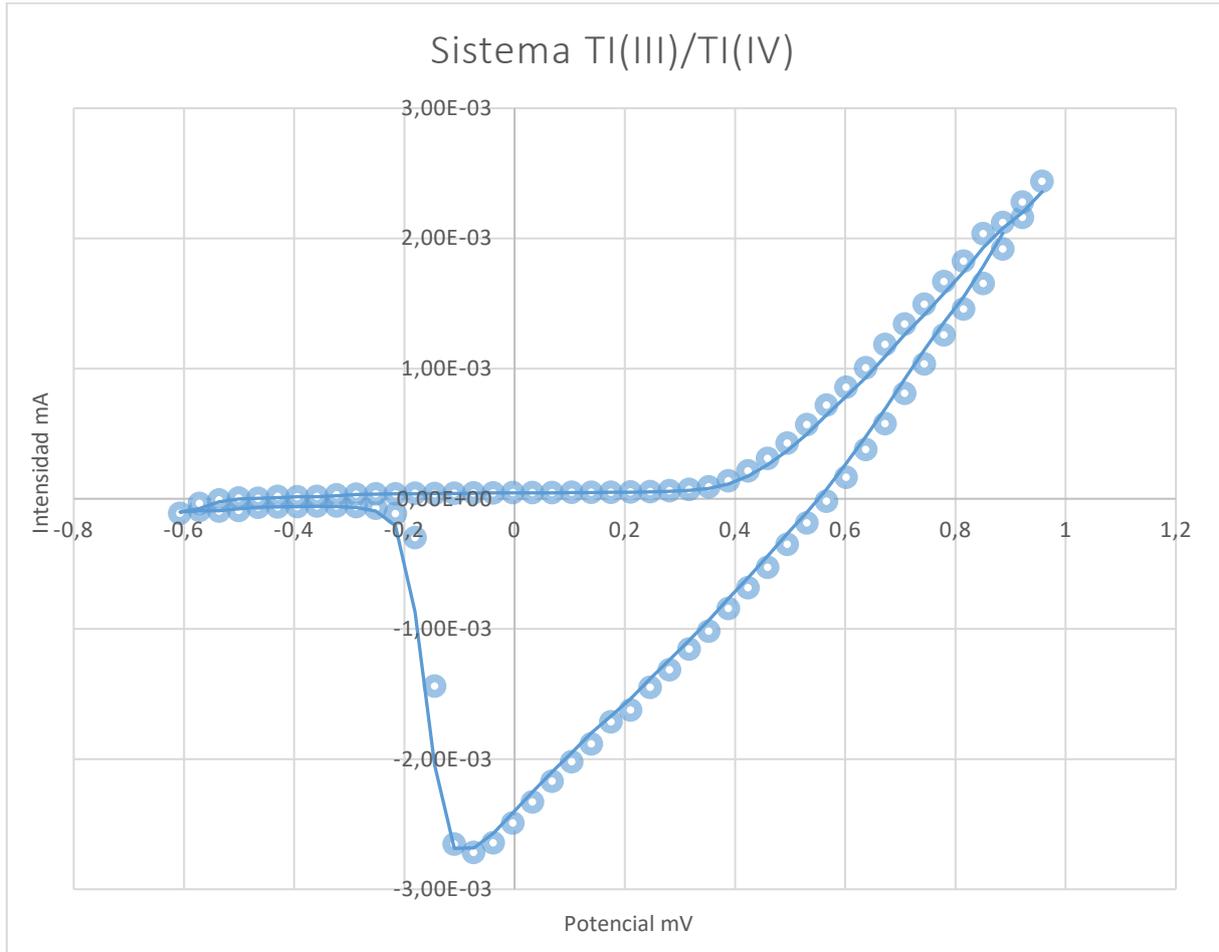


Gráfico 5: Sistema reversible de titanio

El resultado correspondiente al segundo barrido se corresponde con el sistema del titanio, los resultados se muestran en el **Gráfico 5**. Como en caso anterior, se va hacia potenciales de oxidación, partiendo de alrededor de 0.3V. Se puede observar que no existe curva antes de que se invierta el proceso, es decir, no existe titanio (III) que se oxide hasta titanio (IV), mientras que cuando se invierte el proceso, alrededor de -0.2V, sí que se observa una curva correspondiente con el proceso de reducción del titanio (IV).

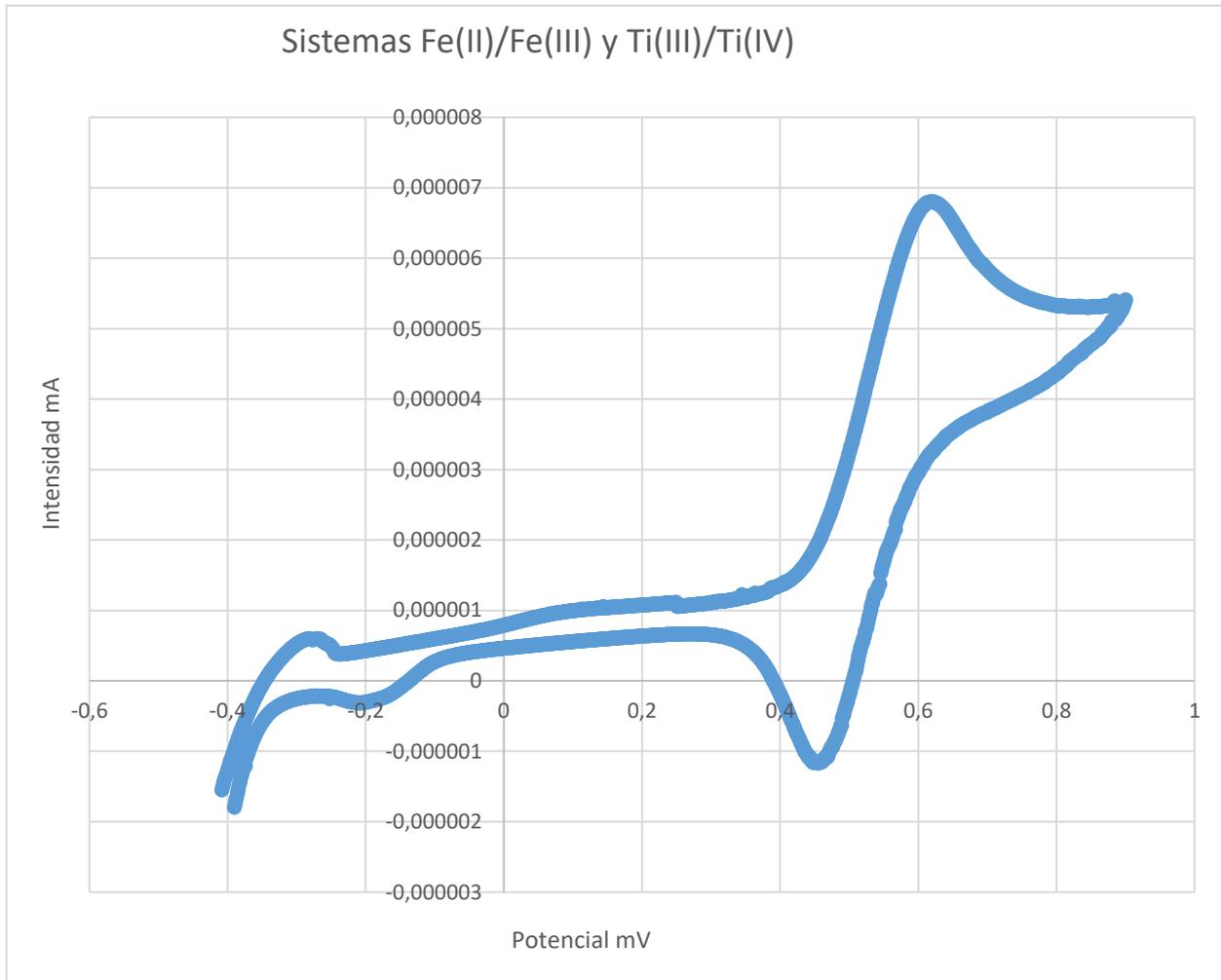


Gráfico 6: Sistemas reversibles de hierro y titanio en el barrido hacia potenciales de oxidación

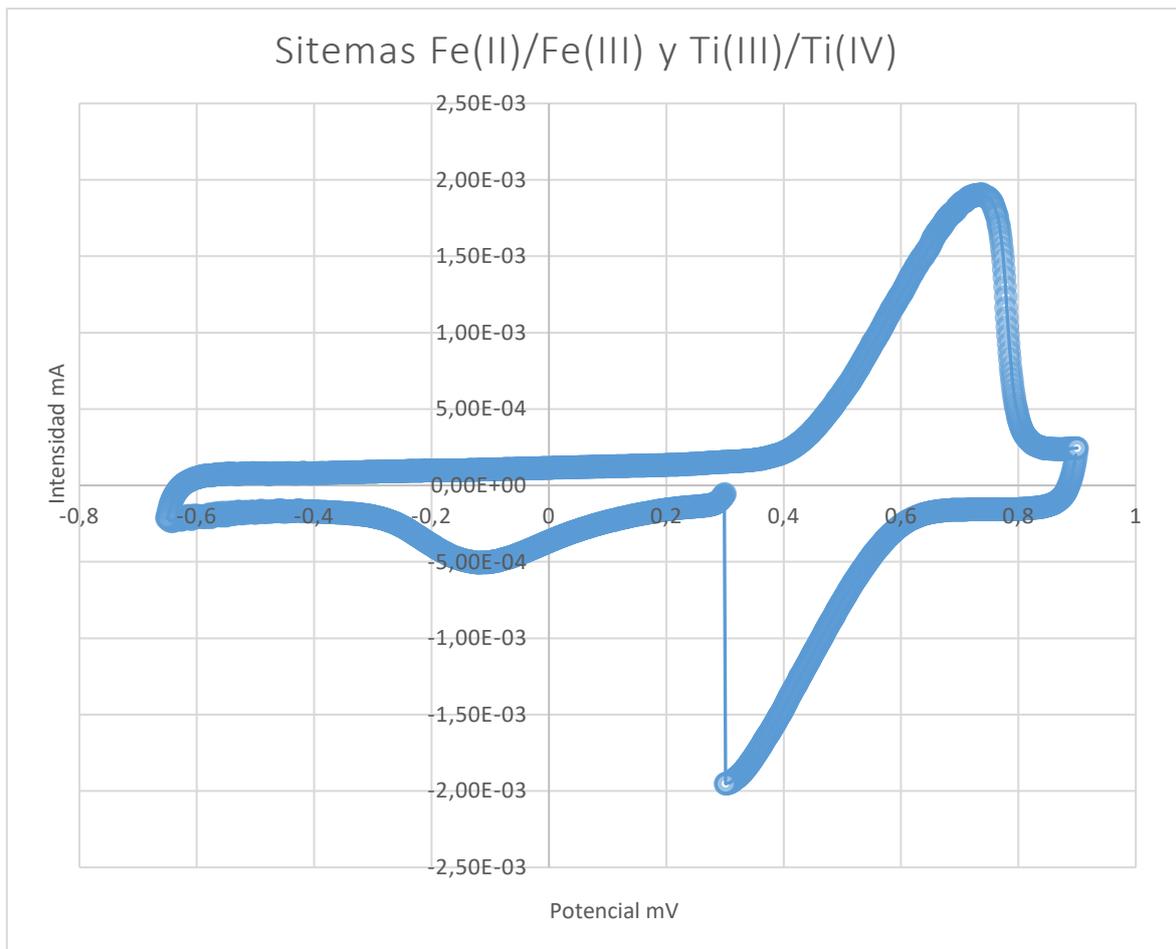


Gráfico 7: Sistemas reversibles hierro y titanio en el barrido hacia potenciales de reducción

Cuando se hace el barrido hacia potenciales de reducción se obtiene el **Gráfico 7**, se aprecia el sistema del hierro (II) para dar hierro (III) y el titanio (IV) para dar titanio (III), corroborando la existencia del hierro como hierro (II) y el titanio como titanio (IV).

4.4. Cromatografía

4.4.1. Material y Reactivos

Material

- Cromatógrafo de cambio iónico
- Jeringa de plástico
- Filtro de nylon de 0.45 μm

- Material de vidrio y plástico
- Equipo informático con software de medida

Muestras y Reactivos

- Muestras: A.1.7, B.2.3 y C.1.6
- Agua desionizada calidad MiliQ
- H_2SO_4 50Mm
- Na_2CO_3 y $NaHCO_3$
- NaF , Na_2SO_4 , $NaCl$, $NaNO_2$, $NaNO_3$ y Na_3PO_4 .

4.4.2. Discusión de resultados de cromatografía

Se preparó una disolución multipatrón de concentraciones de 25ppm - 500ppm en función del anión a analizar, como resultado se obtuvo un cromatograma (**Gráfico 8**) que proporciona la información del tiempo de retención de los aniones de estudio.

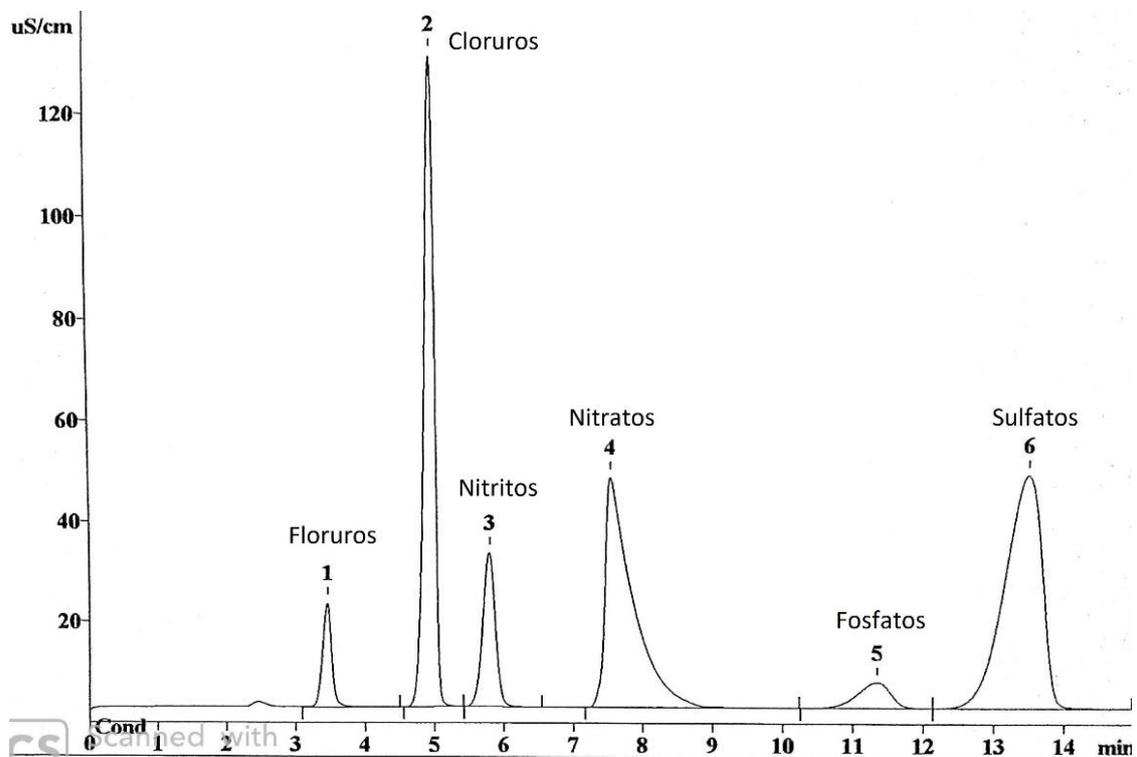


Gráfico 8: Multipatrón de aniones

Se toman las muestras A.1.7, B.2.3 y C.1.6 sólidas, se les añade agua desionizada, seguido de una agitación constante durante una hora, se filtran y las disoluciones resultantes se enrasan en matraces de 10ml, los cromatogramas obtenidos se observan en los **Gráficos 9-11**:

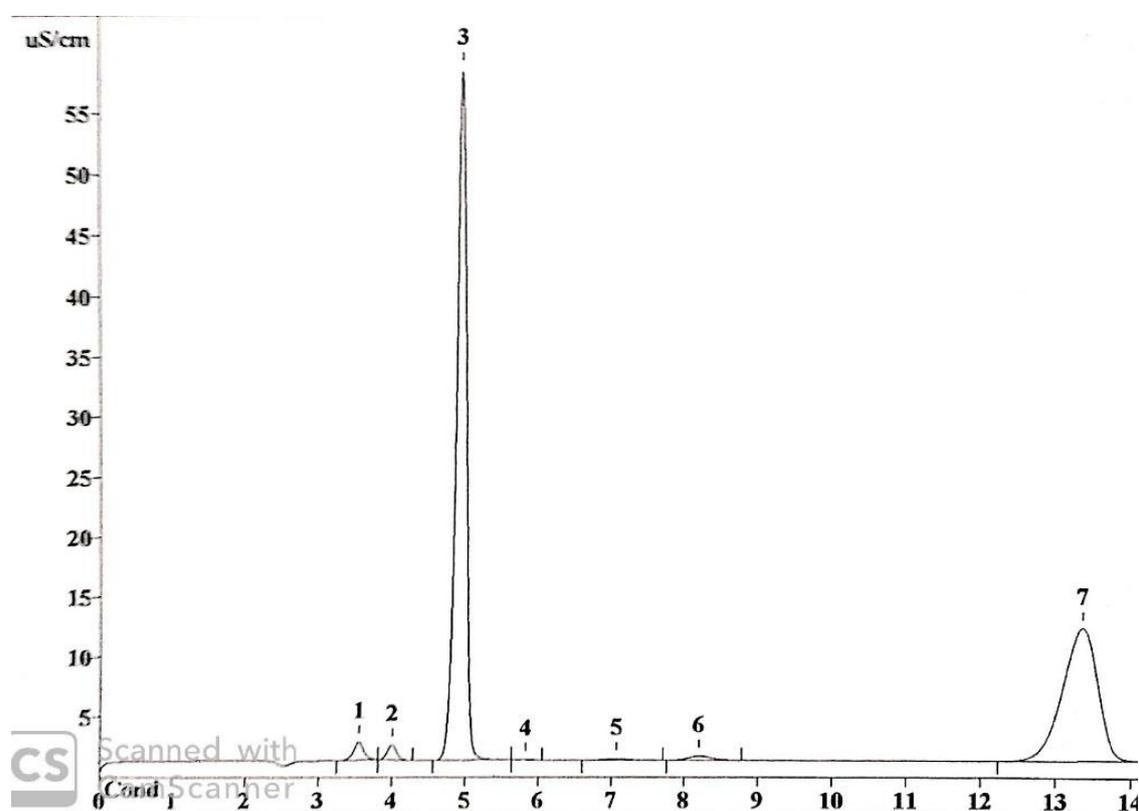


Gráfico 9: Cromatograma de la muestra A.1.7

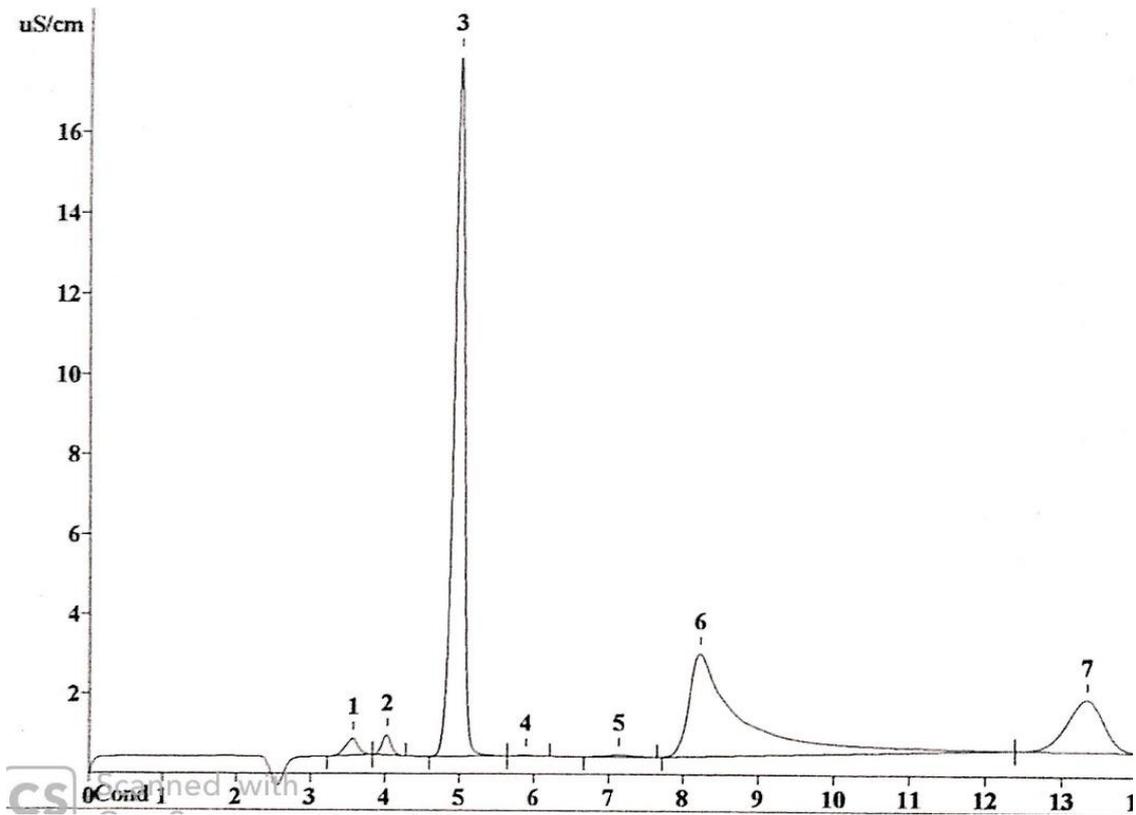


Gráfico 10: Cromatograma muestra B.2.3

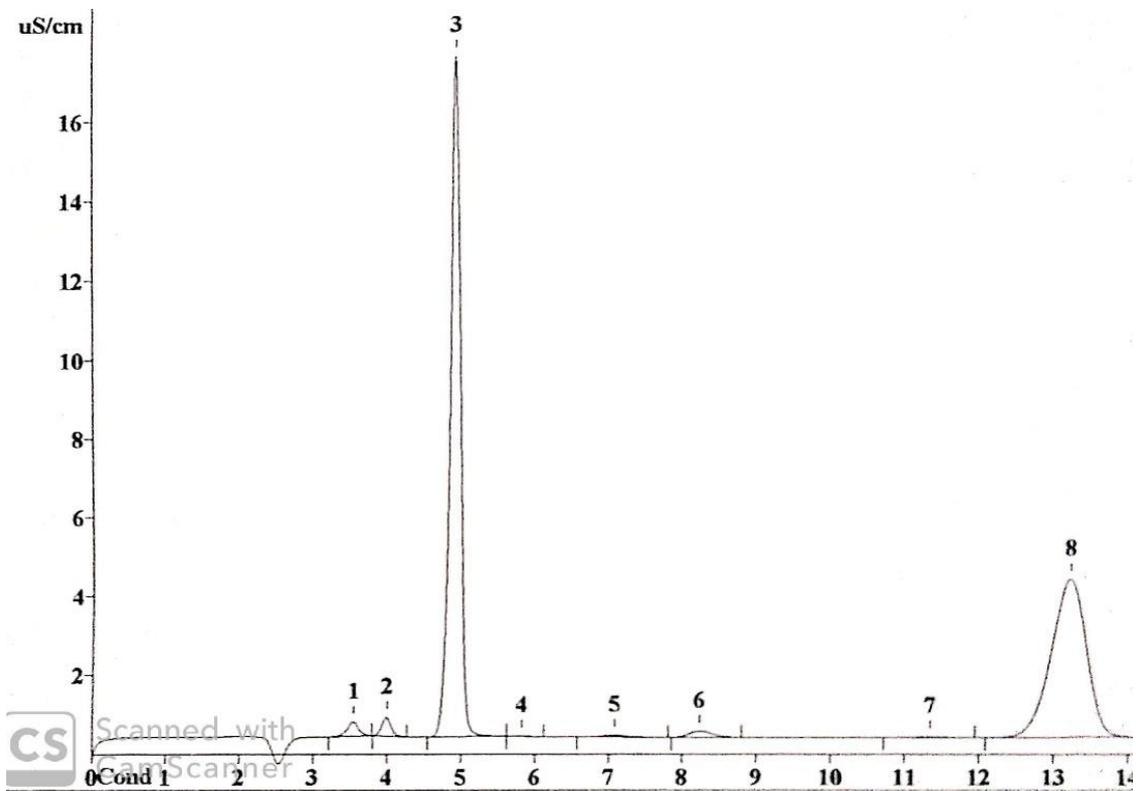


Gráfico 11: Cromatograma de muestra C.1.6

En base a los tiempos de retención obtenidos en las muestras los resultados confirman la presencia de los aniones minoritarios cloruros, nitratos y sulfatos, en las tres muestras, cuyas concentraciones y porcentajes en las muestras se recogen en la **Tabla 9**.

Muestra	Masa muestra (mg)	Cloruros (mg/L)	Nitratos (mg/L)	Sulfatos (mg/L)	% Cloruros	% Nitratos	% Sulfatos
A.1.7	9,000	27,323	0,385	17,803	3,036	0,043	1,978
B.2.3	10,000	8,539	6,334	2,184	0,8539	0,633	0,218
C.1.6	4,000	8,339	0,175	6,664	2,08475	0,044	1,666

Tabla 9: Concentraciones y porcentajes de aniones

CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- 1) Se determinó la concentración de sodio, potasio, magnesio, calcio, estroncio, titanio, hierro y bario por ICP-OES, y sodio, potasio y magnesio por EA.

Los resultados obtenidos para estos últimos elementos difieren apreciablemente, dependiendo de la técnica utilizada, considerando que dicha diferencia puede ser debida a las interferencias originadas en la medida por ICP-OES.

- 2) Se determinó los estados de oxidación de hierro y titanio con electrodos de pasta de carbono.

En base a los resultados obtenidos, se concluye que el hierro está presente en la muestra como hierro (II), observándose la curva característica de la oxidación de esta especie hacia 0.8V y el titanio como titanio (IV), se observa su curva de reducción hacia -0.2V. En los voltamperogramas, se puede apreciar también la diferencia de intensidades que confirma la diferencia en las concentraciones entre el hierro (II) y el titanio (IV), siendo mucho mayor la del primero.

- 3) Por cromatografía de intercambio iónico se determinaron los aniones minoritarios presentes en las muestras A.1.7, B.2.3 y C.1.6, siendo los observados cloruros, nitratos y sulfatos, cuyos porcentajes están recogidos en la **Tabla 10**.

Muestra	% Cloruros	% Nitratos	%Sulfatos
A.1.7	3,036	0,043	1,978
B.2.3	0,854	0,633	0,218
C.1.6	2,085	0,044	1,666

Tabla 10: Porcentajes de aniones

- 4) La relación Mg/Ca, sugiere que las variaciones de dicha relación reflejan cambios en la climatología de la región de donde se obtuvieron las muestras, al menos durante cuatro con un mayor aumento de las infiltraciones de los metales analizados por modificación de los factores atmosféricos, siendo muy marcado

el correspondiente a la muestra A.1.1, correspondiente a una parte más externa de la estalagmita, entorno a unos diez mil años anteriores a nuestra época.

6. ANEXOS

6.1. Sumario de tablas, ilustraciones y gráficos

6.1.1. Tablas

Tabla 1: Pesada de muestras	29
Tabla 2: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara A.1	31
Tabla 3: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara B.2	31
Tabla 4: Masas y posiciones en el carrusel del digestor para la cara C.1	32
Tabla 5: Concentraciones por AA	37
Tabla 6: Concentraciones por ICP	38
Tabla 7: Relación Mg/Ca y grosores de las muestras	39
Tabla 8: Especies electroactivas y sus potenciales (Douglas A.Skoog, Sexta Edición) (P. Encinas, 1996)	44
Tabla 9: Concentraciones y porcentajes de aniones	52
Tabla 10: Porcentajes de aniones	55

6.1.2. Ilustraciones

Ilustración 1: Reacción del dióxido de carbono en suelos (Photos, 2020)	13
Ilustración 2: Esquema de espectrómetro de absorción atómica (Douglas A.Skoog, Sexta Edición)	15
Ilustración 3: Esquema de llama de ICP (Douglas A.Skoog, Sexta Edición)	16
Ilustración 4: Sistema de electrodos voltamperometría (Photos, 2020)	18
Ilustración 5: Localización de las muestras de la cara A.1	26
Ilustración 6: Localización de las muestras de la cara B.2	27
Ilustración 7: Localización de las muestras de la cara C.1	28
Ilustración 8: Horno microondas ETHOS PLUS MILESTONE	31
Ilustración 9: Equipo de espectroscopía de absorción atómica	33
Ilustración 10: Mezcla de carbono con muestra de sedimentos	41
Ilustración 11: Adición de ácido clorhídrico a la mezcla de carbono y muestra	41
Ilustración 12: Electrodo vacío	42
Ilustración 13: Adición de la mezcla al electrodo	42

Ilustración 14: Electrodo listo para su uso.....	42
Ilustración 15: Sistema de electrodos para voltamperometría.....	43
Ilustración 16: Equipo de Voltamperometría	44

6.1.3. Gráficos

Gráfico 1: Línea de calibrado para el potasio	34
Gráfico 2: Línea de calibrado para el sodio.....	35
Gráfico 3: Línea de calibrado para el magnesio	36
Gráfico 4: Sistema reversible de hierro	45
Gráfico 5: Sistema reversible de titanio	46
Gráfico 6: Sistemas reversibles de hierro y titanio en el barrido hacia potenciales de oxidación	47
Gráfico 7: Sistemas reversibles hierro y titanio en el barrido hacia potenciales de reducción	48
Gráfico 8: Multipatrón de aniones.....	49
Gráfico 9: Cromatograma de la muestra A.1.7	50
Gráfico 10: Cromatograma muestra B.2.3.....	51
Gráfico 11: Cromatograma de muestra C.1.6	51

7. BIBLIOGRAFÍA

- Arenas-Abad.C. (2014). Las Tobas en España I. Cuaternario y geomorfología. 28,3-4.
- C, A.-A. (2014). Las Tobas en España I. Cuaternario y geomorfología. 28, 11-12.
- Douglas A.Skoog, F. J. (Sexta Edición). *Principios de Análisis Instrumental*.
- Encinas, P. (1993). Electrochemical study of iron(II) and iron(III) compound mixtures in the solid state. Application to magnetite characterization .
- (s.f.). *EPA METHOD 3052. MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SILICEOUS AND ORGANICALL BASED MATRICES*.
- Fernando Gázquez, J.-M. C. (2011). “Espeleotemas de yeso: ¿Un nuevo proxy paleoclimático?” .
- Galarza, V. M. (2017). *Memorias de Prácticas Externas*. Burgos.
- Gonzalez-Amuchastegui.MJ, & Serrano-Cañadas.E. (2008). Acumulaciones tobáceas y evolución del paisaje: cronología y fases morfogénéticas en el ALto Ebro (Burgos). 25,103-114.
- J.A. Cruz, J. M.-C.-R. (2015). Trace Elements in Speleothems as Indicators os Past Climate and Karst Hydrochemistry: A Case Study from Kaite Cave (N Spain).
- M, V.-U., G, P.-T., & Sancho-Marcén.C. (2010). Fluvial and associated carbonate deposits. *Developments in Sedimentology*. 61, 133-175.
- M. Valcárcel, C. A. (1998). *Técnicas analíticas de separación*.
- P. Encinas, M. T.-B. (1996). Electroanalytical study of solid titanium an iron compounds with carbon paste electrode. Application to the characterization of the titanium ferrite.
- Photos, G. (2020). *Google Photos*. Obtenido de Google Photos.
- Rob Raiswell, M. T. (2006). Contributions from glacially derived sediment to the global iron (oxyhydr)oxide cycle: Implications for iron delivery to the oceans.
- Rubio, J. M. (2012). El clima de la Tierra a lo largo de la historia. 226-229.

S.W. Poulon, R. (2002). The Low-Temperature geochemical cycle of iron: from continental fluxes to marine sediment deposition.

Sedano, A. B. (2004.). Electrochemical study of copper and iron compound in the solid state by using voltammetry of immobilized microparticles: application to copper ferrite characterization. .

Tascón, M. L. (1989). Determination of Tin(IV) Oxide with a Mixed Carbon Paste Electrode and Using Computerized Instrumentation. .

