



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Químicas

**Fe, Mn, Co y Zn EN SEDIMENTOS Y MATERIAL PARTICULADO DEL
OCÉANO ÁRTICO**

Autor: Cristina María Segovia Martín

Tutores: Prof. Enrique Barrado Esteban (UVA)

Prof. Murat V. Ardelan (NTNU, Trondheim)

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer al grupo de investigación de Noruega que me ha acogido, pese a las dificultades que al principio se presentaban por el Covid, y me han permitido realizar este trabajo, transmitiéndome numerosos conocimientos que eran totalmente desconocidos para mí de su ámbito de investigación, la química marina. Además de dejarme participar en dos de los proyectos que colaboran, ligados a otras instituciones y grupos internacionales.

En segundo lugar, agradezco al profesor Enrique Barrado, mi tutor de España, por haberme aceptado como alumna y haberme ayudado para finalizar el proceso de este trabajo.

En especial, gracias a mis abuelos, los que están y los que ya no están, por haberme siempre apoyado en mis estudios y haberse alegrado aún más que yo por cada uno de los pasitos que he ido dando en estos cuatro años y durante toda mi vida en general. Se que los cuatro están orgullosos de mí al igual que yo lo estoy de haberlos conocido.

Gracias a mis padres y a mi hermano por soportar mi carácter y haberme ayudado cada vez que lo he necesitado directa o indirectamente durante el día a día.

Y por último, ya que este trabajo en su mayoría lo he realizado en mi estancia Erasmus de Noruega. Gracias a cada una de las personas que he conocido allí y que han formado parte de lo que durante este año he considerado mi familia, y de lo que considero, el mejor año de mi vida. En especial a Alicia por haber sido mi compañera de sufrimiento y de vida, a Gerard por haber sido la persona más especial que he conocido y a David y María por haber sido como unos hermanos para mí.

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
ABREVIATURAS	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 LOS ELEMENTOS TRAZA EN LA INVESTIGACIÓN MARINA.....	8
1.2 EL OCÉANO ÁRTICO Y EL CALENTAMIENTO GLOBAL	9
<i>Localización de muestreo</i>	9
▪ <i>Relevancia histórica de la zona</i>	9
▪ <i>Estaciones de muestreo</i>	12
2. OBJETIVOS	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
EXPERIMENTACIÓN	18
3.1 <i>Método de muestreo y tipo de muestra</i>	18
▪ Columna de agua.....	19
▪ Sedimentos.....	20
▪ Cultivos de fitoplancton: filtros de fitoplancton	21
3.2 <i>Transporte y almacenamiento</i>	22
3.3 <i>Metodología: Instrumentación requerida y fundamento teórico de las técnicas analíticas usadas</i>	22
▪ SeaFAST	22
▪ Secado por congelación (Freeze-dryer)	25
▪ UltraCLAVE	26
▪ Espectrómetro de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)	27
3.4 <i>Pretratamiento y procesamiento de la muestra</i>	29
▪ Sedimentos.....	29
▪ Material particulado.....	32
▪ Fitoplancton	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1 <i>Muestras de Sedimentos</i>	35
○ Mar de Kara	35
○ Mar de Laptev	40
○ Mar de Siberia Oriental	44
- Estudio comparativo de los tres mares.....	46
Control de calidad	48
4.2 <i>Material particulado de la columna de agua (filtros)</i>	49

4.3 Cultivo de diatomeas (<i>estudio relacionado con la trascendencia del hierro</i>)	53
Control de calidad	57
ESTUDIO ESTADÍSTICO	57
- Discusión de los filtros provenientes de cultivo vs. los provenientes del medio oceánico Ártico.....	63
5. CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	67
ÍNDICE DE FIGURAS	69
ÍNDICE DE TABLAS	72
ANEXO 1	73
Freeze-dryer SOP	73
ANEXO 2	74
Sediment Grinding Procedure	74
ANEXO 3	75
BCR - Reference material	75
ANEXO 4	76
SOP UltraCLAVE	76
ANEXO 5	79
Sedimentos: Tabla completa	79

RESUMEN

El Ártico es una de las regiones más afectadas por el efecto del cambio climático. Efectivamente, un mayor deshielo e incidencia de luz en la superficie, aumenta la “producción primaria” (actividad biológica) al liberarse partículas atrapadas en el hielo. Se espera que este estado cambiante esté teniendo repercusión sobre las concentraciones y distribuciones de los metales traza que afecta a sus ciclos biogeoquímicos, prácticamente desconocidos en estas zonas tan hostiles y cambiantes.

Los resultados de este TFG se han obtenido participando en dos proyectos ligados al Ártico, “BEST-Siberian” y “The Nansen Legacy”. Se colaboró en la obtención de muestras en cuatro zonas diferentes del Ártico, recogiendo distintos tipos de muestra: sedimentos superficiales en el mar de Kara, el mar de Laptev y el mar de Siberia Oriental; y columna de agua y de hielo en el mar de Barents.

En este TFG, solo se comentarán los resultados obtenidos para los elementos bioesenciales, hierro, manganeso, cobalto y zinc de los sedimentos y del material particulado; y de unos cultivos de fitoplancton, con distintos tratamientos genómicos.

Se determinaron las concentraciones de Fe, Mn, Zn y Co en muestras de sedimentos en los mares de Kara, Laptev y Siberia Oriental. También se determinaron las concentraciones para los mismos elementos del material particulado perteneciente al mar de Barents, a excepción del Co que presentaba concentraciones por debajo del límite de cuantificación. Además, se determinaron las concentraciones de Fe para los cultivos de fitoplancton, demostrando la relación que existe entre el fitoplancton y el hierro debido a que es su principal micronutriente.

Por último, se identificaron las distintas tendencias observadas, cuyas causas no son claras, lo que apoya la necesidad de seguir investigando sobre el deshielo y la distribución y cantidad de estos metales bioesenciales y de los metales traza en el Ártico.

ABSTRACT

The Arctic is one of the regions most affected by the effects of climate change. Indeed, increased ice melt and light incidence at the surface increases “primary production” (biological activity) by releasing particles trapped in the ice. It is expected that this changing state is having an impact on the concentrations and distributions of trace metals affecting their biogeochemical cycles, practically unknown in these hostile and changing areas.

The results of this TFG have been obtained by participating in two projects linked to the Arctic, “BEST-Siberian” and “The Nansen Legacy”. Samples were collected in four different areas of the Arctic, collecting different types of samples: surface sediments in the Kara Sea, the Laptev Sea and the East-Siberian Sea; and the water column and ice in the Barents Sea.

In this TFG, only the results obtained for the bioessential elements iron, manganese, cobalt and zinc from sediments and particulate material and from phytoplankton cultures, with different genomic treatments, will be discussed.

Concentrations of Fe, Mn, Zn and Co were determined in sediment samples from Kara, Laptev and East-Siberian Seas. Concentrations were also determined for the same elements in particulate matter from the Barents Sea, except for Co which had concentrations below the limit of quantification. Moreover, Fe concentrations were determined for phytoplankton cultures, demonstrating the relationship between phytoplankton and iron as its main micronutrient.

Finally, the several trends observed were identified, the causes of which are unclear, supporting the need for further research on melting ice and the distribution and quantity of these bioessential and trace metals in the Arctic.

ABREVIATURAS

BCR: Bureau Community of Reference

FD: Freeze Dryer

ICP-MS: Espectrómetro de masas con plasma de acoplamiento inductivo

NTNU: Norwegian University of Science and Technology

ODV: Ocean Data View

PAR: Radiación fotosintéticamente activa

PTFE: Politetrafluoroetileno

TE: Trace elements (elementos traza)

TFG: Trabajo Fin de Grado

TPD: Transpolar drift (deriva transpolar)

UC: UltraCLAVE

UP: Ultrapuro

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LOS ELEMENTOS TRAZA EN LA INVESTIGACIÓN MARINA

Para la investigación marina es vital tratar de conocer la composición de los metales traza del agua marina ya que contribuye a la comprensión de estudios científicos interdisciplinarios como la dinámica física, los procesos y vías biogeoquímicas y el cambio climático global. ¹

Las concentraciones y distribuciones de los metales traza en el agua de mar están controlados por una combinación de procesos de fuentes externas como los ríos y por la circulación hidrotermal en las dorsales oceánicas. Los procesos que disminuyen las concentraciones de estos metales incluyen la absorción biológica activa o la eliminación pasiva en partículas vivas o no. Gran parte de este material particulado (junto con sus metales traza asociados) se recicla internamente en la columna de agua o en los sedimentos superficiales. El destino final de los metales traza son generalmente los sedimentos marinos.

Por tanto, estas diversas fuentes y destinos se superponen con la circulación general y corrientes de los océanos, dando lugar a las distribuciones características de cada metal. ²

Los oligoelementos bioesenciales juegan una importante función como componentes estructurales y centros reactivos en las metaloenzimas. La evolución a lo largo del tiempo geológico se cree que, en parte, está guiada por las condiciones ambientales que provocan cambios en la biosfera marina y en la composición del agua de mar. Si nos remontamos a los datos anteriores varios de los bioelementos muestran comportamientos sensibles a reacciones redox que están asociados a cambios en la atmósfera y en el océano y que afectan, por ejemplo, a la actividad de las cianobacterias fotosintéticas productoras de oxígeno. ³

Algunos metales traza son también micronutrientes esenciales para el crecimiento del fitoplancton y desempeñan un papel importante en los ciclos biogeoquímicos del océano. La fuente de estos metales en el océano son los sedimentos de la plataforma continental, el polvo mineral, la descarga de los ríos, la actividad hidrotermal submarina y las aguas del deshielo de los glaciares. ⁴

La química y el comportamiento de muchos metales traza en la columna de agua está dominada por la complejación, la asimilación biológica en los sitios de captación en las superficies de las células y la adsorción en las superficies de partículas en suspensión.

En concreto, el hierro es un micronutriente esencial para la vida marina que limita la productividad marina en más del 30% de los océanos del mundo ⁵. Sin embargo, se considera que el hierro no es un nutriente limitante en el Océano Ártico, siendo el macronutriente nitrógeno el principal elemento limitante, como evidencian diversos trabajos. ^{6,7}

La biogeoquímica del hierro en el Ártico está estrechamente relacionada con la dinámica del hielo marino ⁶, ya que actúa como una reserva de hierro y otros micronutrientes durante el invierno que, más tarde, se liberan en primavera. ⁸

Otra fuente importante de hierro, sobre todo en el Ártico oriental, es la afluencia de aguas atlánticas a través del estrecho de Fram y el mar de Barents. Así, el suministro de hierro en el Ártico se ve afectado por los cambios en la extensión del hielo marino y su dinámica temporal junto con los cambios en la afluencia del Atlántico. En el caso del Norte de mar de Barents y de la cuenca del Nansen, estos patrones son relevantes para el suministro de este micronutriente esencial y están actualmente en proceso de cambio. Por tanto, es esencial evaluar el ciclo del

hierro y las corrientes para poder comprender mejor los futuros cambios en las proporciones de nutrientes entre macro(nitrógeno) y micro(hierro) y sus consecuencias para la producción primaria en el Ártico en su estado cambiante.

Por otra parte, el fitoplancton de los océanos es responsable de la mitad de la fijación fotosintética de carbono, es decir, a eliminar el CO₂ de la atmósfera, en la Tierra a nivel de producción primaria. Este fitoplancton marino para crecer necesita absorber los principales nutrientes carbono, nitrógeno, fósforo y silicio (en el caso de diatomeas) así como un conjunto de metales traza como hierro, zinc, cobalto, cobre y manganeso que están presentes en muy bajas concentraciones (prácticamente nulas) pero que son esenciales para el metabolismo del fitoplancton.⁹

1.2 EL OCÉANO ÁRTICO Y EL CALENTAMIENTO GLOBAL

Localización de muestreo

- Relevancia histórica de la zona

El Ártico es una de las regiones que más se ve afectada por el calentamiento de la Tierra, con un calentamiento atmosférico que ocurre aproximadamente al doble de la tasa media mundial.¹⁰

En las últimas décadas, ha habido disminuciones rápidas y a gran escala de la extensión y volumen del hielo marino. Actualmente, se está extendiendo el periodo sin hielo en gran parte del Océano Ártico y ampliando la zona del hielo estacional a medida que el hielo de varios años atrás se reemplaza por hielo del primer año.¹¹⁻¹³

La ampliación de la zona de hielo estacional implica que el fitoplancton puede estar activo en más zonas del Ártico.¹³

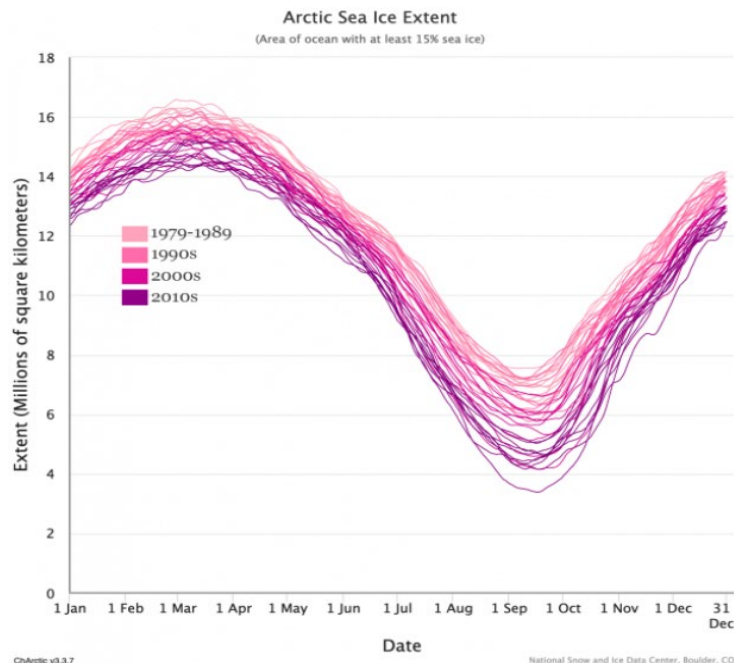


Figura 1. Evolución estacional de la extensión del hielo marino en el océano Ártico en diferentes décadas¹⁴.

Como se muestra en la Figura 1, cada año la evolución estacional del hielo marino del Ártico sigue la misma tendencia: crecimiento desde finales de septiembre hasta marzo o abril y

derretimiento desde abril hasta mediados de septiembre. Sin embargo, se observa como cada año se registran extensiones más bajas para todas las estaciones, especialmente en otoño e invierno.

La reducción del hielo marino varía según la región y, en concreto, el norte del Mar de Barents ha experimentado un aumento de 3,5 veces en los últimos 40 años con reducciones en la extensión del hielo marino en todas las estaciones.^{15,16}

El Océano Ártico se caracteriza por grandes plataformas continentalesⁱ y por una fuerte entrada de agua dulce de los ríos siberianos como el Ob, Yenisei y Lena y los ríos de América del Norte como el Mackenzie a las aguas superficiales y por el deshielo estacional¹⁷, como se ilustra en la Figura 2.



Figura 2. Imágenes que muestran los principales ríos que desembocan en el Océano Ártico, destacando el Ob, Yenisei, Lena y Mackenzie.¹⁸

Estas corrientes de agua dulce provocan una gran diferencia entre las capas marinas a las cuales llega la corriente con respecto a las aguas más profundas, lo que limita la convecciónⁱⁱ en invierno.^{19,20} Se prevé que estos efectos físicos afecten, por ejemplo, a la distribución del hierro disuelto en la columna de aguaⁱⁱⁱ del Ártico, dando lugar a desviaciones en la distribución vertical de los perfiles comunes en el océano abierto.¹⁹

Este aumento de agua dulce y de zonas y periodos libres de hielo, nos sugieren dos posibles futuros escenarios contradictorios que afectan a la ecología marina y la biogeoquímica del Ártico. Un mayor flujo de agua dulce debido a la precipitación, el derretimiento del hielo y la salida de los ríos podría intensificar más la estratificación de la superficie del océano e inhibir la mezcla de nutrientes de las aguas profundas con la superficie.¹³ Por otro lado, la mayor

ⁱ La plataforma continental es la superficie del fondo submarino próximo a la costa y zonas con profundidades inferiores a 200m.

ⁱⁱ Las corrientes de convección son debidas a variaciones de la densidad del agua al cambiar la temperatura.

ⁱⁱⁱ Una columna de agua es una columna conceptual de agua desde la superficie hasta los sedimentos del fondo. Este concepto se utiliza principalmente para evaluar estudios ambientales de la estratificación o mezcla (por ejemplo, las corrientes inducidas por el viento) de las capas de estratificación térmica o química en un lago, corriente u océano. (La mezcla vertical no es completa).

superficie de agua y las tormentas frecuentes promueven el ascenso de nuevos nutrientes a la zona eufótica ^{iv}empobrecida.

La producción primaria está regulada por la variabilidad estacional de la luz (radiación fotosintéticamente activa, PAR), la disponibilidad de nutrientes y la temperatura de la superficie del mar, todas ellas ligadas al ciclo estacional del hielo marino y su acoplamiento con la física del océano superior.

El florecimiento del fitoplancton de primavera se inicia cuando la PAR aumenta después de la noche polar. Las concentraciones de nutrientes son altas después de la reposición de otoño/invierno, la temperatura aumenta y la profundidad de la capa mixta disminuye a medida que las aguas superficiales se estratifican por el calentamiento solar y/o el aporte del agua del deshielo de mar.

El nitrato es el principal nutriente (macronutriente) limitante y sus concentraciones más bajas son después de la floración de primavera. Por tanto, la disponibilidad de nitrato ejerce una importante restricción en la medida en que la producción primaria puede aumentar en respuesta al aumento de la disponibilidad de luz con la actual disminución del hielo marino.

El continuo aumento de la producción primaria del Océano Ártico se plantea como respuesta al aumento de la luz y la temperatura a medida que la capa de hielo marino disminuye, y que en verano se reduzca a cero en las próximas décadas.

Otra de las localizaciones de interés, el mar de Barents, es una plataforma de entrada del Atlántico, donde la advección de aguas ricas en nutrientes de origen atlántico y los aportes fluviales son pequeños. Esta zona de estudio en la plataforma del Norte de Barents presenta una oceanografía dominada por el agua del Atlántico, el agua del Mar de Barents y el agua superficial polar. ¹¹ Además, el mar de Barents es muy poco profundo, de unos 200 m de profundidad, por tanto, la transferencia de elementos fuera de la columna de agua y la resuspensión del material particulado es común.

Los costes de estos tipos de estudios oceanográficos a estas latitudes son elevados y, por tanto, existen pocos datos en estas zonas, en el Océano Ártico, que nos ayuden a comprender los efectos del cambio climático y como afecta a las concentraciones de los oligoelementos. ¹⁸

Estudios previos demuestran que las fuentes y entradas de oligoelementos a las aguas superficiales del Océano Ártico se ven influenciadas por la deriva transpolar (TPD) que es el medio de transporte principal a través del Ártico central y cuya salida es a través del estrecho de Fram hacia el Atlántico (véase Figura 3). ²¹

^{iv} La zona eufótica es la zona de pequeña profundidad inmediatamente debajo de la superficie del mar donde la luz penetra lo suficiente para que ocurra la fotosíntesis. Es la capa donde los rayos luminosos pueden entrar con más intensidad.

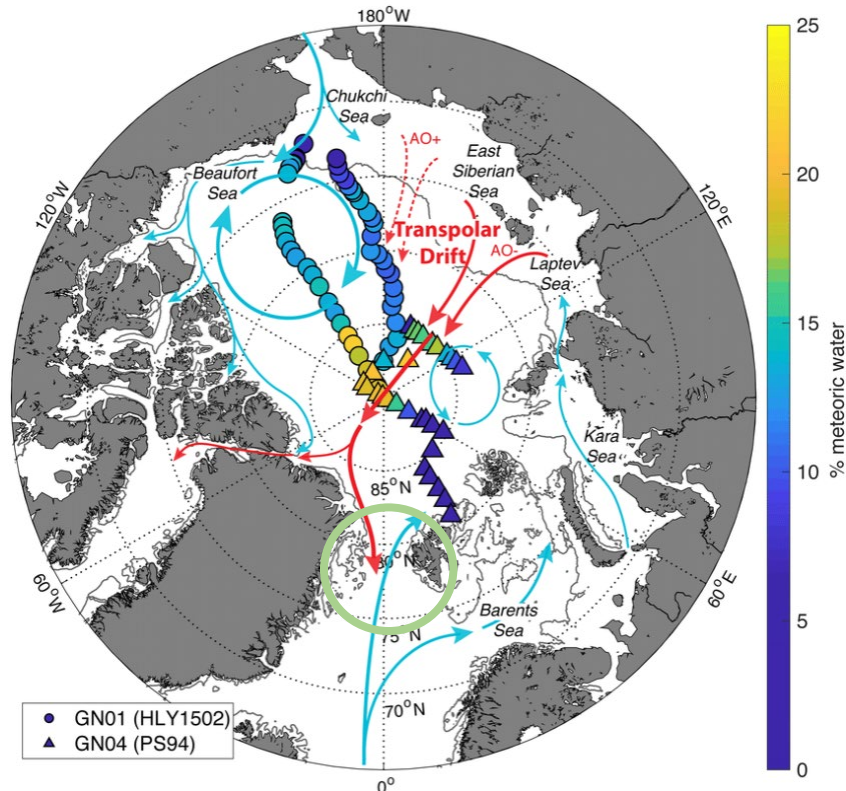


Figura 3. Mapa de las corrientes de agua en el Océano Ártico. ¹⁸ Cabe destacar la TPD, la localización del mar de Barents, mar de Kara, mar de Laptev, mar de Siberia Oriental y el círculo verde a la izquierda de éste que es el estrecho de Fram.

Los mares de Kara, Laptev y Siberia Oriental son mares marginales del Ártico con temperaturas inferiores a los 0°C en invierno. Se comienzan a congelar entre octubre y noviembre y se descongela entorno junio y julio. Además, poseen una importante afluencia de ríos y de deshielo en verano. Sobre el mar de Kara desembocan el río Ob y Yenisei. En el mar de Laptev se encuentra la salida del río Lena. Se trata del mar más superficial, con una profundidad media de 48 metros. Por último, en el mar de Siberia Oriental desemboca el río Kolyma. Se trata de la región con mayor plataforma superficial de todo el Ártico y posee una profundidad media de 20-30 metros. ^{22,23}

- Estaciones de muestreo

Dentro de los cuatro mares mencionados se llevó a cabo el muestreo de columna de agua sobre el mar de Barents y de sedimentos en los mares Kara, Laptev y Siberia Oriental.

A continuación, se muestran los mapas de todos los mares con sus correspondientes localizaciones de muestreo. Estos mapas fueron realizados con el "Ocean Data View" ^v (ODV).

^v Paquete de software utilizado para la oceanografía: <https://odv.awi.de/>

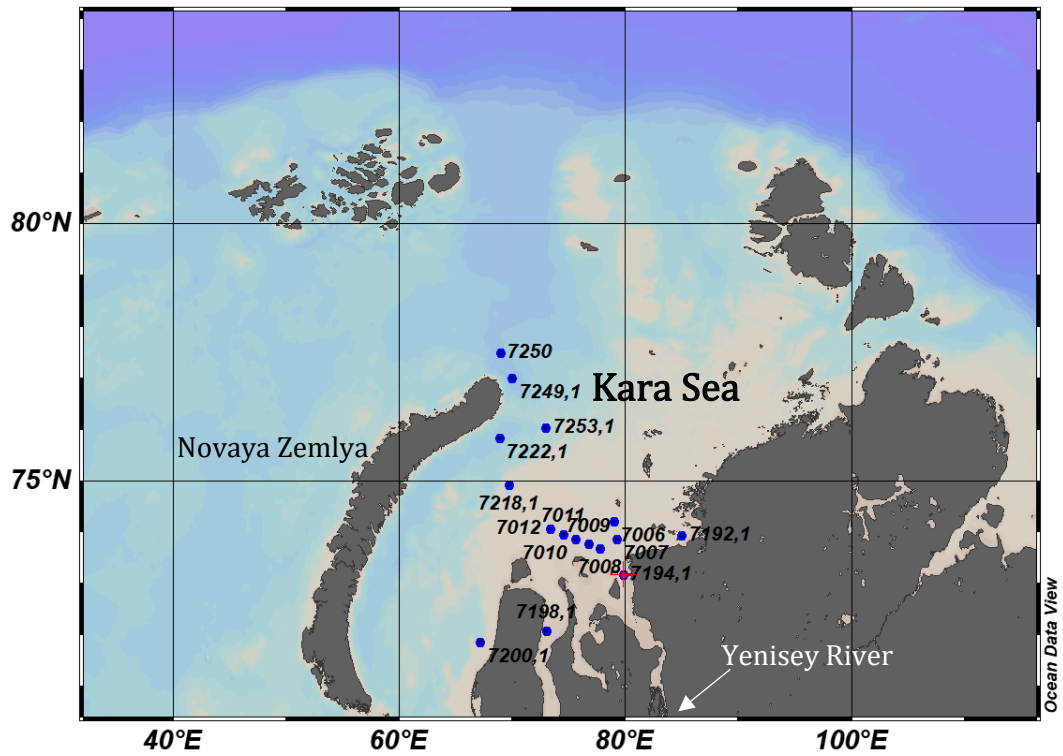


Figura 4. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Kara. Las estaciones representadas son tanto de las muestras de 2020 como del 2021.

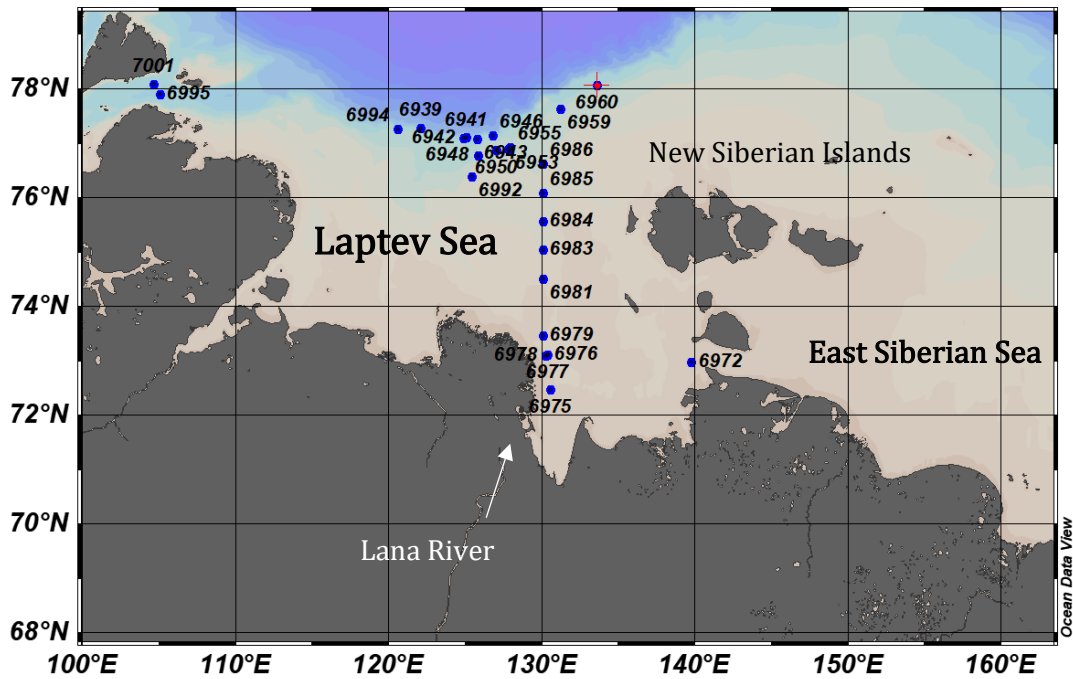


Figura 5. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Laptev.

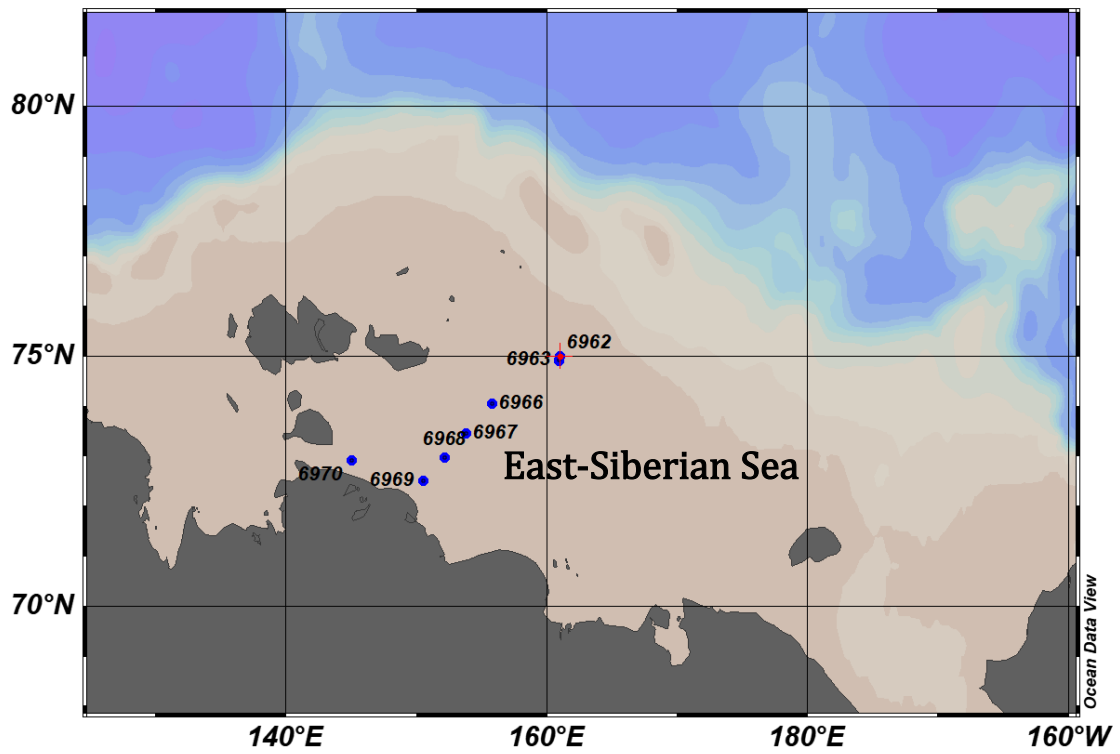


Figura 6. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Siberia Oriental.

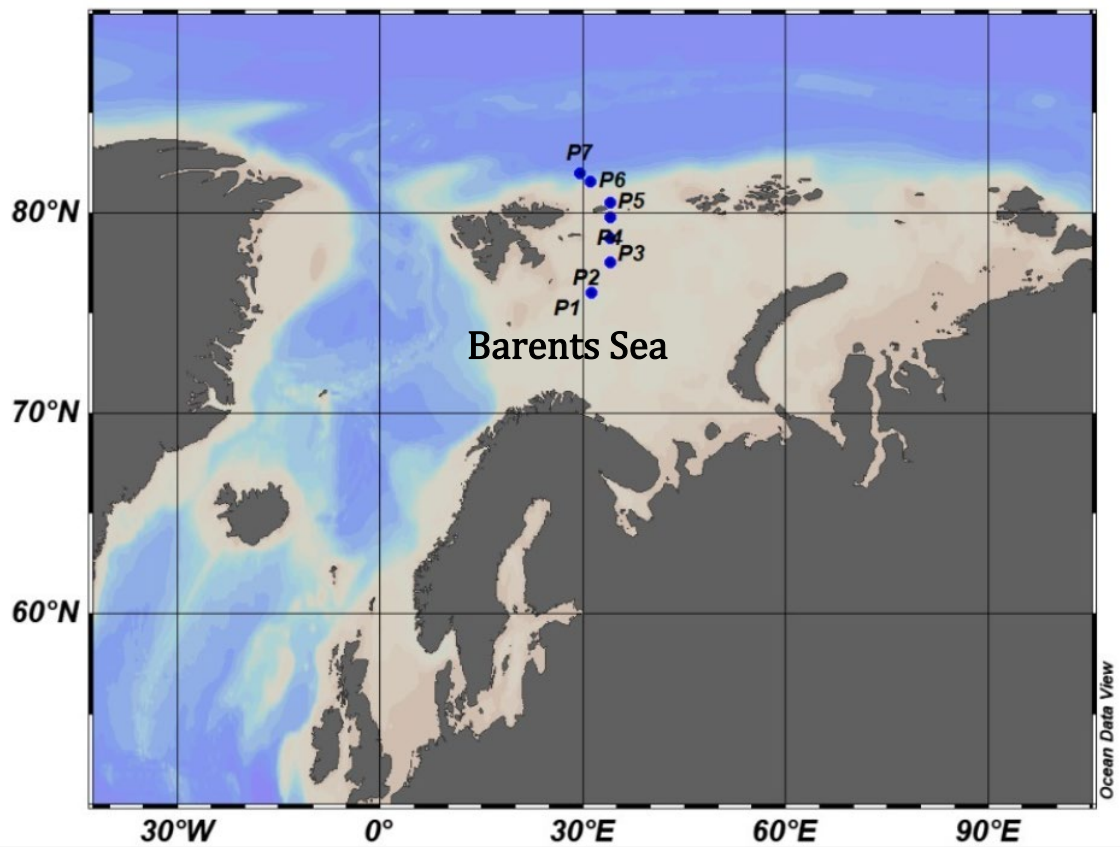


Figura 7. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Barents.

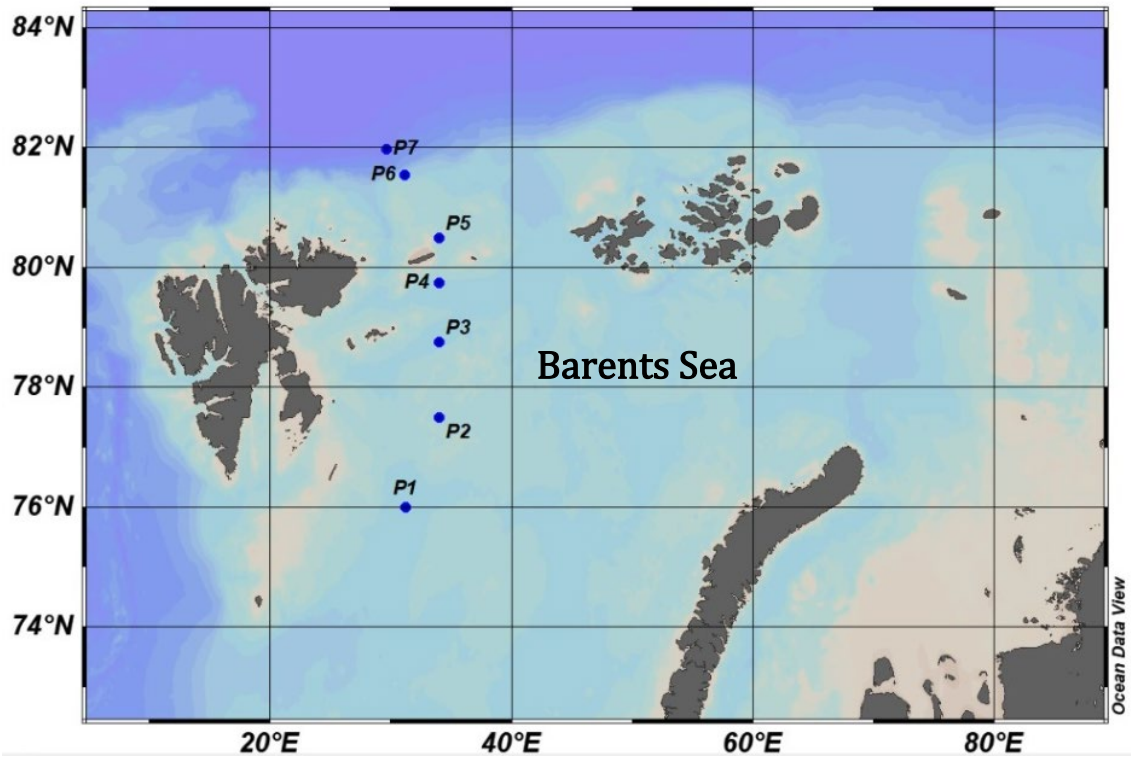


Figura 8. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Barents. Destaca que la estación P6 está justo en el borde de la plataforma continental y el P7 fuera de la plataforma continental.

2. OBJETIVOS

Este TFG está ligado a dos proyectos de investigación de la Universidad de Noruega NTNU (Norwegian University of Science and Technology) ubicada en Trondheim sobre el ciclo biogeoquímico de metales traza y ultratrazas en la región del Ártico, y su **objetivo general** es

- **DETERMINAR LOS CICLOS BIOGEOQUÍMICOS DE LOS DIFERENTES METALES Y METALOIDES Y SU DISTRIBUCIÓN Y EVOLUCIÓN TANTO EN LA COLUMNA DE AGUA COMO EN SEDIMENTOS.**

Debe tenerse en cuenta que la investigación del ámbito marino requiere grandes instrumentos (como por ejemplo un barco preparado para el muestreo), análisis rutinarios y mucho tiempo para la preparación de muestras debido a que las concentraciones normalmente son tan bajas (para los metales traza) ¹, que se requiere trabajar en condiciones de absoluta limpieza para reducir la contaminación y conseguir resultados de mayor calidad. ⁴

Por lo que se refiere a nuestra contribución, **los objetivos de este TFG serán:**

- **Determinar las concentraciones de los oligoelementos hierro, manganeso, zinc y cobalto en muestras de sedimento en los mares de Kara, Laptev y Siberia Oriental.**
- **Definir las concentraciones de los metales traza hierro, manganeso, zinc y cobalto en las muestras de material particulado pertenecientes al mar de Barents.**
- **Demostrar el vínculo que existe entre el hierro y el fitoplancton a través del análisis de tres cultivos de fitoplancton a los cuales se les ha aplicado tres tratamientos genómicos diferentes.**

Y más específicamente

- **Comparar las concentraciones obtenidas de hierro para el material particulado y los cultivos de fitoplancton.**
- **Identificar la tendencia que existe en las muestras de sedimentos pertenecientes al mar de Kara de los años 2020 y 2021.**
- **Evaluar de manera comparativa las tendencias de las concentraciones de los elementos mencionados en sedimentos, de los mares Kara, Laptev y Siberia Oriental.**
- **Contrastar el efecto de la profundidad de la columna de agua sobre la concentración de los sedimentos en el hierro, manganeso, zinc y cobalto.**
- **Describir por medio de mapas, la variación de la concentración en función de la localización para los sedimentos.**

La zona de interés a tratar es la plataforma y el talud continentales dentro del Norte del mar de Barents y la cuenca oceánica de Nansen. Esto se desarrolla a partir de un proyecto más amplio perteneciente al crucero "The Nansen Legacy" (ver página web ²⁴).

Como vista general, las muestras que se obtuvieron de ese crucero y que van a estudiarse, son de columna de agua. La columna consta de tres fracciones, la total (sin filtrar ni tratamiento alguno), la parte disuelta y la fracción particulada que denominamos material particulado. El objetivo del crucero era recoger muestras de la columna de agua de todas las estaciones, sin embargo, en alguna estación se estableció algún objetivo adicional que también formará parte de este trabajo como es hielo marino y filtros (para el material particulado). Por tanto, se

hicieron cuatro cruceros en total: en agosto de 2019, diciembre de 2019 y los dos siguientes se trasladaron a 2021 debido al Covid. El propósito era obtener muestras de un año entero, es decir, un crucero por cada estación.

En resumen, las muestras de hielo pertenecen al crucero de verano (de agosto), el material particulado es de primavera (de mayo) y la columna de agua, las muestras más importantes, son de todas las estaciones, puesto que se trata de ver la influencia de la estacionalidad. Lo ideal habría sido tener de los tres tipos de muestra para cada crucero, pero fue físicamente imposible.

Por otra parte, también se dispone de muestras de otro crucero de una expedición rusa en la cual se recogió sedimento de diferentes zonas del Ártico como el mar de Kara, el mar de Laptev y el mar de Siberia Oriental. Este trabajo forma parte de otro proyecto de investigación, llamado "BEST-Siberian" (ver página web ²⁵), cuyo principal objetivo consiste en estudiar las transformaciones y el transporte de elementos bioesenciales y tóxicos (aunque en este TFG solo me centraré en los bioesenciales) en la zona del Ártico por el deshielo de la plataforma continental siberiana debido al cambio climático. Como ya se ha mencionado, esto afecta a los procesos biogeoquímicos marinos como la absorción y la liberación de gases invernadero.

Gracias a este proyecto se proporcionarán datos, de dos años 2020 y 2021, y conocimientos sobre los riesgos medioambientales y ecológicos por la creciente movilidad y transformación de oligoelementos bioesenciales y tóxicos en la plataforma continental siberiana bajo el deshielo del permafrost ^{vi}.

La plataforma continental siberiana forma parte del Océano Ártico y es la mayor plataforma continental de la Tierra. Debido al cambio climático, están apareciendo riesgos ambientales y ecológicos en la zona debido al descongelamiento del permafrost.

El calentamiento del Ártico y consecuente deshielo del permafrost provoca un aumento en los flujos de materia orgánica e inorgánica (oligoelementos, nutrientes y contaminantes) hacia el océano Ártico, como ya se ha mencionado.

^{vi} El permafrost se define como el suelo, el lecho de roca y el material terrestre donde la temperatura no ha superado los 0 °C durante dos años consecutivos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

EXPERIMENTACIÓN

Como se ha señalado con anterioridad, se van a analizar elementos traza de diferentes muestras tomadas en la región del Ártico. Por tanto, la sensibilidad de este proceso debe ser máxima y la contaminación mínima, lo que implica que se deben seguir ciertos protocolos relacionados con la manipulación de las muestras como se comenta en este capítulo.

Aunque a lo largo de la estancia en el laboratorio se han estudiado datos de columna de agua tanto para material particulado, como disuelto, además de la fracción total.

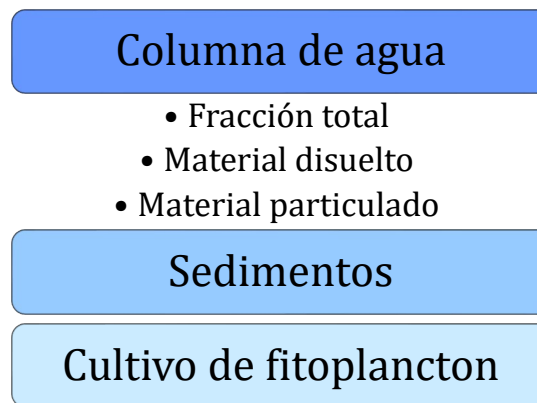


Figura 9. Esquema de las diferentes muestras que se muestrearon, trataron y analizaron.

En este TFG solo expondremos y trataremos los datos de sedimentos, material particulado y de cultivo de fitoplancton.

3.1 Método de muestreo y tipo de muestra

Las campañas realizadas por el crucero permitieron la toma de muestras de columna de agua dentro del agua de mar. Esta columna se divide en tres fracciones, la total (sin filtrar ni tratamiento alguno), la parte disuelta y la fracción particulada. Este concepto de columna de agua se utiliza principalmente para evaluar estudios ambientales de la estratificación o mezcla (p. ej. las corrientes inducidas por el viento) de las capas de estratificación térmica o química en un lago, corriente u océano (la mezcla vertical no es completa).

Por tanto, los diferentes tipos de muestra que vamos a coger, tratar y analizar que se muestran en este trabajo son los siguientes: fracción de columna de agua particulada o material particulado, fracción de sedimentos y fracción filtrada de cultivos de fitoplancton.

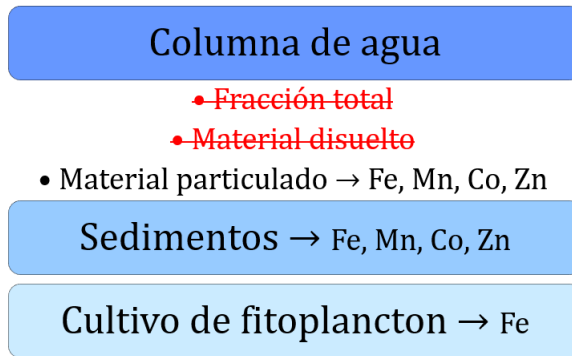


Figura 10. Esquema de las diferentes muestras que se analizarán y los elementos traza implicados.

- Columna de agua

La recogida de columna de agua se realiza mediante las botellas GO-FLO, que están recubiertas de teflón para evitar la contaminación de la muestra. Para el muestreo, estas botellas se cuelgan de una cuerda de kevlar, (poliparafenileno tereftalamida) ya que se busca un material fuerte que no sea metal. Estas botellas llevan un mecanismo con una válvula de presión, de modo que las botellas entran cerradas y a partir de los 10 metros aproximadamente se abren automáticamente por presión hidrostática. A medida que llegan a la altura deseada se van lavando y luego se envía el mensajero para recoger la muestra. Por tanto, se asume que lo que se colecta es lo que está flotando, no hay posibilidad de que haya material que se degrade. No es una recogida de muestra estacionaria.

Para el uso de estas botellas, es necesario que estén prelavadas. Primero se desmonta entera y se limpia cada pieza y las paredes con un disolvente orgánico, el 2-propanol, y seguidamente con agua destilada para quitar todo resto de disolvente. Después se deja 24 horas en una disolución con detergente (3,5 g por 5 L que es la capacidad de cada botella). Pasado un tiempo, se lavan con agua desionizada tres veces. Se vuelve a llenar y dejar almacenada durante 24 horas con una disolución de ácido nítrico ultrapuro (UP) 0,1 M. Finalmente se vacía y se lava como agua miliQ.^{vii}



Figura 11. Fotografía de las botellas GO-FLO de 5 litros utilizadas para la toma de muestras de columna de agua.

^{vii} El agua miliQ es agua purificada y ultrapura gracias a un sistema de filtración y purificación.

La toma de muestra se realizó con estas botellas GO-FLO a distintas profundidades 40, 30, 20 y 10 metros en las distintas localizaciones que se muestran en la figura 8. En cada estación de muestreo se realizaron dos réplicas.

En la columna de agua recogida se diferencian inicialmente dos partes, la fracción disuelta y la fracción particulada.

Para separar ambas fracciones se dispone de un sistema de filtrado (ver figura 12). En muy rara ocasión, podría haber presencia de un copépodo^{viii}, que es un crustáceo, es decir, parte de lo que es el zooplancton. Se coloca un filtro de policarbonato de 47 mm de diámetro y, en este caso, se utilizaron distintos tamaños de poro de 2, 4 y 10 μm . La filtración se realizó secuencialmente de mayor a menor tamaño de poro bajo una campana de flujo laminar. Sobre el filtro se añaden 5 mL de una solución de oxalato (especificada más adelante donde los cultivos de fitoplancton: ver página 35). Tras la filtración, se revisa el filtro y en alguna ocasión se puede observar color verde o café.

El material particulado de estos filtros puede ser inorgánico u orgánico. Según la estación del año, las condiciones son distintas, pero en el periodo de primavera se asume que lo que conforma la mayoría del material particulado que contiene elementos traza es orgánico (como cuando se habla del fitoplancton). Estos filtros se doblan en cuatro, se guardan en unas placas Petri etiquetadas y se meten al congelador a $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Por otra parte, la fracción disuelta obtenida se guarda en botellas Nalgene de teflón y se conservan en el frigorífico. También se guardó en el mismo tipo de botella, una muestra de la columna de agua original a modo de fracción total.



Figura 12. Fotografías de los sistemas de filtrado para obtener las muestras de material particulado en filtros de 2 μm de tamaño de poro y las placas Petri etiquetadas con sus correspondientes filtros.

- Sedimentos

La técnica de muestreo empleada para las muestras de 2020 de sedimento fue la llamada “box corer”, que se realiza a través de una draga. Se escogió esta técnica, porque mantiene las capas de los sedimentos sin mezclar. En nuestro caso, solo se analizó la capa superior, es decir, los

^{viii} Los copépodos son un grupo de pequeños crustáceos cuyo hábitat es de agua dulce y salada. Si habita en aguas marinas, se trata de una especie planctónica y si es en el fondo del océano, bentónicas. Su forma es larvaria y se alimenta de fitoplancton.

sedimentos superficiales (entre 0 y 2 cm) con ayuda de un tubo de plástico. Por lo tanto, esta técnica de muestreo, diseñada para una mínima perturbación de la superficie de los sedimentos, es relevante para obtener resultados cuantitativos.²⁶ Por otra parte, en 2021 se utilizó para muestrear un “multi-corer”, que consta de ocho tubos de muestreo. De nuevo, la muestra se seccionó con un tubo de plástico. Las fotos mostradas en la Figura 13, ilustran el uso de la draga para la toma de muestra de sedimentos.



Figura 13. Fotografías donde se visualiza la técnica “box corer” empleada en el muestreo de sedimentos



Figura 14. Fotografía del muestreador “multi-corer” empleado en 2021 para la toma de sedimentos (izquierda). Y fotografía mía en el barco junto a un compañero de trabajo (derecha).

Estos sedimentos se conservaron en bolsas de plástico, etiquetados y guardados en un congelador a -22 °C.

- Cultivos de fitoplancton: filtros de fitoplancton

En colaboración con el departamento de biotecnología, se recibieron unos cultivos de diatomeas de fitoplancton (un solo tipo de organismo) para demostrar la bioacumulación que sufren del hierro. Se trataba de la especie *Phaeodactylum tricornutum*. Estos cultivos estaban divididos en tres tratamientos genómicos diferentes y estaban controlados por el número de células. Para realizar el conteo, se utilizó la citometría de flujo. Esta técnica de análisis permite identificar

diferentes poblaciones celulares de manera simultánea, en nuestro caso, de una única población, y se realiza gracias a un láser que hace incidir su haz de luz.²⁷

Las condiciones de cultivo y medio de cultivo vinieron determinadas por el protocolo de cultivo F2-media de Guillard y Ryther 1962 y Guillard en 1975²⁸, el cual es comercial y se prepara sobre agua de mar natural, controlando la temperatura entre 18°C y 22°C y controlando la energía lumínica, que beneficia su crecimiento. En resumen, se trata de agua de mar natural tratada y enriquecida con nutrientes adicionales como fosfatos, nitratos, oligoelementos esenciales, vitaminas y como fuente de carbono, dióxido de carbono.



Figura 15. Fotografías de las muestras de cultivos de fitoplancton y una imagen del microscopio de las células de *Phaeodactylum tricornutum*.²⁹

3.2 Transporte y almacenamiento

Todas las muestras fueron transportadas en el crucero “Nansen Legacy” y el “BEST-Siberian” y luego, en camiones hasta el laboratorio de biogeoquímica marina la NTNU en Trondheim. Las muestras de filtros y sedimento fueron almacenadas en un congelador a – 22°C, mientras que las muestras de columna de agua, a excepción del material particulado, se mantuvieron a temperatura ambiente.

3.3 Metodología: Instrumentación requerida y fundamento teórico de las técnicas analíticas usadas

En esta sección se describirá brevemente la instrumentación y las técnicas analíticas que se han utilizado con las muestras antes mencionadas.

- SeaFAST

Para llevar a cabo la preconcentración de muestras de columna de agua, tanto particuladas como disueltas, o si se hubiera dispuesto de hielo marino, se utilizó el SeaFAST.³⁰

El SeaFAST pico es un sistema completamente automatizado de introducción de muestras (automuestreador) para la determinación de metales ultratraza en agua de mar sin diluir.³¹

Gracias a este sistema se logra la eliminación de la matriz del agua de mar y la preconcentración de los elementos traza (en este caso analitos) utilizando una extracción en fase sólida (SPE) mediante una columna que contiene resina Nobias Chelate-PA1. Esta resina está funcionalizada con grupos de coordinación de ácido etilendiaminotriacético y ácido iminodiacético, cuya estructura se muestra en la Figura 16 y que presentan una alta afinidad por una variedad de elementos traza. La quelación de los metales, por los grupos funcionales de la resina, está influenciada por el pH y, como consecuencia, la recuperación del metal traza depende del pH de la muestra por la que presenta una alta afinidad por una variedad de elementos traza.^{4,32} A un pH superior a 2 pueden formarse coloides de metales traza después de acidificar las muestras pudiendo alterar la retención de los metales en la resina.

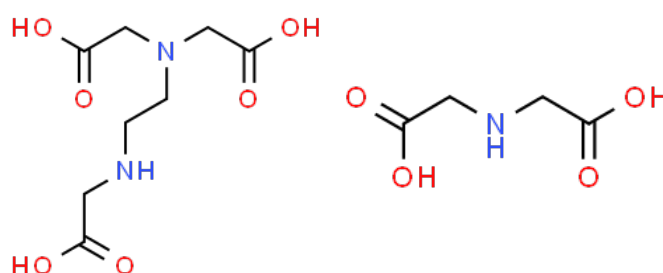


Figura 16. Estructuras del ácido etilendiaminotriacético y ácido iminodiacético.

Algunas de las ventajas que presenta son el control de los volúmenes y caudales que garantizan una carga y elución de la columna muy reproducibles, elevada capacidad y rendimiento de las muestras, determinación de múltiples elementos y flexibilidad para procesar otros tipos de muestra. La más importante es el pequeño volumen de muestra que se requiere por análisis.¹

Ya que es un instrumento innovador, a continuación, se explicará detalladamente el principio de funcionamiento y las partes principales de este equipo y del proceso.

El equipo dispone de dos columnas, una para la limpieza del tampón, que minimiza la contribución del tampón al blanco y otra para realizar la preconcentración. Estas columnas contienen las resinas orgánicas para la eliminación de la matriz y la extracción simultánea de elementos traza, como ya se había mencionado.

Por tanto, gracias a esta resina, se produce un intercambio iónico. Las resinas quelantes tienen una gran afinidad por todos los elementos analizados con altas recuperaciones. La eficacia de estas resinas suele tener un rango de pH 5-8. Por ello, es importante evaluar los cambios en la recuperación después de la preconcentración de la resina que afecta tanto a los isótopos naturales como a los introducidos. La cuantificación de las muestras y del agua de mar de referencia se realiza mediante la dilución isotópica de los elementos.

Se dispone también de un tampón de pH que se utiliza en la preconcentración de la muestra y en la eliminación de la matriz del agua de mar.

A un pH aproximado de 6, los metales de transición se quelan en la columna de preconcentración, mientras que los elementos de la matriz de los grupos 1 y 2 (alcalino y alcalinotérreo) se eliminan de la columna.³⁰



Figura 17. Sistema de inyección, columna y funcionamiento de las columnas en cada fase del SeaFAST (carga, limpieza de la columna y elución).³⁰

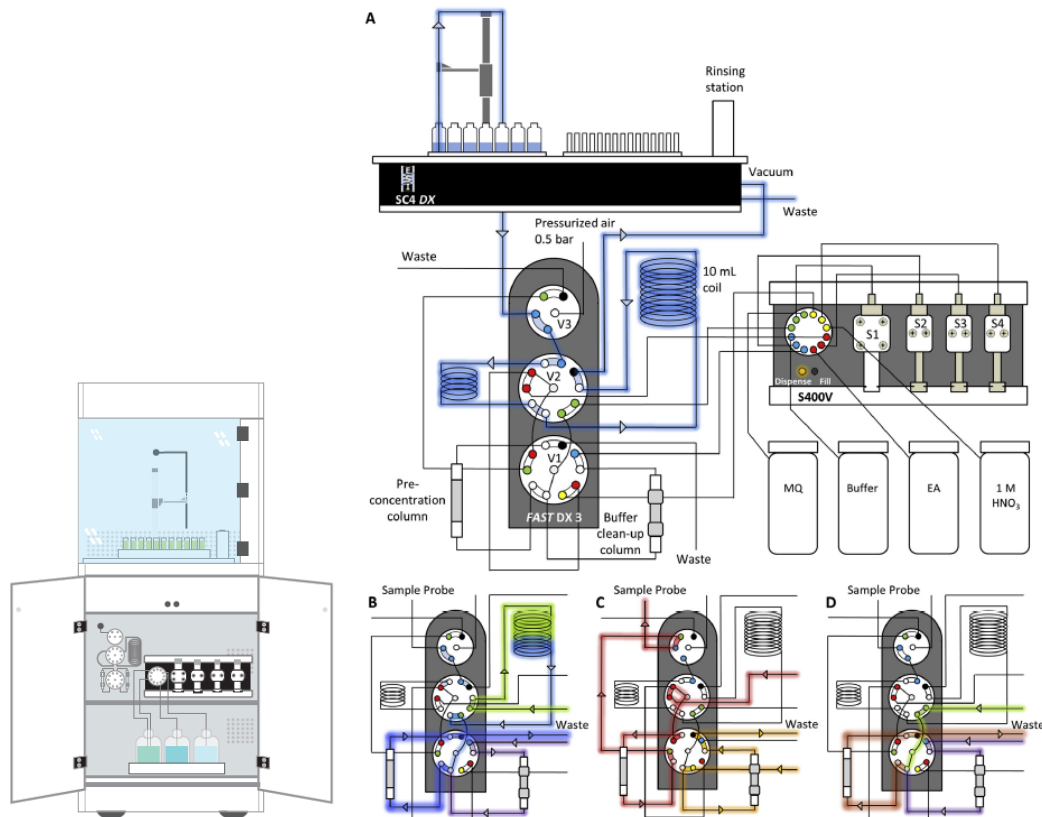


Figura 18. Esquema del sistema SeaFAST. Descripción del proceso: : A: (1) carga de la muestra en la bobina: la sonda se desplaza hacia la muestra, la bomba de vacío integrada se enciende y gracias a ella se aspira la muestra en la bobina; (2) carga de la muestra en la resina: la muestra atraviesa la resina de concentración al mismo tiempo que el tampón de pH; B: (3) enjuague de la matriz con agua desionizada (agua miliQ) para eliminar la matriz salina de la resina; (4) introducción de la muestra: la sonda se traslada a la estación de enjuague y el bucle de muestra y el sistema de introducción de la muestra se descargan con HNO_3 1M; C: (5) elución de la muestra con ácido: los metales preconcentrados se eluyen en los viales (tubos de teflón) gracias al ácido y utilizando aire a presión; D: (6) limpieza de las resinas de preconcentración (la columna) y del tampón se hace con ácido de elución y HNO_3 1M y (7) para finalizar, se acondicionan las columnas para posteriores muestras. Se añade tampón y agua desionizada sobre las columnas. La sonda vuelve a la estación de enjuague, y el bucle de muestra y el sistema de introducción de muestras se enjuagan con HNO_3 1M.⁴

En resumen, se va a utilizar un método analítico automatizado y rápido para el análisis simultáneo de múltiples metales traza y niveles de ultratrazas en pequeños volúmenes de agua de mar, para investigar el ciclo biogeoquímico de los metales traza en el océano.⁴



Figura 19. Vista completa del SeaFAST.

- Secado por congelación (Freeze-dryer)

Para las muestras de sedimento, antes de llevar a cabo su digestión y su posterior análisis, necesitamos eliminar su contenido en agua. Para ello se utilizó el freeze-dryer (FD) (Alpha 1-4 LD plus, Martin Christ).

Principalmente es un instrumento que sirve para deshidratar alimentos sensibles al calor o productos de alto valor comercial o para actividades especiales. Se basa en la sublimación, que es la transformación de estado sólido a gas sin pasar por la fase líquida.

Presenta cuatro componentes básicos: una cámara de secado, una bomba a vacío, una fuente de calor y un condensador. En la cámara de secado es donde se colocan las muestras congeladas; dicha cámara presenta un diseño hermético al vacío y dentro de ella se producen los procesos de enfriamiento y calentamiento. La bomba de vacío elimina los gases no condensables de la cámara. La fuente de calor proporciona el calor latente de sublimación una vez que la muestra congelada está en condiciones de alto vacío. La función del condensador es recoger el vapor de agua liberado por la sublimación del hielo (contenido de agua) dentro la muestra. El vapor de agua entra en contacto con la superficie del condensador y se convierte en cristales de hielo liberando energía. Al final del proceso, los cristales se eliminan del sistema.³³ Un esquema del equipo y fotografías del mismo se muestran en las Figuras 20 y 21, respectivamente.

Por tanto, este instrumento, utilizando bajas presiones 0,94 mbar y temperaturas -20°C , eliminamos permite eliminar todo el contenido de agua que presentaban las muestras de sedimento.

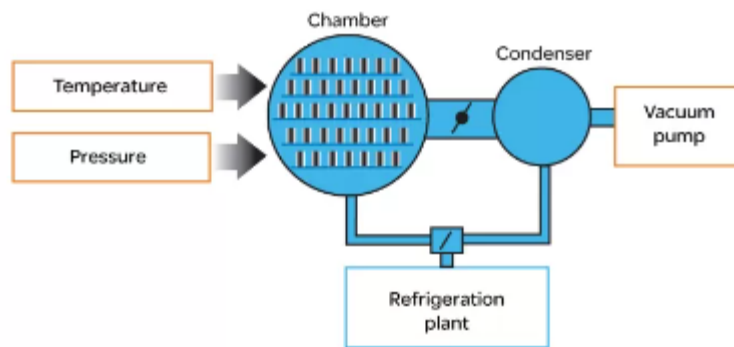


Figura 20. Esquema del equipo de secado utilizado para el pretratamiento de las muestras de sedimentos³⁴.

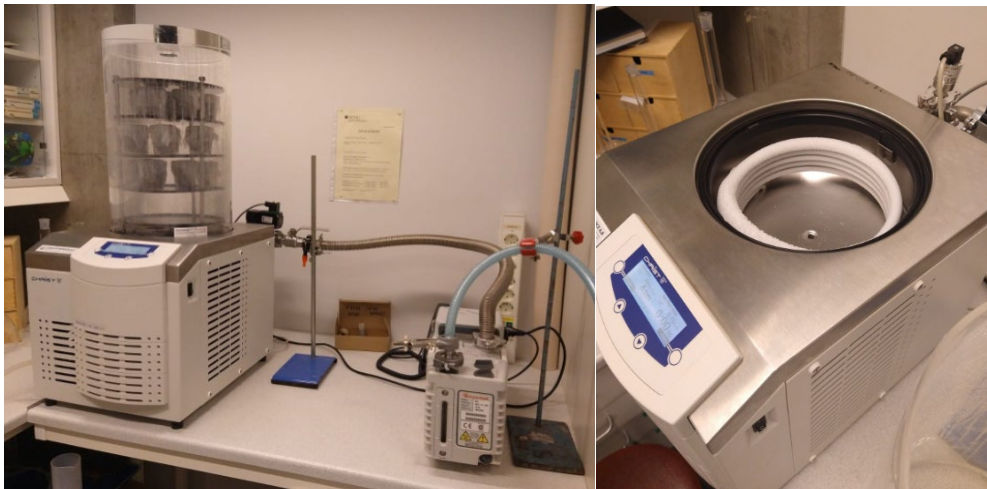


Figura 21. Fotografía del equipo con las muestras en la cámara de secado junto con la bomba de vacío (izquierda). Fotografía del condensador congelado tras el uso (derecha).

- UltraCLAVE

Tanto para los filtros como para los sedimentos se utilizó el UltraCLAVE (UC), que es un instrumento que sirve para la digestión de muestras por microondas, utilizando altas temperaturas y presiones, y que permite analizar muchos tipos de materiales. En la Figura 22 se muestra una fotografía del equipo.



Figura 22. Fotografía del equipo UltraCLAVE (SCR technology UltraCLAVE, MILESTONE).

El equipo dispone de una cámara de reacción (SRC) presurizada, que es de acero inoxidable, en la que se colocan las muestras y se digieren simultáneamente. El recipiente de reacción es la cavidad de microondas, por tanto, se puede optimizar la intensidad y distribución de la energía de microondas suministrada a la forma del recipiente. Esto garantiza un calentamiento uniforme y elimina la necesidad de girar las muestras durante la digestión. Los tubos que contienen la muestra son de TFM, un copolímero de politetrafluoroetileno (PTFE), teflón, (de alto rendimiento). Estos tubos o viales tienen tapones para evitar que la condensación del techo de la cámara gotee en las muestras y no se ajustan fuertemente para que la presión pueda ser igual que en la cámara.

En la Figura 23 se muestra un esquema de las distintas etapas de funcionamiento del equipo. Las muestras se pesan en viales, se les añade ácido y se colocan en la gradilla. Cuando el proceso empieza la cámara se cierra. El programa de microondas es el mismo para cualquier tipo de muestra y permite controlar y mantener la presión y temperatura en el sistema. La cámara se presuriza con nitrógeno a 50 bares antes de comenzar con el calentamiento. Cuando la temperatura aumenta, la presión también, por lo que nunca se produce la ebullición.

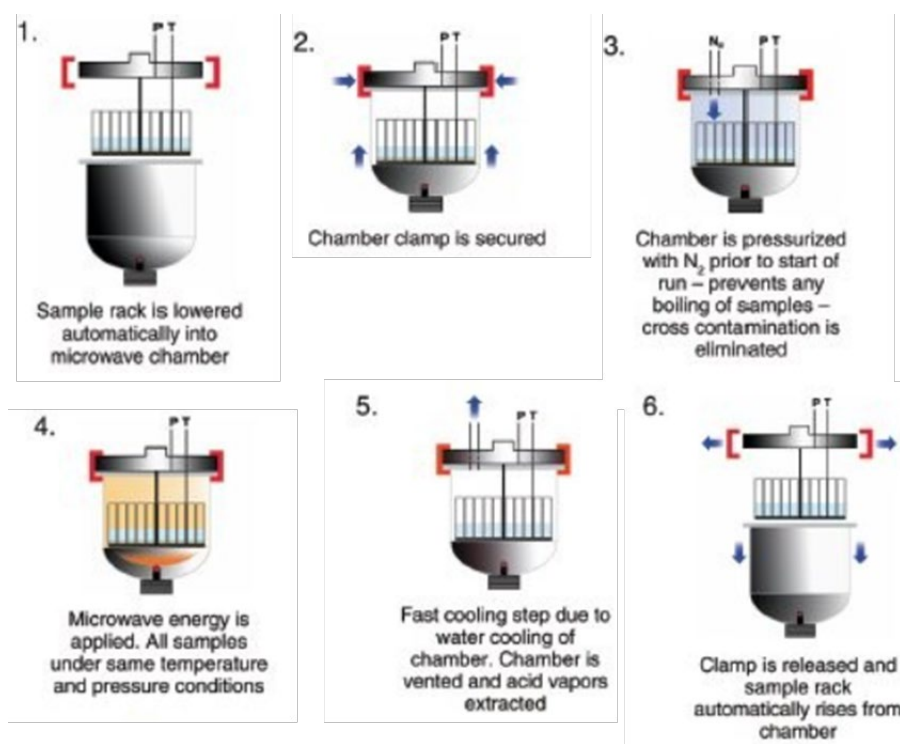


Figura 23. Esquema de las diferentes etapas de funcionamiento del equipo UltraCLAVE.³⁵

Cuando el programa se detiene, la refrigeración por agua enfría entra en la cámara, se libera la presión poco a poco y los gases y vapores se extraen, finalmente, se suelta la pinza y se abre la cámara.³⁵

- Espectrómetro de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Para el análisis de todas las muestras, tanto de columna de agua como de filtros y sedimentos, se utilizó un espectrómetro de masas ICP-MS (Agilent: 8800 triple quadrupole). Es un instrumento de análisis con gran sensibilidad y potencia y es vital para la química marina.²

Generalmente los elementos alcalinos y alcalinotérreos se encuentran en concentraciones relativamente altas y pueden causar problemas durante el análisis con el ICP-MS debido a la precipitación de sal en diferentes partes del instrumento y existen interferencias isobáricas con el analito de interés. Por esto, para la mayoría de las muestras de agua de mar (columna de agua), se debe eliminar la matriz salina antes del análisis (como ya se ha mencionado, el SeaFAST eliminaba la matriz salina).

Las muestras preconcentradas o diluidas (según el tipo de muestra) se analizan mediante este espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente de campo sectorial de alta resolución (Element-XR), en baja resolución para algunos isótopos y resolución media para otros, lo que permite resolver las interferencias isobáricas.

Con cálculos específicos, se pueden obtener las proporciones isotópicas de diferentes elementos de las muestras, así como las concentraciones de éstos.⁴

El funcionamiento consiste en un bombeo de la muestra líquida al nebulizador para convertir la muestra en un aerosol. Un estándar interno se bombea en un mezclador junto con la muestra antes de la nebulización para compensar los efectos de la matriz. Las gotas grandes se filtran y las pequeñas continúan hacia la antorcha de plasma, convirtiéndose en iones. Estos iones son separados en función de su relación masa-carga. A continuación, un detector de iones convierte estos iones en una señal eléctrica, que se multiplica y lee mediante un programa informático.

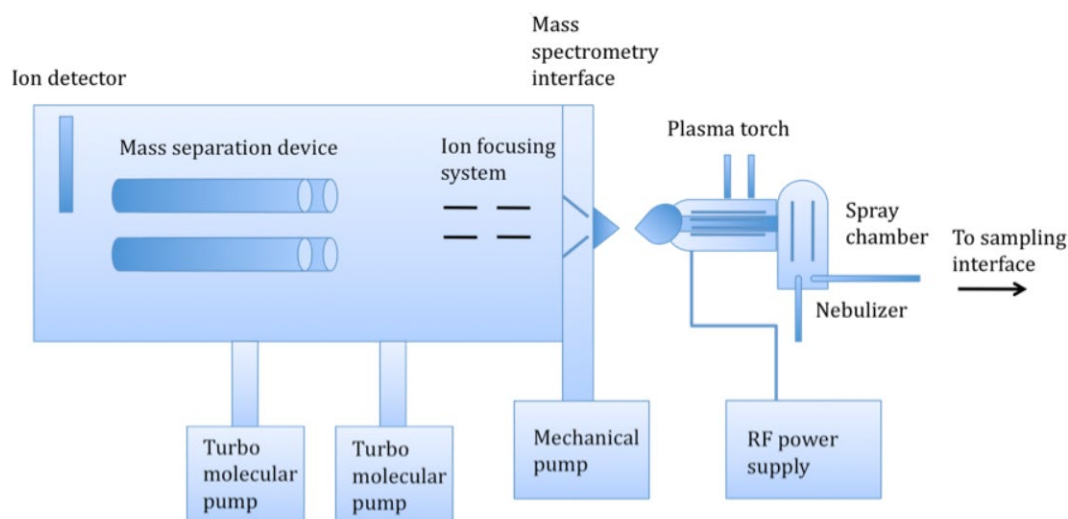


Figura 24. Esquema del funcionamiento y partes del espectrómetro de masas (ICP-MS).³⁶

En cuanto al tubo de muestra, si se utiliza vidrio debe lavarse periódicamente con un agente oxidante fuerte, como el ácido crómico. Por eso, en este caso y en general, es mejor utilizar plástico, siendo el teflón y el PTFE los plásticos más limpios.

Tanto recipientes, como puntas de pipetas, pipetas y similares, deben haber tenido un tratamiento previo con ácido nítrico. Si usamos clorhídrico podría ionizarse en el plasma.

Las muestras, que tienen que estar en forma líquida y sin partículas, deben diluirse hasta una concentración baja.

Aunque el instrumento presenta numerosas ventajas, también tiene ciertos inconvenientes. En primer lugar, la intensidad de la señal varía con cada isótopo, habiendo ciertos elementos que

no pueden ser detectados; entre ellos la mayoría de los elementos gaseosos, el carbono y los elementos sin isótopos naturales.³⁶

3.4 Pretratamiento y procesamiento de la muestra

Como se indicó con anterioridad, es imprescindible trabajar de una manera muy rigurosa y limpia para evitar cualquier tipo de contaminación.

Para las muestras de material particulado y los cultivos de fitoplancton se trabaja en un laboratorio denominado “clean lab” (cámara limpia), el cual está totalmente aislado y se tiene que entrar con trajes que cubren cabeza, la zona de la bata y los pies. Sin embargo, para las muestras de sedimento se trabajó en un laboratorio común.

Todos los envases y botellas que se utilizan para tratar la muestra necesitan un protocolo de lavado especial, de acuerdo al siguiente proceso:

- 1) Enjuague con agua miliQ 3 veces
- 2) Llenado con ácido clorhídrico 1 M y almacenaje durante 24 horas
- 3) Lavado con agua miliQ 4 veces. Este enjuague se hace de manera progresiva, cada vez más volumen hasta acabar llenando el volumen entero.
- 4) Llenado de los tubos con ácido nítrico 1 M UP y conservarlo así durante 24 horas dentro de un horno a 50 °C.
- 5) Finalmente, enjuague con agua desionizada 5 veces de manera progresiva en volumen. Tiene que pasar un mínimo de 3 días lleno antes de su uso. Después se almacenan, en un lugar seguro, dentro de una doble bolsa que se etiqueta convenientemente.

▪ Sedimentos

Las muestras de sedimentos superficiales procedentes de la expedición rusa vinieron empaquetadas en bolsas de plástico. Estas muestras estaban almacenadas a -22°C en el congelador, por tanto, había que descongelarlas y eliminar el contenido en agua de ellas. Para ello se utilizó el “freeze dryer” (FD), pero antes de eso, las muestras necesitaban una manipulación previa.

Primero se pesaron las diferentes muestras y se abrieron con un cuchillo de cerámica (se están analizando metales, por tanto, todo material que se use no puede ser fuente de contaminación). Una vez abiertas se colocaron dentro de recipientes de plástico y se cubrieron con Parafilm. Con el mismo cuchillo, se realizaron diversos agujeros al Parafilm para que el agua pueda salir. Una vez preparadas se colocaron en la bandeja del FD y se mantuvieron en el congelador durante 24 horas.

En la Figura 25 se pueden visualizar las muestras de sedimentos colocadas en la cámara de secado del equipo.

Tras estas horas, se puso en funcionamiento el FD siguiendo el protocolo del “Freeze dryer” del Anexo 1 y tras 24 horas (que es lo que suele durar el proceso) se obtuvieron las muestras secas. Éstas volvieron a pesarse para determinar así el contenido en agua de las mismas (aproximadamente unos 12 g de agua). Si las muestras se hubieran dejado secar al aire podría haberse producido contaminación por el ambiente. El FD es más seguro.



Figura 25. Fotografía del equipo de secado cargado con muestras de sedimentos.

A continuación, se tiene que homogeneizar la muestra siguiendo el protocolo detallado del Anexo 2. Lo más destacado es el uso del mortero para la molienda y la limpieza con ácido nítrico 5%, después tres veces con agua y, por último, el secado con un pañuelo.

La muestra homogeneizada se guarda en tubos de 20 mL que han sido previamente sometidos a un severo protocolo de limpieza con nítrico.

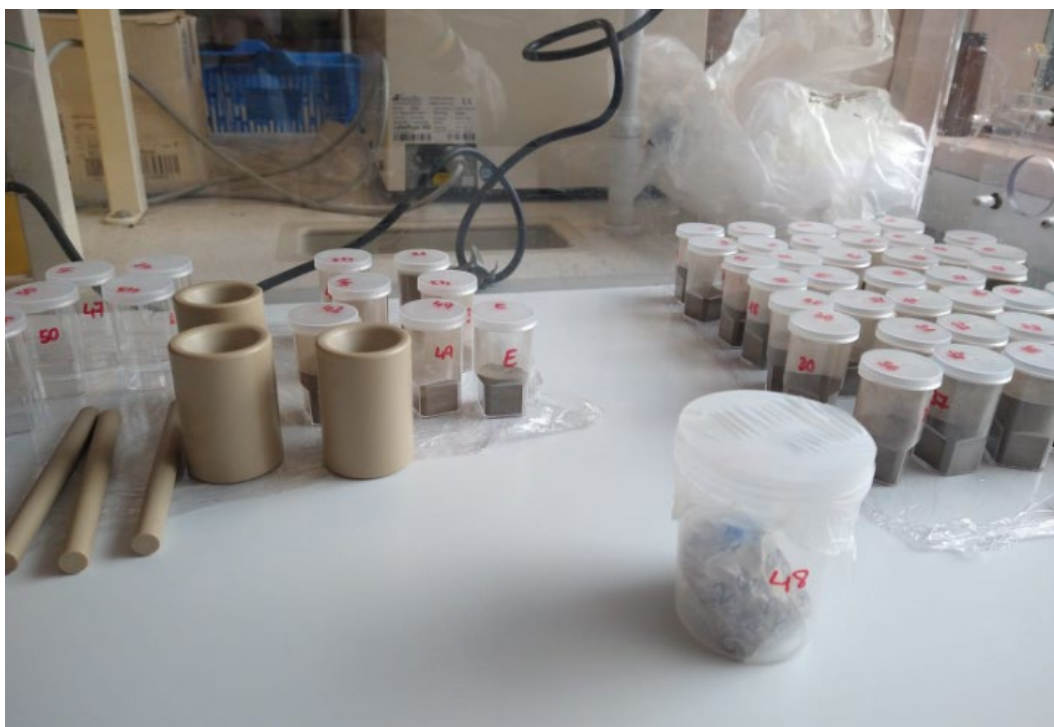


Figura 26. Fotografías del proceso de homogeneización de las muestras de sedimento secadas.

En total se obtuvieron 60 muestras de sedimento homogeneizadas y listas para continuar con su tratamiento de digestión y posterior dilución

Como ya se mencionó, las muestras de sedimentos se sometieron a digestión en el UltraCLAVE.

Cada ronda de digestión permite una capacidad de hasta 40 muestras. Al tener 60 muestras, se realizaron dos rondas del UC. Cabe destacar que se añadieron por cada ronda, 3 muestras de materiales de referencia y 3 muestras de blancos como método de control de calidad.

Se necesitaron 72 tubos de UC y 72 tubos Falcon de polietileno (“trace metal free of teflon”) de 15 mL. En este caso, los materiales de referencia utilizados corresponden a BCR No. 277R (muestra de sedimento de estuario No. 0622 detallado en el Anexo 3).

La digestión se llevó a cabo mediante ácido nítrico ultrapure al 65% (HNO_3) y ácido fluorhídrico (HF) al 40% sobre los tubos de teflón del UC prelavados. Este lavado se realizó con ácido nítrico y durante una semana aproximadamente. Para poder usarlos se les sometió a un proceso de limpieza dentro del propio UC, llenándolos con ácido y programando el método standard de limpieza siguiendo el protocolo del Anexo 4. Cabe destacar, por ejemplo, que tras terminar el programa se tiene que dejar media hora sin tocar para que los gases NO_x se vayan de la cámara.

Una vez que tuvimos estos tubos limpios y el material preparado, se siguió el siguiente procedimiento. En cada tubo del UC se pesó una cantidad de sedimento < 250 mg. Después, se añadió mediante un sistema dispensador 5 mL del HNO_3 y con una multipipeta 1 mL de HF. Para el uso del HF hay que ponerse un traje especial debido a su peligrosidad y hay que estar presente con alguien de un cargo alto siguiendo las medidas rigurosas que se proporcionaron en un curso específico.

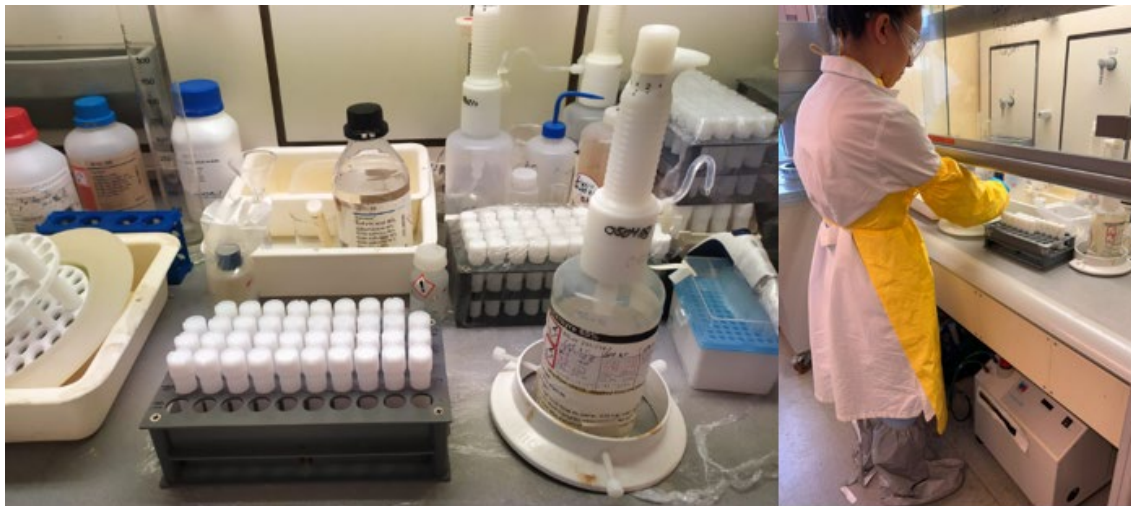


Figura 27. A la izquierda, fotografía de los tubos de UC con los sedimentos pesados y los ácidos añadidos. También está el dispensador de ácido nítrico mencionado. A la derecha, fotografía con el traje que se utiliza para tratar el HF mientras se trabajaba en el proceso.

Se colocaron todos los tubos en la bandeja y se metieron en un recipiente con una solución de H_2O_2 tal y como indica el protocolo mostrado en el Anexo 4 del funcionamiento del UC. Se programó el UC con el programa de “Sediments HFNO_3 ” (un protocolo que incrementa la temperatura de manera más gradual para que la digestión se realice al completo y de manera más eficiente). Tras 4 horas la digestión había concluido.



Figura 28. Fotografía de la bandeja donde se colocan los tubos de UC para su digestión.

A continuación, se realizó la dilución de cada tubo de la siguiente forma. Se vació el contenido del tubo de UC en una botella tarada. Se limpió el tubo tres veces con agua miliQ vertiéndolo en la botella y se añadió agua para completar la dilución en peso hasta el total de 120 g aproximadamente. Se registró el peso y se vertió una porción de unos 12 mL en los tubos Falcon de 15 mL para llevar a análisis al ICP-MS.

- Material particulado

Las muestras de material particulado, ya en filtros, se encontraban en las placas Petri en el congelador. Para poder analizarlos necesitaban tratarse con una digestión, por medio del UC, y posterior dilución.

Los filtros se colocaron dentro de tubos de teflón del UC con unas pinzas de plástico. Las muestras se trataron con HNO_3 y HF. Al igual que para los sedimentos, se necesitó usar un digestor.

Para los blancos, se utilizaron filtros de 47 mm de diámetro de policarbonato prelavados con ácido nítrico y aclarados con agua miliQ. Se prepararon 3 blancos de los filtros para cada tamaño de poro (0,2 μm , 2 μm y 10 μm) y 3 blancos con en los tubos del UC con solo ácidos para controlar el proceso de digestión. Además, también se pusieron 3 tubos con tobacco leaves (INCT-OBTL-5), que sirve de material de referencia. Se pesaron aproximadamente 0,02 g por tubo.



Figura 29. Fotografía del material de referencia INCT-OBTL-5 y de los filtros que se utilizaron como blancos.

Por tanto, a cada tubo se le añadió 2,5 mL de HNO_3 al 65% y 500 μL de HF. El proceso de digestión es idéntico al realizado en sedimentos. Tras finalizar, la dilución se realizó de manera levemente distinta. En este caso, con diluir a 60 mL, en vez de a 120 mL como con los sedimentos, era suficiente según se había determinado anteriormente con otras muestras.

Se vertió el contenido del tubo de UC en un tubo Falcon de 45 mL y se diluyó hasta unos 40 g en peso de agua miliQ. En total, los 60 filtros fueron digeridos y diluidos y se registró su peso final por tubo, de aproximadamente 61,2 g de media. De nuevo, se vierte una porción de unos 12 mL en los tubos Falcon para llevar a análisis al ICP-MS.

- Fitoplancton

Se utilizó un sistema de filtración como para el material particulado (Figura 30), que fue prelavado con HNO_3 1 M. Las placas Petri y los papeles de filtro de policarbonato de 2 μm fueron también prelavadas con 0,5 M y los tubos Falcon con 0,25 M.

Todos los procesos son iguales o muy similares a los del material particulado.

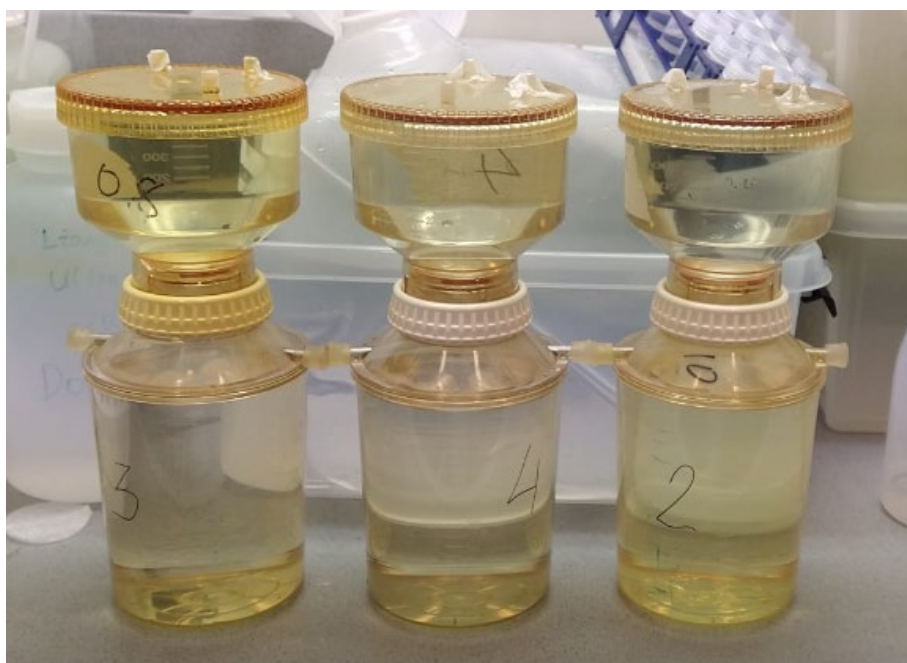


Figura 30. Sistemas de filtración con la disolución de ácido para el prelavado.

Estos sistemas de filtración se conectan a una bomba de succión para controlar cuando va a ocurrir la filtración y la velocidad de la misma.

Para lavar los cultivos de las algas se empleó una disolución de oxalato que contiene 0,3 M NaCl, 0,1 M KCl, 100 Mm $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ y 50 Mm EDTA para que el lavado sea efectivo según se determinó por Tang y Morel (2006).³⁷ Tras preparar la disolución, se midió el pH y se ajustó hasta 7 añadiendo NaOH.

De los 9 cultivos de los que se disponía (3 cultivos con distintos tratamientos genómicos y dos réplicas de cada uno) se van a filtrar parte directamente, a lo que se denominó cultivo concentrado, y otra parte se va a hacer tras una dilución 1:3 con agua miliQ, nombrado como cultivo diluido.

El procedimiento fue el siguiente. Primero se colocaba el filtro (2 μm) en la parte que se muestra en la Figura 31 (que se indica con una flecha). Con el sistema cerrado, se añadían 30 mL de cultivo y 5 mL de la disolución de oxalato para que el hierro adsorbido en la parte exterior del fitoplancton y que contenían las células del interior salieran a la disolución y se fuera depositando en el filtro. Tras 15 minutos se encendía la bomba y se filtraba todo. Después se realizaban tres enjuagues con el miliQ, de unos 10 mL aproximadamente (en total). Cuando ya no había contenido acuoso, se abrió el sistema, se dobló el filtro y se colocó en una placa Petri etiquetada.

Con los cultivos diluidos se procedió de igual manera a excepción de que se añadieron 62 mL de agua miliQ al cultivo antes de filtrarlo.

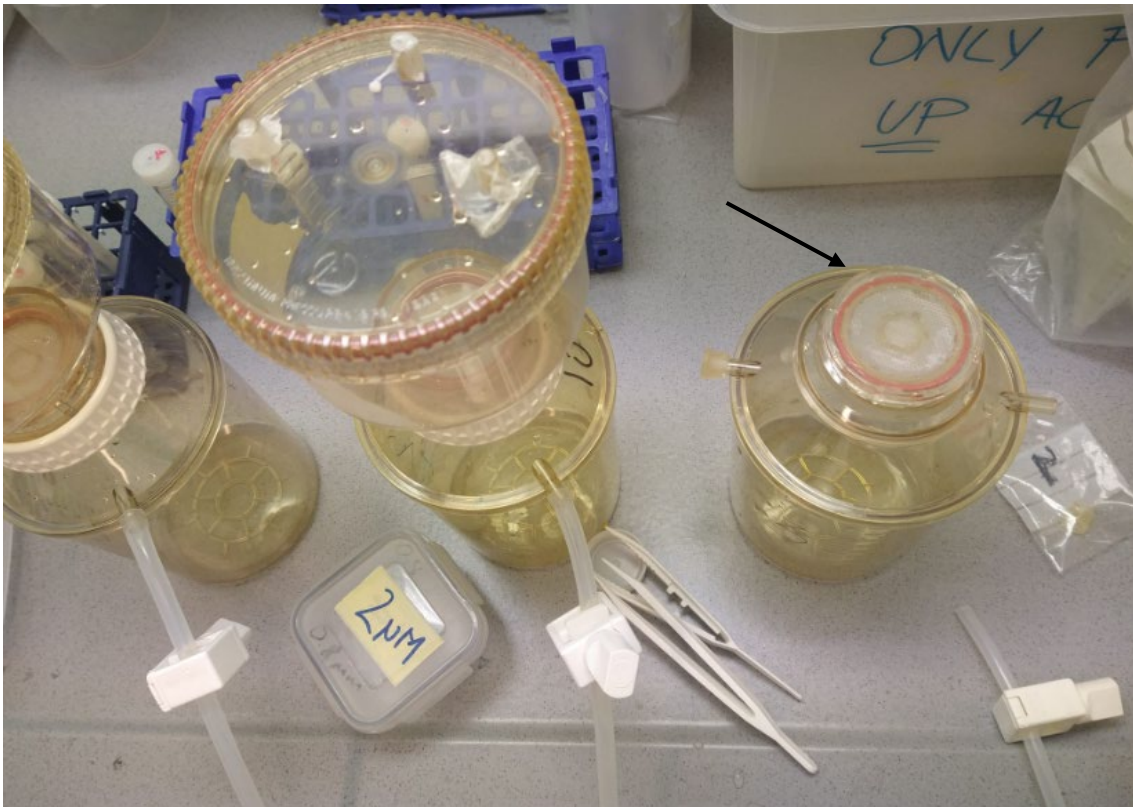


Figura 31. Fotografía del material empleado para la filtración de los cultivos de fitoplancton. La flecha de la derecha señala un filtro colocado sobre el sistema.

Todos los filtros se almacenaron en el congelador a -22°C hasta que se realizó la digestión.

El proceso de digestión y análisis fue el mismo que para los filtros que contenían el material particulado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Muestras de Sedimentos

El muestreo de los sedimentos, perteneciente al proyecto “BEST-Siberian” se realizó en tres localizaciones, el mar de Kara, el mar de Laptev y el mar de Siberia Oriental, en distintas estaciones (ver estaciones en las Figuras 4, 5 y 6). En total se analizaron 60 muestras, las cuales en su gran mayoría pertenecen al año 2020 a excepción del mar de Kara que tiene también del año 2021.

En total, se analizó la concentración en el ICP-MS de 42 elementos incluyendo lantánidos. (Se reporta en el Anexo 5 una tabla recopilatoria de las concentraciones de cada uno de estos elementos en $\mu\text{g/g}$, ya corregidas por blancos y por dilución). Sin embargo, aunque se disponen de todos estos datos, no se van a comentar en su totalidad porque se sale del ámbito de un TFG. Son datos que servirán a futuro para ver si existen cambios o tendencias que tengan que ver con el ámbito biogeoquímico del Ártico.

Por tanto, en este trabajo sólo se discutirá a cerca de los cuatro elementos bioesenciales más importantes hierro, manganeso, cobalto y zinc.

En primera instancia, los valores de concentración ($\mu\text{g/L}$) obtenidos del ICP-MS fueron corregidos por dilución y peso de muestra y por los blancos de UC (en total 6 blancos analizados algunos de ellos hasta 3 veces para comprobar la reproducibilidad de la técnica analítica utilizada). Tras la corrección los datos de concentraciones se evalúan en $\mu\text{g/g}$, o lo que es lo mismo, ppb.

En la Tabla 1 se resumen los datos obtenidos para los elementos objeto de estudio en los blancos.

Tabla 1. Resultados de las concentraciones obtenidas para los blancos del UltraCLAVE (UC) mediante el ICP-MS.

	Mn	Fe	Co	Zn
Average ($\mu\text{g/L}$)	0,040	1,976	0,049	0,247
Minimum value ($\mu\text{g/L}$)	-0,181	-0,233	-0,115	-0,236
Maximum value ($\mu\text{g/L}$)	0,180	4,431	0,104	0,149
Standard deviation ($\mu\text{g/L}$)	0,132	1,992	0,042	0,132

Se observa que la desviación estándar de los valores de los blancos es aceptable.

Debido a la cantidad de muestras que hay, todos los resultados se van a presentar a modo de gráfico. Para ver cuáles son las tendencias generales de las concentraciones, se va a hacer uso de los gráficos “box plot”, también conocido como diagrama de cajas y bigotes.

- Mar de Kara

De las 17 muestras procesadas del mar de Kara, 7 eran del crucero de 2020 y 10 del 2021. En el Anexo 5 aparecen los datos explícitos. Globalmente las concentraciones observadas son las que se muestran en las Figuras 32-36.

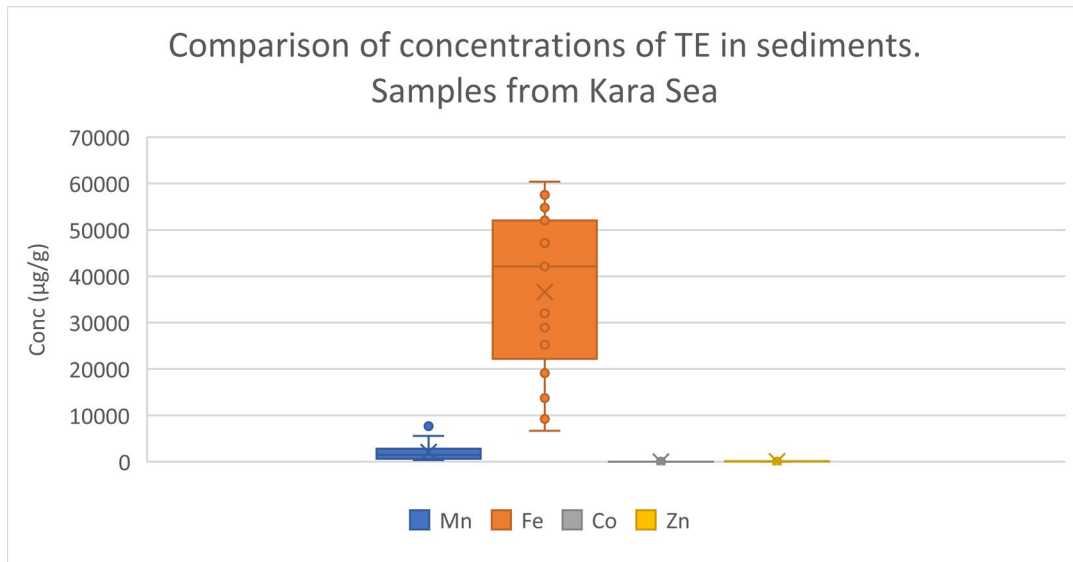


Figura 32. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ (ppb) de los cuatro metales manganeso, hierro, cobalto y zinc a través de sus cuartiles (en la caja), siendo Q1 la raya inferior que implica el 25% de los datos, Q2 o mediana que es la raya del medio y Q3 que es la tercera raya de la caja que implica el 75% de los datos. Los bigotes son las líneas que se extienden de la caja hasta valores máximos y mínimos.

En la Figura 32 se observa que la concentración de hierro es muy superior a las de cobalto y zinc y superior a la de manganeso.

Por tanto, para ver mejor la distribución de los valores compararemos estos metales dos a dos, hierro junto manganeso y cobalto junto a zinc.

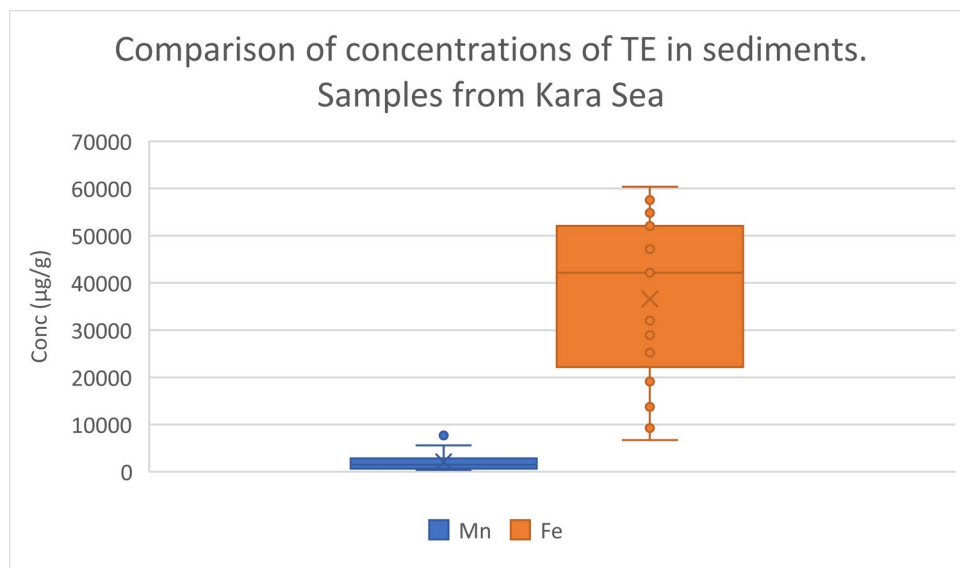


Figura 33. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del manganeso y el hierro.

En el manganeso, el bigote superior es más extenso que el inferior, lo que implica que el 25% de las concentraciones inferiores tienen una menor dispersión que las mayores concentraciones del 25% superior. Para el hierro, la parte superior de la caja es menor que la inferior, lo que quiere decir que las concentraciones entre el 25% y 50% de la población están más dispersas que en el 50-75% de la población. Por tanto, la concentración de hierro en el “box plot” no es gaussiana, no es simétrica y la media y mediana no coinciden.

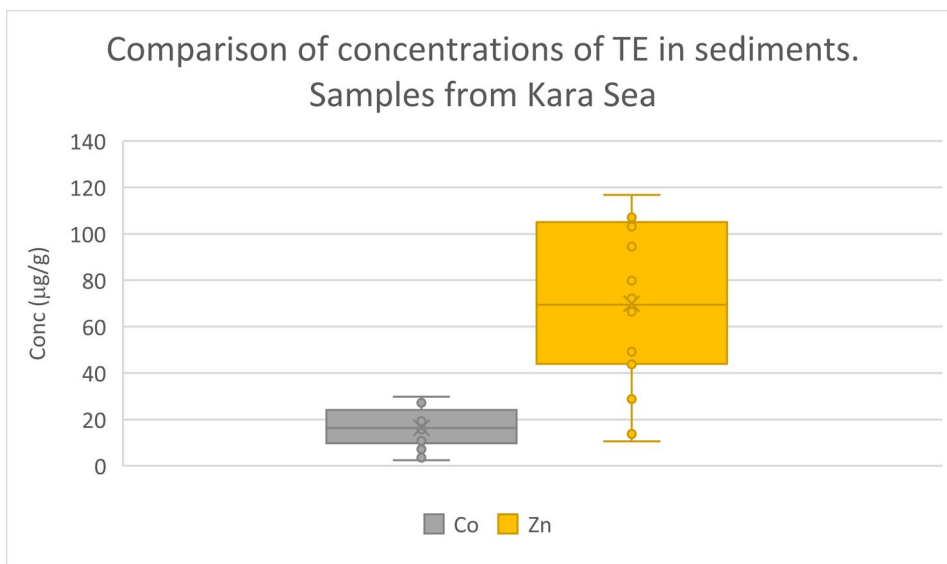


Figura 34. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del cobalto y el zinc.

Se observa que la concentración de Zn es superior, pero que los datos son más dispersos que para el caso del Co.

Debido a que en esta zona de muestreo teníamos datos de dos años, se realizaron los siguientes gráficos para deducir su tendencia.

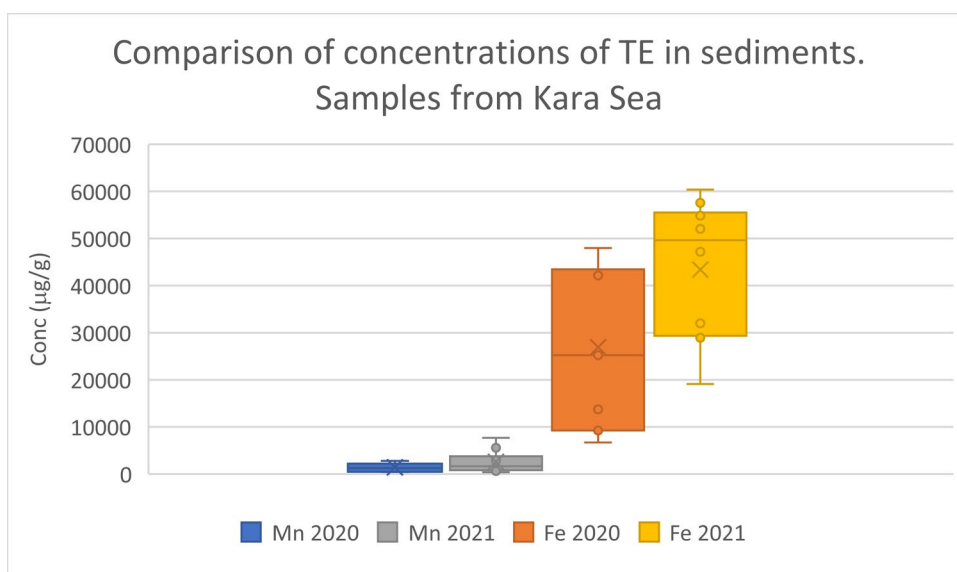


Figura 35. Representación de las distribuciones de las muestras pertenecientes a dos años de las concentraciones del manganeso y hierro.

En la Figura 35 podemos indicar que existe una tendencia de aumento de la concentración en un periodo de un año. Esto implica que las concentraciones de estos metales en los sedimentos han aumentado anualmente, ha habido una mayor deposición y/o bioacumulación en la superficie del fondo marino.

Se realizó el mismo gráfico para los metales menos concentrados.

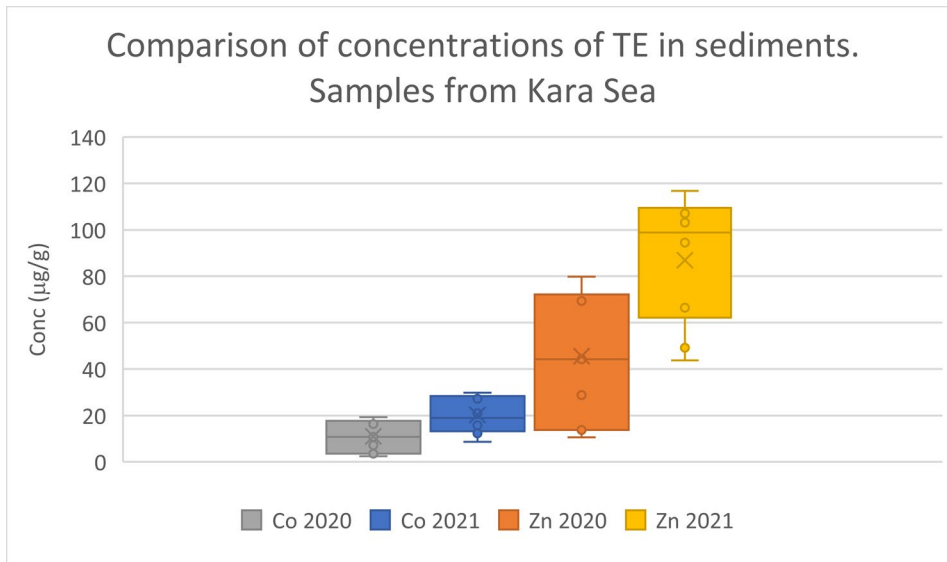


Figura 36. Representación de las distribuciones de las muestras pertenecientes a dos años de las concentraciones del cobalto y zinc.

Se observa la misma tendencia ascendente de las concentraciones.

Por tanto, dado que esta tendencia sucede en cuatro metales bioesenciales, podemos asumir que la deposición de estos tiene una tendencia de aumento sobre los sedimentos.

Además, para presentar los resultados de una manera más visual y tener una mejor visión general de las distintas concentraciones de las muestras respecto a su ubicación se utilizó "Ocean Data View" (ODV). El ODV es un paquete de software para el análisis y visualización de datos oceanográficos y de otros perfiles georreferenciados.

Representando las posiciones de muestreo respecto a la concentración obtenida se obtuvieron los siguientes mapeados de superficie.

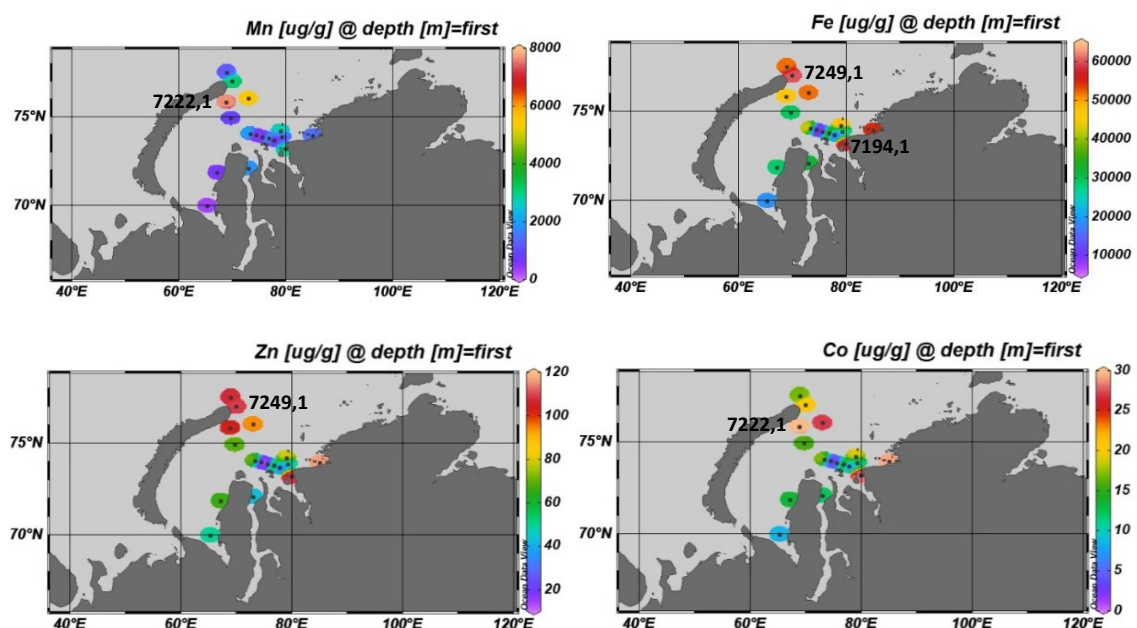


Figura 37. Mapas del mar de Kara de las estaciones en función de las concentraciones obtenidas para los distintos elementos bioesenciales.

En estos mapas, los valores con mayores concentraciones presentan color rojo mientras que las menores concentraciones son de color morado, como se observa en la escala de la derecha de concentraciones en $\mu\text{g/g}$. Para el manganeso el máximo se encuentra en la estación 7221,1 con una concentración de $7682,68 \mu\text{g/g}$. Respecto al cobalto, el máximo se encuentra en esta misma estación y es de $29,87 \mu\text{g/g}$. Para el hierro el máximo está en la estación 7249,1 con un valor de $60395,97 \mu\text{g/g}$. Por último, el máximo del Zn también pertenece a esta estación y es de $109,83 \mu\text{g/g}$.

Estas concentraciones máximas coinciden con las zonas de muestreo de la parte superior del archipiélago Nueva Zembla. En este archipiélago se está experimentando el deshielo superficial debido a los cambios estacionales y coincide con lugares con columnas de agua más profundas, de 585 metros para el caso de la estación 7249,1 y 320 metros para la estación 7222,1.

En la estación 7194,1, excepto para el manganeso, existe otra zona de concentraciones elevadas. Esto es debido a que el río Yenisei desemboca allí, pudiendo ser una posible fuente de estos metales.

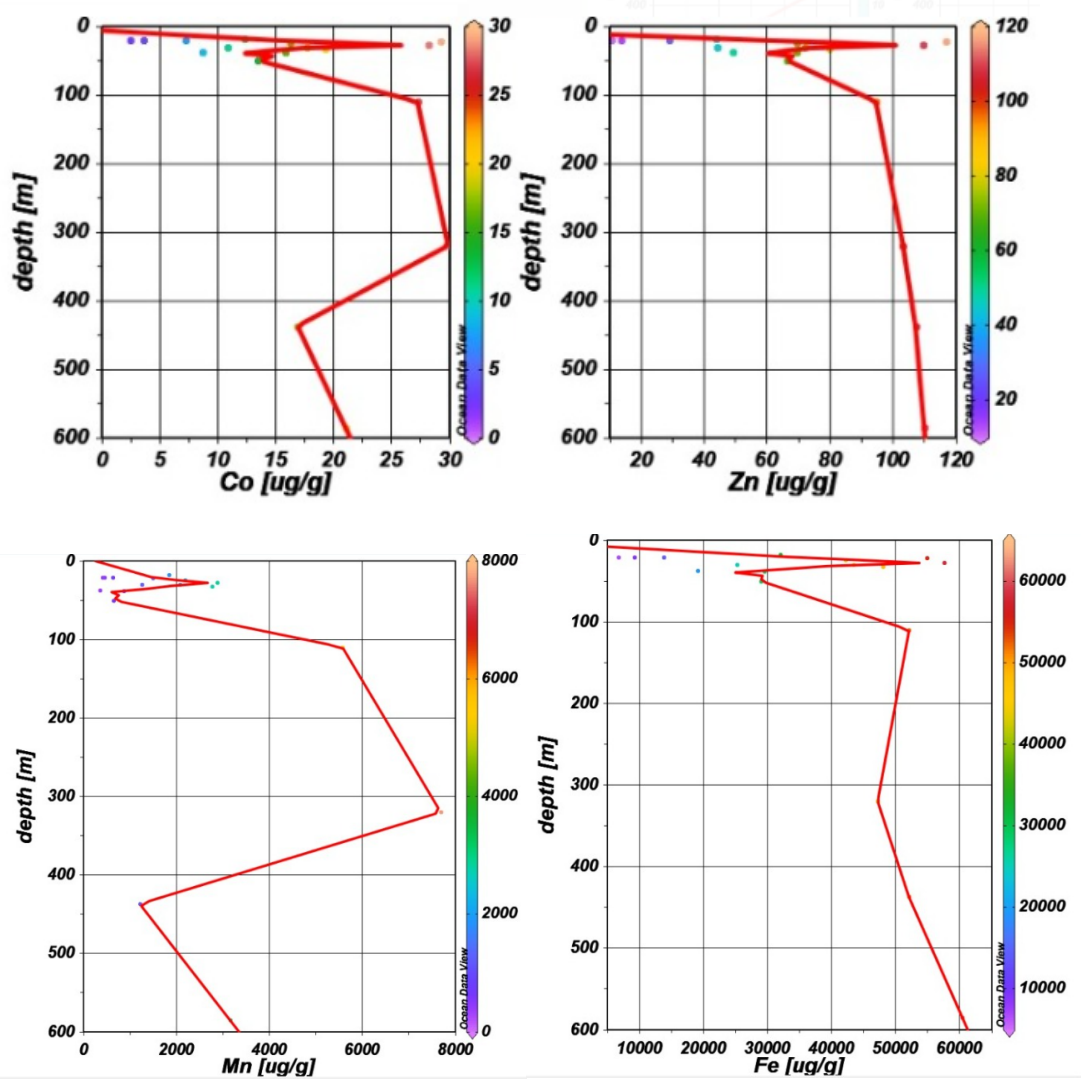


Figura 38. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

También se representó la concentración en función de la profundidad de la columna de agua superior a los sedimentos (Figura 38). Se observa que la tendencia del Zn y Fe es similar, al aumentar el tamaño de la columna de agua, aumenta la concentración. Sin embargo, para el Co y el Mn se observa un pico de concentración entorno a los 300 m de profundidad y luego comienza a disminuir la concentración hasta unos 450 m y aumenta ligeramente de nuevo al final.

- Mar de Laptev

En el mar de Laptev, el número de muestras procesadas fue de 35. De igual manera, como las concentraciones de los cuatro elementos traza siguen teniendo las mismas tendencias y la escala de concentración es muy distinta, directamente se describieron las comparaciones por las parejas manganeso-hierro y cobalto-zinc.

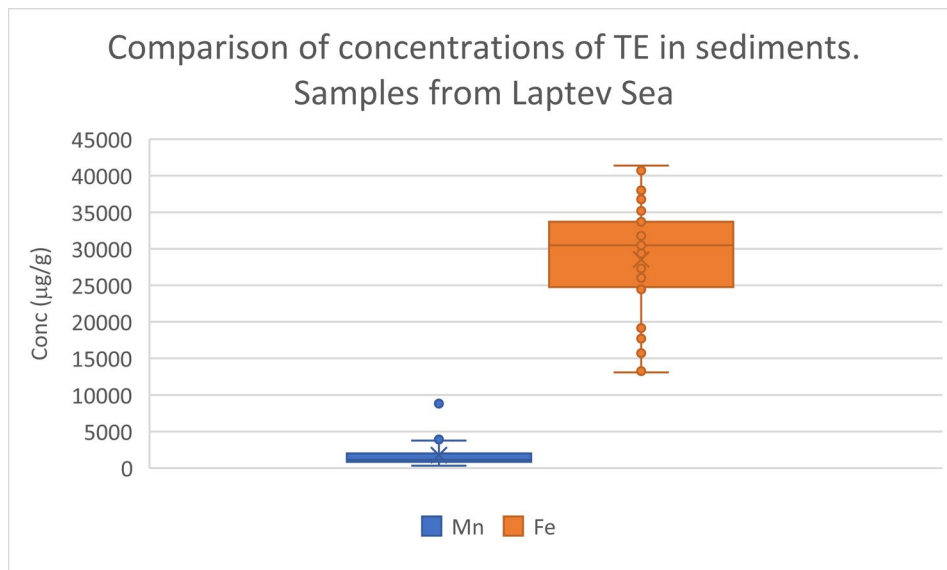


Figura 39. Representación de la distribución de las concentraciones en µg/g del manganeso y el hierro.

Cabe destacar la presencia de un valor muy alto en concentración, relativo a las otras concentraciones observadas, en el caso del manganeso.

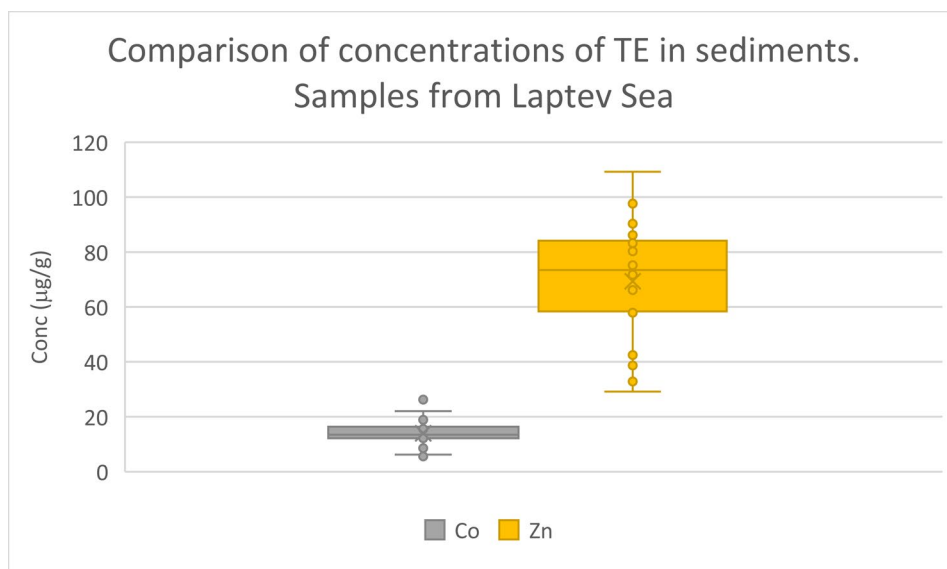


Figura 40. Representación de la distribución de las concentraciones en µg/g del cobalto y el zinc.

En la Figura 40, se observa una distribución de valores parecida en el caso del cobalto y el zinc, aunque no hay tanta diferencia de dispersión como se observaba en el mar de Kara.

Si se analiza cuál era la profundidad de la columna de agua en cada muestra, se puede hacer una división de las muestras en dos: (1) muestras cuya columna de agua es pequeña, de una profundidad entre 3,2 y 72 m; y (2) muestras cuya columna de agua representa una fracción grande, de profundidades entre 178 y 362 m.

Tras hacer esta distinción, se volvieron a comparar las concentraciones.

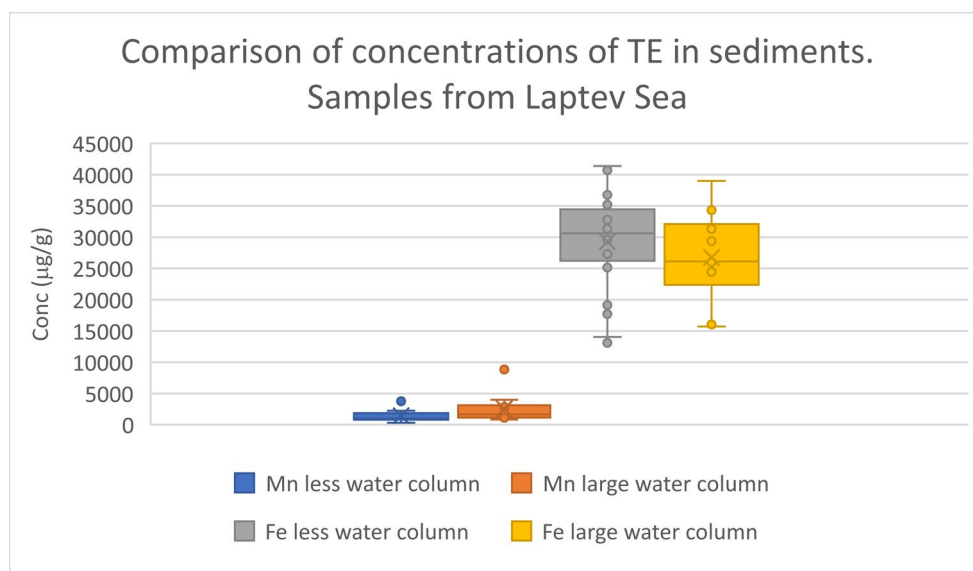


Figura 41. Representación de la distribución de las concentraciones obtenidas para el manganeso y hierro para muestras cuya columna de agua es pequeña y para las cuales es más grande.

En la Figura 41, se ve cómo la tendencia en función de la columna de agua que tiene encima cambia para cada metal. En el caso del manganeso, a mayor columna de agua, mayor concentración se encuentra en los sedimentos. Esto podría ser debido a la compactación que sufren los sedimentos. Además, puede implicar que se está produciendo “scavenging”. Este proceso implica la adsorción del metal implicado, en este caso Mn, sobre las superficies de otras partículas en suspensión, seguido de una eliminación de estas partículas mediante agregación, provocando un aumento del tamaño de la partícula y que se hunda y se elimine de la columna de agua. Estas partículas que se hunden acaban formando parte de los sedimentos superficiales. Sin embargo, en el hierro la tendencia es la contraria, a mayor columna de agua, menor concentración. Esto puede ser debido a la ausencia de fuentes de hierro, ya que al ser más profunda la zona, si se produce la descarga de un río o el deshielo, costará más llegar a los sedimentos del fondo. También podría deberse a que la bioacumulación en células del fitoplancton que pueden acabar depositadas en los fondos marinos, al haber ausencia de luz, es más baja dado que no puede ocurrir su crecimiento. Según Klunder en 2012 ¹⁸, en el fondo de la plataforma de Laptev (dentro de la columna de agua) existe una mayor concentración de hierro, en forma de material particulado, por la resuspensión que sufren los sedimentos, que va ligada a una menor salinidad. Por tanto, esta resuspensión implica una menor concentración en los sedimentos para el hierro, tal y como se ve en la tendencia.

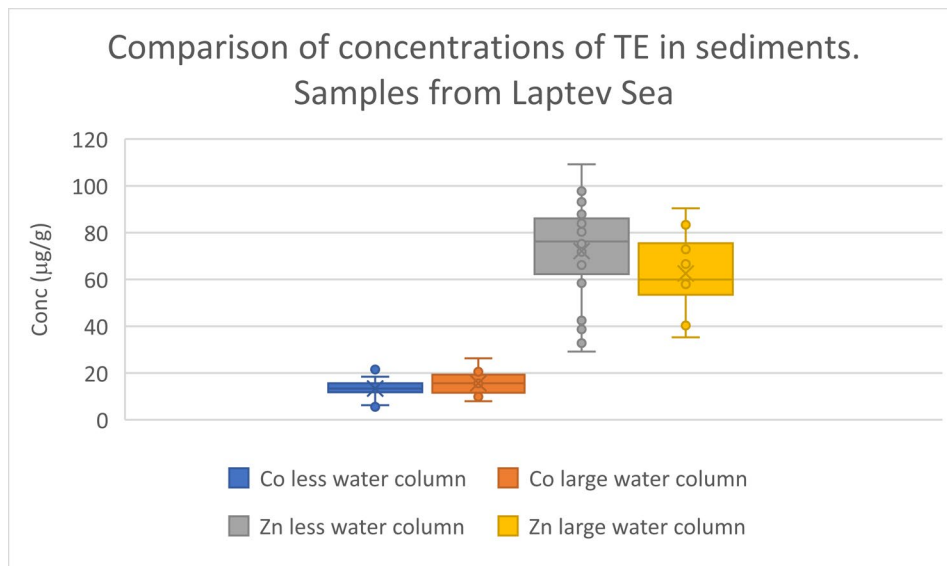


Figura 42. Representación de la distribución de las concentraciones obtenidas para el cobalto y zinc para muestras cuya columna de agua es pequeña y para las cuales es más grande.

En la Figura 42, se puede observar como la variación de la concentración del cobalto es mínima, con una muy ligera tendencia a aumentar con una mayor columna de agua. Mientras, la tendencia del zinc es igual que la observada para el hierro (ver Figura 41). Se podría deducir que el comportamiento de estos dos metales es similar. Esto podría deberse a una relación más cercana de sus ciclos biogeoquímicos marinos, los cuales en el contexto del Ártico apenas se conoce para el caso del hierro y es casi totalmente desconocido para el zinc.

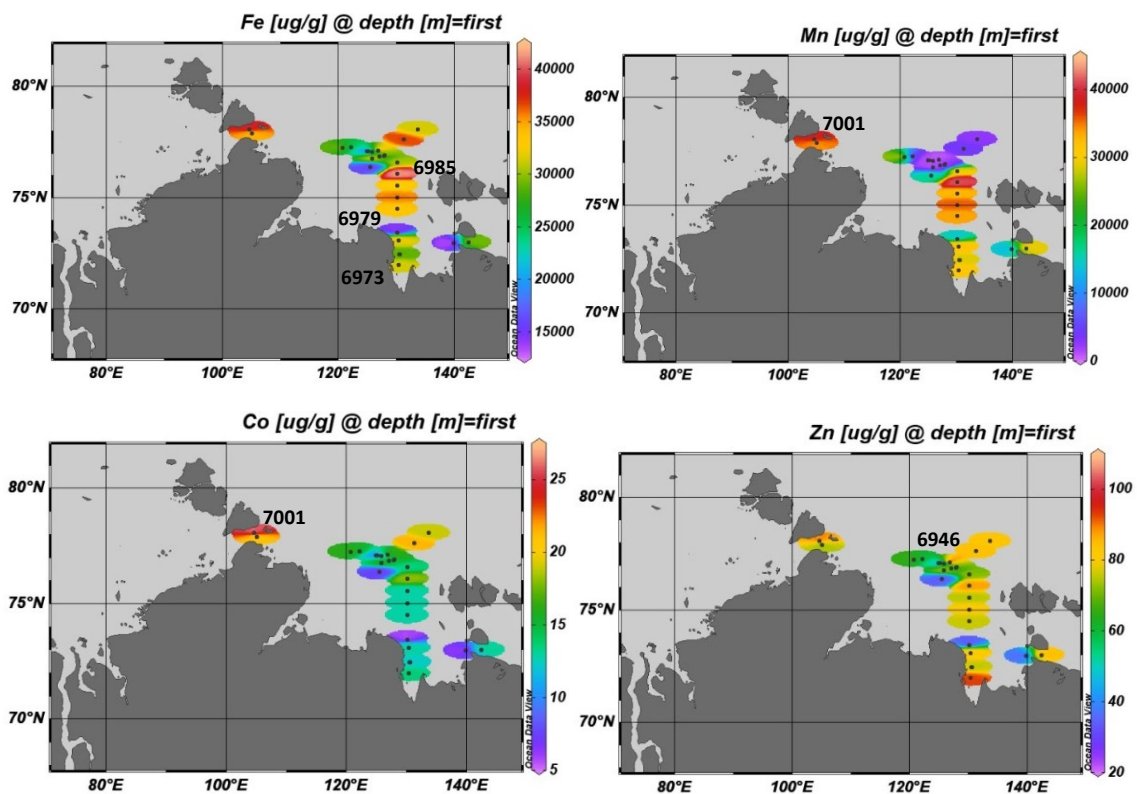


Figura 43. Mapa del mar de Laptev que muestra las estaciones en función de las concentraciones obtenidas.

Representando las concentraciones obtenidas respecto a las estaciones de muestreo se obtuvieron los mapas recogidos en la Figura 43

Para el Mn el máximo se encuentra en la estación 7001 con una concentración de 8833,73 $\mu\text{g/g}$. Para el Co el máximo se encuentra en esta misma estación y presenta una concentración de 26,29 $\mu\text{g/g}$. Para el Fe el máximo está en la estación 6985 con un valor de 41387,91 $\mu\text{g/g}$. Por último, el máximo de concentración del Zn pertenece a la estación 6946 y es de 109,24 $\mu\text{g/g}$.

Estas concentraciones máximas en su mayoría se encuentran entre la Tierra del Norte y la Península de Taimyr. Por otra parte, de las estaciones 6973 hasta la 6979, se ve la influencia de la desembocadura del río Lena.

De nuevo, se representó la concentración en función de la profundidad de la columna de agua superior a los sedimentos.

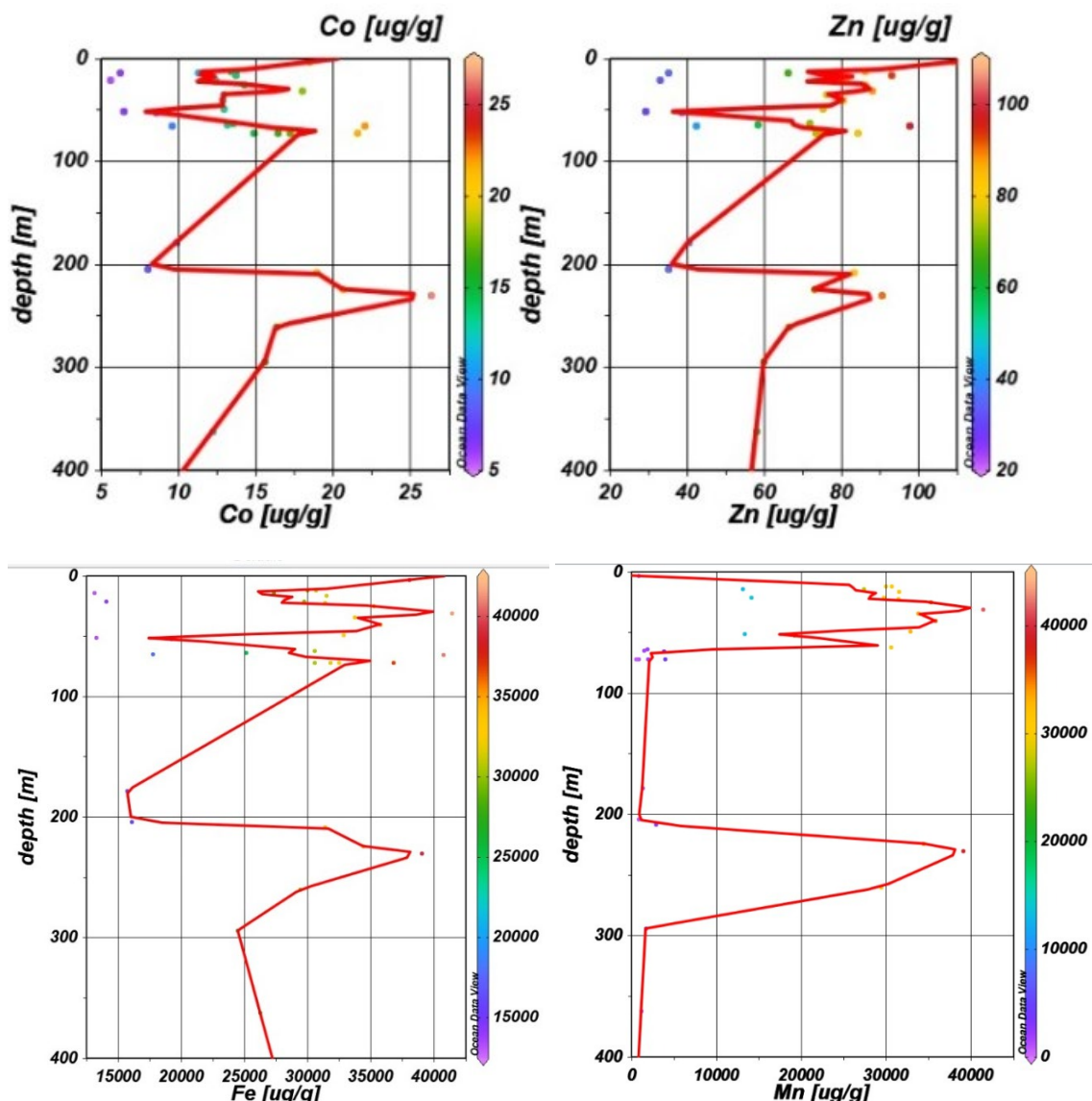


Figura 44. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua, de las muestras del Mar de Laptev, en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

En la Figura 44, no se observa una tendencia clara para ninguno de los metales representados. Cuando hay poca columna de agua los valores de las concentraciones presentan máximos y

mínimos y a mayores cantidades de columna de agua los resultados también son diversos. Cabe destacar el pico de concentración observado, en todos los casos, a unos 230 m de profundidad.

- Mar de Siberia Oriental

El número de muestras procesadas del mar de Siberia Oriental fue de 10.

De igual manera, se procede a comparar globalmente las concentraciones obtenidas. Directamente se compararon las concentraciones de las parejas manganeso-hierro y cobalto-zinc, debido a que su tendencia es similar a la observada anteriormente y no hay nada relevante a destacar.

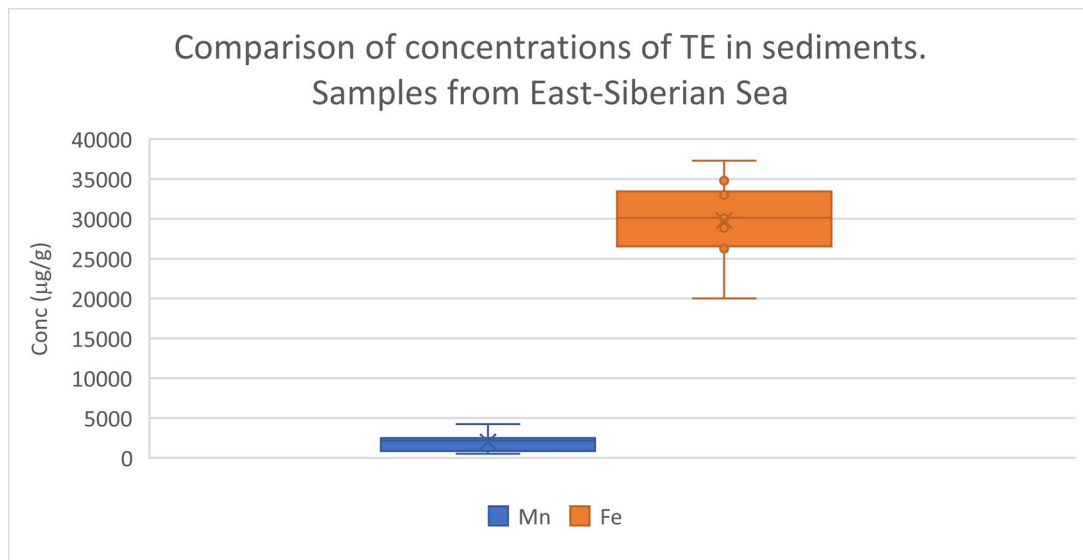


Figura 45. Representación de la distribución de las concentraciones en µg/g del manganeso y el hierro.

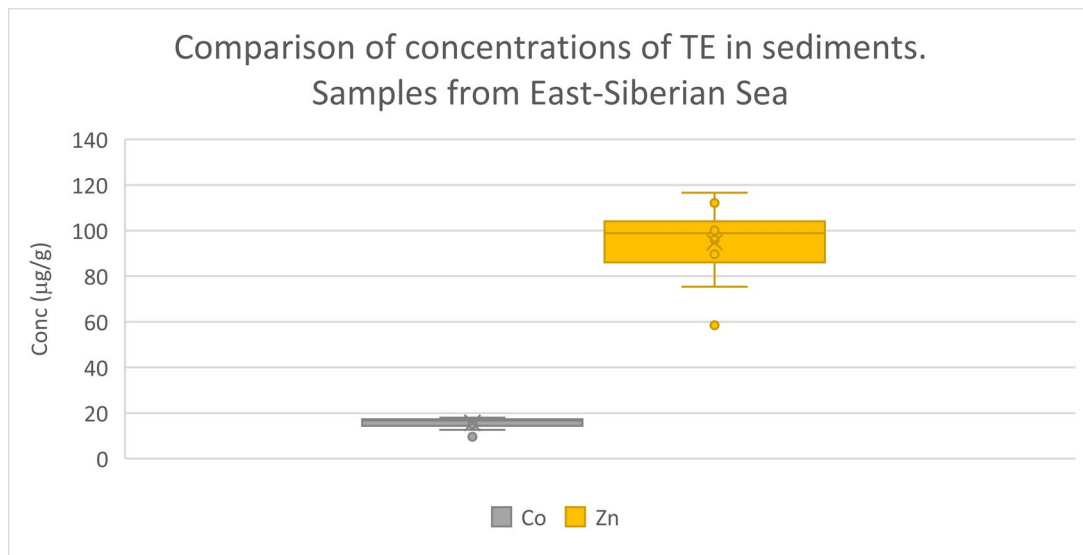


Figura 46. Representación de la distribución de las concentraciones en µg/g del manganeso y el hierro.

En ambas Figuras 45 y 46, se observa la misma tendencia de concentraciones. A diferencia de lo que ocurría anteriormente, los datos poseen una menor desviación estándar. Esto puede ser debido al menor número de muestras implicado en el análisis de datos y a que la profundidad

de la columna de agua de todas las muestras no presenta una oscilación grande (entre 18 a 45 m).

Seguidamente se muestran los mapas de concentración de superficie obtenidos.

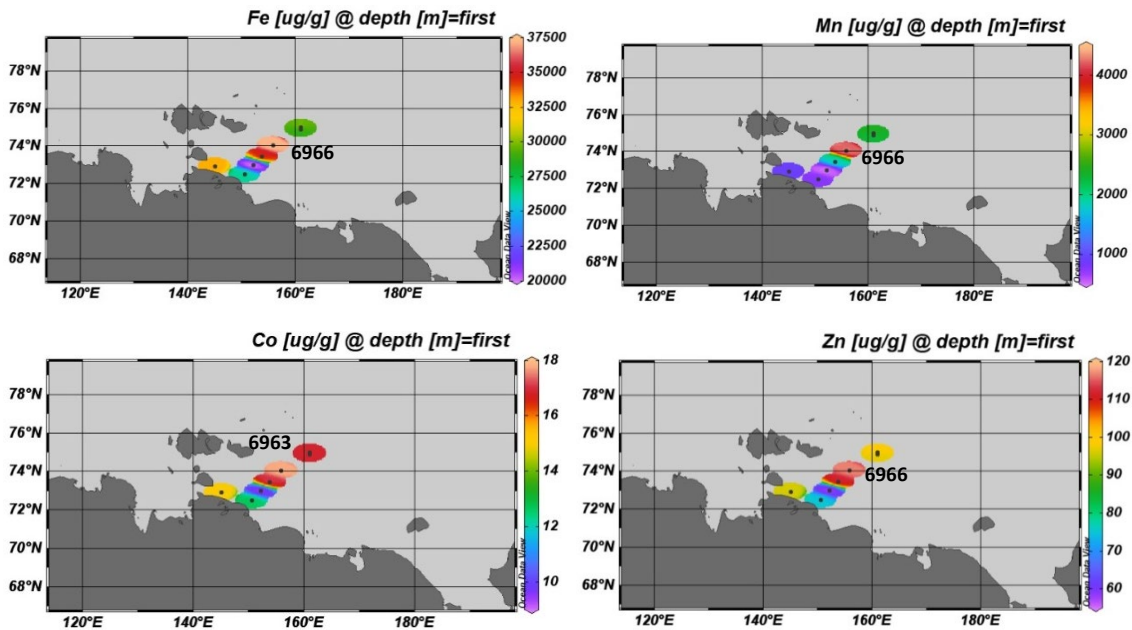


Figura 47. Mapa del mar de Siberia Oriental que muestra las estaciones en función de las concentraciones obtenidas.

Tanto para el manganeso como para el hierro y zinc, el máximo de concentración observado se encuentra en la estación 6966 siendo respectivamente 4247,10 $\mu\text{g/g}$, 37303,94 $\mu\text{g/g}$ y 116,62 $\mu\text{g/g}$. En el caso del cobalto el máximo se encuentra en la estación 6963 con una concentración de 17,98 $\mu\text{g/g}$, aunque la concentración de la estación 6966 de nuevo es bastante elevada, con valor de 17,79 $\mu\text{g/g}$.

Estas concentraciones máximas se encuentran a mitad de la plataforma del mar de Siberia según nos alejamos de la costa. La estación 6963 se encuentra dentro de la TDP. Esta corriente en general, que está presente en el centro del mar de Siberia Oriental ²⁰, podría justificar las elevadas concentraciones. La TPD podría haber traído material sedimentario con el agua de deshielo de los glaciares y haberlo transportando al mar abierto. También se observa que donde hay mayor concentración existe también un aumento de la profundidad de la columna de agua (entorno a los 45 metros, respecto a los 12-25 metros del resto de las estaciones).

De nuevo, se representó la concentración en función de la profundidad de la columna de agua superior a los sedimentos.

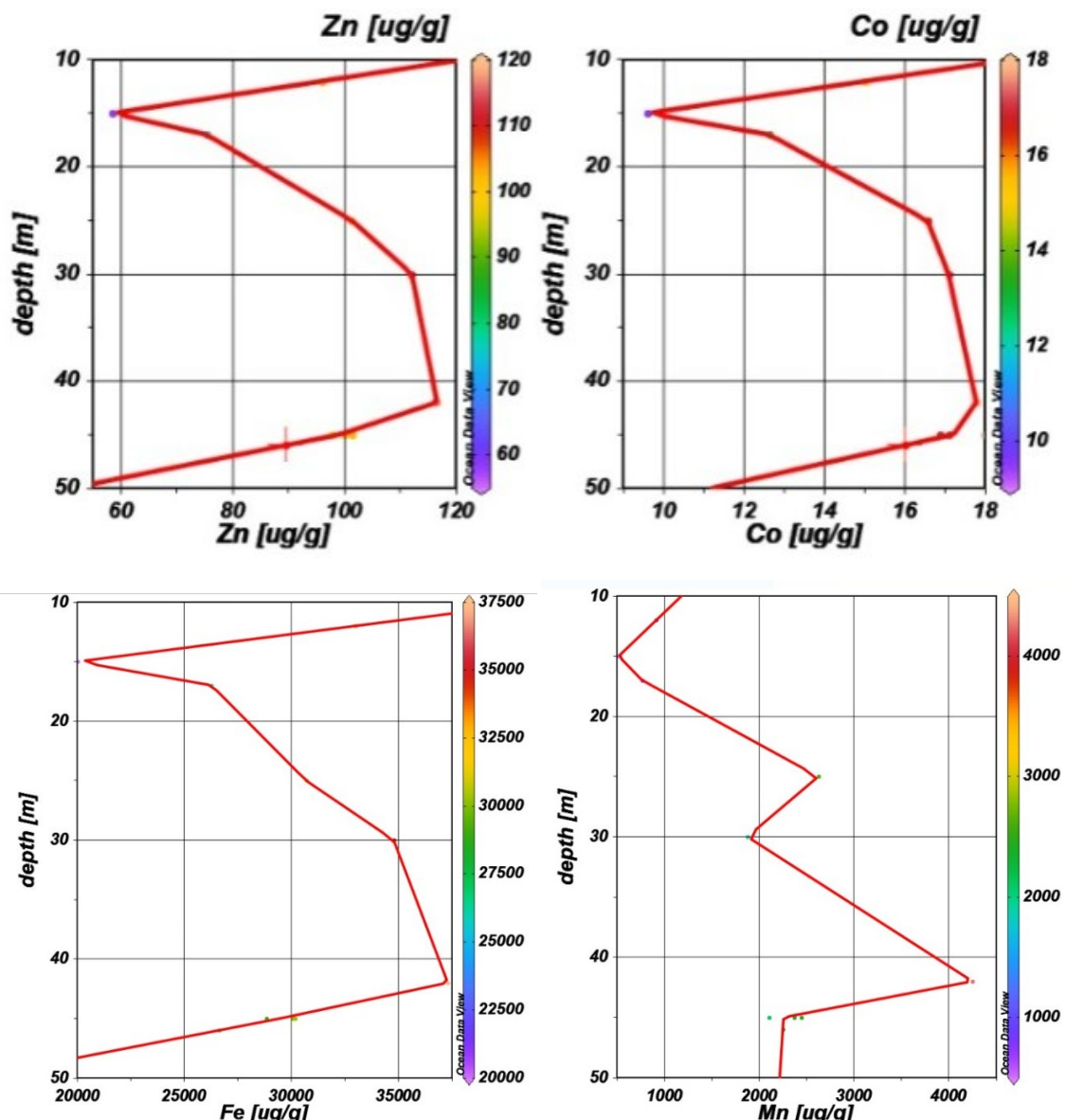


Figura 48. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua, de las muestras del Mar de Siberia Oriental, en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

En la Figura 48, presenta una tendencia muy similar para el zinc, cobalto y hierro. La profundidad de la columna de agua de manera genérica es mucho menor que la observada en los otros dos mares. Solo se llega de máximo de muestreo a los 46 metros. Todas ellas presentan un mínimo de concentración a la altura de 15 metros que coincide con la estación 6968. Posiblemente sea debido a que ahí se encuentra una corriente que impide que la sedimentación tenga lugar o que al estar tan poco profundo, hay una mayor actividad biológica que consume estos micronutrientes impidiendo que lleguen a sedimentarse.

- Estudio comparativo de los tres mares

Finalmente, se realizó una comparación de las concentraciones observadas para cada mar en el año 2020 de cada metal traza.

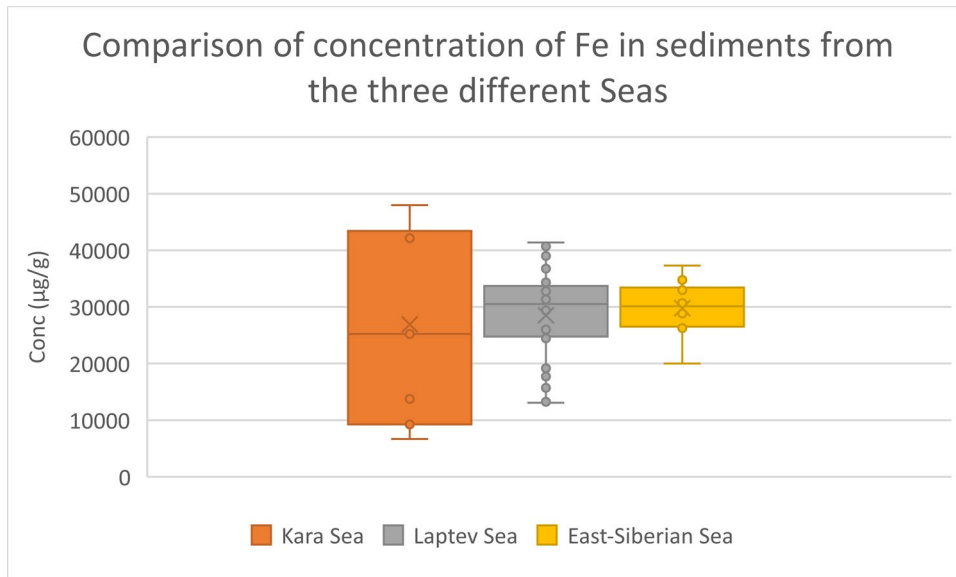


Figura 49. Representación de la distribución de las concentraciones del hierro de los tres mares donde se realizó muestreo.

En la Figura 49, se observa que las concentraciones son similares, siendo ligeramente superior la del mar de Siberia Oriental, seguido del mar Laptev y, por último, el mar de Kara. La distribución de los valores es similar y es más dispersa para el caso del mar de Kara, pese a que el número mayor de muestras lo presenta el mar de Laptev (lo que podría dar lugar quizás a mayor desviación).

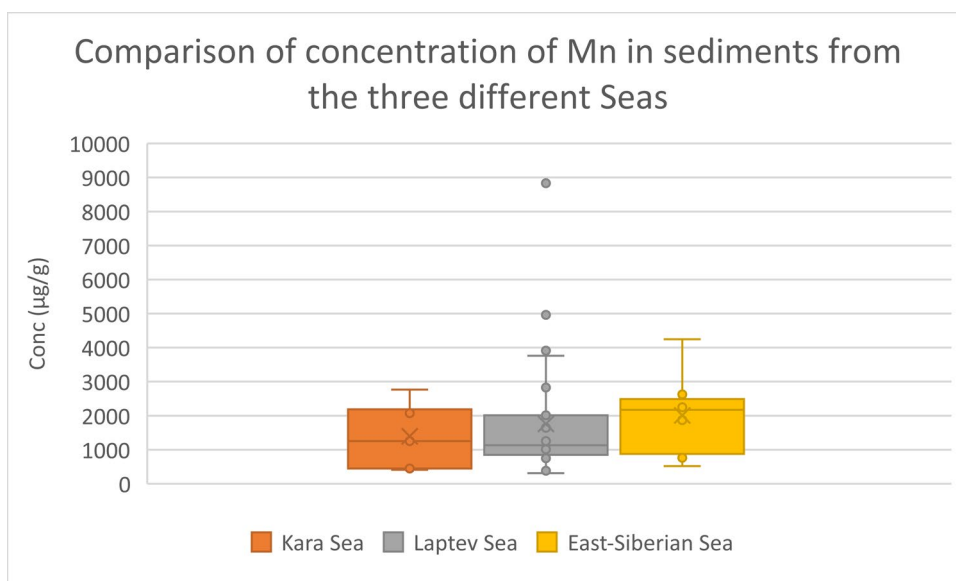


Figura 50. Representación de la distribución de las concentraciones del manganeso de los tres mares donde se realizó muestreo.

En la Figura 50, la tendencia es similar a la de la Figura 49, pero con valores menos dispersos en el caso del mar de Kara. Sin embargo, se observan valores del mar de Laptev muy elevados que dispersan el 75 a 100% de la población con mayores concentraciones. De nuevo, el mar de Siberia oriental presenta mayores concentraciones.

En ambas Figuras, 49 y 50, no se observa una tendencia distintiva muy clara de las concentraciones de hierro y manganeso respectivamente.

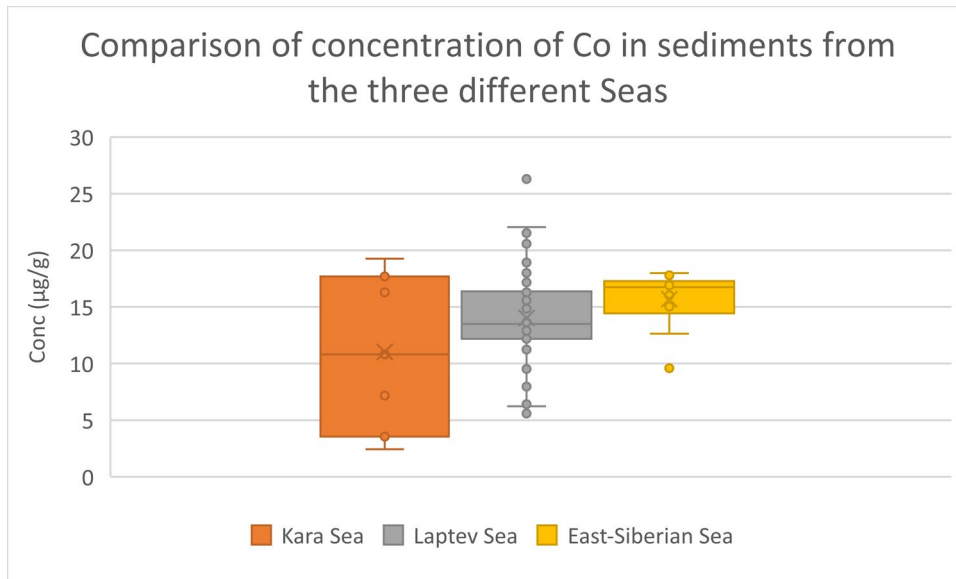


Figura 51. Representación de la distribución de las concentraciones del cobalto de los tres mares donde se realizó muestreo.

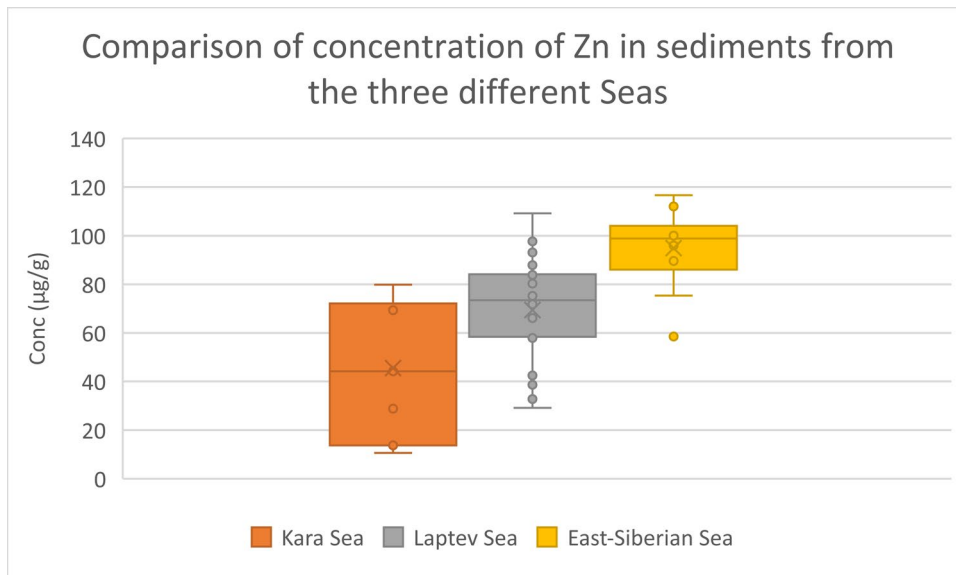


Figura 52. Representación de la distribución de las concentraciones del zinc de los tres mares donde se realizó muestreo.

En las Figuras 51 y 52, se observa la misma tendencia, una menor concentración global de cobalto y zinc para el mar de Kara y una mayor concentración global para el mar de Siberia Oriental.

Por tanto, se puede generalizar que el mar de Siberia Oriental presenta mayores concentraciones de los elementos traza que el mar de Laptev y aun mayor que el mar de Kara. Lo que implica que el mar de Kara es el más empobrecido en cuanto a micronutrientes.

Control de calidad

Para tener un mayor control durante cada paso del procedimiento y los efectos que pueden afectar a la muestra, se incluyeron medidas que constituyen parte del control de calidad. Así se

puede garantizar que los datos experimentales presentados tienen un nivel aceptable, asegurándonos en cierta medida que sean resultados exactos, precisos y fiables.

En este caso se empleó el material de referencia BCR (ver composición en el Anexo 3), el cual se asemeja a la composición de los sedimentos. Así podremos comprobar el rendimiento del método.

Además, como ya se ha mencionado, se realizaron algunos blancos, incluyendo réplicas, para verificar la reproducibilidad de los resultados.

El BCR presenta los siguientes valores certificados de concentración (ver Tabla 2). Los valores que se obtuvieron nos reportaron las siguientes recuperabilidades.

Tabla 2. Datos de las concentraciones certificadas junto con sus incertidumbres (mg/kg) y porcentaje de recuperabilidad e incertidumbre.

	Co		Ni		Cu		Zn		Cd	
	mg/kg	Uncert.	mg/kg	Uncert.	mg/kg	Uncert.	mg/kg	Uncert.	mg/kg	Uncert.
True values+ uncertainty [mg/kg]	22,5	1,4	130	8	63	7	178	20	0,61	0,07
recovery%	93,9	6,2	92,4	6,2	93,6	11,1	92,7	11,2	101,0	11,5

Para los cinco elementos se obtuvieron recuperabilidades mayores del 90%, por tanto, se puede concluir que los datos obtenidos poseen un nivel aceptable en cuanto a calidad.

4.2 Material particulado de la columna de agua (filtros)

El muestreo de material particulado, perteneciente al proyecto “The Nansen Legacy”, se realizó en el mar de Barents en 7 estaciones diferentes, denominadas P1, P2, P3, P4, P5, P6 y P7. En total se analizaron 42 muestras, las cuales pertenecen al año 2020. Por cada estación se analizan 6 muestras a una determinada profundidad. Tres muestras son filtros de distinto tamaño de poro 10 µm, 2 µm y 0,2 µm, que nos permitirán evaluar el fraccionamiento que tiene lugar, y las otras tres muestras son réplicas de las anteriores.

Las muestras pertenecen al crucero de primavera, de hace un año con la intención de ver la floración de las microalgas. En esta época del año, la columna de agua se llena de material biológico ya que hay condiciones óptimas para el crecimiento debido a todos los nutrientes disponibles y a la intensidad del sol. Por tanto, nos interesa saber la distribución de los metales. Las microalgas son las encargadas de la producción primaria. En el caso de diatomeas también tenemos silicio.

En total, se analizó la concentración en el ICP-MS de 42 elementos incluyendo lantánidos, como en el caso de sedimentos. Sin embargo, aunque se disponen de todos estos datos (que no se encuentran reportados en este trabajo), no se van a comentar, al igual que antes, porque se salen del ámbito de un TFG.

Por tanto, para el material particulado, sólo se discutirá a cerca de los cuatro elementos bioesenciales hierro, manganeso, cobalto y zinc.

Los valores de concentración (µg/L) obtenidos del ICP-MS fueron corregidos por dilución, peso de muestra y por los blancos de UC (en total 21 blancos analizados) y blancos de filtros de tres

tamaños de poro (10, 2 y 0,2 μm). Tras realizar estas correcciones, los datos de concentraciones se evalúan en $\mu\text{g}/\text{mL}$.

A continuación, se pueden ver los valores medios de concentración obtenidos para cada tipo de filtro en las diferentes estaciones.

Tabla 3. Valores de concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$) del manganeso, hierro, cobalto y zinc de cada estación para los distintos tamaños de filtro, junto con su valor de desviación estándar relativa (RSD) y la profundidad a la que se tomó la muestra.

			Average values due to replicate							
Station	Sample 50depth (m)	Filter size (μm)	55 -> 55 Mn [O2]		56 -> 56 Fe [H2]		59 -> 59 Co [O2]		66 -> 66 Zn [H2]	
			Conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. RSD	Conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. RSD	Conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. RSD	Conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. RSD
P1	40	10	1,46E-05	1,229	4,88E-04	0,787	-1,54E-06	3,567	-1,42E-05	4,593
P1	40	2	9,36E-06	1,171	3,49E-04	0,777	-2,33E-06	4,392	6,61E-06	3,994
P1	40	0,2	9,23E-06	1,379	4,28E-04	1,584	-3,30E-05	4,401	6,04E-06	2,785
P2	30	10	8,97E-06	1,289	1,75E-04	1,045	-8,22E-07	6,950	-2,67E-05	2,468
P2	30	2	1,49E-05	1,481	3,81E-04	0,537	-2,42E-06	4,675	1,31E-05	2,178
P2	30	0,2	6,46E-06	2,571	2,65E-04	1,066	-1,98E-05	5,322	-7,80E-07	2,405
P3	20	10	5,13E-06	0,956	1,08E-04	1,141	-1,55E-06	5,176	1,20E-05	2,937
P3	20	2	1,80E-05	9,805	3,43E-04	1,858	-1,21E-06	10,246	-7,67E-06	4,732
P3	20	0,2	8,31E-06	2,984	3,37E-04	2,008	-1,96E-05	3,033	-2,06E-05	2,323
P4	20	10	6,57E-06	1,690	1,11E-04	1,221	-1,23E-06	5,344	2,15E-05	3,480
P4	20	2	9,87E-06	1,650	1,54E-04	0,812	-1,62E-06	2,849	1,37E-04	1,414
P4	20	0,2	9,04E-06	3,132	8,71E-04	2,021	-3,18E-05	2,913	3,73E-05	4,389
P5	20	10	2,57E-05	3,869	3,80E-04	0,868	-5,73E-07	6,582	2,96E-05	2,652
P5	20	2	3,89E-05	1,263	3,94E-04	1,651	-2,44E-07	8,083	2,81E-06	5,468
P5	20	0,2	9,99E-06	1,740	7,89E-04	0,744	-2,36E-05	6,607	2,65E-05	3,741
P6	10	10	1,06E-05	2,314	4,98E-04	0,932	-6,03E-07	5,314	-1,19E-05	2,326
P6	10	2	2,01E-05	0,943	5,19E-04	0,474	-2,23E-06	3,507	6,45E-06	3,387
P6	10	0,2	4,90E-06	0,535	2,54E-04	1,318	-2,22E-05	7,560	3,33E-05	4,652
P7	10	10	5,94E-06	1,889	1,66E-04	1,127	-1,13E-06	1,936	2,57E-05	3,064
P7	10	3	2,50E-05	1,263	3,71E-04	0,372	-8,11E-07	3,517	-6,14E-06	5,481
P7	10	0,2	5,91E-06	0,887	4,21E-04	0,689	-2,09E-05	4,347	-7,11E-05	4,048

En la Tabla 3 se observan valores negativos. Esto está bien y es debido a que al restar el blanco el valor se convierte en negativo. La explicación es que la concentración observada no sobrepasa el umbral de concentración, hay poco material y, por tanto, no es significativo. Está por debajo del límite de cuantificación.

Al igual que ocurría en los sedimentos, el hierro presenta concentraciones superiores al manganeso y muy superiores respecto al zinc y cobalto. En este caso, no se dispone de ningún valor de concentración significativo para el cobalto, y el número de muestras válido para el zinc es muy reducido. Todos estos valores se omiten de las gráficas.

Globalmente se representó las concentraciones en un gráfico de barras.

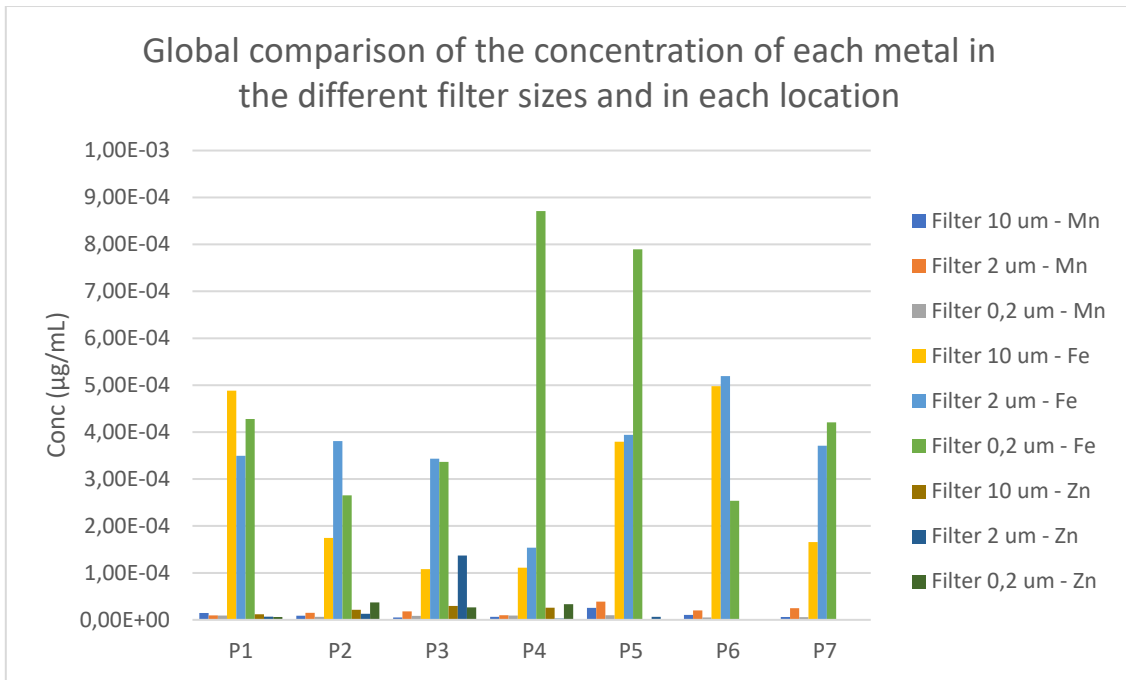


Figura 53. Representación de las concentraciones medias de los metales traza manganeso, hierro y zinc, en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

En la Figura 53, no se observan unas tendencias claras de abundancia respecto a la estación de muestreo. Se puede decir que en la estación P4 está el máximo de concentración observado que corresponde a $8,71 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ para el hierro. En las estaciones P5, P6 y P7 apenas hay concentración de zinc, sin embargo, en las primeras estaciones como en P2, P3 y P4, su concentración, por contrario, es superior a la del manganeso.

Además, se analizaron las tendencias de los metales individualmente, como se muestra en las Figuras 54-56.

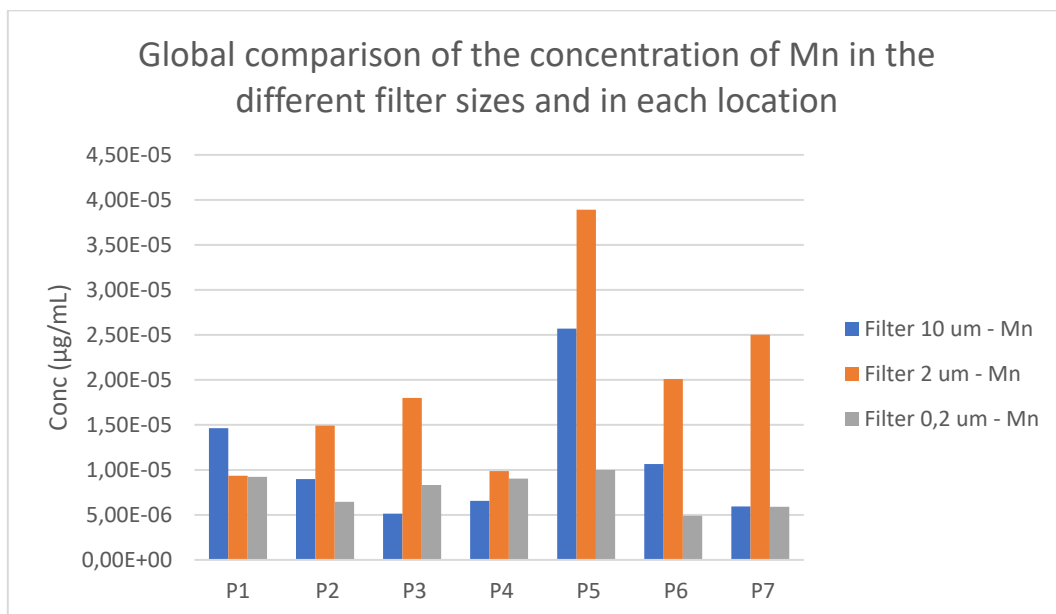


Figura 54. Representación de las concentraciones medias de manganeso en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

En la Figura 54, se observa la tendencia del manganeso. La mayor concentración observada es en P5 y para el fraccionamiento de 2 μm . Se podría deber a que existe un afloramiento de fitoplancton en esta estación en esa época del año de muestreo. Respecto a los fraccionamientos, de manera global se observa que el material particulado retenido de tamaño entre 2 μm -10 μm es mayor, debido a su mayor concentración, a excepción de P1, cuya mayor cantidad de material se encuentra en tamaño superiores a 10 μm . Esto implica que en las especies de fitoplancton y en partículas en suspensión en general presentes, dominaban poblaciones de ese tamaño. El contenido puede estar retenido en forma de complejo y/o adsorbido en la superficie de partículas o en el interior o también en las superficies de diversas especies de fitoplancton.

En el caso del hierro los resultados obtenidos graficados se muestran a continuación.

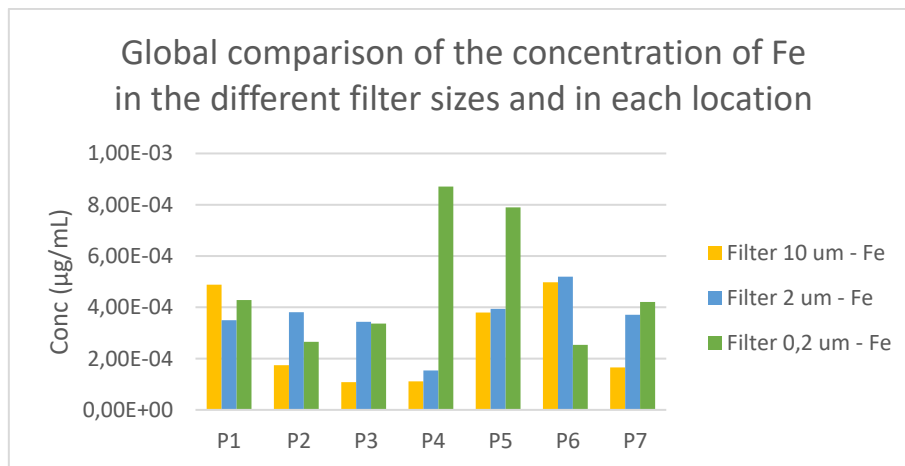


Figura 55. Representación de las concentraciones medias de hierro en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

En la Figura 55, se observa la máxima concentración de hierro para P4, como ya se había mencionado, pero realmente las concentraciones globales son superiores para P5, como ocurría con el manganeso. La menor dispersión de población respecto al tamaño de filtro ocurre para P1. De manera genérica, para fraccionamientos mayores de 10 μm , las concentraciones tienden a ser inferiores. Por tanto, las especies que absorben el hierro son de tamaño más pequeño.

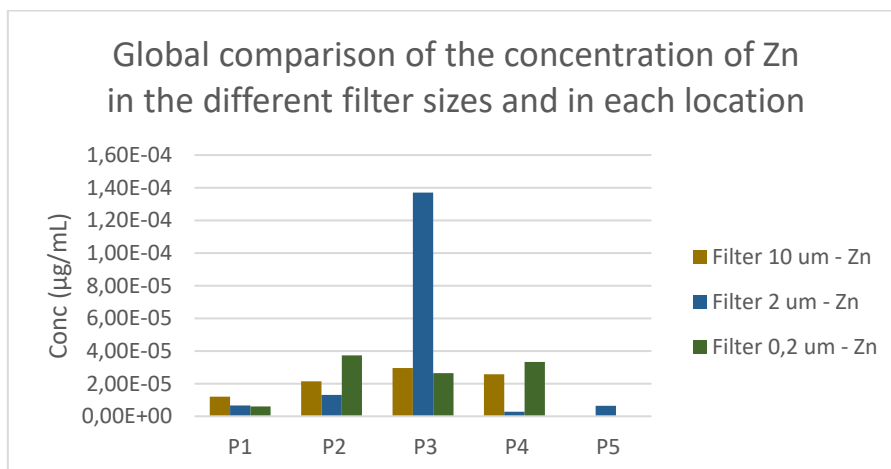


Figura 56. Representación de las concentraciones medias de zinc en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

Finalmente, la Figura 56 muestra que las concentraciones de zinc son mínimas, a excepción de un máximo que se produce en la estación P3. Además, a partir de la estación P5, no se obtienen datos significativos, por lo que existe un agotamiento a medida que nos alejamos y estamos más en el borde de la plataforma continental.

Por tanto, se destaca la presencia de un posible afloramiento de fitoplancton en la estación P5. Este afloramiento, también conocido como “bloom”, se irá desplazando hacia el norte a medida que pasa el tiempo. Esto quiere decir que, si el crucero se hubiera realizado dos meses más tarde, la tendencia sería distinta y las mayores concentraciones se habrían desplazado.

Por último, según el estudio de Klunder sobre el hierro en 2012 ¹⁸, también se puede decir que este comportamiento sería similar al que se observaría en el mar de Kara si se hubieran tomado muestras de material particulado. Esto es debido a que el comportamiento de ambos es similar según este artículo, siendo ligeramente menores las concentraciones de hierro en el mar de Kara porque hay un mayor “scavenging” que en el mar de Barents.

Además, los niveles no apreciables de zinc y cobalto se pueden relacionar con una mayor dispersión de las partículas en el agua, respecto a las concentraciones superiores que se encuentran en sedimentos.

4.3 Cultivo de diatomeas (estudio relacionado con la trascendencia del hierro)

Los valores de concentración ($\mu\text{g/L}$) obtenidos del ICP-MS fueron corregidos por la dilución realizada en la filtración de los cultivos y por el peso de muestra en la dilución del proceso de UC. Además, también se realizó la corrección por blanco obtenida de los tubos de ácido del UC y de los filtros de $2\ \mu\text{m}$.

En este ensayo sólo se tuvo en cuenta el hierro debido a su elevada concentración comparada con el resto de metales traza. Por tanto, con este estudio se comprobará la dependencia que existe entre el fitoplancton, en este caso, la diatomea *Phaeodactylum tricornutum*, y el hierro como principal micronutriente para su crecimiento, como ya antes se ha mencionado.

Por tanto, al tratarse de un cultivo monocelular, cada célula tiene el mismo contenido interno de hierro, es decir, existe homogeneidad en el material de fitoplancton. Es una misma especie que tendrá un mismo tamaño celular. Por tanto, se estandarizan los valores también por número de célula para saber cuál es la concentración de cada célula individual en cada cultivo.

A continuación, se muestran en la Tabla 4 los valores obtenidos de concentración, recordando que se realizaron tres cultivos con distintos tratamientos genómicos y dos réplicas de cada uno. Además, se diferenciaron el denominado cultivo concentrado y el diluido, como se ha detallado en el apartado anterior. En la tabla también se incluyen los valores de concentración de los blancos en $\mu\text{g/L}$, ya que la corrección se hace sobre los valores obtenidos directamente del ICP-MS (que tienen esas mismas unidades).

Tabla 4. Valores de concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$) del hierro de cada cultivo de fitoplancton, junto con su valor de desviación estándar relativa (RSD). Además, en la última fila se incluyen los valores de concentración de los blancos ($\mu\text{g}/\text{L}$).

			Corrected by dilution and blank		In addition, corrected by cell number	
			56 -> 56 Fe [H2]		56 -> 56 Fe [H2]	
	Type sample: Filters 2 μm	Cell number (cells/mL)	Conc. [$\mu\text{g}/\text{mL}$]	Conc. RSD	Conc. [pg/cell]	Conc. RSD
Treatment 1	Concentrated culture Replica 1	866436	2,16E-02	0,9	2,49E-05	2,8
	Concentrated culture Replica 2	966446	2,59E-02	1,7	2,68E-05	0,9
	Concentrated culture Replica 3	881908	1,78E-02	1,1	2,01E-05	3,3
Treatment 2	Concentrated culture Replica 1	797796	1,34E-02	0,3	1,68E-05	0,4
	Concentrated culture Replica 2	781104	1,56E-02	0,6	2,00E-05	0,9
	Concentrated culture Replica 3	761504	2,57E-02	1,1	3,37E-05	1,8
Treatment 3	Concentrated culture Replica 1	425245	1,24E-02	1,1	2,92E-05	1,5
	Concentrated culture Replica 2	413297	1,43E-02	1,9	3,45E-05	1,2
	Concentrated culture Replica 3	376461	6,40E-03	1,9	1,70E-05	1,6
Treatment 1	Diluted culture Replica 1	392247	4,12E-03	1,3	1,05E-05	1,3
	Diluted culture Replica 2	372806	4,06E-03	0,4	1,09E-05	0,9
	Diluted culture Replica 3	485811	2,70E-03	1,4	5,55E-06	1,9
Treatment 2	Diluted culture Replica 1	290040	1,58E-03	1,3	5,44E-06	3,2
	Diluted culture Replica 2	275010	9,31E-04	0,3	3,39E-06	2,4
	Diluted culture Replica 3	287980	9,92E-04	0,5	3,44E-06	1,1
Treatment 3	Diluted culture Replica 1	152510	2,29E-03	0,2	1,50E-05	0,5
	Diluted culture Replica 2	149850	2,06E-03	0,5	1,37E-05	4,4
	Diluted culture Replica 3	143910	1,55E-03	1,0	1,08E-05	2,1
Blanks			Conc. [$\mu\text{g}/\text{L}$]	Conc. RSD		
UltraCLAVE			0,077	6,643		
Filter Blank 2 μm			1,36	1,82		

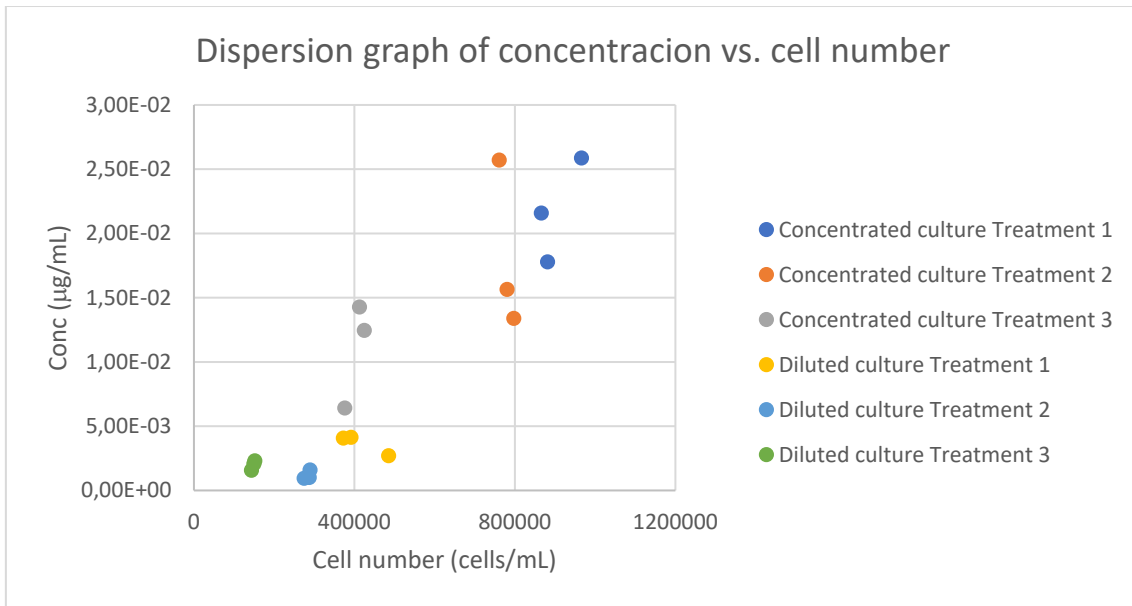


Figura 57. Representación de las concentraciones de hierro frente al número de células para los diferentes cultivos de fitoplancton.

Tanto en la Tabla 4 como en la Figura 57, se puede observar que los datos en los cultivos diluidos son más precisos y menos dispersos (menor desviación estándar) comparados con los cultivos concentrados. También se observa que el primer tratamiento da lugar a mayores concentraciones de hierro que los tratamientos dos y tres. Por último, como era de esperar, a mayor número de células, la concentración de hierro es más alta. Esto es debido a la bioacumulación que existe en las células del fitoplancton de este metal.

Para observar mejor estas tendencias, se realizó un gráfico de barras de cada tratamiento y de cada réplica, tanto para los cultivos concentrados como para los diluidos.

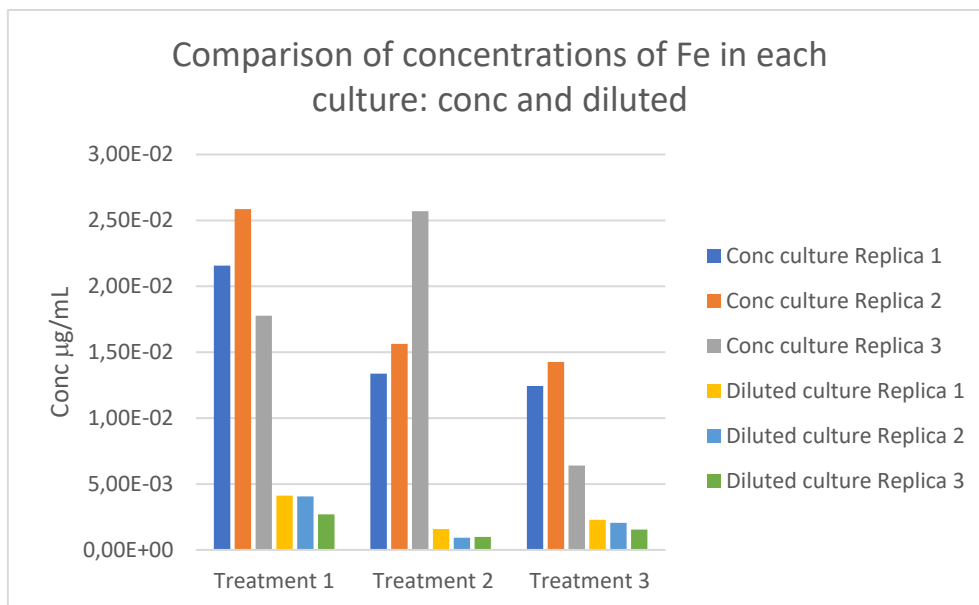


Figura 58. Representación de los valores de concentración de hierro de los cultivos concentrados y diluidos en función del tratamiento aplicado.

En esta Figura 58, se observa como los cultivos concentrados presentar una mayor concentración de hierro celular que los diluidos. También se observa, como ya se había visto en el gráfico de dispersión, que el primer tratamiento es el da lugar a mayores concentraciones. Además de observar claramente como el valor de la concentración es más representativo para los cultivos diluidos. Por último, para los cultivos concentrados el segundo tratamiento da lugar a mayores concentraciones que el tercero, mientras que ocurre la tendencia contraria en los diluidos.

Luego tras la corrección de estos valores por número de célula, para saber cuánta es la concentración por cada célula, se volvieron a graficar los valores (Figura 59) obteniendo el siguiente resultado.

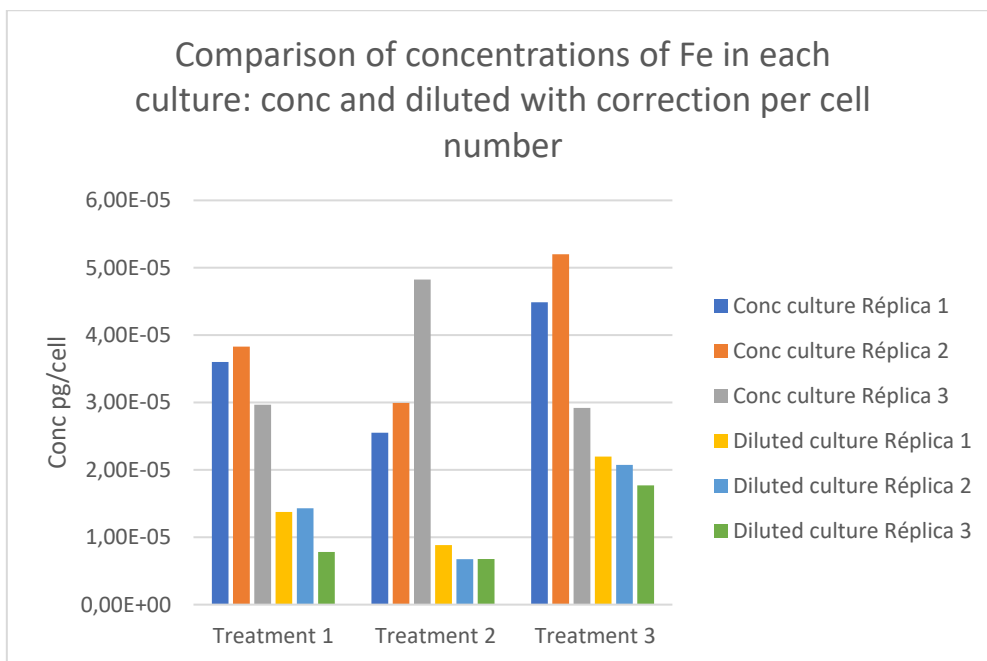


Figura 59. Representación de las concentraciones de hierro en cada célula en función del tratamiento aplicado.

Si comparamos las Figuras 58 y 59, se observa que la tendencia de algunos valores cambia, es decir, la corrección por número de célula es relevante. Esto ocurre por ejemplo para el primer tratamiento del cultivo diluido en la segunda réplica. Aun así, las observaciones genéricas y las tendencias son las mismas.

Por tanto, queda demostrada tanto la eficacia del lavado con oxalato del cultivo para liberar el contenido en hierro, como la relación que existe entre el fitoplancton y su micronutriente hierro.

Estos resultados que se obtienen en cultivos de laboratorio se asemejan a los que se pueden obtener en zonas costeras donde hay más material de nutrientes, en zonas que no son empobrecidas como ocurre en el Ártico.

Esto permite añadir una breve comparación de estos valores de concentración con los observados en los filtros de las aguas oceánicas árticas, asemejándose a lo que podría ser una comparativa entre aguas costeras y aguas oceánicas (descrito después del análisis estadístico).

Control de calidad

En este caso se empleó un material de referencia, el tobacco leaves (INCT-OBTL-5), el cual se asemeja al contenido de los filtros. Así podremos comprobar el rendimiento del método.

Además, algunos blancos que se realizaron fueron duplicados para ver la repetibilidad de los resultados.

El INCT-OBTL-5 presenta un valor certificado de concentración de hierro de 989 mg/kg. Los valores que se obtuvieron nos reportaron un rendimiento del 95,81% en cuanto a la recuperabilidad, con concentración media de 947,56 mg/kg.

Por tanto, se puede concluir que los datos obtenidos poseen un nivel aceptable en cuanto a calidad.

ESTUDIO ESTADÍSTICO

Por último, se realizó un estudio estadístico con el fin de ver si existen diferencias significativas entre las concentraciones obtenidas con los distintos tratamientos genómicos aplicados en los cultivos de fitoplancton.

Se utilizó el ANOVA test o análisis de varianzas para comparar las medias de los tres tratamientos realizados y ver si existe alguna diferencia significativa entre el tratamiento 1, 2 y/o 3.

El test ANOVA se basa en las siguientes ecuaciones.

$$SC_{Trat} = \sum_{i=1}^k \frac{1}{n_i} x_i^2 - \frac{X^2}{N} \quad (1)$$

$$SC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}^2 - \frac{X^2}{N} \quad (2)$$

$$SC_{Error} = SC_T - SC_{Trat} \quad (3)$$

$$F = \frac{CM_{Trat}}{CM_{Error}} = \frac{SC_{Trat}/(k-1)}{SC_{Error}/(N-k)} \quad (4)$$

Donde SC es la suma de cuadrados, CM es el cuadrado medio y F el valor calculado.

En primera instancia se comprobó la relación entre los datos de concentración corregidos por dilución de los cultivos concentrados obtenidos. Aplicando estos valores se obtuvieron los siguientes valores de los parámetros que se recogen en la Tabla 5.

Se definió como hipótesis nula, la media de los tratamientos son iguales, y como hipótesis alternativa, la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 5. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton concentrados.

Valor conc ($\mu\text{g}/\text{Ml}$)	Tratamiento (concentrado)		
	1	2	3
Réplica			
1	0,0216	0,0134	0,0124
2	0,0259	0,0156	0,0143
3	0,0178	0,0257	0,0064
Suma (xi)	0,0652	0,0547	0,0331
Media	0,0217	0,0182	0,0110
Suma total (X)	0,1530		
ni	3	3	3
N	9	k	3
SC tratamiento (1)	0,00017867		
SC total (2)	0,00033133		
SC error (3)	0,000152659		

Tabla ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F (4)
Entre los tratamientos	0,00017867	2	8,93352E-05	3,51116478
Dentro de los tratamientos	0,000152659	6	2,54432E-05	
Total	0,00033133	8		

(Valor crítico) F $\alpha, k-1, n-k$	5,14325285	α (0,05)	10,9247665	α (0,01)
p-valor (probabilidad)	0,097811001			

Donde el valor crítico se calcula como la función inversa de la distribución de probabilidad F (de cola derecha) con una significación de α 0,05 y el p valor como la distribución de probabilidad F (de cola derecha).

Teóricamente se rechaza la hipótesis nula, lo que implica que hay diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, cuando F calculado (valor a amarillo) es mayor que el valor crítico (naranja), el cual indica el límite entre la región de aceptación y la región de rechazo.

Por tanto, el valor crítico (naranja) = 5,1432 es mayor que el F calculado (amarillo) = 3,5112 y se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias significativas entre las concentraciones obtenidas en las distintas réplicas entre los distintos tratamientos (1, 2 y 3).

A continuación, se comprobó la relación entre los datos de concentración corregidos por dilución de los cultivos diluidos obtenidos. El proceso es exactamente igual.

Tabla 6. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos.

Valor conc (ug/MI)	Tratamiento (diluido)		
	1	2	3
Réplica			
1	0,0041	0,0016	0,0023
2	0,0041	0,0009	0,0021
2	0,0027	0,0010	0,0016
Suma (xi)	0,0109	0,0035	0,0059
Media	0,0036	0,0012	0,0020
Suma total (X)	0,0203		
ni	3	3	3
N	9	k	3
SC tratamiento	9,44293E-06		
SC total	1,12785E-05		
SC error	1,83561E-06		

Tabla ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F
Entre los tratamientos	9,44293E-06	2	4,72146E-06	15,4328714
Dentro de los tratamientos	1,83561E-06	6	3,05936E-07	
Total	1,12785E-05	8		

(Valor crítico) F $\alpha, k-1, n-k$	5,14325285	$\alpha (0,05)$	10,9247665	$\alpha (0,01)$
p-valor	0,004311067			

En este caso, el valor crítico (naranja) = 5,1432 es menor que el F calculado (amarillo) = 15,4329. Por tanto, se rechaza la hipótesis nula, existen diferencia en las concentraciones obtenidas en las distintas réplicas entre los distintos tratamientos (1, 2 y 3).

Para saber si alguna de las medias, es decir, si algún tratamiento podría asemejarse entre sí a pares, se aplicó el método de Tukey. Este método consiste en comparar las diferencias entre medias muestrales con el valor crítico T_α (ecuación 5).

$$T_\alpha = q_\alpha(k, N - k) \sqrt{CM_e/n_i} \quad (5)$$

Tabla 7. Parámetros obtenidos aplicando el método de Tukey para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos.

Tukey	
k	3 (número de tratamientos)
N-k	6 (grados de libertad para el error)
CM _e	3,05936E-07 (cuadrado medio del error)
n _i	3 (número de réplicas por tratamiento)
q _{α} (k, N-k)	4,34 Valor obtenido de la tabla (ver figura 60)
T _{α} (5)	0,001385939

TABLA 8: Cuantiles de la distribución de Tukey $q(n, m)$

$\alpha = 0.05$	n													
m	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2	6.08	8.33	9.80	10.88	11.73	12.43	13.03	13.54	13.99	14.40	14.76	15.09	15.39	15.67
3	4.50	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46	9.72	9.95	10.15	10.35	10.52
4	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.05	7.35	7.60	7.83	8.03	8.21	8.37	8.52	8.66
5	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99	7.17	7.32	7.47	7.60	7.72
6	3.46	4.34	4.90	5.30	5.63	5.90	6.12	6.32	6.49	6.65	6.79	6.92	7.03	7.14
7	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	6.00	6.16	6.30	6.43	6.55	6.66	6.76
8	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77	5.92	6.05	6.18	6.29	6.39	6.48
9	3.20	3.95	4.41	4.76	5.02	5.24	5.43	5.59	5.74	5.87	5.98	6.09	6.19	6.28
10	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.46	5.60	5.72	5.83	5.93	6.03	6.11
11	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.35	5.49	5.61	5.71	5.81	5.90	5.98
12	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27	5.39	5.51	5.61	5.71	5.80	5.88

Figura 60. Imagen de la tabla estadística de los cuantiles de la distribución de Tukey $q(n, m)$.

Restando las medias de las poblaciones de los distintos tratamientos de dos en dos se obtuvo la Tabla 8.

Tabla 8. Diferencias muestrales y decisión tomada acerca del estudio estadístico de los distintos pares de tratamientos para los cultivos de fitoplancton diluidos.

Diferencia poblacional	Diferencia muestral	Decisión
Promedio: trat. 1 y 2	0,002458967	Significativa
Promedio: trat. 1 y 3	0,0017	Significativa
Promedio: trat. 2 y 3	0,0008	No significativa

Teóricamente, se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia muestral en valor absoluto sea mayor que T_{α} .

Por tanto, se comprueba que los tratamientos 2 y 3 no son significativamente diferentes mientras que si los comparamos individualmente con el 1 sí (según las concentraciones obtenidas en $\mu\text{g/mL}$). Lo que significa que: tratamiento $1 \neq 2 = 3$.

En el caso de la estandarización por número de célula se volvió a comprobar cómo resultaban los valores obtenidos respecto a esta corrección porque había pequeñas variaciones respecto a la anterior corrección (como se ha comentado en la figura 59).

Para los cultivos concentrados se obtuvieron los siguientes valores de la Tabla 9.

Tabla 9. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton concentrados con la estandarización por número de célula.

Valor conc (pg/cell)	Tratamiento (concentrado)		
	1	2	3
Réplica			
1	2,4902E-05	1,6767E-05	2,9248E-05
2	2,6759E-05	2,0016E-05	3,4508E-05
2	2,015E-05	3,3742E-05	1,6999E-05
Suma (xi)	0,0001	0,0001	0,0001
Media	0,0000	0,0000	0,0000
Suma total (X)	0,0002		
ni	3	3	3
N	9	k	3
SC tratamiento	2,0704E-11		
SC total	3,6774E-10		
SC error	3,4703E-10		

Tabla ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F
Entre las muestras	2,0704E-11	2	1,03518E-11	0,17897709
Dentro de las muestras	3,4703E-10	6	5,78386E-11	
Total	3,6774E-10	8		

(Valor crítico) F $\alpha, k-1, n-k$ 5,14325285 α (0,05) 10,9247665 α (0,01)
 p-valor 0,84043005

El valor crítico (naranja) = 5,1432 es mayor que el F calculado (amarillo) = 0,1789. Por tanto, se acepta la hipótesis nula, no existen diferencias significativas en las concentraciones obtenidas en las distintas réplicas entre los distintos tratamientos (1, 2 y 3). Comparando el resultado obtenido con el anterior, sin tener cuenta la estandarización por célula, vemos que es el mismo. Por tanto, las tendencias que variaban ligeramente no son significativas.

Se procedió de forma semejante para la comparación de los tres tratamientos genómicos para los cultivos diluidos obteniéndose los resultados que se recogen, a continuación, en la Tabla 10.

Tabla 10. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.

Valor conc (pg/cell)	Tratamiento (diluido)		
	1	2	3
Réplica			
1	1,0506E-05	5,4367E-06	1,4988E-05
2	1,0891E-05	3,3857E-06	1,3719E-05
2	5,5489E-06	3,4449E-06	1,0778E-05
Suma (xi)	0,0000	0,0000	0,0000
Media	0,0000	0,0000	0,0000
Suma total (X)	0,0001		
ni	3	3	3
N	9	k	3
SC tratamiento	1,2372E-10		
SC total	1,5352E-10		
SC error	2,9803E-11		

Tabla ANOVA

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F
Entre las muestras	1,2372E-10	2	6,186E-11	12,4536648
Dentro de las muestras	2,9803E-11	6	4,96721E-12	
Total	1,5352E-10	8		

(Valor crítico) F $\alpha, k-1, n-k$	5,14325285	$\alpha (0,05)$	10,9247665	$\alpha (0,01)$
p-valor	0,00731593			

De nuevo, se observa la misma tendencia. El valor crítico (naranja) = 5,1432 es menor que el F calculado (amarillo) = 12,4537. Por tanto, se rechaza la hipótesis nula, existen diferencia en las concentraciones obtenidas en las distintas réplicas entre los distintos tratamientos (1, 2 y 3).

Se volvió a determinar si había alguna población semejante con el método de Tukey.

Tabla 11. Parámetros obtenidos aplicando el método de Tukey para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.

Tukey	
k	3
N-k	6
CM_e	4,9672E-12
n_i	3
q_{α} (k, N-k)	4,34
T_{α}	5,5845E-06

Tabla 12. *Diferencias muestrales y decisión tomada acerca del estudio estadístico de los distintos pares de tratamientos para los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.*

Diferencia poblacional	Diferencia muestral	Decisión
Promedio: trat. 1 y 2	4,89E-06	No significativa
Promedio: trat. 1 y 3	4,18E-06	No significativa
Promedio: trat 2 y 3	9,07E-06	Significativa

Por tanto, se comprueba que los tratamientos 1 y 2 no son significativamente diferentes mientras que el 3 sí (según las concentraciones obtenidas en pg/cell). Lo que implica que: tratamiento 1=2≠3.

Comparando este resultado con el anterior, se observa que la tendencia de significación ha cambiado y la estandarización sí ha tenido una repercusión en las poblaciones. Ya que antes el tratamiento distinto era el 1 y ahora es el 3.

- Discusión de los filtros provenientes de cultivo vs. los provenientes del medio oceánico Ártico

Para discutir estos dos tipos de material particulado de distintas condiciones, se comparan los datos de los filtros de tamaño de poro 2 µm y se recurre a los cultivos diluidos.

Los datos se recopilan en la Tabla 13.

Tabla 13. *Valores de concentración de hierro del material particulado y de los cultivos de fitoplancton, junto con su valor medio.*

Fe concentrations Filter size 2 µm		
Culture	Arctic water	
Conc. [µg/ml]	Conc. [µg/ml]	
4,12E-03	3,49E-04	
4,06E-03	3,81E-04	
2,70E-03	3,43E-04	
1,58E-03	1,54E-04	
9,31E-04	3,94E-04	
9,92E-04	5,19E-04	
2,29E-03	3,71E-04	
2,06E-03		
1,55E-03		
Average	2,25E-03	3,59E-04

Se observa como los valores medios de las concentraciones, cuando se filtran poblaciones de 2 µm, es un 20% superior para los cultivos del laboratorio comparados con los de las aguas oceánicas.

Como ya se había mencionado, las concentraciones encontradas en un cultivo de laboratorio se asemejan a las de las aguas costeras y siempre son superiores a las oceánicas, ya que éstas son aguas empobrecidas u oligotróficas, mientras que las costeras son ricas en nutrientes y son denominadas eutróficas. Además, si este mismo cálculo se realiza para los cultivos concentrados, la diferencia de concentración se convierte en superior al 22%.

5. CONCLUSIONES

Se han determinado las concentraciones de los oligoelementos hierro, manganeso, zinc y cobalto en muestras de sedimentos en los mares de Kara, Laptev y Siberia Oriental. Se observó que la concentración de hierro es la mayor con diferencia, seguido de la de manganeso, siendo las de zinc y cobalto mucho menores.

Se determinaron las concentraciones de los metales traza hierro, manganeso y zinc en las muestras de material particulado pertenecientes al mar de Barents. Las concentraciones de cobalto están por debajo del límite de cuantificación. Los valores observados siguieron el mismo orden que para los sedimentos, pero a nivel de concentración global son inferiores a las de los mismos. Por tanto, estos metales tienden más a la deposición que a la estacionalidad en la columna de agua.

Se demostró que las concentraciones de hierro están estrechamente relacionadas con la existencia de fitoplancton. Se observó que, a mayor concentración celular, mayor concentración de hierro. Además, también se vio como el hierro, además de adherirse a la superficie celular, también se almacena en el interior de las células de fitoplancton como buen micronutriente que es.

Se compararon las concentraciones obtenidas de hierro del material particulado perteneciente a la columna de agua del mar de Barents y de los cultivos de fitoplancton. Se confirmó que la concentración de este metal en un cultivo, que se asemeja a aguas costeras, es un 20% mayor que en las aguas oceánicas.

Se identificó una tendencia de aumento en las concentraciones de las muestras de sedimentos pertenecientes al mar de Kara en un periodo de un año (2020 a 2021). Esto puede ser debido a una mayor deposición por el mayor deshielo y a una mayor descarga de los ríos, que se produce por el cambio climático.

Se evaluó de manera comparativa las tendencias de las concentraciones de los elementos mencionados en sedimentos, de los mares Kara, Laptev y Siberia Oriental concluyendo que el mar de Siberia Oriental presenta mayores concentraciones que el mar de Laptev, siendo el mar de Kara el de menor concentración.

Se contrastó el efecto de la profundidad de la columna de agua sobre la concentración de los sedimentos en el hierro, manganeso, zinc y cobalto obteniendo tendencias similares para el hierro y zinc y opuestas para el manganeso y cobalto. Para el hierro y zinc al aumentar la profundidad de la columna de agua disminuían las concentraciones mientras que para el manganeso y cobalto aumentaban. Se puede suponer que es debido a la similitud de sus ciclos biogeoquímicos de las regiones Árticas, que son bastante desconocidos, lo que supone una fuente de investigación.

Se describió por medio de mapas la variación de las concentraciones en función de la localización. Se observan aumentos en las concentraciones más afectadas por los cambios climáticos, como el de un mayor deshielo o zonas con presencia de ríos que en su desembocadura presentaba mayores concentraciones en los sedimentos superficiales.

Con todo esto, se concluye que es necesario seguir realizando estos cruceros en cada una de las estaciones del año, para poder seguir recopilando datos y observar las tendencias y cambios que se están produciendo en el Ártico debido al cambio climático. Además, se necesitaría intentar especiar estas muestras para poder ir definiendo poco a poco los ciclos biogeoquímicos de estos elementos traza.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brand, T., Crocket, K., Abell, R., Howe, J., Hathorne, E. New developments in seawater trace metal analysis at SAMS: Automated preconcentration by SeaFAST Pico. MASTS (Marine Alliance Science Technology Scotland)-4th Annual Science Meeting (2014).
2. Bruland, K. W., Lohan, M. C. 6.02 Controls of Trace Metals in Seawater en Holland H.D., Turekin K.K. ed., *Treatise on Geochemistry*, Elsevier, pp. 23–47 (2003).
3. Robbins, L. J. *et al.* Trace elements at the intersection of marine biological and geochemical evolution. *Earth-Sci. Rev.* **163**, 323–348 (2016).
4. Rapp, I., Schlosser, C., Rusiecka, D., Gledhill, M., Achterberg, E. P. Automated preconcentration of Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Co, and Mn in seawater with analysis using high-resolution sector field inductively-coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **976**, 1–13 (2017).
5. Moore, J. K., Doney, S. C., Glover, D. M., Fung, I. Y. Iron cycling and nutrient-limitation patterns in surface waters of the World Ocean. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* **49**, 463–507 (2001).
6. Taylor, R. L. *et al.* Colimitation by light, nitrate, and iron in the Beaufort Sea in late summer: Colimitation in the Beaufort Sea. *J. Geophys. Res. Oceans* **118**, 3260–3277 (2013).
7. Rijkenberg, M. J. A., Slagter, H. A., Rutgers van der Loeff, M., van Ooijen, J., Gerringa, L. J. A. Dissolved Fe in the deep and upper Arctic Ocean with a focus on Fe limitation in the Nansen Basin. *Front. Mar. Sci.* **5**, 88 (2018).
8. Wang, S., Bailey, D., Lindsay, K., Moore, J. K., Holland, M. Impact of sea ice on the marine iron cycle and phytoplankton productivity. *Biogeosciences* **11**, 4713–4731 (2014).
9. San José State University, Chemical Oceanography. Why study trace metal and nutrient cycling in the ocean? Disponible en: <https://mlml.sjsu.edu/chemoce/why-study-trace-metal-and-nutrient-cycling/> (consultado 07/2022).
10. Richter-Menge, J., Druckenmiller, M. L., Jeffries, M. E. (2019). Arctic Report Card 2019. Disponible en <https://www.arcticnoaa.gov/Report-Card> (consultado 07/2022).
11. Henley, S. F. *et al.* Nitrate supply and uptake in the Atlantic Arctic sea ice zone: seasonal cycle, mechanisms and drivers. *Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* **378**, 20190361 (2020).
12. Stroeve, J. C., Markus, T., Boisvert, L., Miller, J., Barrett, A. Changes in Arctic melt season and implications for sea ice loss. *Geophys. Res. Lett.* **41**, 1216–1225 (2014).
13. Stroeve, J., Notz, D. Changing state of Arctic sea ice across all seasons. *Environ. Res. Lett.* **13**, 103001 (2018).
14. National Snow and Ice Data Center Web: All about Arctic Climatology and Meteorology. https://nsidc.org/cryosphere/arctic-meteorology/climate_change.html#:~:text=Over%20the%20past%2030%20years,climate%20change%20in%20the%20Arctic. (consultado en 07/2022)
15. Kahru, M., Lee, Z., Mitchell, B. G., Nevison, C. D. Effects of sea ice cover on satellite-detected primary production in the Arctic Ocean. *Biol. Lett.* **12**, 20160223 (2016).
16. Onarheim, I. H., Eldevik, T., Smedsrud, L. H., Stroeve, J. C. Seasonal and regional manifestation of Arctic sea ice loss. *J. Clim.* **31**, 4917–4932 (2018).
17. Aagaard, K., Coachman, L. K., Carmack, E. On the halocline of the Arctic Ocean. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* **28**, 529–545 (1981).
18. Klunder, M. B., Bauch, D., Laan, P., de Baar, H. J. W., van Heuven, S., Ober, S. Dissolved iron in the Arctic shelf seas and surface waters of the central Arctic Ocean: Impact of Arctic river water and ice-melt. *J. Geophys. Res. Oceans* **117**, C01027 (2012).

19. Rudels, B. Arctic Basin Circulation, en *Encyclopedia of Ocean Sciences*, Elsevier, pp. 177–187 (2003). doi:10.1006/rwos.2001.0372.
20. Charette, M. A. et al. The transpolar drift as a source of riverine and shelf-derived trace elements to the central Arctic Ocean. *J. Geophys. Res. Oceans* **125**, e2019JC015920 (2020).
21. Rudels, B. et al. Circulation and transformation of Atlantic water in the Eurasian Basin and the contribution of the Fram Strait inflow branch to the Arctic Ocean heat budget. *Prog. Oceanogr.* **132**, 128–152 (2015).
22. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Laptev Sea". *Encyclopedia Britannica*, (13 Apr. 2012), <https://www.britannica.com/place/Laptev-Sea> (consultado 07/2022)
23. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Kara Sea". *Encyclopedia Britannica*, (19 Nov. 2014), <https://www.britannica.com/place/Kara-Sea> (consultado 07/2022)
24. Web proyecto "The Nansen Legacy": <https://arvenetternansen.com/> (consultado 07/2022)
25. Web proyecto "BEST-Siberian": <https://sites.google.com/view/best-siberian/home?authuser=0> (consultado 07/2022)
26. Web: <https://www.kc-denmark.dk/products/sediment-samplers/box-corer/box-corer-2500-cm%C2%B2.aspx> (consultado 07/2022)
27. Web: <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2018/muv182d.pdf> (consultado 07/2022)
28. Web sobre el Protocolo F2: <https://marinebiotechnology.org/es/tienda/medios-de-cultivo/medios-de-agua-de-mar/f-2-detail.html> (consultado 07/2022)
29. Web: <http://eacfe-quima.blogspot.com/2016/05/phaeodactylum-tricornutum-mas-que-una.html> (consultado 07/2022)
30. Elemental Scientific (ESI). seaFAST - Sistema automatizado de preconcentración de agua de mar sin diluir. Disponible en: <https://www.icpms.com/products/online-matrix-removal/seafast-seawater-high-matrix-icpms/> (consultado 07/2022)
31. Automated Seawater analysis. SeaFAST. SC-DX seaFAST pico method guide. Elemental scientific. Disponible en: <http://www.icpms.com> (consultado 07/2022)
32. Wuttig, K. et al. Critical evaluation of a seaFAST system for the analysis of trace metals in marine samples. *Talanta* **197**, 653–668 (2019)
33. García-Amezquita, L. E., Welte-Chanes, J., Vergara-Balderas, F. T., Bermúdez-Aguirre, D. Freeze-drying: The Basic Process. in *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, 104–109 (2016). doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00328-7.
34. Web: <https://www.eurotherm.com/es/life-sciences-hub-es/the-freeze-drying-process> (consultado 07/2022)
35. Web: <https://americanlaboratory.com/913-Technical-Articles/582-Breaking-the-Sample-Preparation-Bottleneck-With-a-New-Approach-to-Microwave-Digestion/> (consultado 07/2022)
36. Raja, P. M. V., Barron, A. R. 1.6: ICP-MS for Trace Metal Analysis. Chemistry LibreTexts (2021) Disponible en: <https://chem.libretexts.org/@go/page/55820>
37. Tang, D., Morel, F. M. M. Distinguishing between cellular and Fe-oxide-associated trace elements in phytoplankton. *Mar. Chem.* **98**, 18–30 (2006).

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución estacional de la extensión del hielo marino en el océano Ártico en diferentes décadas

Figura 2. Imágenes que muestran los principales ríos que desembocan en el Océano Ártico, destacando el Ob, Yenisei, Lena y Mackenzie

Figura 3. Mapa de las corrientes de agua en el Océano Ártico.

Figura 4. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Kara. Las estaciones representadas son tanto de las muestras de 2020 como del 2021.

Figura 5. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Laptev

Figura 6. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Siberia Oriental.

Figura 7. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Barents.

Figura 8. Mapa de las estaciones de muestreo del mar de Barents. Destaca que la estación P6 está justo en el borde de la plataforma continental y el P7 fuera de la plataforma continental.

Figura 9. Esquema de las diferentes muestras que se muestrearon, trataron y analizaron.

Figura 10. Esquema de las diferentes muestras que se analizarán y los elementos traza implicados.

Figura 11. Fotografía de las botellas GO-FLO de 5 litros utilizadas para la toma de muestras de columna de agua.

Figura 12. Fotografías de los sistemas de filtrado para obtener las muestras de material particulado en filtros de 2 μm de tamaño de poro y las placas Petri etiquetadas con sus correspondientes filtros.

Figura 13. Fotografías donde se visualiza la técnica “box corer” empleada en el muestreo de sedimentos.

Figura 14. Fotografía del muestreador “multi-corer” empleado en 2021 para la toma de sedimentos (izquierda). Y fotografía mía en el barco junto a un compañero de trabajo (derecha).

Figura 15. Fotografías de las muestras de cultivos de fitoplancton y una imagen del microscopio de las células de *Phaeodactylum tricornutum*.

Figura 16. Estructuras del ácido etilendiaminatriacético y ácido iminodiacético.

Figura 17. Sistema de inyección, columna y funcionamiento de las columnas en cada fase del SeaFAST (carga, limpieza de la columna y elución).

Figura 18. Esquema del sistema SeaFAST. Descripción del proceso

Figura 19. Vista completa del SeaFAST.

Figura 20. Esquema del equipo de secado utilizado para el pretratamiento de las muestras de sedimentos

Figura 21. Fotografía del equipo con las muestras en la cámara de secado junto con la bomba de vacío (izquierda). Fotografía del condensador congelado tras el uso (derecha).

Figura 22. Fotografía del equipo UltraCLAVE (SCR technology UltraCLAVE, MILESTONE).

Figura 23. Esquema de las diferentes etapas de funcionamiento del equipo UltraCLAVE.

Figura 24. Esquema del funcionamiento y partes del espectrómetro de masas (ICP-MS).

Figura 25. Fotografía del equipo de secado cargado con muestras de sedimentos.

Figura 26. Fotografías del proceso de homogeneización de las muestras de sedimento secadas.

Figura 27. A la izquierda, fotografía de los tubos de UC con los sedimentos pesados y los ácidos añadidos. También está el dispensador de ácido nítrico mencionado. A la derecha, fotografía con el traje que se utiliza para tratar el HF mientras se trabajaba en el proceso.

Figura 28. Fotografía de la bandeja donde se colocan los tubos de UC para su digestión.

Figura 29. Fotografía del material de referencia INCT-OBTL-5 y de los filtros que se utilizaron como blancos.

Figura 30. Sistemas de filtración con la disolución de ácido para el prelavado.

Figura 31. Fotografía del material empleado para la filtración de los cultivos de fitoplancton. La flecha de la derecha señala un filtro colocado sobre el sistema.

Figura 32. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ (ppb) de los cuatro metales manganeso, hierro, cobalto y zinc

Figura 33. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del manganeso y el hierro.

Figura 34. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del cobalto y el zinc.

Figura 35. Representación de las distribuciones de las muestras pertenecientes a dos años de las concentraciones del manganeso y hierro.

Figura 36. Representación de las distribuciones de las muestras pertenecientes a dos años de las concentraciones del cobalto y zinc.

Figura 37. Mapas del mar de Kara de las estaciones en función de las concentraciones obtenidas para los distintos elementos bioesenciales.

Figura 38. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

Figura 39. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del manganeso y el hierro.

Figura 40. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del cobalto y el zinc.

Figura 41. Representación de la distribución de las concentraciones obtenidas para el manganeso y hierro para muestras cuya columna de agua es pequeña y para las cuales es más grande.

Figura 42. Representación de la distribución de las concentraciones obtenidas para el cobalto y zinc para muestras cuya columna de agua es pequeña y para las cuales es más grande.

Figura 43. Mapa del mar de Laptev que muestra las estaciones en función de las concentraciones obtenidas.

Figura 44. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua, de las muestras del mar de Laptev, en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

Figura 45. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del manganeso y el hierro.

Figura 46. Representación de la distribución de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ del manganeso y el hierro.

Figura 47. Mapa del mar de Siberia Oriental que muestra las estaciones en función de las concentraciones obtenidas.

Figura 48. Representación de la profundidad en metros de la columna de agua, de las muestras del mar de Siberia Oriental, en función de la concentración de cada elemento bioesencial analizado.

Figura 49. Representación de la distribución de las concentraciones del hierro de los tres mares donde se realizó muestreo.

Figura 50. Representación de la distribución de las concentraciones del manganeso de los tres mares donde se realizó muestreo.

Figura 51. Representación de la distribución de las concentraciones del cobalto de los tres mares donde se realizó muestreo.

Figura 52. Representación de la distribución de las concentraciones del zinc de los tres mares donde se realizó muestreo.

Figura 53. Representación de las concentraciones medias de los metales traza manganeso, hierro y zinc, en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

Figura 54. Representación de las concentraciones medias de manganeso en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

Figura 55. Representación de las concentraciones medias de hierro en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

Figura 56. Representación de las concentraciones medias de zinc en función del tamaño de filtro y de la estación de muestreo.

Figura 57. Representación de las concentraciones de hierro frente al número de células para los diferentes cultivos de fitoplancton.

Figura 58. Representación de los valores de concentración de hierro de los cultivos concentrados y diluidos en función del tratamiento aplicado.

Figura 59. Representación de las concentraciones de hierro en cada célula en función del tratamiento aplicado.

Figura 60. Imagen de la tabla estadística de los cuantiles de la distribución de Tukey $q(n,m)$.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resultados de las concentraciones obtenidas para los blancos del UltraCLAVE (UC) mediante el ICP-MS.

Tabla 2. Datos de las concentraciones certificadas junto con sus incertidumbres (mg/kg) y porcentaje de recuperabilidad e incertidumbre.

Tabla 3. Valores de concentración ($\mu\text{g/mL}$) del manganeso, hierro, cobalto y zinc de cada estación para los distintos tamaños de filtro, junto con su valor de desviación estándar relativa (RSD) y la profundidad a la que se tomó la muestra.

Tabla 4. Valores de concentración ($\mu\text{g/mL}$) del hierro de cada cultivo de fitoplancton, junto con su valor de desviación estándar relativa (RSD). Además, en la última fila se incluyen los valores de concentración de los blancos ($\mu\text{g/L}$).

Tabla 5. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton concentrados.

Tabla 6. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos.

Tabla 7. Parámetros obtenidos aplicando el método de Tukey para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos.

Tabla 8. Diferencias muestrales y decisión tomada acerca del estudio estadístico de los distintos pares de tratamientos para los cultivos de fitoplancton diluidos.

Tabla 9. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton concentrados con la estandarización por número de célula.

Tabla 10. Valores obtenidos para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.

Tabla 11. Parámetros obtenidos aplicando el método de Tukey para el estudio estadístico de los resultados de los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.

Tabla 12. Diferencias muestrales y decisión tomada acerca del estudio estadístico de los distintos pares de tratamientos para los cultivos de fitoplancton diluidos con la estandarización por número de célula.

Tabla 13. Valores de concentración de hierro del material particulado y de los cultivos de fitoplancton, junto con su valor medio.

ANEXO 1

Freeze-dryer SOP

- 1) Fetch the rack from freeze-dryer and place in freezer room with your samples on it for at least 24 hours. Samples must be completely frozen prior to freeze drying.
- 2) Warm up the vacuum pump (~20 minutes before freeze drying):
 - a. Isolate the vacuum pump by closing the valve to freeze-dryer.
 - b. Use the gas ballast control at position 'I'.
 - c. Switch on the freeze-dryer.
 - d. Use "Mode" button on the freeze-dryer screen.
 - e. Select "Warm up vacuum pump" and enter – hear the vacuum pump start.
- 3) Wait for "Warm up vacuum pump" phase finish.
- 4) Place the rack with your samples with slightly open lids (to let sublimating water escape) in the freeze-dryer.
- 5) Close the lid and aeration/drain valve of freeze-dryer.
- 6) Select "Main Drying" phase.
- 7) Set the gas ballast control at position 'I' on the vacuum pump during the first 25% of the time that the freeze-drying process takes. If your samples have a lot of water set the gas ballast control at position 'II'. This will minimize water condensation inside the pump.
- 8) After 25% of freeze-drying time has passed set the gas ballast at position '0' on the vacuum pump.
- 9) At the end of the "Main Drying" phase switch to "Final Drying" phase.
- 10) "Final Drying" phase is used to check if your samples are dry. Vacuum reading should be stable for ~30 sec during "Final Drying" phase.
- 11) At the end of "Final Drying" phase select "Standby" to finish the freeze-drying process.
- 12) Open aeration/drain valve to vent the system and place a syringe filter over the hose during venting stage. When the filter falls off take off your samples and close the vacuum valve.
- 13) Operate the vacuum pump for 15 minutes with the gas ballast control at position 'I' and vacuum valve closed.
- 14) Select "Defrosting ice condenser" to melt the ice that built up on the ice condenser.
- 15) Defrosting should be performed without a lid on the chamber.
- 16) After completion of defrosting process, the condensate must be drained off through the aeration/drain valve and any residual water must be removed from the ice condenser chamber with wipes.
- 17) Leave the system without a lid on the chamber when not in use. Lid should be stored upside down to minimize cracks that could lead to poor vacuum.

ANEXO 2

Sediment Grinding Procedure

MATERIALS:

PEEK mortar and pestles (3 each)
5% HNO₃ solution
MilliQ water
Plastic spoon/tool
Small plastic vials, acid washed – storage
Waste container
Weighing paper

Before Use / Cleaning procedure:

- 1) In fumehood (because of HNO₃)
- 2) Rinse thoroughly w/MQ water
- 3) Squirt w/ 5% HNO₃ solution into the mortar getting all sides by using the pestle
- 4) Rinse the pestles w/ 5% HNO₃ solution
- 5) Discard HNO₃ into waste container
- 6) Rinse both mortar and pestle thoroughly and at least 3 times w/ MQ.
- 7) Set to dry, covered
- 1) Acid wash small plastic vials, in 1.2M HCl overnight, rinse thoroughly w/MQ and dry

For each freeze-dried sample:

- 1) Using the pestle, scrape the sides of the 15ml falcon tube to dislodge sediment from sides.
- 2) Attempt to grind slightly inside the 15ml tube to loosen sediment and avoid sediment flying out.
- 3) Pour enough sample into the mortar – do not pour too much to overflow the mortar.
- 4) Grind the sample – being careful of larger pieces that may cause sediment to fly out of the mortar
- 5) When finished, pour sample onto weighing paper and weigh
- 6) Record weight for sample
- 7) Quantitatively transfer to small plastic vial for storage.
 - a. If more sample in 15ml tube, continue grinding procedure
 - b. Sum up weights of sample for total sample weight if pt. a was done again
- 8) Repeat cleaning procedure of mortar and pestle before next sample

NB: Be careful not to contaminate the MQ or HNO₃ solution! Keep covered w/ plastic bag. There may be sediment on gloves, surfaces, and tools

ANEXO 3

BCR - Reference material



EUROPEAN COMMISSION
JOINT RESEARCH CENTRE
Institute for Reference Materials and Measurements



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL BCR[®] – 277R

CERTIFICATE OF ANALYSIS

ESTUARINE SEDIMENT		
	Mass Fraction	
	Certified value ¹⁾ [mg/kg]	Uncertainty ²⁾ [mg/kg]
As	18.3	1.8
Cd	0.61	0.07
Co	22.5	1.4
Cr	188	14
Cu	63	7
Hg	0.128	0.017
Ni	130	8
Zn	178	20

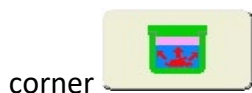
1) Unweighted mean value of the means of accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified values are traceable to the SI.
2) Expanded uncertainty with a coverage factor $k = 2$ according to the Guide for the Expression of Uncertainty in Measurement, corresponding to a level of confidence of about 95 %.

ANEXO 4

SOP UltraCLAVE

Purpose	SOP UltraClave
Written by	Belinda Flem, Lars Evje and Syverin Lierhagen
Date	
Revisions by	Lars Evje and Syverin Lierhagen
Date	29.03.2011 LE, 190314 SL

1. Turn the red switch clockwise (red arrow)
2. Press the green button (black arrow)
3. Select Administrator and enter the password "123456" and press "OK"
4. Press the symbol of the UltraCLAVE in the top right




corner

5. Choose method by pressing the "Method" icon



The last used method will be activated.

We are always using the same method; it means temperature profile, so opening method is not necessary.



If you would like to use another method, press the open file symbol  and select the appropriate method.

6. Under Select process you can check autorun parameters, shall not be necessary they are saved in the routine method, and will not change.
 - Load pressure: 50.0 bar
 - Vessel cooling activated – ticked
 - Beyond 80 °C
 - Pressure after run release – ticked
 - Release rate 10 bar/min
 - Temperature below 50 °C
 - Vessel after run – not ticked
 - Start parameter
7. **Use gloves, protective glasses and laboratory coat:** Prepare the solution for the big PTFE vessel
 - 300 mL pure water



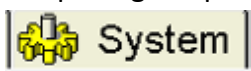
- 2.0 mL concentrate sulfuric acid (96% H₂SO₄)
- 30 mL hydrogen peroxide (30% H₂O₂)

*During the operation the hydrogen peroxide will react with NO_x and form HNO₃. Before the next digestion, check the volume of the solution (graduated cylinder). If the volume is less than 300 mL, add pure water until the volume is 300 mL. Then add 30 mL hydrogen peroxide. If the volume is higher than 300 mL, reduce volume to 300 ml, and add hydrogen peroxide until the total volume is 330 mL. **After 10 run the entire solution should be prepared again.***

8. Fill the solution in the big PTFE vessel
9. Put the big PTFE vessel in the UltraCLAVE chamber. Be very careful to avoid splashing and damaging the temperature sensor.
10. Put the rack with the digestion vessels into the PTFE vessel in the UltraCLAVE chamber
11. Put the lid on the big PTFE vessel. **Make sure the hole for the temperature sensor is correctly aligned. Also check that the two gaskets are ok and in place (around the hole in the middle of the lid and around the hole for the temperature sensor).**
12. Turn on the compressor (JUNIOR II, BAUER)
13. Turn on the gas. The gas bottle (nitrogen) is located in the lab next door
14. Press Start, and then press YES, and **then check you settings is popping up, ignore this, it means press start again. This will finally start the sequence with a total run-time at approx. 2.5 hours.**
15. After approximate 1.5 minute the UltraCLAVE chamber will begin to close. The compressor will start and make a lot of noise. You can leave the room while the compressor is running. When the pressure has reached 50 bar the compressor stops, takes approx. 3 minutes.
16. **Turn on the cooler (CryoLAB)**
17. **Turn off the compressor and close the gas (important because the gas lines is leaking)**
18.  under this icon, press i-button at the bottom, fill in information –
 - a) Project info
 - b) Sequence info, which means Serial number (continuous number from the ultraclave was new, (Syverin gives you the number) – date – vials used (1-40).
 - c) Procedure used, sample amount, acid amount and final volume.
19. You can follow the progress of the digestion procedure by pressing the Run icon 
20. After digestion the system will automatically start to cool the samples. When the temperature reaches 78 °C, the pressure will be released, OK will pop up in the lower right corner when sequence is finished.
21. Save the temperature/pressure profile by pressing the save icon at the bottom line. Save under USB-stick - Data dpr-filer, enter file name and press Save. File name shall be on the format: Snr – date – vials used – project info,

Example 808-190314-1-40-Nordlokken-vegetation-samp-1-30

22. Then system is ready for opening the pressure chamber, taking out the samples.



23. Press the System icon

24. Open the clamps, **a full stop sign is showing during this process**, when it disappears, continuing to next step.

25. Press down

26. **Use gloves, protective glasses and laboratory coat** when you remove the lid, samples and the big PTFE vessel.

27. **Note – follow procedure in next step, to a) avoid NO_x breathing b) spoiling of acid onto the surface of the UltraCLAVE.**

28. **Open the lid of the ULtraCLAVE; remove the cover of the carrousel into a plastic beaker placed just outside the pressure chamber.**

29. Then put the lid down again, make NO_x gasses to be ventilated (half a minute). Then remove the carousel with the samples and the beaker one by one, transfer them into at plastic-container you are placing just outside the pressure chamber. Then quickly bring them into the fume head to avoid NO_x in the room.

30. Use paper towel to wipe of the liquid in from the pressure chamber, the temperature probe and the sealing where the temperature probe is attached.

31. Wipe off droplets on the caps of the vials (weak acid). Flush the lid to the big PTFE vessel, especially the gaskets, with pure water, put it back onto the beaker.

32. Turn off the UltraCLAVE by pressing a) go back to the first page in the software, b) turn the red switch counter-clockwise (see step 1).

33. Turn off the cooler

ANEXO 5

Sedimentos: Tabla completa

Tabla de las concentraciones obtenidas para los 42 elementos de las muestras de sedimento de las tres localizaciones distintas, especificando su estación de muestreo, y la desviación estándar relativa asociada a este valor.

Station	Location	Year cruise	7 -> 7 Li [No Gas]		27 -> 27 Al [H2]		28 -> 44 Si [O2]	
			Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
6939	Laptev Sea	2020	26,317	0,8	7078,361	5,0	218767,716	2,5
6939	Laptev Sea	2020	26,187	0,5	7381,897	2,5	229162,386	1,2
6941	Laptev Sea	2020	23,065	0,4	10244,665	1,2	194868,049	2,6
6941	Laptev Sea	2020	22,043	1,1	9522,087	1,5	205886,002	0,4
6942	Laptev Sea	2020	14,227	0,2	8000,311	2,2	248234,895	3,7
6943	Laptev Sea	2020	11,824	1,3	6956,158	2,5	288475,200	1,3
6946	Laptev Sea	2020	48,412	1,6	23856,182	11,4	235738,087	0,6
6947	Laptev Sea	2020	28,789	2,6	10762,500	4,7	227166,815	2,6
6950	Laptev Sea	2020	30,369	1,5	17481,326	6,6	244504,818	4,5
6948	Laptev Sea	2020	30,238	1,8	17555,091	3,8	249565,084	2,1
6952	Laptev Sea	2020	23,152	1,5	14430,924	5,7	258912,886	2,0
6953	Laptev Sea	2020	16,833	2,2	14647,206	4,1	233305,507	2,4
6955	Laptev Sea	2020	38,551	0,8	22313,829	12,2	194940,563	2,2
6959	Laptev Sea	2020	34,386	1,0	21500,163	15,8	231325,000	1,0
6960	Laptev Sea	2020	31,655	0,8	20654,284	9,3	248976,218	2,9
6971	Laptev Sea	2020	34,713	0,9	21169,088	15,0	210733,026	3,1
6973	Laptev Sea	2020	38,055	1,7	17025,784	23,2	154896,915	1,4
6974	Laptev Sea	2020	33,572	1,2	18100,111	13,9	205908,969	1,9
6974	Laptev Sea	2020	32,697	1,4	15321,874	24,8	195813,927	2,8
6975	Laptev Sea	2020	23,055	1,0	12608,835	15,1	191093,321	1,9
6972	Laptev Sea	2020	11,410	2,1	5706,156	24,9	201276,114	0,4
6976	Laptev Sea	2020	35,183	0,6	24018,487	36,6	180632,144	2,5
6977	Laptev Sea	2020	30,726	0,8	12427,646	8,8	169393,813	0,5
6978	Laptev Sea	2020	28,331	1,7	14593,129	6,8	150944,691	0,5
6979	Laptev Sea	2020	11,231	1,0	6506,562	1,9	195088,190	2,4
6981	Laptev Sea	2020	31,254	1,6	9783,393	5,5	205270,301	2,1
6983	Laptev Sea	2020	31,100	1,7	13388,466	7,7	156418,857	2,1
6984	Laptev Sea	2020	29,038	2,1	11018,228	4,4	159466,808	2,7
6985	Laptev Sea	2020	34,974	1,1	18936,226	8,7	151836,269	1,1
6986	Laptev Sea	2020	25,256	1,7	11732,859	2,8	144019,155	2,3
6991	Laptev Sea	2020	9,730	0,6	7713,054	3,7	183629,224	2,3
6992	Laptev Sea	2020	12,533	1,8	8619,493	1,3	183839,998	0,5
6994	Laptev Sea	2020	22,236	1,1	11845,389	2,9	178250,753	0,2
6995	Laptev Sea	2020	28,477	1,0	14408,875	19,2	145007,560	4,2

7001	Laptev Sea	2020	32,439	0,8	14565,224	16,1	134437,057	1,3
6961	East-Siberian	2020	37,021	0,5	18898,288	9,0	201737,729	3,8
6962	East-Siberian	2020	39,343	0,9	16090,016	11,2	229924,851	1,5
6963	East-Siberian	2020	40,145	0,5	12881,831	2,9	234479,135	1,7
6964	East-Siberian	2020	40,084	1,3	14294,000	12,8	226897,932	2,4
6965	East-Siberian	2020	37,833	1,1	11868,610	6,6	228049,336	2,5
6966	East-Siberian	2020	45,561	1,1	19234,260	12,7	188142,362	2,4
6967	East-Siberian	2020	47,319	1,3	18515,115	14,9	229693,707	3,2
6968	East-Siberian	2020	26,099	1,2	8170,414	0,6	228125,690	1,8
6969	East-Siberian	2020	29,678	1,3	17554,610	2,5	264582,208	2,5
6970	East-Siberian	2020	38,695	1,0	16630,055	10,8	212115,660	1,8
7006	Kara Sea	2020	24,004	2,6	18564,743	15,8	137336,627	1,4
7007	Kara Sea	2020	14,567	2,2	11734,761	8,4	155826,853	3,3
7008	Kara Sea	2020	4,312	4,0	1879,127	1,0	213142,782	3,5
7009	Kara Sea	2020	21,764	1,2	17466,009	19,0	196954,208	0,9
7010	Kara Sea	2020	4,073	1,9	3863,964	11,2	267417,689	2,9
7011	Kara Sea	2020	2,834	3,3	2051,902	2,4	207460,969	2,2
7012	Kara Sea	2020	22,506	1,7	17926,791	19,9	160040,727	2,3
7253,1	Kara Sea	2021	30,554	0,3	27670,364	6,9	222964,257	2,4
7250	Kara Sea	2021	49,407	0,8	19596,274	5,1	205344,945	2,3
7249,1	Kara Sea	2021	47,764	0,3	23630,156	6,3	147124,468	1,9
7222,1	Kara Sea	2021	37,400	0,9	21123,774	11,3	213566,560	1,5
7218,1	Kara Sea	2021	23,644	1,0	20147,616	12,5	223014,088	2,0
7212,1	Kara Sea	2021	19,800	1,9	8099,147	2,5	252664,693	2,4
7200,1	Kara Sea	2021	23,280	0,8	13812,607	12,8	228502,649	2,7
7198,1	Kara Sea	2021	15,998	1,1	9119,195	7,6	200197,171	0,5
7194,1	Kara Sea	2021	32,882	0,5	33804,679	14,0	169530,904	3,9
7192,1	Kara Sea	2021	41,018	0,6	25437,335	10,4	203564,724	2,5

Average Number	38,178	1,018	15413,720	8,399	224374,861	2,355
Laptev Sea	10	10	10	10	10	10

Average Number	26,916	1,253	13767,825	9,485	200222,466	1,946
Kara Sea	35	35	35	35	35	35

Average Number	24,459	1,466	16231,085	9,833	200273,783	2,278
Kara Sea	17	17	17	17	17	17

31 -> 47 P [O2]		44 -> 60 Ca [O2]		45 -> 61 Sc [O2]		47 -> 63 Ti [O2]		51 -> 67 V [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
496,630	3,8	6836,708	4,0	2,482	3,0	3335,334	1,9	129,943	2,2
506,077	3,0	6643,062	2,3	2,496	2,0	3344,935	1,7	129,720	1,0
694,847	2,2	7461,296	5,0	2,882	1,9	3539,264	2,7	108,843	1,8
699,165	2,2	7678,497	2,5	2,857	1,9	3590,510	1,1	111,167	1,5
485,710	0,7	6427,574	0,9	2,124	1,8	2709,784	1,6	71,346	1,6
494,837	3,3	6009,247	4,2	1,934	7,2	2804,512	2,8	72,009	2,8
550,621	2,3	7638,821	2,4	6,092	3,9	3982,035	0,9	135,134	0,5
678,434	1,9	7219,260	1,9	3,281	2,5	3521,327	1,9	147,968	1,6
413,618	1,5	7549,034	5,7	5,019	0,6	3450,599	2,1	142,606	2,6
588,892	3,3	8688,756	3,2	4,422	1,5	3347,899	1,9	151,229	2,0
568,703	2,9	7504,436	2,1	4,055	2,1	2998,362	2,0	117,040	1,7
425,111	2,1	5666,379	1,4	3,614	2,3	2133,873	1,7	80,792	1,6
689,849	2,4	8034,846	1,4	4,994	3,4	3706,187	0,7	190,946	1,3
928,927	2,0	6877,183	2,2	4,974	3,0	3339,050	0,2	155,501	0,7
656,045	1,0	7328,011	2,9	4,581	1,1	3368,954	1,7	140,584	1,3
576,849	2,1	4813,018	3,2	3,794	4,6	3546,464	2,2	88,417	2,0
504,939	4,2	7685,482	2,2	3,480	3,9	2438,000	1,3	88,047	0,8
531,035	3,1	6885,002	3,7	3,679	2,4	2638,440	0,6	81,983	1,0
481,228	2,7	6651,753	3,8	3,082	3,0	2552,362	0,6	79,346	0,8
553,862	4,5	7129,599	2,2	3,001	4,4	2942,374	2,1	74,324	2,0
530,179	4,0	3925,699	1,0	1,138	8,1	3976,911	1,6	46,232	1,5
658,493	0,9	7458,174	2,0	4,093	1,2	3466,804	0,8	97,685	0,6
588,105	3,8	6815,047	2,7	2,925	1,2	3223,851	2,4	86,126	2,7
547,575	3,1	6303,615	2,0	3,175	6,0	3013,131	2,4	83,286	1,3
302,402	3,0	4205,135	2,4	1,330	2,8	2221,560	0,4	41,077	0,9
597,626	2,8	6076,783	2,3	2,685	5,0	3304,001	1,0	110,192	0,9
575,696	3,0	4942,565	2,8	3,342	4,4	2738,125	1,2	120,428	0,6
494,801	0,5	4578,254	1,8	2,639	4,4	2621,529	1,1	116,799	1,2
572,361	2,6	4874,116	3,3	3,573	3,3	2742,546	0,9	144,833	0,7
465,415	1,3	5587,654	3,2	2,849	2,8	2861,467	1,2	134,666	1,8
324,824	1,0	3412,402	4,2	1,763	3,0	2247,442	0,8	54,035	0,5
376,167	5,2	4010,139	2,6	2,146	5,1	2749,447	0,9	74,400	1,4
473,178	4,1	6689,981	3,8	3,035	1,9	3353,660	2,1	124,776	2,0
602,798	3,8	5461,875	6,8	3,401	3,1	3195,776	4,6	142,788	4,0
642,551	3,7	4610,464	6,9	3,257	1,7	3647,705	1,4	176,202	0,6
616,064	1,4	4424,672	4,1	3,625	0,7	3487,292	6,2	133,337	2,1
561,884	1,0	4529,240	2,1	3,959	3,1	3559,208	0,2	129,464	0,3
553,792	1,1	4529,843	3,6	3,311	3,2	3585,961	0,7	132,414	0,7
571,074	1,3	4368,326	2,4	3,096	1,6	3507,731	1,6	126,466	1,9
576,098	1,1	4739,996	1,7	3,088	0,6	3533,195	1,0	115,293	1,5
679,439	2,2	5214,039	1,6	4,585	2,3	3884,280	1,1	142,392	2,0
753,834	0,3	5179,708	2,3	4,605	1,9	4165,943	1,3	134,612	1,5
603,818	3,3	5558,605	3,0	2,201	6,6	3738,057	2,8	66,359	3,0
617,591	2,3	6107,207	2,4	3,721	4,1	3992,914	2,7	82,448	2,0

610,329	2,2	6128,584	3,4	4,138	1,7	4040,522	2,0	100,514	0,7
817,176	2,6	5873,602	1,5	4,628	0,8	3403,321	1,1	162,143	1,4
399,003	2,7	5297,041	1,0	3,441	4,0	2621,528	1,8	87,544	2,3
269,593	3,0	4760,768	6,3	1,036	3,4	5309,014	1,8	75,197	2,0
623,366	1,9	6443,186	3,6	4,426	1,3	3132,232	0,9	127,151	1,8
166,884	4,8	3096,295	5,5	1,140	6,3	3591,415	1,0	35,283	1,7
128,762	6,3	2511,650	3,8	0,702	8,8	3189,560	1,2	23,906	0,8
739,015	2,2	4828,276	2,7	3,876	3,2	3229,846	0,9	144,465	0,4
1209,339	2,2	7453,548	0,8	5,971	1,7	3448,488	1,2	194,125	0,3
1412,915	1,2	6003,378	2,0	4,886	2,2	3681,531	1,1	216,409	0,8
1854,256	0,8	5878,723	3,4	5,538	1,3	3677,631	0,6	256,990	0,4
815,037	1,5	6169,436	2,0	5,351	2,5	3382,168	1,7	203,098	1,2
365,380	2,1	6523,437	3,3	4,351	1,1	3828,827	1,1	104,159	0,9
361,003	2,0	3964,374	1,6	2,208	0,4	2936,009	1,1	84,180	1,6
462,071	0,4	6273,261	1,4	3,672	1,6	3242,624	0,4	111,909	1,0
1226,365	3,8	4573,113	1,4	2,588	1,4	2025,645	2,2	61,611	2,5
1088,299	1,2	10036,262	2,5	7,485	2,7	3814,319	1,3	177,876	1,2
556,549	0,9	12317,514	2,9	7,104	0,8	4534,855	0,4	174,900	0,2

614,392	1,622	5078,022	2,651	3,633	2,595	3749,510	1,941	116,330	1,577
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

550,787	2,686	6276,568	3,002	3,263	3,158	3104,406	1,556	110,013	1,474
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

735,001	2,337	6000,227	2,685	4,024	2,564	3473,471	1,170	131,820	1,201
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

55 -> 55 Mn [O2]		56 -> 56 Fe [H2]		59 -> 59 Co [O2]		60 -> 60 Ni [O2]		63 -> 63 Cu [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
1647,568	0,4	24455,255	0,6	15,577	0,6	29,997	1,4	18,265	1,0
1670,008	1,0	24760,966	0,7	15,738	1,2	30,866	0,7	18,121	0,4
1118,842	1,9	26214,523	0,6	12,191	1,2	24,870	1,0	13,117	2,0
1161,876	0,8	26016,427	1,1	12,737	0,8	25,431	0,9	13,639	1,6
1256,542	0,3	15707,875	1,3	9,884	1,8	19,334	1,1	8,765	2,1
823,104	0,5	16055,533	0,3	7,975	1,3	14,838	1,4	7,302	1,4
857,609	1,0	37987,130	0,7	18,465	0,7	41,929	0,8	30,286	1,2
848,682	1,0	30500,734	0,3	14,849	0,9	29,189	2,6	17,024	1,7
535,499	1,8	31788,278	0,8	16,375	0,6	30,437	1,0	16,802	2,2
1872,278	1,5	32421,257	0,2	17,171	0,9	30,783	1,8	16,871	0,9
1822,268	0,4	25133,019	1,5	13,169	1,0	23,531	0,3	12,725	1,6
1439,061	0,8	17715,508	0,9	9,527	0,5	16,485	0,4	8,946	1,2
3762,333	0,4	40708,880	0,2	22,050	1,2	40,730	1,5	22,339	1,5
3912,542	1,1	36778,773	2,0	21,523	0,7	37,431	0,5	17,976	1,8
2826,615	0,8	31334,015	0,6	18,920	1,8	38,592	0,6	19,611	2,3
581,005	1,4	29926,791	1,6	13,405	0,3	30,708	0,9	20,722	0,7
1017,956	0,4	31456,319	0,1	13,645	0,8	31,712	0,5	20,827	0,9
928,943	0,3	30607,621	1,0	13,645	1,6	30,412	2,3	21,163	2,8
917,421	0,7	29599,067	0,7	13,540	1,5	29,988	1,4	20,461	0,9
1012,877	1,0	27304,940	1,4	11,239	1,1	22,131	3,7	17,801	1,6
311,581	1,0	13090,765	1,2	6,227	1,9	12,757	1,7	5,002	0,9
1130,743	1,3	35208,643	0,8	14,263	0,6	29,572	2,0	19,756	0,9
815,972	3,5	31358,302	0,5	12,384	1,1	27,528	1,4	18,240	2,8
960,889	1,0	29664,702	2,3	12,357	1,0	27,010	2,0	18,424	1,6
380,993	1,8	14045,252	0,9	5,589	0,9	10,273	3,2	5,442	1,7
858,959	1,6	33710,847	0,9	12,927	0,8	25,413	0,5	16,782	3,4
751,469	2,4	35723,046	1,2	12,820	1,6	26,299	2,2	18,076	3,2
2015,515	0,7	32778,819	0,4	12,905	0,8	24,831	1,5	15,510	2,4
4965,228	0,6	41387,908	2,2	18,001	0,3	31,384	1,0	17,769	0,8
2237,004	2,6	30525,039	1,4	13,507	2,4	25,779	1,4	15,262	0,9
817,629	0,9	13261,424	0,2	6,406	1,5	10,617	5,6	5,482	1,7
1320,954	0,6	19158,768	4,7	8,577	1,1	14,975	2,2	7,760	1,9
2217,825	1,2	29379,819	1,1	16,291	2,7	34,672	1,4	18,360	2,8
3984,965	3,0	34340,046	2,6	20,572	1,4	38,873	1,7	21,080	2,8
8833,733	1,1	38998,083	0,4	26,292	0,8	50,493	0,4	26,439	0,3
2622,504	1,2	30682,097	0,5	16,571	0,3	28,766	0,3	18,154	0,4
2447,111	0,9	30060,650	0,6	17,117	1,3	29,199	2,6	17,135	1,4
2366,377	1,3	30182,104	1,4	17,984	0,7	28,618	0,8	17,251	1,8
2105,690	1,5	28852,690	0,4	16,904	1,0	28,396	2,3	16,471	1,3
2248,140	1,2	26622,595	1,4	16,028	1,2	25,856	2,1	15,579	1,0
4247,102	0,2	37303,936	1,5	17,788	0,2	34,570	1,0	22,576	0,7
1874,658	0,9	34774,663	1,2	17,096	1,2	38,276	0,2	24,833	0,6
518,177	0,9	20014,075	0,3	9,602	0,7	18,912	0,4	11,143	2,6
764,294	1,6	26273,435	0,7	12,637	0,8	26,492	1,8	16,535	0,7

915,924	0,2	32987,689	0,5	15,030	0,9	33,312	1,5	22,808	0,3
2764,047	1,5	47969,931	1,5	19,259	1,3	38,475	4,0	28,364	1,2
1257,230	1,3	25235,454	1,0	10,814	2,5	22,163	1,0	14,063	1,8
630,337	3,2	13744,715	0,7	7,180	1,2	13,842	3,3	4,080	1,5
2188,918	1,3	42142,647	1,2	16,296	0,9	33,123	2,9	24,169	1,2
447,916	2,8	9247,559	1,6	3,546	1,4	5,417	3,3	2,492	3,9
410,988	1,7	6689,481	0,7	2,429	3,7	3,353	1,9	1,587	2,8
2077,307	0,3	43422,498	0,4	17,690	1,5	33,804	1,4	23,550	1,6
5570,723	0,5	52094,601	1,0	27,218	0,8	51,567	1,7	26,522	1,5
1209,121	1,5	52045,617	1,0	16,874	1,2	49,131	2,8	27,747	1,6
3150,287	0,7	60395,970	1,5	21,010	0,3	50,335	0,5	30,596	1,4
7682,676	0,4	47180,221	1,2	29,869	0,5	58,063	1,7	29,182	0,3
860,702	0,8	29471,798	0,2	15,789	0,3	36,673	0,9	23,538	0,6
348,589	2,6	19118,283	0,1	8,652	1,1	20,974	1,5	10,569	2,0
644,726	0,6	28926,024	0,7	13,476	0,6	30,779	0,5	15,914	2,3
1831,408	0,4	32014,589	1,0	12,292	2,1	21,473	1,1	12,008	2,3
2873,122	0,5	57574,260	0,9	28,139	1,1	60,352	0,6	43,903	1,7
1483,960	1,2	54823,378	0,7	29,272	0,9	66,729	0,4	55,775	0,2

2010,998	0,992	29775,394	0,870	15,676	0,845	29,240	1,290	18,249	1,086
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1760,471	1,169	28545,839	1,070	14,021	1,126	27,711	1,515	16,347	1,657
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

2084,239	1,252	36593,943	0,909	16,459	1,270	35,074	1,739	22,003	1,648
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

66 -> 66 Zn [H2]		71 -> 71 Ga [H2]		89 -> 105 Y [O2]		90 -> 106 Zr [O2]		93 -> 125 Nb [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
59,927	0,8	10,496	0,3	2,370	1,8	102,408	1,9	8,724	2,9
59,857	1,8	10,991	1,3	2,343	4,0	102,966	1,4	8,749	2,1
57,916	3,1	11,835	1,7	3,547	3,1	139,770	2,7	10,461	1,8
58,798	1,2	11,960	0,8	3,528	1,4	142,650	1,0	10,694	0,1
40,333	1,3	10,257	1,9	2,047	1,4	103,525	1,5	9,009	1,7
35,263	1,2	9,275	1,1	2,795	2,1	105,106	2,2	10,535	1,2
109,236	1,0	18,678	0,5	7,410	3,0	159,516	0,8	12,804	3,7
73,459	0,6	12,862	1,6	3,726	2,3	119,152	2,0	10,050	1,9
74,376	1,6	13,700	0,5	5,095	1,8	119,722	2,7	9,797	2,6
73,383	0,3	13,926	1,2	6,927	3,4	109,728	0,7	10,101	3,9
58,405	0,8	12,219	0,7	4,938	0,6	96,170	2,6	9,172	1,4
42,498	0,7	10,833	1,8	4,148	0,6	86,371	2,2	6,699	2,1
97,700	0,5	15,818	0,8	6,483	2,5	116,779	0,6	10,325	1,6
84,177	1,4	14,892	0,2	5,339	0,8	116,724	0,9	9,934	0,8
83,314	1,5	14,585	0,8	6,118	1,2	119,799	4,0	9,975	1,6
86,095	0,9	14,089	1,8	5,052	3,3	151,419	1,7	11,036	2,9
93,110	0,6	14,482	0,7	5,277	3,2	94,091	0,9	7,981	1,6
86,249	2,2	14,750	2,1	5,963	2,2	107,193	0,9	8,805	1,2
83,864	2,0	14,174	2,4	5,201	4,1	103,931	2,1	8,708	2,2
66,148	1,3	11,029	1,9	5,899	3,9	130,151	1,9	9,699	2,7
35,158	3,7	7,692	1,2	2,289	1,3	234,828	1,4	12,660	1,8
86,000	2,4	14,065	3,7	5,702	2,3	127,233	0,7	11,140	0,7
80,999	1,1	13,288	0,6	5,099	2,6	121,308	2,9	10,575	2,9
80,289	0,8	11,850	2,0	3,860	1,0	106,857	1,8	9,734	2,3
32,813	1,1	8,064	1,8	2,360	7,2	95,713	0,9	7,901	2,3
76,197	0,2	13,023	1,9	3,748	2,9	126,465	1,6	10,756	0,8
80,459	1,7	12,668	2,6	4,654	4,4	96,161	1,3	8,435	0,8
75,206	3,2	11,569	0,8	3,439	2,3	95,242	0,7	8,188	1,2
87,882	1,1	14,155	0,2	4,794	0,7	94,279	0,4	8,148	1,3
71,766	2,1	10,912	2,1	3,913	3,9	94,263	1,9	8,281	1,3
29,219	3,7	7,354	1,0	2,126	1,2	71,819	2,1	7,308	3,0
38,670	1,2	7,704	0,6	2,663	1,8	99,101	1,5	8,376	2,6
66,561	0,7	10,829	0,5	3,122	2,3	98,904	1,3	8,375	2,1
72,860	3,4	10,854	1,2	3,577	6,8	96,206	4,1	7,741	4,8
90,397	1,6	12,346	0,7	3,047	3,8	104,523	0,9	8,924	1,9
101,328	1,6	14,738	1,0	3,845	1,6	122,507	1,5	10,029	1,8
100,048	0,4	14,563	2,5	3,991	3,8	135,216	0,2	10,548	0,7
101,415	0,7	14,855	1,2	3,628	1,9	132,758	0,7	10,627	0,1
97,753	1,3	13,822	0,2	3,871	1,6	133,772	1,2	10,525	1,4
89,636	0,2	13,445	0,9	3,361	1,2	130,985	0,4	10,628	1,9
116,621	1,1	17,520	1,5	5,922	1,8	147,608	1,8	11,622	1,0
112,093	0,9	16,798	0,6	4,954	2,3	161,804	2,1	12,757	1,0
58,542	1,3	11,581	2,4	3,244	1,9	198,437	2,7	12,252	2,9
75,384	1,8	13,936	1,4	5,918	1,8	175,536	2,1	12,676	2,4

95,996	2,2	15,549	0,5	4,504	4,6	161,299	1,0	12,570	2,3
79,849	1,7	11,481	1,5	7,467	1,4	97,653	1,4	7,801	1,5
44,186	1,8	7,427	2,5	4,197	5,9	75,791	1,7	5,827	2,6
28,836	2,1	4,371	2,6	0,694	1,0	125,324	1,8	10,547	1,2
69,362	1,0	10,889	2,6	6,228	1,0	92,333	3,0	7,244	2,3
13,729	10,7	2,843	5,1	1,566	2,6	87,222	1,0	6,816	1,1
10,604	2,1	2,350	2,4	1,098	4,1	81,854	1,0	7,112	1,5
72,153	1,6	11,018	1,6	6,282	1,3	90,717	1,9	8,019	0,7
94,545	1,7	14,308	0,9	8,279	0,8	104,751	0,2	8,570	2,5
107,066	1,0	16,890	0,8	5,300	2,8	120,093	0,5	9,494	0,2
109,825	1,1	17,349	0,9	6,566	2,1	114,206	1,2	9,836	0,4
103,159	0,6	15,724	1,0	5,391	3,2	103,008	2,0	8,755	1,6
69,490	0,4	12,694	0,7	5,332	2,7	114,249	1,0	9,562	3,1
49,146	2,4	8,442	0,8	2,373	2,2	87,442	2,4	7,770	2,5
66,456	2,1	11,633	0,5	4,086	2,2	100,743	1,7	8,439	2,8
43,710	1,7	7,646	0,4	4,312	7,7	62,247	2,4	5,026	3,0
109,381	0,7	16,295	1,5	11,292	0,4	95,701	3,6	7,842	2,2
116,753	1,0	18,010	0,4	8,677	0,7	105,043	0,5	8,961	0,1

94,881	1,159	14,681	1,214	4,324	2,257	149,992	1,372	11,423	1,545
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

69,388	1,508	12,206	1,283	4,246	2,606	114,002	1,663	9,423	1,997
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

69,897	1,981	11,139	1,539	5,244	2,481	97,552	1,601	8,095	1,721
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

95 -> 127 Mo [O2]		111 -> 111 Cd [O2]		115 -> 115 In [O2]		118 -> 118 Sn [O2]		139 -> 155 La [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
4,734	2,9	0,073	29,7	0,048	9,7	1,302	1,9	2,916	2,5
4,686	3,7	0,051	21,2	0,045	6,6	1,347	5,0	2,744	1,0
1,611	4,9	0,066	41,8	0,043	9,2	1,526	4,6	4,325	4,0
1,670	2,9	0,079	12,7	0,043	4,9	1,563	3,1	3,952	3,6
2,428	4,7	0,036	31,1	0,032	12,1	1,273	6,1	2,741	1,5
1,615	4,0	0,050	3,7	0,027	8,8	1,029	0,3	4,382	1,4
1,944	1,2	0,075	23,4	0,078	10,8	2,601	4,2	9,735	4,2
4,072	7,6	0,076	15,4	0,052	5,8	1,615	4,0	5,724	1,8
5,394	5,1	0,091	14,7	0,052	5,2	1,628	1,2	7,817	2,5
3,892	3,2	0,064	40,7	0,052	5,8	1,662	2,9	13,693	2,6
4,197	1,8	0,052	13,4	0,040	7,7	1,385	3,0	9,658	2,7
4,142	0,8	0,051	22,4	0,029	2,3	1,126	4,6	7,512	1,7
7,506	2,6	0,078	19,8	0,061	5,7	1,879	3,0	9,476	0,2
9,403	3,6	0,074	43,8	0,063	8,4	1,854	5,0	7,923	4,2
5,209	4,5	0,085	24,3	0,054	6,7	1,907	1,1	9,773	0,8
1,305	6,4	0,093	30,5	0,066	11,6	2,226	0,5	8,418	3,8
1,981	6,7	0,072	12,5	0,068	7,3	2,066	6,3	7,405	2,3
1,741	2,2	0,068	19,7	0,058	4,7	2,009	3,3	9,711	5,4
1,604	15,2	0,075	29,7	0,056	7,3	1,864	3,1	8,202	4,9
2,033	13,4	0,048	40,5	0,044	8,6	1,418	3,8	7,948	1,2
0,416	14,8	0,027	45,6	0,026	8,1	1,417	5,3	3,198	3,3
2,169	4,9	0,059	36,3	0,062	11,3	1,892	7,0	7,377	3,8
1,521	6,9	0,059	38,7	0,051	8,1	1,731	3,5	6,281	4,4
1,814	2,9	0,059	36,2	0,051	6,8	1,600	1,7	4,936	6,8
0,767	9,9	0,031	55,6	0,030	16,6	0,933	3,2	3,849	1,8
1,778	12,1	0,034	34,3	0,061	4,8	1,648	5,4	5,139	2,4
1,403	4,4	0,042	17,6	0,054	23,4	1,591	6,4	6,954	2,1
3,227	3,7	0,048	15,4	0,046	9,0	1,470	1,7	4,921	3,3
9,072	2,4	0,065	3,6	0,058	11,7	1,573	1,5	7,703	4,8
4,685	1,6	0,072	34,6	0,040	19,2	1,270	8,4	5,716	1,8
2,368	7,5	0,021	88,4	0,026	12,2	0,739	9,6	3,926	0,8
2,474	3,7	0,039	61,8	0,027	34,3	0,941	4,3	4,599	4,7
3,808	2,9	0,051	14,9	0,044	16,8	1,383	6,6	3,880	4,0
6,859	5,0	0,090	24,4	0,043	14,0	1,405	5,5	4,346	4,8
13,016	0,9	0,072	23,6	0,060	13,4	1,766	2,4	3,613	1,8
6,155	2,3	0,229	8,1	0,070	7,8	2,315	3,8	5,069	5,2
5,117	1,6	0,154	16,0	0,063	11,7	2,487	3,0	5,110	3,4
5,157	4,1	0,190	8,9	0,069	0,7	2,438	3,4	4,151	2,2
4,119	0,4	0,164	16,1	0,064	3,5	2,365	4,9	4,567	3,6
5,065	6,6	0,180	21,8	0,065	6,5	2,281	1,8	4,100	5,0
10,484	2,0	0,209	2,0	0,080	4,1	2,670	2,6	7,721	0,6
4,834	4,2	0,226	11,5	0,078	1,8	2,722	3,3	6,443	5,3
0,934	12,4	0,051	13,4	0,054	10,4	1,919	1,7	4,071	2,8
1,163	5,5	0,079	25,9	0,056	6,1	2,325	8,0	9,912	2,9

1,528	2,8	0,124	28,0	0,074	9,7	2,406	3,2	6,504	0,9
4,088	4,7	0,056	45,2	0,051	3,9	1,419	4,7	8,548	3,8
1,750	3,1	0,033	46,5	0,030	26,6	0,909	3,6	4,094	1,9
0,485	4,8	0,041	65,6	0,021	7,6	0,752	6,1	2,528	2,4
2,884	2,6	0,042	11,0	0,041	17,1	1,284	1,1	6,321	1,8
0,651	7,5	0,014	85,6	0,011	21,7	0,417	0,4	2,788	2,5
0,478	10,0	0,008	163,6	0,008	20,1	0,370	11,7	1,778	1,9
2,546	6,5	0,056	64,3	0,045	6,7	1,431	4,2	7,786	6,8
8,869	3,4	0,163	12,3	0,056	1,4	1,870	2,1	12,030	2,3
3,852	4,3	0,118	9,2	0,073	4,4	2,357	7,0	5,983	2,7
8,912	2,1	0,103	24,4	0,070	3,5	2,413	2,2	8,949	2,6
16,306	2,6	0,203	21,6	0,072	3,6	2,049	6,7	6,206	3,8
1,355	2,5	0,091	15,3	0,052	7,9	1,892	2,7	7,599	4,0
0,961	6,2	0,040	47,6	0,035	1,6	1,148	3,5	2,992	1,4
1,496	5,8	0,064	29,9	0,049	9,1	1,591	2,8	5,564	4,6
0,946	8,1	0,065	13,2	0,031	3,0	0,926	6,3	3,998	5,1
3,978	1,9	0,129	19,7	0,071	17,7	1,911	3,7	13,291	0,4
3,888	3,9	0,130	19,9	0,075	4,6	2,007	3,8	9,514	2,8

4,456	4,191	0,161	15,180	0,067	6,236	2,393	3,572	5,765	3,178
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

3,615	5,160	0,061	29,200	0,048	10,249	1,561	3,981	6,300	2,940
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

3,732	4,709	0,080	40,872	0,047	9,453	1,456	4,276	6,469	2,990
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

140 -> 156 Ce [O2]		141 -> 157 Pr [O2]		146 -> 162 Nd [O2]		147 -> 163 Sm [O2]		153 -> 153 Eu [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
8,946	0,5	0,991	4,1	3,969	5,1	0,842	6,4	0,234	8,3
8,904	2,1	0,970	0,3	4,099	1,6	0,889	2,6	0,177	45,3
11,757	3,1	1,413	3,2	5,602	3,7	1,262	7,0	0,280	15,8
11,287	3,4	1,348	4,4	5,639	2,5	1,152	1,9	0,295	8,0
7,247	1,6	0,891	1,1	3,751	2,4	0,760	3,1	0,163	15,2
11,477	3,1	1,372	4,8	5,664	4,5	1,069	6,1	0,208	9,8
30,960	27,3	3,009	1,9	12,099	2,8	2,584	3,1	0,547	7,6
15,882	2,4	1,807	4,9	7,384	2,0	1,560	2,2	0,383	13,7
20,172	2,1	2,332	3,2	9,496	2,8	1,946	2,4	0,449	1,3
34,601	2,8	3,603	4,0	13,393	4,2	2,552	2,8	0,575	6,1
23,385	4,3	2,552	1,4	9,820	1,3	1,906	2,5	0,372	9,4
15,849	0,7	1,904	3,0	7,440	0,8	1,394	1,8	0,329	7,5
27,165	0,7	2,898	3,5	11,265	1,6	2,315	1,8	0,558	10,7
20,757	1,3	2,239	3,7	9,089	2,1	1,910	3,8	0,398	13,2
25,609	8,6	2,683	4,6	10,214	1,3	2,024	2,4	0,473	9,1
20,482	2,2	2,008	2,4	7,488	3,2	1,556	1,5	0,314	5,3
19,932	3,2	2,211	3,4	8,719	0,4	1,782	4,1	0,429	7,5
25,718	3,8	2,859	3,2	10,788	3,3	2,114	4,2	0,536	11,7
20,602	1,6	2,376	1,7	9,689	2,1	1,904	6,0	0,426	6,1
20,729	5,1	2,373	0,9	9,526	1,5	2,086	1,4	0,482	6,5
8,118	2,0	0,927	3,6	3,654	0,9	0,732	5,8	0,194	4,0
20,310	1,6	2,268	1,6	9,065	4,1	1,959	6,1	0,492	1,4
16,358	6,0	1,976	3,8	7,909	6,5	1,698	3,7	0,412	3,4
15,527	1,6	1,606	1,9	6,419	0,4	1,511	9,6	0,375	7,9
9,236	4,4	1,084	4,2	4,504	5,7	0,924	8,1	0,233	4,7
15,617	3,3	1,683	1,5	7,091	5,8	1,323	3,0	0,361	9,1
18,723	1,2	1,962	3,2	8,114	3,3	1,698	3,0	0,418	2,1
14,519	2,6	1,559	1,8	6,297	3,2	1,338	8,6	0,325	2,4
20,698	1,2	2,250	2,2	8,905	2,0	1,875	10,3	0,455	6,7
16,210	4,2	1,736	6,7	6,567	2,1	1,401	4,0	0,350	5,3
9,304	2,9	1,002	2,7	3,981	6,6	0,722	6,0	0,240	2,1
10,213	0,7	1,207	3,9	4,639	3,0	0,942	3,6	0,242	7,4
10,853	3,2	1,228	3,5	4,793	3,0	0,985	8,5	0,289	4,4
12,601	5,6	1,390	6,0	5,499	7,6	1,303	8,8	0,356	4,5
11,658	1,7	1,198	6,2	4,851	1,2	1,033	3,8	0,272	8,1
14,934	9,8	1,519	2,6	6,189	4,8	1,368	5,8	0,324	16,3
13,386	1,7	1,471	1,6	5,589	2,5	1,221	6,3	0,288	3,9
12,380	7,3	1,313	1,6	5,126	3,0	1,153	1,3	0,263	16,9
14,229	1,9	1,431	1,0	5,415	1,2	1,211	5,3	0,338	17,6
11,018	8,4	1,222	3,2	5,088	2,2	1,100	5,8	0,220	39,2
20,696	4,3	2,268	1,4	8,795	0,3	1,871	2,8	0,405	12,2
16,848	3,5	1,756	1,9	7,095	2,2	1,579	3,5	0,363	3,8
10,924	4,3	1,313	6,4	5,316	4,8	1,139	6,9	0,228	15,3

23,464	4,5	2,598	2,4	10,034	2,1	1,838	8,8	0,407	1,1
16,951	1,5	1,707	4,4	6,849	0,5	1,517	2,9	0,328	11,0
22,679	3,8	2,591	1,4	10,009	1,8	2,268	7,6	0,568	1,6
10,636	2,0	1,268	1,4	5,269	6,9	1,188	2,2	0,303	5,0
7,285	1,1	0,779	2,0	3,070	4,4	0,524	15,1	0,143	9,9
17,011	3,0	2,084	0,7	8,741	1,3	1,944	6,6	0,490	4,4
6,045	1,8	0,730	4,5	2,922	4,1	0,590	8,7	0,151	9,5
4,269	5,3	0,514	8,7	1,972	4,0	0,401	12,5	0,126	1,9
19,613	1,7	2,218	3,3	9,398	3,9	2,073	4,9	0,513	6,6
30,298	4,6	3,160	3,9	12,367	2,5	2,447	4,0	0,677	3,5
18,442	1,0	1,939	1,9	7,964	0,5	1,848	7,8	0,430	4,4
25,878	2,3	2,651	3,7	10,426	2,8	2,163	1,0	0,513	19,9
18,009	2,7	2,062	4,6	8,654	4,1	1,933	2,2	0,462	2,0
20,373	0,7	2,113	1,9	8,381	2,8	1,723	2,9	0,379	7,0
9,146	3,9	0,913	1,2	3,876	1,3	0,817	9,2	0,182	19,4
16,190	3,0	1,846	4,6	7,386	3,6	1,556	5,6	0,387	3,5
12,045	5,0	1,277	2,6	5,498	5,8	1,182	2,1	0,320	8,3
36,856	1,1	3,878	2,0	15,575	1,6	3,303	4,4	0,790	6,5
28,080	1,1	3,000	1,2	12,313	2,0	2,729	2,9	0,647	6,6

15,483	4,709	1,660	2,649	6,550	2,351	1,400	4,937	0,316	13,728
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

16,897	3,492	1,855	3,215	7,355	2,977	1,516	4,575	0,361	8,331
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

17,815	2,599	1,943	2,916	7,872	3,150	1,688	5,872	0,416	7,069
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

157 -> 173 Gd [O2]		159 -> 175 Tb [O2]		163 -> 179 Dy [O2]		165 -> 181 Ho [O2]		166 -> 182 Er [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
0,716	7,0	0,123	11,1	0,760	8,6	0,152	5,1	0,426	6,9
0,797	7,7	0,131	2,9	0,746	3,3	0,154	6,5	0,447	5,0
1,080	4,4	0,165	6,9	0,977	1,6	0,202	10,3	0,596	3,9
1,019	11,2	0,173	4,3	0,998	7,1	0,201	4,9	0,601	8,9
0,684	3,4	0,104	7,9	0,622	4,1	0,127	3,8	0,354	2,1
0,961	11,8	0,158	3,2	0,816	2,4	0,168	1,9	0,503	7,1
2,280	0,6	0,368	2,5	2,285	2,1	0,464	3,3	1,447	0,3
1,371	1,5	0,206	5,4	1,217	4,8	0,228	7,0	0,665	6,2
1,791	5,1	0,280	3,8	1,585	4,4	0,309	0,4	0,883	5,8
2,104	0,6	0,325	4,2	1,732	0,5	0,341	5,4	0,959	2,9
1,576	1,5	0,236	10,5	1,258	4,6	0,255	5,0	0,723	7,6
1,219	4,1	0,182	7,9	0,995	2,1	0,208	3,4	0,595	0,7
2,131	5,4	0,326	6,4	1,867	1,5	0,367	1,3	1,068	1,9
1,736	2,2	0,274	6,1	1,597	4,0	0,319	3,5	0,963	2,3
1,749	4,2	0,268	2,9	1,549	5,7	0,301	0,9	0,874	3,2
1,411	3,2	0,220	3,6	1,268	5,3	0,260	5,2	0,801	4,3
1,628	2,4	0,252	3,6	1,546	1,3	0,320	1,8	0,966	3,6
1,896	4,5	0,287	4,1	1,710	1,4	0,318	5,5	0,974	2,2
1,755	2,3	0,275	7,4	1,455	3,3	0,322	4,0	0,881	3,7
1,787	2,8	0,382	42,5	1,653	7,5	0,320	1,0	0,906	1,3
0,607	4,1	0,092	4,7	0,570	6,0	0,099	4,2	0,300	2,5
1,755	9,3	0,296	3,3	1,709	1,7	0,341	0,4	0,968	6,8
1,547	9,2	0,269	4,0	1,542	8,0	0,301	7,4	0,846	8,9
1,341	3,5	0,226	6,0	1,275	0,5	0,256	0,9	0,730	4,2
0,752	10,3	0,114	8,1	0,651	4,4	0,118	4,4	0,325	6,5
1,197	5,6	0,186	7,2	1,156	2,5	0,217	9,4	0,649	6,0
1,492	4,5	0,242	4,2	1,444	5,7	0,282	5,6	0,811	5,3
1,129	4,0	0,195	5,3	1,142	6,6	0,202	6,9	0,603	4,3
1,631	5,5	0,251	5,7	1,477	7,7	0,292	5,4	0,808	4,6
1,243	4,0	0,205	3,9	1,144	1,6	0,223	4,0	0,604	9,0
0,641	8,0	0,093	10,7	0,501	7,1	0,104	3,5	0,274	9,0
0,792	5,2	0,117	4,5	0,637	4,9	0,124	6,7	0,368	2,4
1,006	7,3	0,166	5,1	0,930	1,5	0,179	6,3	0,475	5,5
1,164	9,1	0,201	7,4	1,236	6,3	0,245	6,7	0,651	8,5
0,948	1,9	0,173	2,0	0,970	3,6	0,192	3,3	0,584	2,4
1,200	0,9	0,196	6,2	1,158	4,5	0,241	7,8	0,714	5,2
1,147	3,8	0,197	2,5	1,224	2,6	0,245	3,1	0,755	5,2
1,071	4,7	0,188	1,1	1,126	2,8	0,238	4,0	0,698	1,5
1,079	2,0	0,187	5,4	1,107	1,3	0,219	2,5	0,659	4,5
1,023	1,6	0,167	7,7	0,987	4,7	0,207	2,7	0,604	1,2
1,753	2,5	0,279	1,8	1,656	2,6	0,334	2,8	1,019	5,4
1,442	2,6	0,234	1,0	1,487	1,0	0,293	1,7	0,892	3,8
1,110	2,8	0,178	2,7	1,041	2,1	0,214	2,9	0,651	3,2
1,821	16,2	0,243	1,2	1,381	4,7	0,271	3,2	0,831	6,0

1,423	6,2	0,224	6,6	1,330	4,4	0,273	6,1	0,860	3,4
2,182	3,8	0,389	8,3	2,156	7,7	0,417	4,3	1,116	1,5
1,095	9,3	0,184	10,6	1,020	2,7	0,212	3,7	0,557	1,7
0,381	5,0	0,051	10,5	0,315	9,1	0,055	5,6	0,158	2,4
1,898	3,2	0,314	7,7	1,880	2,6	0,385	1,9	1,059	5,0
0,489	16,0	0,073	17,5	0,451	19,2	0,083	1,4	0,233	4,3
0,348	23,7	0,059	2,7	0,327	9,9	0,060	4,1	0,189	3,4
1,931	6,3	0,312	5,0	1,929	5,8	0,403	9,8	0,994	3,8
2,240	6,0	0,338	1,1	2,017	2,0	0,393	4,3	1,119	1,9
1,742	2,2	0,273	3,3	1,658	2,2	0,349	3,8	1,042	4,6
1,974	2,0	0,311	5,1	1,848	2,5	0,370	6,2	1,127	2,5
1,810	6,0	0,296	1,8	1,805	2,5	0,355	0,9	1,024	3,3
1,489	5,2	0,251	4,2	1,413	3,4	0,296	1,6	0,877	1,4
0,771	3,3	0,121	1,9	0,709	3,5	0,144	4,3	0,431	1,7
1,391	6,0	0,232	5,2	1,356	4,0	0,267	5,2	0,789	2,3
1,157	3,6	0,187	10,6	1,105	7,8	0,214	2,7	0,670	2,1
3,167	4,7	0,488	2,2	2,969	3,8	0,599	0,3	1,841	12,5
2,534	4,3	0,408	2,1	2,464	1,6	0,496	1,6	1,489	3,7

1,307	4,325	0,209	3,610	1,249	3,060	0,254	3,687	0,768	3,936
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

1,341	5,075	0,216	6,555	1,229	4,099	0,243	4,432	0,704	4,738
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

1,565	6,510	0,252	5,870	1,495	5,315	0,300	3,633	0,866	3,416
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

169 -> 185 Tm [O2]		172 -> 172 Yb [O2]		175 -> 191 Lu [O2]		178 -> 194 Hf [O2]		181 -> 213 Ta [O2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
0,068	11,1	0,420	1,1	0,067	4,2	2,932	2,5	0,545	6,7
0,067	7,2	0,419	9,3	0,064	2,2	2,962	4,1	0,589	2,9
0,087	4,1	0,583	8,3	0,089	4,1	3,990	1,9	0,663	2,9
0,091	2,8	0,561	8,2	0,096	5,0	4,083	0,7	0,714	1,4
0,053	7,8	0,336	6,1	0,054	4,2	3,077	4,4	0,604	2,1
0,072	11,0	0,467	3,8	0,075	1,0	3,048	2,6	0,815	4,3
0,206	4,0	1,412	3,0	0,226	3,5	4,556	3,8	0,886	2,8
0,101	5,6	0,610	4,3	0,099	4,2	3,523	2,9	0,706	3,6
0,128	3,0	0,879	4,6	0,128	0,9	3,513	4,8	0,698	1,5
0,140	4,2	0,872	1,1	0,131	16,3	3,219	5,2	0,704	2,5
0,118	9,2	0,708	6,1	0,127	23,0	2,961	2,0	0,624	1,8
0,083	16,2	0,517	2,5	0,085	7,8	2,654	4,9	0,470	3,3
0,158	5,1	0,986	4,7	0,161	3,2	3,575	3,1	0,743	1,3
0,137	0,9	0,916	4,9	0,147	3,4	3,527	1,5	0,711	3,4
0,127	6,4	0,876	8,4	0,137	4,5	3,486	1,9	0,703	0,5
0,126	18,3	0,844	4,9	0,133	5,1	4,426	1,3	0,781	2,9
0,143	2,1	1,040	4,2	0,167	5,5	2,809	0,7	0,547	2,8
0,153	10,6	1,059	2,6	0,152	0,8	3,218	0,7	0,632	4,4
0,138	5,5	1,044	3,7	0,150	7,0	3,135	4,3	0,649	15,6
0,140	9,1	0,883	4,9	0,135	7,0	3,239	1,3	0,567	1,8
0,040	9,5	0,286	2,6	0,040	3,6	5,927	3,1	0,750	2,6
0,139	2,4	1,007	9,0	0,155	1,6	3,275	4,7	0,647	3,2
0,119	6,8	0,875	5,6	0,132	3,4	3,228	1,2	0,631	7,1
0,103	8,8	0,730	7,4	0,112	12,4	2,732	3,0	0,597	0,8
0,046	16,7	0,338	4,0	0,049	14,3	2,561	4,2	0,524	0,8
0,083	7,1	0,661	6,0	0,094	0,3	3,478	3,9	0,657	2,7
0,113	12,0	0,831	3,3	0,119	3,3	2,539	2,3	0,507	3,1
0,083	12,4	0,582	7,8	0,083	15,0	2,568	1,9	0,498	0,9
0,112	6,9	0,829	3,5	0,116	2,9	2,619	3,1	0,501	1,2
0,091	4,3	0,602	0,8	0,089	5,3	2,400	5,5	0,512	3,3
0,041	5,9	0,277	8,1	0,032	16,4	1,853	4,0	0,431	4,2
0,050	4,9	0,361	6,3	0,052	12,2	2,552	2,5	0,486	4,7
0,078	13,8	0,560	8,8	0,077	10,1	2,564	1,5	0,544	2,4
0,106	11,7	0,715	6,5	0,098	18,8	2,622	5,5	0,484	2,5
0,088	10,8	0,532	4,8	0,081	15,2	2,817	5,0	0,551	1,8
0,106	2,1	0,714	4,0	0,111	3,2	3,627	1,3	0,707	0,1
0,115	8,8	0,850	8,3	0,132	7,6	4,024	2,8	0,764	2,1
0,113	9,9	0,730	6,5	0,112	5,2	3,973	1,6	0,742	3,0
0,103	1,5	0,680	4,2	0,115	10,1	3,988	0,9	0,757	3,9
0,094	14,6	0,601	1,6	0,098	14,6	3,987	1,4	0,743	2,2
0,146	6,7	0,991	3,0	0,168	3,7	4,464	5,5	0,806	1,7
0,140	4,9	0,872	0,8	0,140	8,0	4,735	2,0	0,895	4,8
0,092	3,3	0,666	5,7	0,095	15,4	5,864	3,5	0,862	6,0
0,115	6,3	0,859	6,5	0,129	8,9	5,273	3,3	0,864	4,8

0,125	5,0	0,881	3,4	0,127	1,6	4,778	1,7	0,867	1,1
0,186	7,7	1,169	8,6	0,173	1,7	2,587	1,2	0,491	1,8
0,085	11,2	0,569	1,9	0,086	11,9	1,913	7,2	0,358	4,0
0,019	48,9	0,127	9,1	0,014	27,5	3,151	1,9	0,685	0,4
0,143	5,5	1,053	5,6	0,146	14,5	2,451	3,0	0,470	1,2
0,029	17,7	0,249	8,6	0,035	13,0	2,150	2,7	0,396	1,3
0,024	5,9	0,202	3,4	0,027	2,7	2,535	4,8	0,436	4,7
0,147	1,4	1,129	18,0	0,148	3,7	2,354	3,8	0,499	4,0
0,165	8,1	1,207	3,8	0,168	9,5	3,163	3,2	0,600	1,0
0,155	5,7	1,128	2,9	0,159	1,9	3,635	1,4	0,650	3,4
0,169	4,3	1,167	4,8	0,168	3,8	3,474	0,9	0,661	2,2
0,157	8,9	1,150	2,3	0,156	2,9	3,079	3,2	0,624	1,8
0,126	8,4	0,896	4,0	0,130	4,9	3,357	2,1	0,679	0,4
0,063	5,8	0,465	9,3	0,068	6,7	2,726	3,0	0,529	3,3
0,116	0,6	0,835	1,7	0,119	7,8	2,941	2,7	0,593	0,6
0,099	9,6	0,695	3,4	0,096	3,0	1,829	3,9	0,359	4,6
0,246	3,5	1,785	3,0	0,250	4,6	2,945	10,8	0,573	9,2
0,208	2,5	1,498	0,2	0,212	3,1	3,017	2,4	0,621	3,7

0,115	6,300	0,784	4,399	0,123	7,836	4,471	2,392	0,801	2,975
10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

0,104	7,940	0,703	5,182	0,107	7,072	3,191	3,034	0,619	3,138
35	35	35	35	35	35	35	35	35	35

0,126	9,150	0,901	5,328	0,127	7,247	2,783	3,422	0,543	2,799
17	17	17	17	17	17	17	17	17	17

182 -> 214 W [O2]		208 -> 208 Pb [O2]		232 -> 248 Th [O2]		238 -> 238 U [H2]	
Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD	Conc [ug/g]	Conc. RSD
0,884	5,1	14,267	1,5	0,949	1,5	1,292	7,4
0,890	4,0	14,306	0,2	0,993	3,9	1,444	2,2
0,801	7,4	13,751	1,5	1,566	4,4	1,460	2,2
0,890	0,8	13,724	2,4	1,577	5,0	1,516	3,1
0,739	2,3	64,553	1,2	1,250	6,1	1,245	5,3
0,701	5,1	13,772	0,6	1,772	0,9	2,495	0,4
1,241	1,7	55,519	0,9	4,433	1,0	2,518	1,3
1,044	2,7	10,762	0,9	1,874	5,6	1,898	2,0
0,949	7,2	13,754	0,3	3,238	6,2	2,225	0,5
1,022	5,1	13,173	0,9	3,230	7,8	1,737	3,3
0,951	6,2	14,451	1,0	2,486	2,4	1,368	4,5
0,683	3,9	14,176	0,3	2,415	2,1	1,097	2,6
1,427	2,7	#iVALOR!	1,4	2,975	3,1	1,901	1,6
1,318	1,3	#iVALOR!	0,7	3,213	2,0	1,886	1,3
1,228	2,3	6,361	0,8	2,990	4,4	1,726	4,3
1,175	2,0	9,451	0,6	2,500	4,7	1,708	7,4
0,908	5,6	9,633	0,5	2,651	2,3	1,787	1,5
0,852	2,5	10,352	1,1	3,121	0,5	1,817	1,5
0,840	4,7	10,751	0,5	2,745	2,6	1,718	1,2
0,748	5,6	10,243	0,6	2,850	7,3	2,069	1,5
1,273	4,4	#iVALOR!	0,8	0,836	5,2	1,842	5,6
1,041	5,2	#iVALOR!	0,6	2,975	7,3	1,982	7,8
0,971	5,3	8,203	0,6	2,635	5,2	1,851	1,6
0,944	5,1	9,124	0,7	2,369	7,4	1,849	2,1
0,739	2,0	8,192	1,2	1,368	6,6	1,137	2,7
0,959	4,1	9,625	0,3	2,115	5,0	1,779	4,5
0,937	6,0	-0,306	1,0	2,558	4,9	1,649	2,7
0,936	7,0	8,765	1,1	2,066	5,1	1,588	6,0
1,206	13,2	2,348	0,9	2,641	3,0	1,790	3,5
0,988	5,0	9,242	1,1	2,116	2,9	1,624	3,9
0,553	15,5	9,248	1,4	1,133	3,2	1,038	6,4
0,588	0,3	8,493	1,0	1,397	6,0	1,126	3,2
0,916	2,1	8,383	2,8	1,333	3,5	1,505	3,5
1,146	6,4	8,756	0,7	1,677	6,4	1,582	1,5
1,361	3,7	#iVALOR!	1,8	1,415	5,0	2,093	3,0
1,445	0,8	6,347	1,0	2,370	8,4	1,816	3,6
1,510	0,3	6,794	1,4	2,463	8,2	1,842	3,7
1,524	4,2	6,621	0,7	1,985	4,5	1,921	2,1
1,447	5,0	-21,205	0,4	2,068	2,1	1,748	2,2
1,531	3,4	6,722	1,0	1,783	2,9	1,700	3,8
1,446	7,4	-14,983	0,8	2,967	4,8	2,225	4,0
1,563	0,8	8,400	0,3	3,042	1,4	2,100	4,2
1,468	1,4	6,433	1,0	1,819	2,2	1,932	1,0
1,640	8,6	6,775	0,6	2,882	5,3	2,048	2,0

1,304	2,3	6,028	0,9	2,661	0,4	2,100	2,1
1,163	0,4	#iVALOR!	1,0	2,620	3,8	1,512	3,3
0,594	0,5	9,915	1,4	1,380	2,0	1,040	0,8
0,666	8,1	9,229	0,5	0,207	6,5	0,986	3,2
1,051	6,2	9,491	1,6	2,536	4,6	1,399	1,7
0,303	3,4	8,830	0,3	0,474	8,2	0,750	6,0
0,349	5,1	13,186	1,0	0,299	7,9	0,736	9,7
1,135	4,5	9,262	0,7	2,421	2,8	1,382	4,0
1,658	2,8	6,596	0,8	3,057	3,8	1,556	1,5
1,248	3,9	#iVALOR!	0,4	2,557	4,2	2,192	3,7
1,465	3,3	#iVALOR!	0,4	2,903	5,2	2,253	2,1
1,379	5,7	10,769	1,2	2,450	3,2	1,868	1,3
1,159	5,6	9,928	0,3	2,071	1,7	1,398	1,8
0,701	5,1	10,390	0,7	1,186	3,0	0,971	3,5
0,939	6,2	9,528	0,3	2,053	4,4	1,266	2,1
0,655	3,7	26,726	1,2	1,500	0,6	0,968	1,9
1,237	4,8	10,732	0,2	3,265	3,3	1,389	3,3
1,095	8,9	21,758	0,7	2,716	1,8	1,969	1,1

1,488	3,429	1,793	0,823	2,404	4,009	1,943	2,871
10	10	10	10	10	10	10	10

0,967	4,673	#iVALOR!	0,966	2,213	4,293	1,696	3,231
35	35	30	35	35	35	35	35

0,988	4,602	#iVALOR!	0,739	1,982	3,937	1,390	3,002
17	17	14	17	17	17	17	17