



Universidad de Oviedo

Departamento de Química Física y Analítica

Programa de Doctorado de Química Física y Analítica

DESARROLLO Y APLICACIÓN DE METODOLOGÍAS DE  
MEDIDA DE RELACIONES ISOTÓPICAS EN MUESTRAS  
SÓLIDAS MEDIANTE ABLACIÓN LÁSER ACOPLADA A  
ESPECTROMETRÍA DE MASAS

TESIS DOCTORAL

Aida Reguera Galán

Oviedo, 2015



## RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Desarrollo y aplicación de metodologías de medida de relaciones isotópicas en muestras sólidas mediante ablación láser acoplada a espectrometría de masas	Inglés: Development and application of methodologies for isotope ratio measurement in solid samples by means of laser ablation coupled to mass spectrometry
2.- Autor	
Nombre: AIDA REGUERA GALÁN	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: QUÍMICA FÍSICA Y ANALÍTICA	
Órgano responsable: DEPARTAMENTO QUÍMICA FÍSICA Y ANALÍTICA	

### RESUMEN (en español)

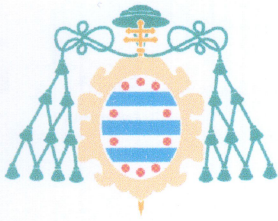
Cuando a principios del siglo pasado se descubrió la naturaleza isotópica del neón era difícil prever el impacto que los isótopos estables podrían llegar a tener durante las siguientes décadas. Actualmente las relaciones isotópicas suponen una potente herramienta útil en una gran variedad de ramas del conocimiento. Por ello es lógico pensar en la necesidad de desarrollar nuevas metodologías de medidas rápidas, fiables, precisas y de fácil aplicación.

Bajo esta premisa, la presente Tesis Doctoral tiene como objetivo el desarrollo de nuevas metodologías para la medida directa de relaciones isotópicas en muestras sólidas mediante ablación láser acoplado a ICP-MS y su aplicación a la resolución de distintos problemas analíticos dentro del campo de los estudios de trazabilidad. A lo largo de este trabajo se consideraron tanto sistemas naturales, donde la medida de relaciones isotópicas fue utilizable para definir el origen de un material (arqueología y denominación de origen de alimentos), como sistemas artificiales donde se utilizaron isótopos enriquecidos para marcar sustancias u organismos. Dentro de este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos parciales:

#### 1. Medida de relaciones isotópicas de molibdeno para el marcaje isotópico de productos y organismos vivos.

El desarrollo de metodologías de medida de relaciones isotópicas de molibdeno en muestras sólidas viene ligado directamente al uso de este elemento como trazador en procesos de marcaje isotópico. El marcaje de productos con doble huella isotópica de molibdeno ha





resultado beneficioso para la codificación de fabas, tintas y documentos, extendiendo así el campo de aplicabilidad de esta metodología de marcaje desarrollada en el grupo de investigación de Isótopos Estables de la Universidad de Oviedo. La detección directa de la marca isotópica de molibdeno en el interior de la faba permitió diferenciar distintos lotes de muestras de manera rápida y eficaz, así como llevar a cabo estudios de asimilación de nutrientes por las diferentes partes de la planta. El marcaje encubierto de tintas y documentos mediante esta doble huella isotópica es una herramienta útil en la lucha antifraude y en estudios forenses.

## **2. Medida de relaciones isotópicas de plomo para el estudio de minerales y de procedencia de materiales arqueológicos.**

Desde finales del siglo XX la evaluación de las relaciones isotópicas de plomo ha ido de la mano de estudios de procedencia de minerales o artefactos arqueológicos. El plomo, presente en concentraciones traza en este tipo de muestras, permite trazar una línea directa entre el objeto en estudio y el lugar de procedencia del mineral con el que está fabricado. En este trabajo se midieron las relaciones isotópicas de plomo mediante ablación láser acoplada a espectrometría de masas de minerales procedentes de la mina La Profunda tales como malaquita, azurita y zeunerita, y también se analizaron 27 artefactos arqueológicos metálicos encontrados en la región oriental de Asturias. A través de ambos estudios se pretendió comprobar las ventajas del análisis directo de sólidos mediante LA-MC-ICP-MS con respecto al análisis en disolución típicamente aceptado.

## **3. Huella isotópica de estroncio como indicador de procedencia**

Cada lecho geológico se caracteriza por tener una huella isotópica de estroncio característica, por lo que la composición isotópica de estroncio presente en minerales, plantas, animales o alimentos permitiría ligar estas muestras con su lugar de origen. El principal interferente del estroncio en el análisis directo de sólidos es el rubidio. En este trabajo se evaluó la regresión lineal múltiple como método matemático para la corrección de la contribución del  $^{87}\text{Rb}$  a la señal del  $^{87}\text{Sr}$ . Esta metodología fue aplicada a minerales pobres en rubidio como el yeso y la calcita, así como a muestras con un alto contenido en rubidio, como son las fabas. En este último caso, la huella isotópica de estroncio permitió certificar el origen geográfico de este alimento.





## RESUMEN (en Inglés)

When the isotopic nature of neon was discovered by the end of last century, it was difficult to foresee the impact the stable isotopes will make within the following decades. Nowadays, isotope ratios are such an important and useful instrument in a great variety of fields. Therefore, the development of more reliable, straightforward and fast methodologies for isotope ratio measurement is of paramount importance.

In this context, the main aim of this Ph.D. Thesis is the development of new methodologies for the direct measurement of isotope ratios in solid samples by means of laser ablation coupled to mass spectrometry, and its application to traceability studies. Not only natural systems, where isotope ratios were useful to define the origin of samples (archaeology and food provenance assurance), but also artificial ones, where enriched stable isotopes were used to code products and organisms. This major target was accomplished in three different ways.

### **1. Molybdenum isotope ratio measurement in products and living organisms tagging**

The development of methodologies for molybdenum isotope ratio measurement in solid samples is directly linked to the use of this element as a tracer in isotopic tagging procedures. The tagging of products by means of a dual-isotope tag of molybdenum was applied to the codification of beans, inks and documents with satisfactory results. The molybdenum tag in beans was directly detected within the embryo inner part, allowing the discrimination of different batches of beans in such a really short period of time. The assimilation of molybdenum by the different parts of the plant was also considered. The covert tagging of inks and documents using molybdenum isotopes is an important instrument for forensic and anti-counterfeiting purposes.

### **2. Lead isotope ratio measurement in minerals and archaeological artefacts provenance studies**

Since the end of the twentieth century the evaluation of lead isotope ratios has been directly linked to provenance studies of minerals and archaeological artefacts, where it is present in a trace concentration level. This work was focused on the measurement of lead isotope ratios by means of laser ablation coupled to mass spectrometry. Malachite, azurite and zeunerite minerals from La Profunda mine and 27 archaeological artefacts found in the eastern region of Asturias were subjected to analysis. Advantages of laser ablation based measurement





methodologies were discussed.

### 3. Strontium isotopic fingerprint as a provenance indicator

Every single bedrock is characterised by a given strontium isotopic fingerprint. This isotopic composition is transferred to minerals, plants, animals and foodstuff. Therefore, this isotopic fingerprint can be used for provenance studies. However, rubidium is the main interference of strontium in solid direct analysis. In this work, multiple linear regression was considered for the mathematical correction of the contribution of  $^{87}\text{Rb}$  to  $^{87}\text{Sr}$ . This methodology was applied to low rubidium-containing minerals such as gypsum and calcite, and to high rubidium-containing samples such as beans. Strontium fingerprint was used for beans provenance assurance.





*No te canses de hacer el bien, porque aquél que da sin esperar nada a cambio, todo lo que siembra, un día lo cosechará en abundancia.*





# Índice de Contenidos

Índice de Contenidos .....	I
Índice de Figuras .....	IX
Índice de Tablas .....	XV
Lista de Abreviaturas .....	XXI
<b>A. Introducción general .....</b>	<b>1</b>
A.1. Variaciones isotópicas en estudios de trazabilidad .....	3
A.1.1. Origen de los isótopos .....	3
A.1.2. Variabilidad isotópica .....	5
A.1.3. Aplicación a estudios de trazabilidad .....	8
A.2. Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).....	12
A.2.1. Trayectoria de los iones a través de un ICP-MS .....	13
A.2.1.1. Sistema de introducción de muestra.....	14
A.2.1.2. Plasma como fuente de iones .....	14
A.2.1.3. Interfase de extracción y sistema de focalización .....	17
A.2.1.4. Analizadores de masas .....	18
A.2.1.5. Detectores de iones.....	22
A.2.2. Calidad de la medida de relaciones isotópicas mediante ICP-MS.....	25
A.2.2.1. Factores que afectan a la exactitud.....	26
A.2.2.2. Factores que afectan a la precisión .....	36
A.3. Ablación láser - ICP-MS como técnica de análisis directo de sólidos.....	41

A.3.1. Principios de la radiación láser .....	41
A.3.2. Ablación láser acoplada a espectrometría de masas (LA-ICP-MS).....	43
A.3.2.1. Conceptos básicos del análisis de sólidos mediante LA-ICP-MS	46
A.3.2.2. LA-ICP-MS para la medida de relaciones isotópicas en muestras sólidas .....	51
<b>B. Objetivos .....</b>	<b>59</b>
<b>C. Experimental .....</b>	<b>63</b>
C.1. Instrumentación .....	65
C.1.1. Espectrómetros utilizados en este trabajo.....	65
C.1.1.1. ICP-MS de tipo cuadrupolo .....	65
C.1.1.2. ICP-MS de doble enfoque multicolector .....	67
C.1.2. Sistema de ablación láser .....	69
C.1.3. Otra instrumentación .....	72
C.2. Materiales y reactivos .....	73
C.3. Procedimientos experimentales.....	76
<b>D. Resultados y Discusión .....</b>	<b>77</b>
Capítulo 1. Medida de relaciones isotópicas de molibdeno para el marcaje isotópico de productos y organismos vivos.....	<b>79</b>
Codificación de productos y organismos vivos.....	81
Uso de los isótopos estables como trazadores .....	85
Metodología de marcaje de productos manufacturados y organismos vivos mediante doble huella isotópica .....	88

Proceder experimental del proceso de marcaje.....	89
Fundamentos matemáticos del proceso de marcaje .....	91
<b>I. Desarrollo de una metodología para la detección de Fabas Asturianas marcadas isotópicamente mediante LA-ICP-MS.....</b>	<b>99</b>
Marcaje de plantas como herramienta de investigación .....	101
Marcaje de Faba Asturiana a través de doble huella isotópica.....	102
Faba Asturiana .....	103
Elección del molibdeno como elemento trazador.....	104
Diseño del experimento.....	105
Resultados previos [164] .....	112
Estudios de asimilación del molibdeno por la planta de faba.....	116
Naturaleza de las muestras.....	116
Tratamiento de muestra para análisis en disolución.....	118
Metodología de medida.....	122
Cálculo de las relaciones isotópicas de molibdeno y corrección de la discriminación de masas .....	124
Resultados.....	125
Detección de la marca de molibdeno en fabas mediante análisis directo por LA-ICP-MS.....	129
Naturaleza de las muestras.....	129
Tratamiento de muestra .....	129
Metodología de medida.....	130
Cálculo de las relaciones isotópicas de molibdeno: corrección del desfase espectral y de la discriminación de masas .....	131
Resultados.....	136

Conclusiones .....	145
--------------------	-----

## **II. Desarrollo de una metodología de marcaje de tintas y detección de la marca mediante LA-ICP-MS..... 147**

Marcaje de documentos a través de tintas: aplicación en la lucha antifraude y estudios forenses.....	149
--	-----

Naturaleza de las matrices en estudio: papel y tinta .....	151
--	-----

Desarrollo de la metodología de marcaje de tintas y documentos mediante doble huella isotópica.....	155
---	-----

Estudio preliminar de la matriz de muestra .....	155
--	-----

Elección del elemento trazador: caracterización y preparación de las mezclas trazadoras.....	159
--	-----

Marcaje de las tintas y comprobación de la marca en disolución mediante ICP-MS .....	163
--	-----

Codificación de documentos a través de las tintas marcadas.....	172
---	-----

Detección de la marca en documentos mediante ICP-MS .....	174
---	-----

Detección de la marca en documentos mediante LA-ICP-MS.....	176
---	-----

Estabilidad de la marca con el tiempo .....	184
---	-----

Aproximación a la codificación de billetes .....	188
--	-----

Conclusiones .....	190
--------------------	-----

## Capítulo 2. Medida de relaciones isotópicas de plomo para el estudio de minerales y de procedencia de materiales arqueológicos ..... **191**

El plomo a lo largo de la historia .....	193
--	-----

Geoquímica de los isótopos del plomo .....	194
--	-----

Estudios de procedencia.....	197
------------------------------	-----

Huella isotópica de plomo como principal trazador de procedencia...	197
---	-----

El análisis de impurezas metálicas como herramienta complementaria en estudios de procedencia .....	199
Huella isotópica de plomo en geocronología y datación .....	201
Papel de la radiactividad en metodologías de datación .....	201
Datación radiactiva Pb-Pb .....	203

**I. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre de la Mina La Profunda mediante LA-MC-ICP-MS..... 207**

La minería ligada a la historia del hombre .....	209
Mina La Profunda.....	210
Muestras en estudio .....	214
Procedimiento experimental .....	217
Tratamiento de muestras .....	217
Metodología de análisis .....	217
Corrección de interferencias, cálculo de las relaciones isotópicas de Pb y corrección de la discriminación de masas .....	221
Resultados.....	223
Perfil de las señales.....	223
Existencia de dos componentes en la huella isotópica de plomo .....	225
Corrección de la discriminación de masas a través del talio .....	231
Heterogeneidad de las muestras .....	233
Estudios de procedencia y datación .....	239
Conclusiones .....	243



<b>II. Estudios de procedencia de artefactos arqueológicos de cobre del oriente de Asturias.....</b>	<b>245</b>
Muestras en estudio: origen y tipología .....	247
Tratamiento de muestra.....	257
Análisis de impurezas metálicas .....	262
Evaluación de la huella isotópica de plomo .....	275
Análisis en disolución .....	275
Análisis por LA-MC-ICP-MS .....	284
Elucidación de la procedencia de las 27 muestras arqueológicas.....	293
Conclusiones .....	297
<b>Capítulo 3. Huella isotópica de estroncio como indicador de procedencia .....</b>	<b>299</b>
Estroncio .....	301
Variabilidad natural del estroncio como sello de origen.....	302
Problemática Sr-Rb en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en análisis directo por LA-ICP-MS.....	306
<b>I. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio con corrección de la discriminación de masas vía rubidio mediante LA-MC-ICP-MS</b>	<b>309</b>
Fundamento de la metodología de medida propuesta.....	310
Origen de las muestras .....	314
Procedimiento experimental.....	315
Resultados-observaciones .....	317
Metodología post-LA frente a LA-ICP-MS convencional.....	317
Ecuación de Russell frente al ajuste exponencial .....	319
Cálculo del factor de discriminación de masas.....	320

Conclusiones .....	322
<b>II. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio en Faba Asturiana mediante LA-MC-ICP-MS .....</b>	<b>323</b>
El impacto de la venta ilícita de Faba Asturiana .....	324
Huella isotópica de estroncio como sello de origen.....	326
Fundamentos de la metodología propuesta .....	328
Origen de las muestras .....	330
Metodología de medida .....	334
Resultados.....	336
Perfil de ablación de las muestras .....	336
Corrección de la discriminación de masas y estudio de los residuales	337
Discriminación de fabas asturianas y alubias extranjeras .....	341
Variabilidad de las fabas asturianas.....	343
Posibles aplicaciones.....	349
Conclusiones .....	352
<b>E. Conclusiones.....</b>	<b>353</b>
<b>F. Anexos .....</b>	<b>359</b>
F.1. Anexo I .....	361
F.2. Anexo II .....	389
<b>G. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>411</b>



## Índice de Figuras

Figura A.1. Isótopos estables del hidrógeno (hidrógeno, deuterio) y radiactivos (tritio).....	4
Figura A.2. Aplicaciones de las variaciones isotópicas en el presente trabajo. ....	11
Figura A.3. Diagrama de bloques de las partes de un espectrómetro de masas.....	13
Figura A.4. Esquema de la fuente de ionización ICP. ....	15
Figura A.5. Primera energía de ionización de los elementos frente a su número atómico.....	16
Figura A.6. Esquema de un ICP-MS equipado con cuadrupolo.....	19
Figura A.7. Esquema de un ICP-MS multicolector modelo Neptune Plus.....	21
Figura A.8. Esquema de un multiplicador de electrones secundarios (SEM).....	23
Figura A.9. Esquema del funcionamiento de una copa de Faraday.....	24
Figura A.10. Factores que afectan a la precisión y exactitud de las relaciones isotópicas. ....	25
Figura A.11. Tipos de interferencias espectrales y metodologías de corrección.....	28
Figura A.12. Enriquecimiento del haz en iones pesados.....	33
Figura A.13. Esquema de un sistema láser genérico.....	42
Figura A.14. Esquema de un sistema LA-ICP-MS genérico [110]. ....	44
Figura A.15. Interacción láser-materia en función de la duración del pulso: (a) pulso de nanosegundos y (b) pulso de femtosegundos [118].....	49
Figura C.1. Esquema del equipo ICP-MS de cuadrupolo Agilent 7500 ce. ....	66
Figura C.2. Esquema del equipo ICP-MS multicolector Neptune Plus. ....	67
Figura C.3. Esquema del sistema láser empleado en este trabajo [135]. ....	69
Figura D.1. Esquema de las diversas metodologías de marcaje de plantas y productos manufacturados. ....	82
Figura D.2. Ejemplos de procedimientos obvios de marcaje de billetes. ....	83
Figura D.3. Procedimiento de marcaje con isótopos estables enriquecidos e IPD.....	90
Figura D.4. Hoja de cálculo de fracciones molares mediante la función ESTIMACIÓN LINEAL de Excel. ....	97
Figura D.5. Distribución del terreno de cultivo de faba asturiana [164].....	108
Figura D.6. Imágenes de las plantas a lo largo de todo el proceso [164]. ....	110

Figura D.7. Esquema del diseño del experimento a lo largo de los cinco meses.....	111
Figura D.8. Grupo A de muestras: vainas, fabas y hojas verdes. ....	117
Figura D.9. Grupo B de muestras: vainas secas, tierra, fabas maduras y raíz.....	118
Figura D.10. Esquema de separación de molibdeno de la matriz de las fabas. ....	122
Figura D.11. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las muestras del Grupo A. ....	125
Figura D.12. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las muestras del Grupo B.....	126
Figura D.13. Asimilación del molibdeno en la planta de faba asturiana.....	128
Figura D.14. Modo de adquisición de datos a tiempo resuelto en un detector secuencial. ....	132
Figura D.15. Corrección matemática del desfase espectral.....	133
Figura D.16. Representación gráfica de la correlación entre las señales M1 y M2 antes de la corrección matemática del desfase espectral.....	134
Figura D.17. Representación gráfica de la correlación entre las señales M1 y M2 tras la corrección matemática del desfase espectral.....	134
Figura D.18. Mapeo de la concentración de molibdeno en una faba Xuacón no marcada mediante LA-ICP-MS. ....	136
Figura D.19. Aspecto del embrión de una faba antes y después de su análisis por LA-ICP-MS. ....	137
Figura D.20. Perfil en profundidad del molibdeno en las fabas.....	138
Figura D.21. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 6 semanas tras su siembra. ....	139
Figura D.22. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 10 semanas tras su siembra. ....	141
Figura D.23. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 14 semanas tras su siembra. ....	142
Figura D.24. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las fabas marcadas en función de la semana de riego. ....	144
Figura D.25. Imagen de alta resolución de una faba tras su análisis mediante LA-ICP-MS. ....	146
Figura D.26. Típicos productos susceptibles de falsificación. ....	149
Figura D.27. Falsificadores de obras de arte en la ciudad china de Dafen (izquierda) y material incautado al falsificador de vinos indonesio Rudy Kurniawan (derecha). ....	150
Figura D.28. Títulos universitarios falsificados (izquierda) y firma falsificada (derecha).....	150
Figura D.29. Imágenes de las tintas a marcar. ....	154
Figura D.30. Espectro de masas del análisis multielemental de tinta de sello. ....	157
Figura D.31. Espectro de masas multielemental de la tinta de sello ( $m/z=90-240$ ). ....	157
Figura D.32. Espectro de masas multielemental del papel de folio ( $m/z=79-240$ ). ....	158



Figura D.33. Perfil isotópico de molibdeno natural y el encontrado en las matrices de tinta.	161
Figura D.34. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en la tinta de sello (a) y la tinta de bolígrafo (b) tras extracción ácida y análisis por ICP-MS.	171
Figura D.35. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en el papel tras lixiviación ácida y análisis por ICP-MS: (a) tinta de sello y (b) tinta de bolígrafo.	175
Figura D.36. Fotografía de la línea de ablación a lo largo del papel estampado con sello rojo marcado con la mezcla trazadora B ( $0.9342, 40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).	177
Figura D.37. Perfil de la línea de ablación a lo largo del papel estampado con sello rojo marcado con la mezcla trazadora B ( $0.9342, 40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) en función del tiempo. Señales de los isótopos de molibdeno representadas por círculos y de circonio por línea discontinua.	178
Figura D.38. Determinación de las relaciones isotópicas para el perfil de ablación láser de la Figura D.37.	179
Figura D.39. Líneas de ablación sobre los trazos de la tinta de sello (izquierda) y de bolígrafo (derecha).	182
Figura D.40. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en el papel tras análisis por LA-ICP-MS: (a) tinta de sello y (b) tinta de bolígrafo.	183
Figura D.41. Muestra (iii) tras su análisis por LA-ICP-MS.	187
Figura D.42. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) en el billete tras su análisis.	188
Figura D.43. Esquema del proceso de marcaje de tintas y codificación de documentos.	190
Figura D.44. La composición isotópica del plomo se mantiene inalterada desde el yacimiento mineral hasta el artefacto arqueológico.	198
Figura D.45. Series de desintegración radiactiva: serie U-Ra, actinio y torio [235].	205
Figura D.46. Entorno de la mina La Profunda, cavidad de entrada y recolección de muestras.	210
Figura D.47. Localización de la mina La Profunda respecto de las minas asturianas de El Aramo y El Milagro [246].	211
Figura D.48. Mineral de zeunerita de la mina La Profunda [252].	213
Figura D.49. Muestras de malaquita (izquierda) y azurita (derecha) en estudio procedentes de la mina La Profunda.	215
Figura D.50. Muestra de zeunerita en estudio procedente de la mina La Profunda.	216
Figura D.51. Acoplamiento sistema de ablación -cámara de nebulización-MC-ICP-MS mediante pieza en Y.	218
Figura D.52. Perfil de ablación del punto M1-Z1-84 (malaquita).	223
Figura D.53. Perfil de ablación del spot M1-Z1-66 (malaquita).	224
Figura D.54. Perfil del spot M1-Z1-84 tras eliminar los primeros 20 puntos.	225

Figura D.55. Representación $^{207}\text{Pb}$ frente a $^{206}\text{Pb}$ del spot M1-Z1-84. ....	226
Figura D.56. Representación $^{208}\text{Pb}$ frente a $^{206}\text{Pb}$ del spot M1-Z1-84. ....	226
Figura D.57. Residuales de 207 y 208 para el spot M1-Z1-84. ....	227
Figura D.58. Perfil del spot M1-Z1-66 tras eliminar los primeros 20 puntos. ....	228
Figura D.59. Representación $^{207}\text{Pb}$ frente a $^{206}\text{Pb}$ del spot M1-Z1-66. ....	229
Figura D.60. Representación $^{208}\text{Pb}$ frente a $^{206}\text{Pb}$ del spot M1-Z1-66. ....	229
Figura D.61. Residuales de 207 y 208 para el spot M1-Z1-66. ....	231
Figura D.62. Perfil de los errores residuales en muestras de malaquita y azurita. ....	232
Figura D.63. Perfil de los errores residuales en la muestra de zeunerita. ....	233
Figura D.64. Malaquita M1 embebida en resina epoxi tras su análisis por SEM. ....	234
Figura D.65. Zonas de ablación Z1 y Z2 de la malaquita M1. ....	234
Figura D.66. Distribución espacial de Pb, Cu, Fe y U en la malaquita M1. ....	235
Figura D.67. Distribución de Pb, Fe, Cu y U mediante SEM y distribución de la huella isotópica de plomo en la Zona 1 mediante LA-MC-ICP-MS. ....	236
Figura D.68. Distribución de Pb, Fe, Cu y U mediante SEM y distribución de la huella isotópica de plomo en la Zona 2 mediante LA-MC-ICP-MS. ....	237
Figura D.69. Representación $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ para todos los puntos ablacionados en los tres minerales. ....	239
Figura D.70. Representación $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ en función de cada tipo de mineral. ....	240
Figura D.71. Representación $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ de las malaquitas tras análisis en disolución y por LA-MC-ICP-MS. ....	241
Figura D.72. Representación $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ en muestras de malaquita, zeunerita y azurita obtenidas tras análisis en disolución [246] y mediante LA-MC-ICP-MS. ....	242
Figura D.73. Sierra de los Currilliles en las proximidades del municipio de Cármenes (León). ....	243
Figura D.74. Localización de los depósitos asturianos de Asiego, Gamonedo, Cueva del Cuélebre y Gueraño [255]. ....	248
Figura D.75. Elementos encontrados en el depósito de Gamonedo (Onís). ....	250
Figura D.76. Hachas encontradas en el depósito de Asiego (Cabrales). ....	252
Figura D.77. Piezas más representativas de los depósitos asturianos de Gamonedo, Asiego, Cueva del Cuélebre y Gueraño [258]. ....	254
Figura D.78. Imágenes de parte de las muestras antes de su tratamiento. ....	255
Figura D.79. Esquirlas de la muestra AS-9 depositadas sobre el portamuestras. ....	260
Figura D.80. Esquema de la preparación de muestras arqueológicas. ....	261
Figura D.81. Correlación entre los contenidos de Ag y Au en los artefactos arqueológicos. ...	270

Figura D.82. Correlación entre los contenidos de As y Ni en los artefactos arqueológicos. ....	270
Figura D.83. Correlación entre los contenidos de Sb y Bi en los artefactos arqueológicos.....	271
Figura D.84. Correlación entre los contenidos de U y Fe en los artefactos arqueológicos. ....	272
Figura D.85. Correlación entre los contenidos de Pb y U en los artefactos arqueológicos. ....	273
Figura D.86. Correlación entre los contenidos de Co y U en los artefactos arqueológicos. ....	274
Figura D.87. Correlación entre los contenidos de Pb y Fe en los artefactos arqueológicos.....	274
Figura D.88. Residuales de 207 y 208 durante la ablación de una esquirla tipo. ....	290
Figura D.89. Residuales de Tl durante el proceso de análisis de una esquirla.....	291
Figura D.90. Aspecto de las esquirlas de la muestra AS-11 tras el análisis por LA-MC-ICP-MS.	292
Figura D.91. Representación de las relaciones isotópicas $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ de las minas de El Aramo, El Milagro y La Profunda. ....	294
Figura D.92. Representación de las relaciones isotópicas $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ de los artefactos arqueológicos de Asiego, Gamonedo, Corao y Gueraño. ....	295
Figura D.93. Representación de las relaciones isotópicas $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ frente a $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ de los 27 artefactos arqueológicos y los tres posibles yacimientos de origen.....	296
Figura D.94. Restauración de una pieza de cobre del yacimiento de La Bastida [261]. ....	297
Figura D.95. Movilidad del estroncio en el medioambiente. ....	304
Figura D.96. Perfil de la “ablación líquida” seguido del pulso de rubidio en disolución.....	311
Figura D.97. Representación gráfica del cálculo de las relaciones isotópicas mediante regresión lineal múltiple.....	312
Figura D.98. Muestras de calcita (izquierda) y <i>lapis specularis</i> (derecha) en estudio. ....	314
Figura D.99. Introducción de muestra sólida y disolución de rubidio mediante pieza en Y. ....	315
Figura D.100. Perfiles de ablación de la calcita y del yeso junto con el pulso de Rb nebulizado. ....	317
Figura D.101. Escena figurada sobre los trabajos mineros de interior en la ejecución de una galería en las minas romanas de lapis specularis [291]. ....	322
Figura D.102. Faba Asturiana con Indicación Geográfica Protegida lista para su comercialización bajo diferentes formatos. ....	325
Figura D.103. Causas de la variabilidad isotópica natural de N, C, H, O, Sr, Pb y S [301]. ....	327
Figura D.104. Distribución espacial de estroncio y rubidio en las fabas.....	329
Figura D.105. Concejos de procedencia de las fabas asturianas analizadas.....	333
Figura D.106. Zonas de ablación de la superficie de la faba. ....	334
Figura D.107. Perfiles de ablación de las alubias analizadas.....	336
Figura D.108. Distribución aleatoria de los errores residuales durante una ablación.....	338

Figura D.109. Distribución aleatoria de los errores residuales durante el análisis del ejemplar 5.1.7 de Faba Asturiana (Vegadeo). .....	339
Figura D.110. Perfil de ablación de la muestra de Faba Asturiana 5.1.7. ....	340
Figura D.111. Discriminación de las alubias sudamericanas y de las fabas asturianas en función de la huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y la relación interelemental Sr/Rb. ....	341
Figura D.112. Discriminación de las alubias sudamericanas y centroeuropeas en función de la huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y la relación interelemental Sr/Rb. ....	343
Figura D.113. Representación de todas las fabas asturianas analizadas en función de su huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y su relación interelemental Sr/Rb. ....	344
Figura D.114. Huella isotópica de estroncio en las fabas de Manzaneda (Gozón). ....	346
Figura D.115. Huella isotópica de estroncio en las fabas de Coaña (Coaña). ....	347
Figura D.116. Huella isotópica de estroncio en las fabas de La Coruja (Abres, Vegadeo). ....	348
Figura D.117. Legumbres españolas con etiqueta de IGP y DOP. ....	349
Figura D.118. Muestras de lenteja (izquierda) y garbanzo (derecha) tras análisis mediante LA-MC-ICP-MS. ....	350
Figura D.119. Perfil de ablación de una muestra de lenteja. ....	350
Figura D.120. Perfil de ablación de una muestra de garbanzo. ....	351
Figura D.121. Ilustración de <i>Phaseolus vulgaris</i> por Matthioli [314]. ....	352

## Índice de Tablas

Tabla A.1. Interferencias espectrales en la determinación de Sr, Mo y Pb por ICP-MS. ....	32
Tabla A.2. Ecuaciones de corrección de la discriminación de masas. ....	34
Tabla A.3. Precisiones típicas de cada tipo de analizador de masas acoplado a una fuente ICP (se incluye el TIMS para comparación). ....	37
Tabla A.4. Comparación de las técnicas ICP-MS y LA-ICP-MS [113]. ....	45
Tabla A.5. Parámetros relevantes y sus efectos en el análisis por LA-ICP-MS [110]. ....	47
Tabla C.1. Comparativa de los equipos ICP-MS utilizados a lo largo de este trabajo. ....	68
Tabla C.2. Parámetros de la optimización diaria del acoplamiento ablación láser- ICP-MS cuadrupolo. ....	70
Tabla C.3. Parámetros de la optimización diaria del acoplamiento ablación láser-ICP-MS multicolector. ....	71
Tabla D.1. Composición isotópica del molibdeno natural y de las disoluciones enriquecidas para el marcaje de faba asturiana. ....	106
Tabla D.2. Relación molar de la mezcla trazadora utilizada para el marcaje de fabas. ....	106
Tabla D.3. Esquema temporal del experimento de marcaje de faba asturiana. ....	109
Tabla D.4. Cantidad de fabas recogidas por planta [164]. ....	109
Tabla D.5. Relación de fracciones molares $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ en las fabas “LOW” regadas con 0.1 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164]. ....	113
Tabla D.6. Relación de fracciones molares $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ en las fabas “MEDIUM” regadas con 1 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164]. ....	114
Tabla D.7. Relación de fracciones molares $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ en las fabas “HIGH” regadas con 10 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164]. ....	115
Tabla D.8. Parámetros experimentales utilizados en la medida de relaciones isotópicas de molibdeno en el equipo multicolector Neptune Plus. ....	123
Tabla D.9. Parámetros experimentales utilizados en la medida de relaciones isotópicas de molibdeno en fabas mediante LA-ICP-MS. ....	130
Tabla D.10. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 6 semanas de la siembra. ....	140

Tabla D.11. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 10 semanas de la siembra.....	141
Tabla D.12. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 14 semanas de la siembra.....	143
Tabla D.13. Tipos de bolígrafos según su tinta.....	153
Tabla D.14. Parámetros experimentales utilizados en los análisis por nebulización convencional ICP-MS y ablación láser LA-ICP-MS en el equipo de tipo cuadrupolo Agilent 7500ce.....	156
Tabla D.15. Composición isotópica del molibdeno natural y de las disoluciones enriquecidas para el marcaje de tintas.....	162
Tabla D.16. Relación molar de las mezclas trazadoras A, B y C.....	162
Tabla D.17. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en las tintas codificadas con la mezcla de trazadores B ( $N_{\text{Mo}97}:N_{\text{Mo}95} = 0.9342$ ) en concentraciones de 1 y 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ tras su tratamiento por digestión microondas y extracción ácida por ultrasonidos.....	166
Tabla D.18. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en las tintas codificadas con la mezcla de trazadores B ( $N_{\text{Mo}97}:N_{\text{Mo}95} = 0.9342$ ) en concentraciones 100 y 500 ppb tras la extracción ácida por ultrasonidos.....	168
Tabla D.19. Comparación de las relaciones isotópicas de molibdeno y sus incertidumbres para los diferentes métodos de adquisición y tratamiento de datos evaluados durante el análisis mediante LA-ICP-MS.....	181
Tabla D.20. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en las muestras de papel escrito con bolígrafo azul (B, 0.9342) tras sendos análisis mediante LA-ICP-MS.....	186
Tabla D.21. Abundancias naturales de los isótopos de plomo [4].....	194
Tabla D.22. Isótopos estables de plomo con origen radiogénico.....	195
Tabla D.23. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre mediante LA-MC-ICP-MS.....	219
Tabla D.24. Listado de muestras y cantidad de las mismas sometida a análisis por disolución ácida.....	256
Tabla D.25. Parámetros experimentales del análisis multielemental realizado en el equipo de cuadrupolo Agilent 7500ce.....	263
Tabla D.26. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Asiego.....	264
Tabla D.27. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Gamonedo.....	265
Tabla D.28. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Gamonedo (continuación).....	266
Tabla D.29. Muestra de la Cueva del Cuélebre y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes la misma.....	267

Tabla D.30. Muestra del Depósito de Gueraño y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes la misma. ....	267
Tabla D.31. Parámetros instrumentales para la medida de relaciones isotópicas de plomo en el equipo MC-ICP-MS mediante nebulización convencional. ....	276
Tabla D.32. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Asiego. ....	280
Tabla D.33. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Gamonedo. ....	281
Tabla D.34. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Gamonedo (continuación). ....	282
Tabla D.35. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en la muestra de la Cueva del Cuélebre. ....	283
Tabla D.36. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en la muestra del depósito de Gueraño. ....	283
Tabla D.37. Parámetros instrumentales para la medida de relaciones isotópicas de plomo en el equipo MC-ICP-MS mediante ablación láser. ....	285
Tabla D.38. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS. ....	287
Tabla D.39. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS. ....	288
Tabla D.40. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS. ....	289
Tabla D.41. Abundancias naturales de los isótopos de estroncio [4]. ....	302
Tabla D.42. Valores de $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en materiales geológicos, medioambientales y de referencia [267], [268]. ....	303
Tabla D.43. Relación $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ obtenida tras corrección de la discriminación de masas por referencia a la relación $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ y $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ . ....	313
Tabla D.44. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras minerales mediante LA-ICP-MS. ....	316
Tabla D.45. Valores de la relación isotópica de estroncio $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en muestras de calcita y yeso tras LA-ICP-MS convencional y LA-ICP-MS con un pulso de Rb. ....	318
Tabla D.46. Valores de la relación isotópica de estroncio $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en muestras de calcita y yeso corregida mediante la ecuación de Russell y el ajuste exponencial y obtenida mediante LA-ICP-MS con un pulso de Rb. ....	319

Tabla D.47. Valores de la relación isotópica de estroncio $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ en muestras de calcita y yeso obtenida mediante LA-ICP-MS con un pulso de Rb y corregida mediante la ecuación de Russell a través de $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ y $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ como referencias. ....	321
Tabla D.48. Listado de muestras de Faba Asturiana (IGP) analizadas en este estudio.....	331
Tabla D.49. Listado de muestras de Faba Asturiana (IGP) analizadas en este estudio (continuación). ....	332
Tabla D.50. Listado de muestras procedentes de Sudamérica suministradas por la Consejería de Medio Ambiente del Principado de Asturias. ....	333
Tabla D.51. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en Faba Asturiana mediante LA-MC-ICP-MS.....	335
Tabla F.1. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	362
Tabla F.2. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	363
Tabla F.3. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	364
Tabla F.4. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	365
Tabla F.5. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	366
Tabla F.6. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	367
Tabla F.7. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).....	368
Tabla F.8. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	369
Tabla F.9. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	370
Tabla F.10. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	371
Tabla F.11. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	372
Tabla F.12. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	373



Tabla F.13. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	374
Tabla F.14. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).....	375
Tabla F.15. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	376
Tabla F.16. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	377
Tabla F.17. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	378
Tabla F.18. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	379
Tabla F.19. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	380
Tabla F.20. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	381
Tabla F.21. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	382
Tabla F.22. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	383
Tabla F.23. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.....	384
Tabla F.24. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de zeunerita. ....	385
Tabla F.25. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de zeunerita. ....	386
Tabla F.26. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de azurita.....	387
Tabla F.27. Relaciones isotópicas de plomo $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ y $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ (tipos A y B) en la muestra de azurita.....	388



## Lista de Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BOE	Boletín Oficial del Estado
CE	Electroforesis capilar (del inglés “Capillary Electrophoresis”)
DC	Corriente continua (del inglés “Direct Current”)
DOP	Denominación de Origen Protegida
ESA	Sector electrostático (del inglés “Electrostatic Analyzer”)
FT-ICR	Resonancia ion-ciclotrón con transformada de Fourier (del inglés “Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance”)
HDPE	Polietileno de alta densidad (del inglés “High Density PolyEthylene”)
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia (del inglés “High Performance Liquid Chromatography”)
ICP-MS	Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (del inglés “Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry”)
ICP-QQQ-MS	Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo de triple cuadrupolo
IDMS	Espectrometría de masas por dilución isotópica (del inglés “Isotope Dilution Mass Spectrometry”)
IGP	Indicación Geográfica Protegida
IPD	Deconvolución de Perfiles Isotópicos (del inglés “Isotope Pattern Deconvolution”)
IR	Radiación infrarroja (del inglés “Infrared Radiation”)

IRMS	Espectrometría de masas de relaciones isotópicas (del inglés “Isotope Ratio Mass Spectrometry”)
IUPAC	Del inglés “International Union of Pure and Applied Chemistry”
MC-ICP-MS	ICP-MS con analizador de masas de doble enfoque y detección múltiple (del inglés “Multi Collector-ICP-MS”)
MS	Espectrometría de Masas (del inglés “Mass Spectrometry”)
m/z	Relación masa/carga
Nd:YAG	Cristal de granate de itrio y aluminio dopado con granate (del inglés “neodymium-doped yttrium aluminium garnet”)
OVD	Dispositivo ópticamente variable (del inglés “Optically Variable Device”)
OVI	Tinta ópticamente variable (del inglés “Optically Variable Ink”)
PFA	Perfluoroalcoxi
PP	Polipropileno
PTFE	Politetrafluoroetileno
PVDF	Polifluoruro de vinilideno
RF	Radiofrecuencias (del inglés “Radio Frequency”)
RMN	Resonancia magnética nuclear
rps	Revoluciones por segundo
RSD	Desviación estándar relativa (del inglés “Relative Standard Deviation”)
SIGPAC	Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas
SEM	Multiplicador de electrones secundarios (del inglés “Secondary Electron Multiplier”)

TIMS	Espectrometría de masas con fuente de ionización térmica (del inglés "Thermal Ionization Mass Spectrometry")
TOF	Analizador de tiempo de vuelo (del inglés "Time of Flight")
UV	Radiación ultravioleta

---

Seguidamente se recoge la notación utilizada durante el desarrollo de metodologías de marcaje con isótopos enriquecidos de molibdeno.

Mo95	Trazador de Mo enriquecido isotópicamente en $^{95}\text{Mo}$
Mo97	Trazador de Mo enriquecido isotópicamente en $^{97}\text{Mo}$
Mo-nat	Mo de abundancia natural
$N_{\text{Mo95}}$	Número de moles del trazador enriquecido isotópicamente en $^{95}\text{Mo}$
$N_{\text{Mo97}}$	Número de moles del trazador enriquecido isotópicamente en $^{97}\text{Mo}$
$N_{\text{Mo97}}/N_{\text{Mo95}}$	Relación de fracciones molares en la mezcla de trazadores puros
$N_{\text{Mo-nat}}$	Número de moles de Mo natural
$N_m$	Número total de moles de Mo en la muestra (desconocido)
$A_m^i$	Abundancia isotópica del isótopo i en la muestra (medida)
$A_{\text{Mo-nat}}^i$	Abundancia isotópica del isótopo i en el Mo natural (tabulada) ( $\sum A_{\text{Mo-nat}}^i = 1$ )
$A_{\text{Mo95}}^i$	Abundancia isotópica del isótopo i en el Mo natural (tabulada) ( $\sum A_{\text{Mo95}}^i = 1$ )
$A_{\text{Mo97}}^i$	Abundancia isotópica del isótopo i en el Mo natural (tabulada) ( $\sum A_{\text{Mo97}}^i = 1$ )
$^{97}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$	Relación isotópica
$X_{\text{Mo95}}$	Fracción molar del trazador de Mo95 en la muestra ( $N_{\text{Mo95}}/N_m$ )
$X_{\text{Mo97}}$	Fracción molar del trazador de Mo97 en la muestra ( $N_{\text{Mo97}}/N_m$ )
$X_{\text{Mo97}}/X_{\text{Mo95}}$	Relación de fracciones molares en la muestra (igual a $N_{\text{Mo97}}/N_{\text{Mo95}}$ e independiente del número de masas medidas)
$X_{\text{Mo-nat}}$	Fracción molar de Mo natural en la muestra ( $N_{\text{Mo-nat}}/N_m$ )
$X_{\text{Mo-nat}} \text{ norm.}$	Fracción molar de Mo natural en la muestra dividida entre la fracción molar de ( $N_{\text{Mo-nat}}/N_m$ )

## A. Introducción general





## A.1. Variaciones isotópicas en estudios de trazabilidad

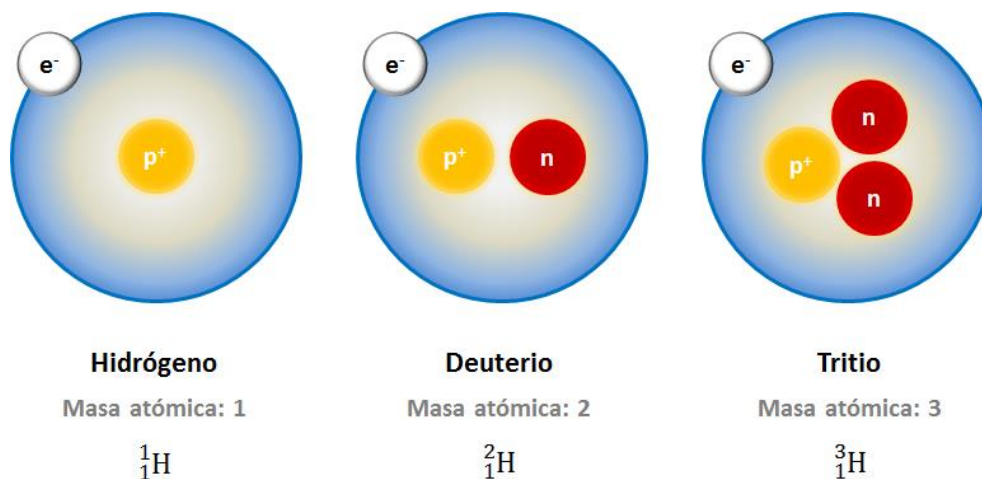
### A.1.1. Origen de los isótopos

Los años comprendidos entre finales de siglo XIX y principios del siglo XX supusieron un punto de inflexión en el campo de la física nuclear, tanto por el desarrollo de las nuevas teorías propuestas por J.J. Thomson y E. Rutherford, como por los avances alcanzados en las técnicas analíticas [1], lo que evidenció una vez más que los avances de la ciencia y de la técnica siempre suelen transcurrir estrechamente unidos.

El concepto de “isótopo” era por aquel entonces desconocido. De hecho, cuando E. Rutherford y F. Soddy en 1910 demostraron que el plomo obtenido por decaimiento de uranio y torio difería en su masa atómica, no sopesaron la posible existencia de varias entidades diferentes de plomo, sino que consideraron este fenómeno como una peculiaridad de los procesos de decaimiento de los materiales radiactivos. La duda en la existencia de estas entidades siguió latente hasta 1913. Entonces, los estudios llevados a cabo por el científico británico J.J. Thomson con átomos de neón en su “espectrógrafo de rayo positivo”, confirmaron la existencia de los isótopos: junto a la fina línea generada por la masa 20 apareció otra línea inesperada a la masa 22, corroborando así la naturaleza bi-isotópica del neón [2].

El término elegido para designar a estas nuevas entidades fue el de “isótopo”, proveniente del griego “isos” (mismo) y “tópos” (lugar), “en el mismo lugar”, y que designa a átomos de un mismo elemento que poseen el mismo número de protones pero distinto de neutrones.

El número de protones en el núcleo, también conocido como número atómico ( $Z$ ), es la seña de identidad de cada elemento y el que le posiciona en una zona determinada en la tabla periódica. De esta manera, todo átomo de hidrógeno tiene siempre un protón (Figura A.1), mientras que por ejemplo, todo átomo de plomo siempre posee 82 protones. Además, dado que las cargas positivas del núcleo se equilibran con las negativas de los electrones de la corteza, el átomo es eléctricamente neutro. Por tanto,  $Z$  también denota el número de electrones de la corteza de un elemento y por tanto sus propiedades químicas. Sin embargo, los isótopos de un mismo elemento difieren ligeramente en sus propiedades físicas, lo que deriva de su distinta masa atómica ( $A$ ), calculada conjuntamente del número de protones y neutrones de su núcleo. De hecho, esta diferencia en sus masas hizo posible su separación y descubrimiento [3].



**Figura A.1. Isótopos estables del hidrógeno (hidrógeno, deuterio) y radiactivos (tritio).**

Algunos elementos son monoisotópicos, como el sodio, el oro o el bismuto, mientras que otros como el estaño poseen hasta 10 isótopos estables [4]. Cada isótopo se representa con el símbolo del elemento al que pertenece colocando a su izquierda como subíndice su número atómico y como superíndice su número másico, aunque los isótopos más antiguos siguen siendo conocidos por sus nombres propios (Figura A.1).

El origen de los isótopos naturales está en las estrellas. La formación de los isótopos es debida a procesos nucleares que han estado sucediendo en las estrellas a lo largo de la historia del universo, y que de manera colectiva se denominan nucleosíntesis. Los niveles de energía implicados en estas reacciones nucleares son tan grandes (MeV o GeV) que solamente las estrellas poseen ambientes suficientemente energéticos como para la formación de nuevas especies químicas a tan gran escala [5]. No obstante, a medida que el conocimiento de la naturaleza del átomo avanza, los investigadores diseñan experimentos cada vez más sofisticados que permiten la síntesis de isótopos artificiales. Estos isótopos se producen por bombardeo de partículas subatómicas en laboratorios y centrales nucleares [6], y suelen presentar una vida corta debido a su alta radiactividad e inestabilidad.

### A.1.2. Variabilidad isotópica

De manera general se puede decir que la mayoría de los elementos presentan una composición isotópica invariante en la naturaleza, fruto de la mezcla de la mayor parte de los núclidos antes de la formación del sistema solar hace aproximadamente 4600 millones de años [7]. Sin embargo, algunos elementos presentan variaciones significativas en su composición isotópica debido a efectos como (i) el fraccionamiento isotópico; (ii) los procesos de decaimiento radiactivo de radionúclidos naturales de vida larga; (iii) la acción humana; (iv) las interacciones de rayos cósmicos con la materia terrestre o (v) la presencia de materiales extraterrestres.

El **fraccionamiento isotópico** es un fenómeno por el cual la abundancia relativa de los isótopos estables de un elemento cambia debido al diferente grado de participación de éstos en procesos físicos, químicos o biológicos, debido a la diferencia de masa que hay entre ellos. Este fenómeno es más pronunciado en los **elementos ligeros**, en los

que la diferencia de masa relativa entre los isótopos es mayor que en los elementos pesados [8]. Las variaciones isotópicas naturales de hidrógeno [9], carbono [10] oxígeno [11], nitrógeno [12] y azufre [13] son medidas habitualmente en equipos multicolectores para estudiar procesos naturales, aunque también hay metales y metaloides como el litio [14] y el boro [15] que presentan variaciones isotópicas significativas. Generalmente siempre se ha considerado que los elementos pesados no sufren un fraccionamiento isotópico marcado debido a la sutil diferencia en masa de sus isótopos. Sin embargo, gracias al continuo desarrollo de herramientas analíticas potentes, se ha demostrado recientemente que todos los elementos tienen tendencia a sufrir este fenómeno, incluso el elemento más pesado en la naturaleza: el uranio [16].

Por otra parte, el **decaimiento radiactivo de radionúclidos naturales de vida larga** como fuente de variabilidad isotópica se da en **elementos pesados** con elevado número atómico ( $Z > 80$ ), aunque también se presenta en casos aislados como el del potasio con  $Z=19$  [17]. Cuando un isótopo radiactivo se desintegra (isótopo padre) pierde poco a poco su masa decayendo hasta un núcleo denominado radiogénico, o isótopo hijo, cuya abundancia isotópica natural se ve alterada con el tiempo. La producción adicional de este núcleo radiogénico depende de la concentración relativa de los isótopos padre e hijo, y del tiempo que éstos han permanecido juntos en el material, asumiendo que se trata de un sistema cerrado. La extensión con la que se altera la abundancia isotópica del isótopo radiogénico tiene un efecto pronunciado en la composición isotópica del elemento, afectando por tanto a las abundancias isotópicas relativas entre todos los isótopos del elemento, sean o no éstos radiogénicos [18]. Las variaciones naturales en elementos con isótopos radiogénicos, como es el caso del plomo y del estroncio, son bastante pronunciadas con respecto a las observadas en los elementos ligeros como C, H u O. El empleo de estos elementos pesados es muy útil en estudios de procedencia [19] y en datación geocronológica [20] Otros elementos con isótopos radiogénicos ampliamente utilizados en geociencia son el neodimio [21], el hafnio [22] y el osmio [23].

El **origen antropogénico** de la variabilidad isotópica de determinados elementos tiene como origen el continuo deseo del hombre de imitar a la naturaleza haciendo uso de los recursos que ésta pone a su disposición. Diferentes procesos inducidos por el ser humano pueden provocar un fraccionamiento isotópico mayor al producido en la naturaleza o incluso generar isótopos específicos. El ejemplo probablemente más conocido de alteración de la abundancia isotópica de un elemento de manera totalmente intencionada es el enriquecimiento de uranio con fines nucleares [24]. Igualmente, los trazadores enriquecidos isotópicamente utilizados en análisis por dilución isotópica unida a espectrometría de masas (IDMS, Isotope Dilution Mass Spectrometry) [25] o en estudios de trazabilidad [26], son otro ejemplo del efecto de la acción humana sobre la composición isotópica de los elementos.

Los procesos de enriquecimiento isotópico se llevan a cabo mediante métodos que permiten la separación de los isótopos de un mismo elemento en función de las pequeñas diferencias en sus pesos atómicos. Ejemplo de ello es la separación electromagnética mediante calutrones [27], la difusión gaseosa [28] y la centrifugación gaseosa [29]. El objetivo final de todas ellas es siempre la separación del material en dos fracciones, cada una de ellas enriquecida en el isótopo más ligero y más pesado, respectivamente.

Otro proceso mediante el cual se altera la abundancia isotópica de los elementos es la **interacción de rayos cósmicos con la materia terrestre**, cuyo ejemplo más característico es la producción de  $^{14}\text{C}$  a partir de  $^{14}\text{N}$  atmosférico. El núcleo de  $^{14}\text{C}$ , cuya vida media es de 5730 años, se oxida a dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y entra en la cadena trófica alterando así la composición isotópica de carbono de los organismos vivos. Su aplicación principal es la datación de restos de seres vivos antiguos [30].

Por último, si el **material** en estudio es de **origen extraterrestre** como ocurre con los meteoritos [31], éste puede presentar abundancias isotópicas totalmente diferentes a las encontradas en materiales de la corteza terrestre, como ocurre con los radionúclidos ya extintos debido a que presentaban vidas medias cortas con respecto a la edad de la Tierra.

### A.1.3. Aplicación a estudios de trazabilidad

En cuanto a la existencia de las variaciones isotópicas naturales, es como si la naturaleza hubiera dejado pistas que nos permitieran indagar en su pasado, mientras que las variaciones isotópicas inducidas por el ser humano posibilitan un conocimiento intencionado del mundo a nuestro alrededor. A menudo las concentraciones elementales no son suficientes para discriminar entre muestras o para determinar su procedencia, sino que para ello se debe recurrir a su composición isotópica. El uso de la huella isotópica parece erigirse como una potente herramienta en este tipo de estudios si se interpreta como una huella dactilar característica de cada material. Por consiguiente, el fin último de la evaluación de la variabilidad isotópica en una muestra, va siempre ligado a conocer su procedencia u origen de manera inequívoca. De esta manera, las relaciones isotópicas de un determinado elemento en una muestra son pieza clave para estudios de trazabilidad, no sólo en el campo de la química, sino también en diferentes ramas del conocimiento científico.

Así pues, un ejemplo típico de aplicación de las variaciones isotópicas naturales en estudios de trazabilidad es el caso del plomo en **arqueometría**. La huella isotópica de plomo en un artefacto metálico es la misma que la del yacimiento del cual se extrajo el mineral que lo compone, por lo que el estudio de esta huella dactilar permite ligarlo de manera directa con su yacimiento de origen [32]. Por su parte, el estudio de la



composición isotópica de estroncio es de extremado valor en el campo de la **antropología**. Cada lecho geológico se caracteriza por una huella isotópica de estroncio característica, que se transfiere del suelo a los pastos y animales entrando así en la cadena trófica. El estroncio reemplaza al calcio de dientes y huesos, por lo que un análisis de este tipo de muestras permite conocer hábitos de vida, origen y movilidad del individuo en cuestión [33]. Asimismo, es una herramienta fundamental en estudios de **calidad alimentaria** junto con el estudio de las variaciones de elementos ligeros [34].

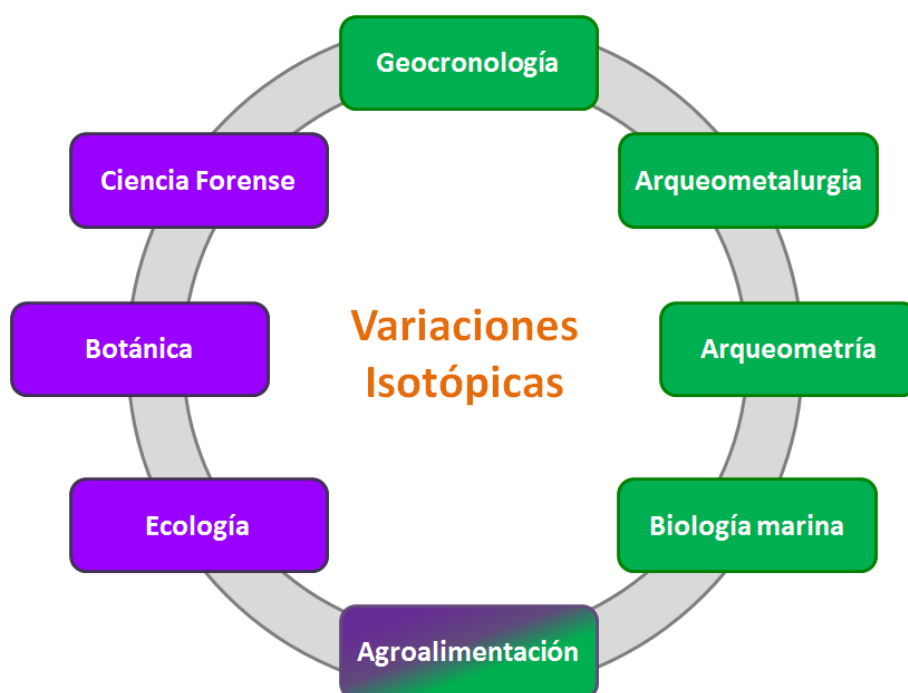
El uso de las variaciones isotópicas naturales es también de gran aplicación en **estudios medioambientales**: la evaluación de las variaciones isotópicas de mercurio [35] o plomo [36] en un determinado lugar facilitan la detección del foco de **contaminación**. Por su parte, la variación en la composición isotópica de calcio, bario y estroncio en otolitos de peces permite evaluar la **dinámica de los océanos**: la composición de estas piezas calcáreas depende directamente de las condiciones hidrológicas (salinidad, pH, temperatura,...) en las que el pez ha vivido, de manera que su composición variará en función de sus movimientos migratorios en diferentes aguas [37]. No sólo las variaciones isotópicas naturales son utilizadas con estos fines, sino que el uso de isótopos enriquecidos ya ha sido probado en este tipo de estudios con resultados satisfactorios. Así, el marcaje de poblaciones piscícolas para el control de sus hábitos, de su eficiencia de reproducción o para el conocimiento de sus rutas migratorias, ha sido de gran ayuda en el campo de la **biología de los ecosistemas acuáticos** [38]. De esta misma manera, el marcaje de plantas con isótopos enriquecidos es una excepcional herramienta de investigación en **ecología y botánica**, ya que permite estudiar la absorción de nutrientes, controlar las tasas de crecimiento y rastrear la dispersión de sus semillas [39]. Otra importante aplicación de los isótopos enriquecidos es en la **lucha antifraude** de productos manufacturados. El marcaje en origen de productos como los explosivos [40] permite la identificación de los mismos en cualquier momento de su vida útil e incluso tras la detonación, pudiendo atribuir la autoría de la explosión a partir del **análisis forense** de sus restos.

En definitiva, la huella isotópica de cierto elemento en una muestra actúa como marca indeleble de su origen y resulta esencial a la hora de relacionarlo con su lugar de procedencia. Bajo esta premisa, en la presente Tesis Doctoral se pretende dar solución a problemas relacionados con el origen de muestras sólidas de diversa naturaleza a través del desarrollo de nuevas metodologías de análisis basadas en la Ablación Láser, con el fin último de dar solución a los interrogantes abiertos en distintas disciplinas científicas.

De esta manera, el primer capítulo de este trabajo se centra en el uso de isótopos enriquecidos de molibdeno para el marcaje encubierto de plantas (Faba Asturiana) y productos manufacturados (tintas y documentos), conjugando la química con ramas tales como la ciencia forense, la botánica, la ecología, y la agroalimentación.

La evaluación de la variabilidad natural de plomo y estroncio en estudios de procedencia constituye el resto del trabajo. El segundo capítulo se centra en el estudio de la huella isotópica de plomo en muestras sólidas (minerales y artefactos metálicos antiguos) como vía para descifrar el origen de las mismas. Por su parte, el estudio de la variabilidad natural de estroncio compone el tercer capítulo, que engloba el desarrollo de diversas metodologías de medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras sólidas, con el fin de conocer la naturaleza, características y procedencia de las mismas.

En la Figura A.2 se muestran algunas de las ramas del conocimiento científico en las cuales la evaluación de las variaciones isotópicas ha sido fundamental a lo largo de este trabajo. Las materias vinculadas al estudio de las variaciones naturales se representan en color verde, mientras que el morado es el color elegido para aquellos campos en los que fue necesario el uso de isótopos enriquecidos.



**Figura A.2. Aplicaciones de las variaciones isotópicas en el presente trabajo.**

La técnica analítica más frecuente y de la cual se ha hecho uso para la medida de las relaciones isotópicas de molibdeno, plomo y estroncio en muestras sólidas debido a su indiscutible potencial, es la ablación láser acoplada a espectrometría de masas con fuente de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Dado que el presente trabajo se centra en el desarrollo de nuevas metodologías de medida de relaciones isotópicas basadas en el uso de esta técnica, es necesario tener en cuenta tres factores fundamentales: la metodología utilizada para el cálculo de las relaciones isotópicas correspondientes, la corrección de las interferencias espectrales sobre los analitos en estudio y la corrección de la discriminación de masas. Todos ellos se discutirán en apartados posteriores, pero no sin antes ahondar en los fundamentos de la técnica ICP-MS y de la ablación láser.

## A.2. Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS)

Cuando en 1912 el científico británico J.J. Thomson descubrió la naturaleza isotópica del neón utilizando un espectrógrafo de masas de fabricación propia, era difícil prever el impacto que los isótopos estables podrían llegar a tener durante las siguientes décadas. Los avances en el campo de la espectrometría de masas no se hicieron esperar, y en la década de los cuarenta, el físico norteamericano Alfred O.C. Nier revolucionó el mercado con las mejoras introducidas en los espectrómetros de masas de sector magnético [41]. A partir de ahí, el desarrollo de la instrumentación no hizo más que dispararse, hasta que en 1980 R.S. Houk y V.A. Fassel publicaron la primera investigación que confirmaba el potencial de la fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP) como fuente de ionización para la determinación de elementos traza mediante cuadrupolo [42]. Desde entonces, el ICP-MS se ha desmarcado como principal técnica elemental para el análisis inorgánico de trazas [43] y relaciones isotópicas [44] debido a su carácter multielemental, su alta sensibilidad, el amplio rango lineal que ofrece y la posibilidad de acoplar técnicas de introducción de muestra en estado sólido [45], líquido [46] o gaseoso [47]. En este sentido, la aplicabilidad de la técnica es a día de hoy incalculable, y se considera indispensable en estudios medioambientales [48], petroquímicos [49], clínicos [50] o forenses [51], y en sectores como el farmacéutico [52], el agroalimentario [53] o la industria de los semiconductores [54].

Como en toda metodología instrumental, el conocimiento del instrumento analítico con el que se llevan a cabo las medidas resulta crucial para entender el proceso que sufren los analitos en su interior y para evaluar los resultados obtenidos. Por ello, en las siguientes líneas se presentan los aspectos más relevantes del ICP-MS.

## A.2.1. Trayectoria de los iones a través de un ICP-MS

Todo instrumento analítico consta de al menos cuatro componentes: el generador de señales, el detector, el procesador de señales y el dispositivo de lectura [55]. En el caso particular de un espectrómetro de masas tanto el sistema de introducción de muestra como la fuente de ionización y la interfase de extracción y focalización de iones cobran gran importancia. Estos dispositivos permiten poner en contacto la muestra con el generador de señales, que en este caso es el analizador de masas, donde la interacción entre la muestra y el campo electromagnético aplicado facilita la separación de los iones en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ). En la Figura A.3 se muestra un diagrama de bloques de un espectrómetro de masas genérico. Las partes del equipo recuadradas en gris serán explicadas en detalle para el caso particular de un espectrómetro de masas con fuente de acoplamiento inductivo.

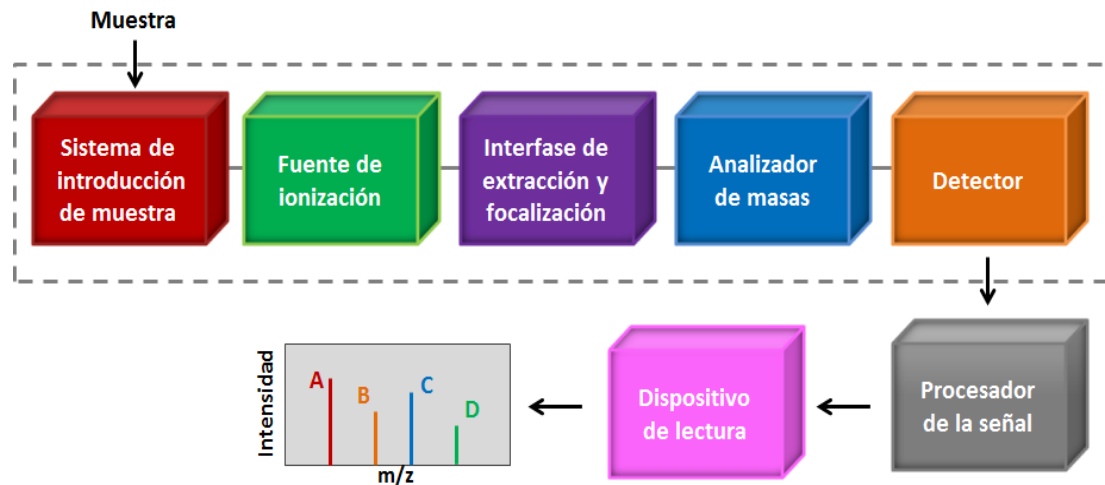


Figura A.3. Diagrama de bloques de las partes de un espectrómetro de masas.

### A.2.1.1. Sistema de introducción de muestra

La introducción eficiente de las muestras en el plasma es crucial para la obtención de resultados analíticos consistentes. El sistema de introducción basado en la combinación de un nebulizador junto a una cámara de nebulización para la introducción de muestra líquida apenas ha cambiado desde su aparición a principios de los años 80 [56]. El nebulizador genera un aerosol fino de la muestra, y su tipología depende de la naturaleza y volumen de la misma. Por su parte, la cámara de nebulización evita que las gotas pesadas lleguen al plasma. Este formato presenta alrededor de un 2% de eficiencia de nebulización, por lo que es considerada una etapa muy delicada dentro de todo el proceso de análisis. Como alternativa a la introducción de muestra convencional se presentan, entre otros, la cromatografía líquida (HPLC) [57], la electroforesis capilar (CE) [58], la cromatografía de gases (GC) [59] o la ablación láser. Los fundamentos de ésta última serán expuestos en siguientes apartados (A.3.2) ya que es herramienta fundamental en el presente trabajo.

### A.2.1.2. Plasma como fuente de iones

Una vez formado el aerosol de la muestra, éste es arrastrado por una corriente de argón para su ionización en el plasma. El plasma es considerado el cuarto estado de agregación de la materia, y consiste en un gas altamente ionizado generado a presión atmosférica, conductor de la electricidad y macroscópicamente neutro. Se trata de la fuente de ionización más dura empleada en espectrometría de masas, ya que produce la ruptura total de las moléculas proporcionando así información elemental.

Los componentes fundamentales que intervienen en la generación del plasma son el generador de radiofrecuencia (RF), la bobina de inducción y la antorcha. Esta última es una pieza de cuarzo que consiste en tres tubos concéntricos por los que pasan

diferentes caudales de argón (Figura A.4). Por el tubo exterior pasa una corriente de argón de  $12-15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  (gas plasmógeno), cuyo objetivo es la formación del plasma al final de la antorcha y la refrigeración de la misma. El gas auxiliar, con un flujo de aproximadamente  $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ , pasa a través del tubo intermedio para ayudar a centrar el plasma en torno a los conos de muestreo. Finalmente, el aerosol de la muestra es arrastrado a través del canal central por una tercera corriente de gas argón de en torno a  $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  (gas portador). En la cabeza de la antorcha se encuentra la bobina de inducción, generalmente de cobre y conectada al generador de RF. Para la generación del plasma se hace pasar un flujo alto de argón mientras se le aplica a la bobina de inducción una potencia de RF de  $0.75-1.5 \text{ kW}$ . De esta manera se genera una corriente alterna que oscila con una velocidad proporcional a la frecuencia aplicada ( $27$  o  $40 \text{ MHz}$ , generalmente) que origina un intenso campo electromagnético. Llegado a este punto, una chispa de alto voltaje provoca la siembra de electrones que permite la iniciación del plasma. Estos electrones son atrapados y acelerados por el campo electromagnético (acoplamiento inductivo) y chocan con los átomos de argón causando su ionización y una gran densidad electrónica. Esta reacción en cadena da lugar al plasma, que se mantiene en estado estacionario por el aporte continuo de energía de RF del generador.

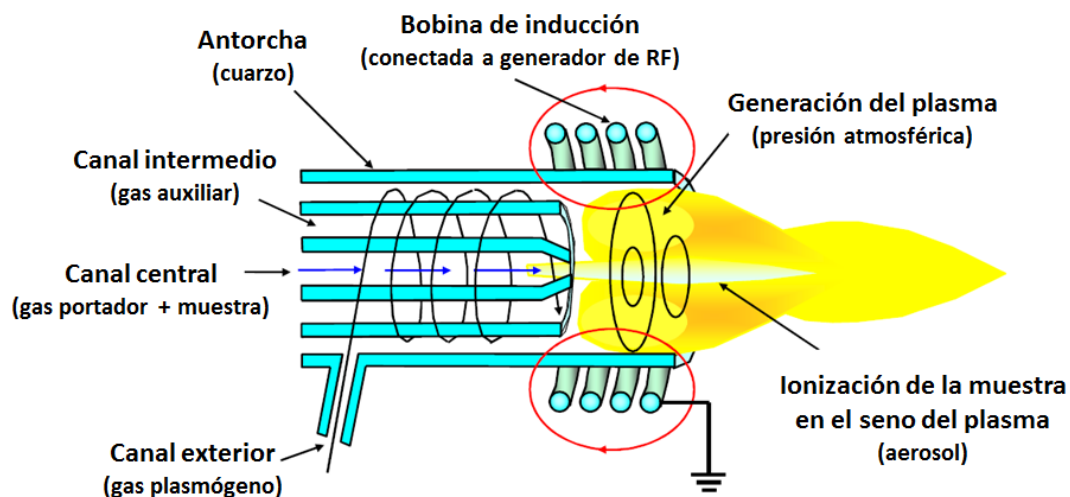


Figura A.4. Esquema de la fuente de ionización ICP.

La temperatura del plasma oscila entre 6000-10000 K dependiendo de la región del mismo. A medida que el aerosol de la muestra atraviesa el plasma, las gotas sufren una serie de procesos físico-químicos que empiezan por la pérdida de agua. Tras la desolvatación, la muestra se vaporiza, atomiza e ioniza, siendo el grado de ionización de cada elemento dependiente de su energía de ionización y de las condiciones de temperatura y densidad electrónica del plasma. Dado que el argón presenta una alta energía de ionización (15.76 eV) y que casi la totalidad de los elementos tienen una primera energía de ionización menor de 9 eV (Figura A.5), prácticamente la mayoría de los elementos se ionizan por encima del 90 % en el plasma dando lugar a iones monopositivos. Ciertos elementos cuya segunda energía de ionización es baja pueden formar iones doblemente cargados. Incluso, se pueden llegar a formar especies poliatómicas por reacción de los analitos con el argón o el oxígeno del ambiente, cuya contribución debe ser minimizada.

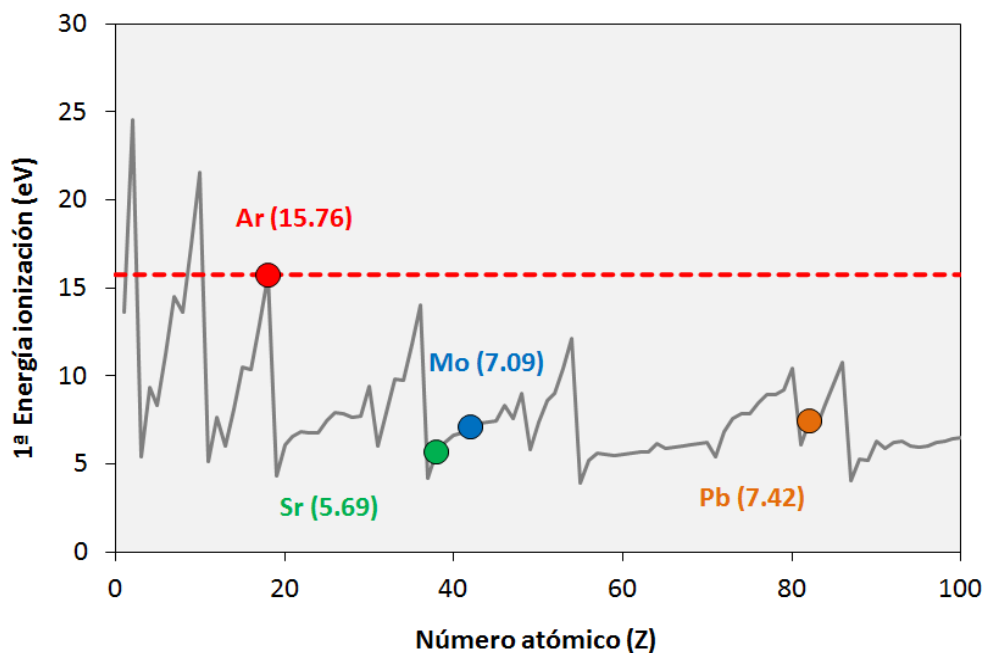


Figura A.5. Primera energía de ionización de los elementos frente a su número atómico.

En la Figura A.5 se resaltan los valores de la primera energía de ionización de los tres elementos clave de estudio durante este trabajo (Sr, Mo, Pb). En base a estos datos



podemos concluir que tanto el estroncio, como el molibdeno y el plomo estarán ionizados de una forma cuantitativa en el plasma de acoplamiento inductivo.

### A.2.1.3. Interfase de extracción y sistema de focalización

Poner en contacto el plasma caliente a presión atmosférica con el analizador de masas a alto vacío ( $10^{-6}$  bar) fue uno de los retos más complicados a abordar en el desarrollo del ICP-MS. Para salvar la pérdida de presión que sufre el haz de iones desde su generación en el plasma hasta la llegada al analizador se diseñó una interfase de extracción de iones que permite corregir este gradiente de presión en dos etapas a través de dos piezas metálicas en forma de conos, cuya función principal es la de extraer los iones y transportar una porción representativa de los mismos hacia el analizador de masas. El cono que está en contacto con el plasma se denomina cono de muestreo o más comúnmente “sampler”, mientras que el segundo cono es conocido como cono de extracción o “skimmer”. Ambos, fabricados típicamente de níquel, están separados por una cámara de expansión que se encuentra a  $10^{-3}$  bar, una presión intermedia entre el plasma y el alto vacío del analizador de masas.

Una vez que el haz de iones atraviesa el segundo cono, es necesario un enfoque adicional para su entrada en el analizador de masas. Para ello, se colocan una serie de lentes controladas electrostáticamente cuya función es la de colimar y focalizar el haz de iones, separar la especies neutras y fotones, y disminuir el intervalo de dispersión de energía de los iones. La caída de presión tras el skimmer provoca la difusión de los electrones y origina un haz cargado positivamente. La carga neta positiva del haz provoca la repulsión mutua entre los iones. Por ello, modulando los voltajes de trabajo de las lentes se evita la repulsión y pérdida de los cationes de interés y se favorece su transmisión hacia el plasma.

#### A.2.1.4. Analizadores de masas

El analizador de masas es, sin ninguna duda, el corazón de un espectrómetro de masas, ya que es el encargado de separar los iones generados en el plasma en función de su relación  $m/z$  para su futura detección. Los tres tipos de analizadores más empleados en espectrometría de masas son los de tipo cuadrupolo (Quadrupole, Q) [60], sector magnético (Sector Field, SF) [61] y tiempo de vuelo (Time of Flight, TOF) [62]. Aunque también ha aumentado el uso de analizadores de trampa iónica (Ion trap) [63] y de resonancia ion-ciclotrón con transformada de Fourier (FT-ICR) [64]. En cualquier caso, los analizadores deben estar a presiones suficientemente bajas ( $10^{-6}$  bar) para evitar que los iones colisionen entre sí. La elección del analizador depende del campo de aplicación y de factores como la resolución de masas, la sensibilidad requerida y/o el coste del equipo. En las siguientes líneas se explicarán detalladamente los dos tipos de analizadores de masas utilizados a lo largo de este trabajo.

- **Analizador de masas de tipo cuadrupolo**

El analizador de masas de tipo cuadrupolo, o filtro de masas cuadrupolar, se empezó a comercializar a principios de los años 80 y desde entonces es el analizador de masas más comúnmente empleado en laboratorios de rutina, debido a su robustez y relativamente bajo coste. Está formado por cuatro barras conductoras metálicas de sección cilíndrica o hiperbólica, alineadas paralelamente entre sí y equidistantes de un eje central imaginario. Cada pareja de barras opuestas está conectada entre sí, de tal manera que forman dos pares de electrodos. A cada par se le aplica una combinación de corriente continua (DC) y voltajes de radiofrecuencia (RF): se mantiene un par a  $+U+V\cdot\cos(\omega t)$  y el otro par adyacente a  $-U-V\cdot\cos(\omega t)$ . Esto conlleva la formación de un campo hiperbólico oscilante entre las cuatro barras a través del cual pasarán los iones.

La magnitud de las oscilaciones de cada ion dentro de este campo vendrá definida por su relación  $m/z$ , por lo que para una combinación de voltajes DC-RF dada sólo los iones con cierta  $m/z$  mantendrán una trayectoria estable a lo largo del cuadrupolo y llegarán al detector mientras que todos los demás serán expulsados.

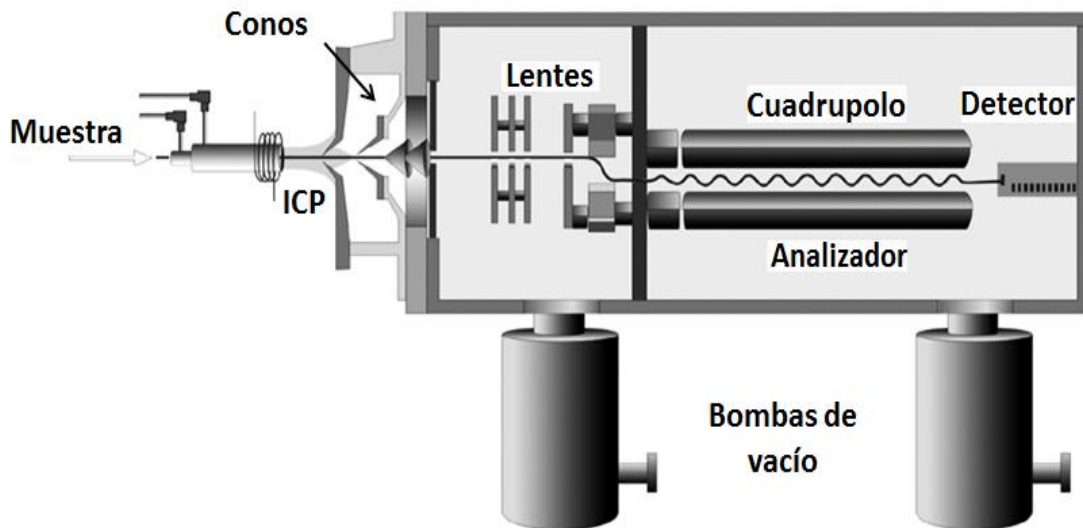


Figura A.6. Esquema de un ICP-MS equipado con cuadrupolo.

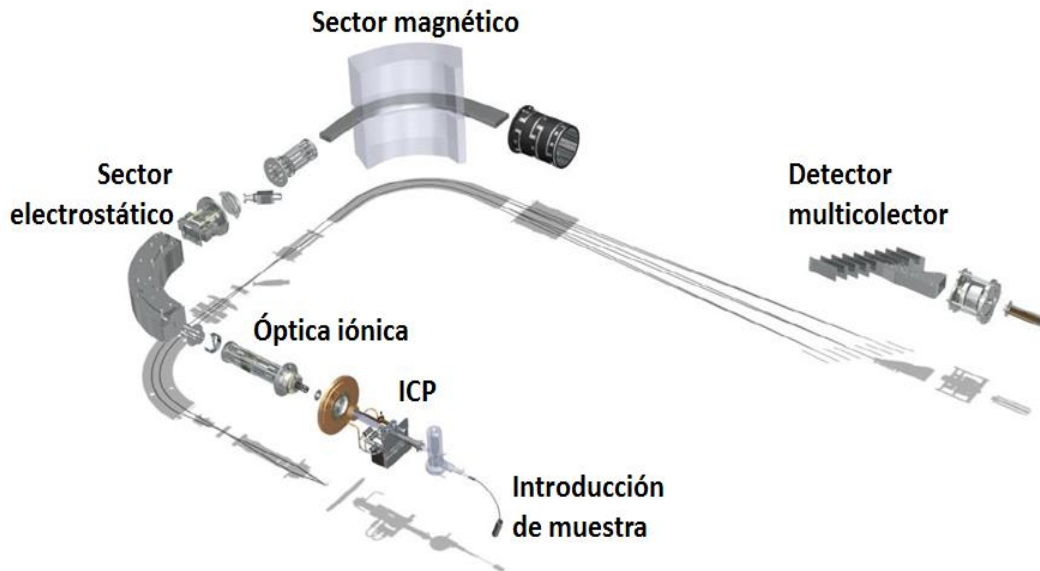
Generalmente, los filtros de masas cuadrupolares permiten alta velocidad de barrido en un amplio rango de masas de trabajo. En análisis cualitativo, se barre prácticamente todo el espectro de masas, mientras que para análisis cuantitativos y medida de relaciones isotópicas, se fijan las masas de interés y el cuadrupolo va pasando de una a otra. La resolución ( $M/\Delta M$ ) que se alcanza es baja (300-400), pero se considera suficiente para la mayoría de aplicaciones, exceptuando aquellas que conllevan la determinación de elementos fuertemente afectados por interferencias poliatómicas. Para minimizar la contribución de estas interferencias se recurre al uso de celdas de colisión o reacción, a equipos de sector magnético, o bien, a instrumentación más moderna como son los analizadores de triple cuadrupolo (ICP-QQQ-MS) [65]. La Figura A.6 muestra el esquema de un ICP-MS equipado con un analizador de tipo cuadrupolo.

## • Analizador de masas de doble enfoque con detección múltiple

A finales de los años 80, las limitaciones en el poder de resolución de interferencias poliatómicas en los analizadores de tipo cuadrupolo favorecieron el desarrollo de equipos de doble enfoque basados en el uso de un sector magnético como analizador de masas. Su alto poder de resolución permitió la separación de interferencias poliatómicas hasta entonces difíciles de resolver por un cuadrupolo, como la de  $\text{ArCl}^+$  sobre el arsénico [66] a  $m/z=75$  o la de  $\text{ArC}^+$  sobre el cromo (Cr) a  $m/z=52$  [67]. El diseño de estos equipos se basa en la geometría Nier-Johnson, que consiste en la combinación de un electroimán y un sector electrostático (ESA) como analizadores de masas. Para la medida precisa de relaciones isotópicas los equipos con configuración directa son los más apropiados, ya que la colocación del imán por detrás del sector electrostático permite la detección simultánea de múltiples iones a la salida del analizador [68]. Mientras, los equipos con configuración reversa en los que el imán se coloca por delante del sector electrostático permiten una detección simple, y son empleados en el análisis de elementos trazas en aplicaciones que requieren buena sensibilidad y resolución [69]. A lo largo de este trabajo se ha utilizado un equipo de doble enfoque multicolector cuyo diseño se muestra en la Figura A.7.

El sector electrostático consiste en dos placas que curvan y enfocan el haz iónico hacia la rendija de salida previa al electroimán. Cuando los iones entran en esta región, el campo electrostático les obliga a moverse con una trayectoria circular cuyo radio de curvatura depende de su energía cinética. A la salida, los iones atraviesan una rendija intermedia cuya función es estrechar la gama de energías cinéticas del haz iónico antes de entrar en la región del electroimán. Una vez en ella, los iones se someten a un campo magnético perpendicular a su vector velocidad, que consigue separarlos en función de su momento. Ahí los iones describen trayectorias circulares resultantes de la compensación de las fuerzas centrífuga y centrípeta, y cuyo radio de curvatura está determinado por la relación  $m/z$ . De esta manera, para un valor de campo magnético

determinado solamente aquellos iones con cierta relación  $m/z$  siguen una trayectoria estable a lo largo del imán en su camino hacia el detector.



**Figura A.7. Esquema de un ICP-MS multicolector modelo Neptune Plus.**

Para explotar el alto poder de resolución de los analizadores de doble enfoque el haz iónico debe entrar en esta parte del espectrómetro de masas con una elevada energía. Cuanto mayor sea la energía del haz menos se verá afectado por efectos espacio-carga que puedan provocar la dispersión de los iones, y más efectiva será la eliminación de fotones, especies neutras e interferencias poliatómicas. Esto se traduce en una elevada transmisión iónica de las especies de interés con bajos niveles de ruido de fondo, lo que conduce a una mayor sensibilidad y precisión en la medida de relaciones isotópicas.

El poder de resolución de este tipo de analizadores es modulable, siendo 8000-10000 la resolución máxima que se puede alcanzar y que permite la determinación de típicas interferencias poliatómicas sobre arsénico, vanadio, cromo o hierro [70].

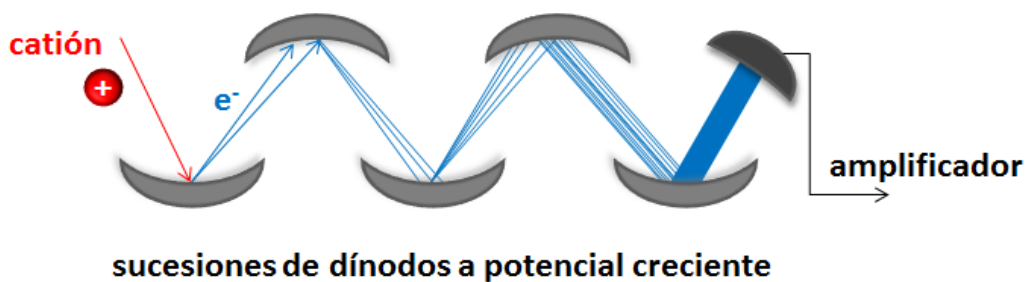
La elección del poder de resolución se lleva a cabo mediante el ajuste de la anchura de la rendija de entrada al espectrómetro de masas y la rendija de salida hacia el detector. Cuando la anchura es grande se trabaja a baja resolución ( $R = 300-400$ ) y a medida que la anchura va disminuyendo se puede trabajar en media ( $R = 3000-4000$ ) o alta resolución ( $R = 8000-10000$ ). En función del modo de resolución elegido, la focalización y energía del haz de iones serán moduladas para que los iones puedan pasar o no a través de las rendijas. Es importante destacar que estos equipos no pueden resolver interferencias isobáricas elementales, que requieren normalmente una resolución mayor de 10000. Sin embargo, los equipos multicolectores tienen la particularidad de poder operar en “pseudo” alta resolución, que consiste en reducir la anchura de la rendija de entrada al analizador manteniendo la anchura de la rendija de salida. Así, la gran estabilidad del imán permite seleccionar una zona libre de interferencias aunque las señales no estén perfectamente separadas. De esta manera, se consigue una mejor precisión en la medida de relaciones isotópicas que la obtenida en alta resolución, ya que se maximiza el rango de masas sobre el que la intensidad del analito es constante.

#### A.2.1.5. Detectores de iones

Tras su paso por el analizador de masas los iones salen separados en función de su  $m/z$  e impactan sobre la superficie del detector generando una señal electrónica medible. Los detectores más comúnmente usados en aplicaciones ICP-MS son el multiplicador de electrones secundarios (SEM) en equipos de cuadrupolo o de doble enfoque con detección simple, y las copas de Faraday, que constituyen el detector típico de equipos de doble enfoque multicolectores.

- **Multiplicador de electrones secundarios (SEM)**

El multiplicador de electrones secundarios está formado por una sucesión de dínodos discretos sometidos a potenciales crecientes positivos que funcionan como contadores de iones de manera secuencial. Cada ion que sale del cuadrupolo colisiona con la superficie del primer dínodo originando un gran número de electrones secundarios que son rápidamente atraídos por el siguiente dínodo, originando una cascada de electrones cuya intensidad se va amplificando a lo largo de los diez dínodos de los que consta el detector (Figura A.8). Contando los pulsos generados por la llegada de cada ion al detector, el sistema registra digitalmente la intensidad del haz de iones en términos de cuentas por segundo.



**Figura A.8. Esquema de un multiplicador de electrones secundarios (SEM).**

Generalmente, los detectores operan bajo dos modos de medida: el modo analógico, en el que se realiza la medida directa de la corriente eléctrica generada en el detector, y el modo digital, basado en la medida del número de iones que llegan al detector por unidad de tiempo. El modo digital es mucho más sensible que el analógico. No obstante, la mayoría de los detectores pueden utilizar ambos modos de medida en función de la corriente iónica incidente. Este tipo de detectores son muy adecuados para el análisis multielemental a niveles traza y ultratrazas debido a su alta sensibilidad. Además, presentan larga vida útil y son fácilmente reemplazables.

## • Copas de Faraday

El diseño de este sistema de detección está basado en el uso de 9 copas de Faraday, pequeños dispositivos metálicos conductores que fueron diseñados para captar partículas cargadas en condiciones de vacío. Cada copa está conectada a potencial base a través de una resistencia elevada, y a medida que van llegando iones positivos a cada placa se origina un flujo de electrones para neutralizar su carga, siendo esta señal eléctrica la que se amplifica y se registra (Figura A.9).

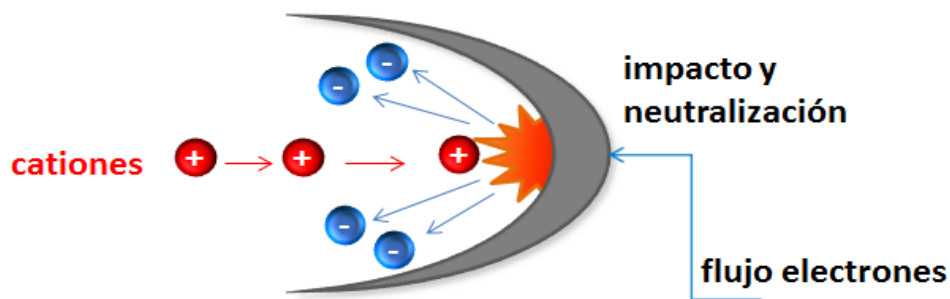


Figura A.9. Esquema del funcionamiento de una copa de Faraday.

La copa central es fija y las otras ocho pueden variar su posición en torno a ella, situándose individualmente y de forma exacta a lo largo del plano focal. Esta geometría permite una detección multiisotópica simultánea en un rango de masas de  $\pm 8.5\%$  con respecto de la masa de la copa central, es decir, para un valor de campo magnético y potencial de aceleración dado, solamente un rango de masas concreto mantendrá una trayectoria estable y alcanzará el detector simultáneamente. Esto hace de las copas de Faraday la opción más adecuada para la medida de relaciones isotópicas con alta precisión, ya que este tipo de colectores no sufren efectos de tiempo muerto, y siempre y cuando se sacrifique en cierta medida la sensibilidad requerida.



## A.2.2. Calidad de la medida de relaciones isotópicas mediante ICP-MS

Dentro de los diferentes factores que afectan a la medida de las relaciones isotópicas mediante ICP-MS cabe destacar aquellos que tienen mayor influencia sobre la exactitud y la precisión del resultado, y que se encuentran recogidos en la Figura A.10.

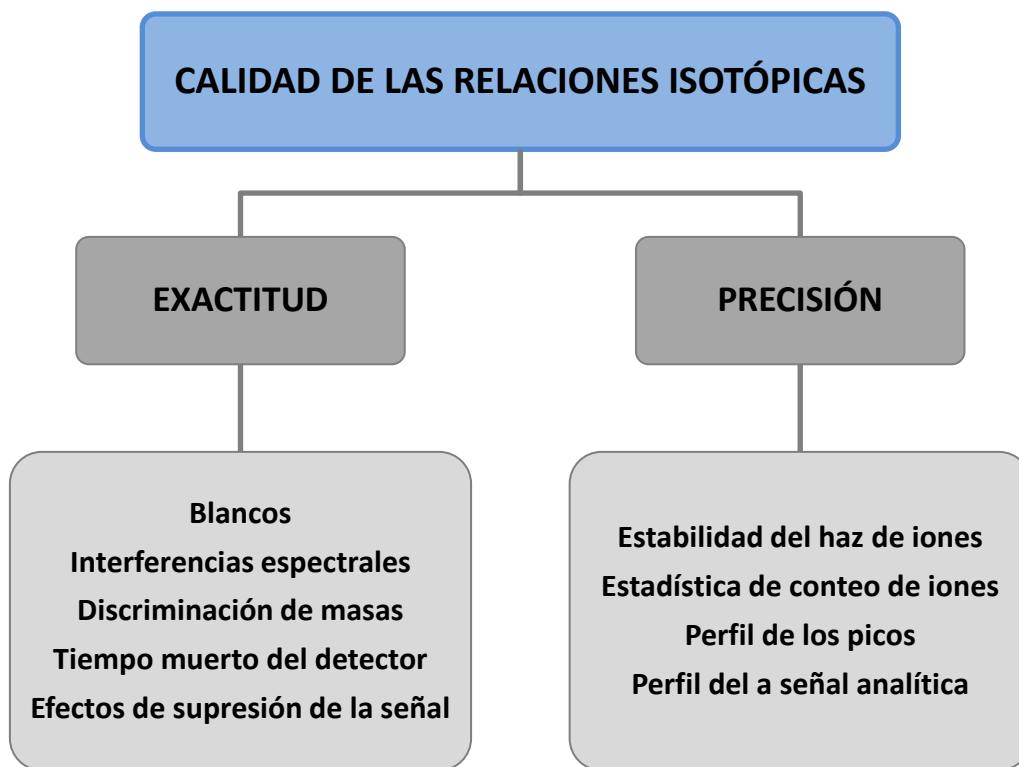


Figura A.10. Factores que afectan a la precisión y exactitud de las relaciones isotópicas.

### A.2.2.1. Factores que afectan a la exactitud

Se considera que la exactitud de una relación isotópica es la cercanía entre el valor obtenido experimentalmente y el valor verdadero en función de los errores sistemáticos que intervienen en la medida [71]. Por ello, para que un resultado experimental coincida con el valor esperado, hay que considerar y corregir una serie de factores que se detallan a continuación.

**Blancos.** La medida de la composición isotópica de un blanco representativo debe llevarse a cabo al principio o varias veces a lo largo de la sesión de medida con el fin de identificar el fondo y sustraer su contribución a la señal correspondiente del analito. Para evitar este tipo de problemas se recomienda el uso de ácidos sub-boiling y disolventes de alta pureza, así como la limpieza previa de todo el material empleado. La corrección de la contribución de los blancos en estudios de variaciones isotópicas naturales es muy compleja dado que el blanco puede tener una composición isotópica distinta a la muestra. Por tanto, lo más importante es minimizar la contribución del blanco para no tener que realizar correcciones matemáticas. Una de las ventajas del uso de la ablación láser es que no es necesaria la corrección de los blancos.

**Interferencias espectrales.** Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), se considera “interferencia” a todo error sistemático en la medida de una señal causado por la presencia de contaminantes en la muestra [72]. En espectrometría de masas se habla más concretamente de interferencias espectrales cuyos efectos están directamente ligados con la exactitud de la medida de relaciones isotópicas (Figura A.11). Las interferencias espectrales están causadas por iones elementales o moleculares con la misma masa nominal que el ion analito pero distinta masa exacta, y conllevan la superposición de las señales del analito y del interferente debido a solapamientos.

La contribución de estas interferencias depende considerablemente de las condiciones de operación instrumentales y de la composición de la muestra. Como las interferencias espectrales no tienen el mismo impacto a todas las masas, son consideradas como un gran inconveniente en la medida de relaciones isotópicas, por lo que su eliminación o corrección es imprescindible para la obtención de resultados fiables. Este tipo de interferencias se divide a su vez en isobáricas y moleculares o poliatómicas.

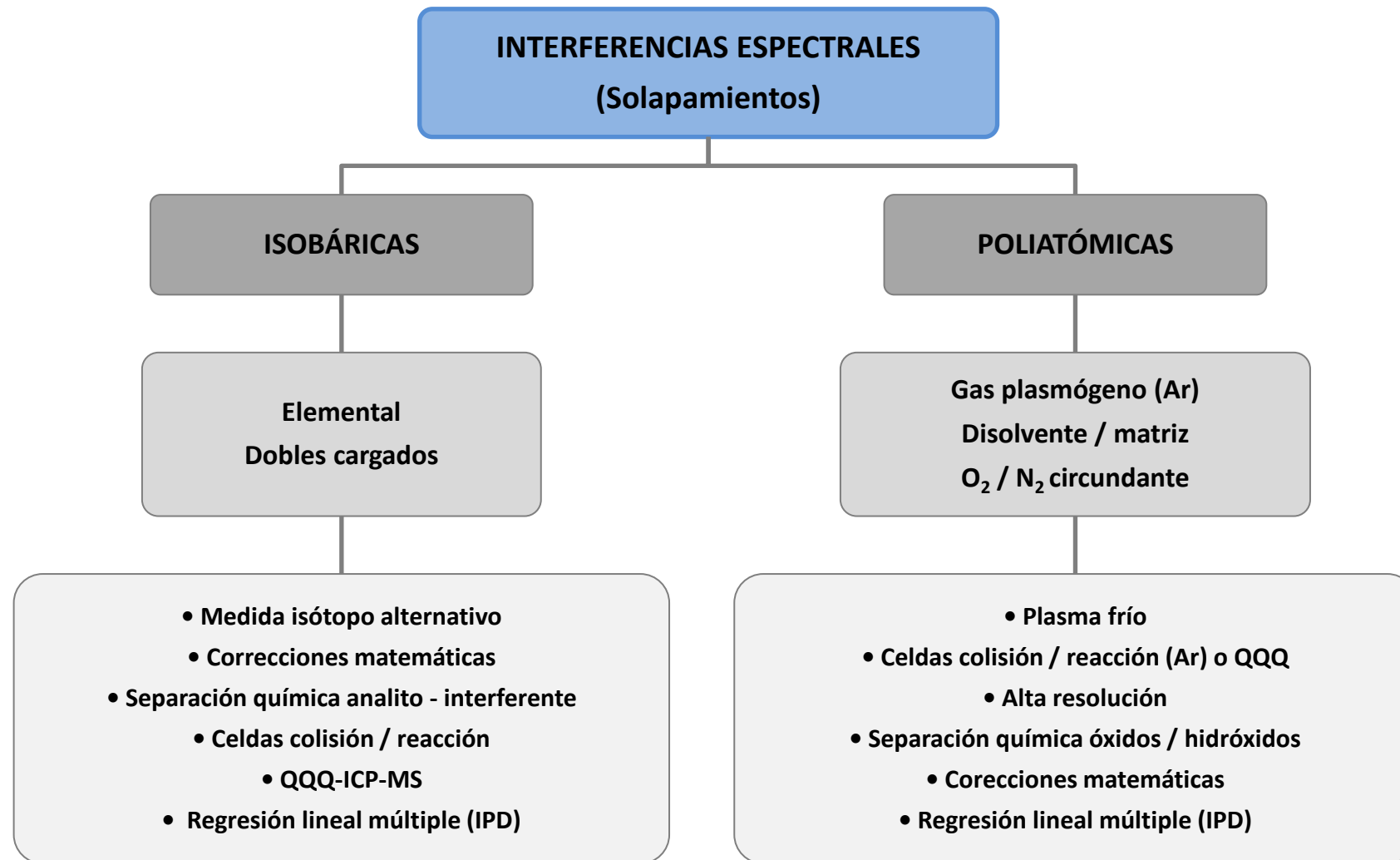


Figura A.11. Tipos de interferencias espectrales y metodologías de corrección.

Las **interferencias isobáricas** hacen referencia a isótopos de diferentes elementos con la misma masa nominal y que independientemente de la resolución del analizador no pueden ser distinguidos. Cuando los elementos tienen una segunda energía de ionización baja es posible que formen especies doblemente cargadas que también puedan causar interferencias isobáricas ( $^{138}\text{Ba}^{2+}$  sobre  $^{69}\text{Ga}^+$ ). Para corregir sus efectos se puede **seleccionar otro isótopo** del elemento afectado, si es que existe y está libre de interferencias, y aplicar correcciones matemáticas [73]. Hay ocasiones en las que la medida de una relación isotópica requiere el empleo específico de cierto isótopo con un alto nivel de precisión, por lo que es necesario recurrir a **separaciones químicas analito-matriz** mediante el acoplamiento de técnicas cromatográficas [74] o el uso de resinas quelantes [75]. Alternativamente, el uso de **celdas de reacción** permite la conversión in situ del analito en otra especie medible por reacción con el gas de la celda [76]. El reciente desarrollo de los equipos **ICP-MS de triple cuadrupolo** (QQQ-ICP-MS) mejora las prestaciones de las celdas de reacción gracias a la incorporación de un tercer cuadrupolo que permite la selección de determinada masa o rango de masas antes de la entrada en la celda de reacción, eliminando así gran parte de la matriz interferente. El uso de gases como hidrógeno, oxígeno, helio, óxido nitroso, dióxido de carbono, o una mezcla convenientemente optimizada de algunos de ellos permite la conversión del analito o de su interferente en una especie medible [77]. Otra alternativa es el uso de la **regresión lineal múltiple**: se realiza la medida conjunta del analito y de su interferente y se calcula la contribución de ambos al perfil isotópico observado mediante deconvolución de perfiles isotópicos (IPD) [26]. Sin embargo, la regresión lineal múltiple no puede aplicarse al estudio de variaciones isotópicas naturales y sólo sirve para estudios con isótopos enriquecidos.

Las **interferencias moleculares o poliatómicas** están relacionadas con la formación de especies cargadas constituidas por más de un átomo: óxidos refractarios, carburos, argeniuros o hidruros se forman por combinación entre el gas plasmógeno, el disolvente, la matriz, el analito y el oxígeno y el nitrógeno del ambiente.

Para minimizar su contribución se hace uso de distintas estrategias instrumentales como es el modo de **plasma frío** [78]: operando a baja energía, con altos flujos de gas portador y con una mayor distancia de muestreo se minimizan el fondo, los efectos de matriz y en definitiva, las interferencias poliatómicas.

Igualmente, las ya citadas **celdas de reacción** permiten eliminar las interferencias poliatómicas asociadas al argón del plasma mediante el empleo de gases ligeros como helio e hidrógeno [79], mientras que los nuevos equipos **QQQ-ICP-MS** abren nuevas fronteras en la eliminación efectiva de las interferencias espectrales [80]. Otra de las opciones a considerar pasa por aumentar la resolución a la cual se está operando. Los equipos de **alta resolución** suponen una manera muy directa de minimizar este tipo de solapamientos. Sin embargo, los límites de detección se ven ciertamente comprometidos, ya que para aumentar la resolución se deben estrechar las rendijas de entrada y salida del analizador dejando pasar menor cantidad de muestra. Esto produce una reducción en la eficacia de transmisión que afecta finalmente a la sensibilidad del analito. En equipos de **alta resolución multicolectores**, además de seleccionar el poder de resolución adecuado para la eliminación eficaz de las interferencias poliatómicas, la propia configuración del equipo permite avanzar un paso más. En estos equipos la separación de interferencias poliatómicas se lleva a cabo a lo largo del plano focal del espectrómetro de masas. Esto, sumado a la posibilidad de colocación de cada colector justo en la trayectoria del analito de interés, consigue la discriminación de los iones poliatómicos interferentes, que se suelen encontrar desplazados a unas pocas centésimas de  $m/z$  con respecto a nuestro analito. Esta metodología es válida siempre que las interferencias poliatómicas estén desplazadas solamente hacia un lado de la relación  $m/z$  del analito principal, como es el caso típico de las interferencias  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$  y  $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$  sobre  $^{56}\text{Fe}^+$  [81].

Algunas interferencias poliatómicas atribuibles a óxidos e hidróxidos de ciertos elementos de transición, como  $^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$  y  $^{137}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$  sobre los isótopos de europio a

$m/z = 151$  y  $153$ , no se pueden corregir mediante celdas de colisión y/o reacción o equipos de alta resolución, por lo que se debe recurrir a una **separación cromatográfica** por intercambio aniónico previa a su detección por ICP-MS [82].

Para la eliminación de interferencias poliatómicas también se puede aplicar **regresión lineal múltiple** y ciertas **correcciones matemáticas** semejantes a las consideradas para las interferencias isobáricas elementales. Sin embargo, como ya hemos comentado antes, estas correcciones matemáticas no sirven para el estudio de variaciones naturales.

En definitiva, un buen conocimiento de la matriz de la muestra resulta crucial para conocer y solucionar las posibles interferencias. En la Tabla A.1 se muestran posibles interferencias espectrales sobre las masas de nuestros isótopos de interés [83].

Tabla A.1. Interferencias espectrales en la determinación de Sr, Mo y Pb por ICP-MS.

Isótopo	Abundancia (%)	Interferencias
$^{84}\text{Sr}$	0.56	$^{84}\text{Kr}^+$ , $^{36}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$
$^{86}\text{Sr}$	9.86	$^{86}\text{Kr}^+$ , $^{85}\text{Rb}^1\text{H}^+$
$^{87}\text{Sr}$	7.00	$^{87}\text{Rb}^+$
$^{88}\text{Sr}$	82.58	$^{40}\text{Ar}^{48}\text{Ca}^+$
$^{92}\text{Mo}$	14.53	$^{92}\text{Zr}^+$
$^{94}\text{Mo}$	9.15	$^{94}\text{Zr}^+$ , $^{39}\text{K}_2^{16}\text{O}^+$ , $^{40}\text{Ar}^{54}\text{Fe}^+$
$^{95}\text{Mo}$	15.84	$^{40}\text{Ar}^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+$ , $^{79}\text{Br}^{16}\text{O}^+$
$^{96}\text{Mo}$	16.67	$^{96}\text{Zr}^+$ , $^{96}\text{Ru}^+$ , $^{39}\text{K}^{41}\text{K}^{16}\text{O}^+$ , $^{79}\text{Br}^{17}\text{O}^+$ , $^{40}\text{Ar}^{56}\text{Fe}^+$
$^{97}\text{Mo}$	9.60	$^{40}\text{Ar}_2^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ , $^{40}\text{Ca}_2^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ , $^{40}\text{Ar}^{41}\text{K}^{16}\text{O}^+$ , $^{81}\text{Br}^{16}\text{O}^+$ , $^{40}\text{Ar}^{57}\text{Fe}^+$
$^{98}\text{Mo}$	24.39	$^{98}\text{Ru}^+$ , $^{81}\text{Br}^{17}\text{O}^+$ , $^{41}\text{K}_2^{16}\text{O}^+$
$^{100}\text{Mo}$	9.82	$^{100}\text{Ru}^+$
$^{204}\text{Pb}$	1.4	$^{204}\text{Hg}^+$ , $^{188}\text{Os}^{16}\text{O}^+$
$^{206}\text{Pb}$	24.1	$^{190}\text{Pt}^{16}\text{O}^+$
$^{207}\text{Pb}$	22.1	$^{191}\text{Ir}^{16}\text{O}^+$
$^{208}\text{Pb}$	52.4	$^{192}\text{Pt}^{16}\text{O}^+$



**Discriminación de masas.** Se produce debido a la transmisión diferencial de los iones de distinta masa cuando atraviesan la interfase en su camino hacia el analizador. Aparentemente dos procesos físicos son los causantes del enriquecimiento del haz iónico en los isótopos más pesados: el efecto “orificio” y los efectos “espacio-carga”. El efecto “orificio” ocurre cuando el haz iónico llega a la región situada entre el cono de muestreo y el de extracción. Tras atravesar el cono de muestreo la caída de presión produce un chorro supersónico de iones que se expanden en función de su energía cinética. Como todos los iones se mueven a la misma velocidad, los más ligeros presentan menor energía cinética, de manera que tienden a expandirse alejándose del centro haz iónico y desapareciendo por el sistema de vacío.

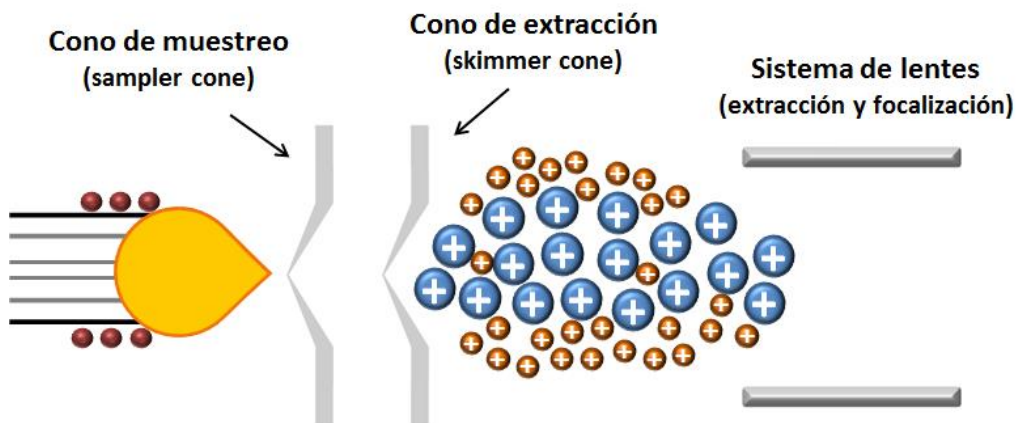


Figura A.12. Enriquecimiento del haz en iones pesados.

Una vez que el haz de iones atraviesa el cono de extracción los efectos “espacio-carga” cobran mayor importancia. El haz se encuentra positivamente cargado, por lo que los iones se repelen fuertemente entre sí. Como los iones ligeros exhiben menor energía cinética, la probabilidad de que un ion ligero sea eliminado por repulsión mutua es mucho mayor que la de un ion pesado. Por ello, los iones pesados permanecen en el centro del haz iónico mientras los más ligeros se dispersan con mayor facilidad. Tanto el efecto “orificio” como los efectos “espacio -carga” dan como resultado la transmisión preferencial de los iones pesados frente a los ligeros (Figura A.12), lo que

provoca que el valor de las relaciones isotópicas medidas esté siempre desviado hacia los isótopos más pesados con respecto a la relación isotópica real, por lo que es necesario corregir este error. Para ello se recurre a ecuaciones matemáticas que calculan la relación isotópica corregida en función de la relación isotópica experimentalmente medida, la diferencia de masas entre los dos isótopos considerados y el factor de corrección de la discriminación de masas (Tabla A.2). La elección de la ecuación correcta sigue siendo actualmente objeto de debate, y depende de la aplicación o de las preferencias del autor: generalmente se usa la ecuación exponencial para la corrección de la discriminación de masas en IDMS mientras que para las variaciones naturales se aplica la ecuación de Russell.

**Tabla A.2. Ecuaciones de corrección de la discriminación de masas.**

TIPO DE CORRECCIÓN	ECUACIÓN
Lineal	$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot (1 + K \cdot \Delta M)$
Potencial	$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot (1 + K)^{\Delta M}$
Exponencial	$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot e^{(K \cdot \Delta M)}$
Ecuación de Russell	$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot (m_2/m_1)^f$

El factor de discriminación de masas es una constante normalmente denotada como  $K$  ( $f$  si se considera la Ecuación de Russell), y que independientemente de la ecuación seleccionada se calcula mediante los procedimientos experimentales que se presentan a continuación. Para el cálculo de estos factores es necesario disponer de materiales de referencia cuya composición isotópica es conocida.

La **corrección externa** de la discriminación de masas consiste en medir periódicamente un estándar de composición isotópica certificada (material de referencia isotópico) a lo largo de la secuencia de muestras bajo las mismas condiciones de medida [84]. La diferencia entre la relación isotópica medida experimentalmente en el estándar y el valor teórico de esa relación, permite el cálculo del factor  $K$  y su uso en la corrección de la discriminación de masas de la muestra real. Se considera el procedimiento experimental más sencillo para el cálculo de  $K$  y prácticamente aplicable a todos los casos siempre y cuando se asuma que no hay cambio de la discriminación de masas entre la muestra y el estándar y se evite la contaminación cruzada entre ellos. Los principales inconvenientes de este procedimiento aparecen cuando el factor  $K$  no es constante con el tiempo o cuando la matriz de la muestra afecta al valor del factor  $K$ . Generalmente se crea una secuencia estándar-muestra-estándar (“sample-standard-bracketing”, SSB), con el objetivo de corregir la variación temporal de la discriminación de masas.

Un segundo procedimiento es la **corrección interna**, que se basa en la adición a la muestra de un elemento de masa y factor de discriminación de masas similares a los del elemento de interés, y cuya composición isotópica es conocida [85]. En muchos casos la corrección interna es considerada más adecuada que la externa, ya que el factor  $K$  se mide directamente en la muestra, evitando problemas de deriva instrumental y acortando los tiempos de análisis. La **corrección interna** se puede combinar con el uso de la **deconvolución de perfiles isotópicos** para el cálculo de  $K$  en los casos de medida con isótopos enriquecidos. Además, esta aproximación sólo se puede aplicar en aquellos elementos que poseen tres o más isótopos libres de interferencias espectrales. El valor correcto de  $K$  se obtiene cuando los residuales de la regresión lineal múltiple son mínimos. Este procedimiento tiene las ventajas de la corrección interna y además no requiere la adición de otro elemento extraño a la muestra ya que se vale de los propios isótopos del analito de interés como materiales de referencia isotópicos [86].

La elección de un procedimiento u otro depende de cada caso concreto, del elemento a determinar, del número de isótopos libres de interferencias que pueden ser medidos y de las consideraciones de la propagación de errores.

**Tiempo muerto del detector.** El tiempo muerto ( $\tau$ ) de un detector secuencial, como es un multiplicador de electrones secundarios (SEM), es la diferencia de tiempo mínima requerida por la electrónica del sistema para detectar la llegada de dos iones consecutivos e identificar a cada ion como un evento diferente. Este efecto es más notable cuando la velocidad de llegada de los iones al detector es elevada (mayor de  $10^6$  cuentas $\cdot$ s $^{-1}$ ), ya que son muchos los iones que llegan en un intervalo de tiempo menor que el tiempo muerto, de manera que el sistema de conteo de pulsos registra menos iones de los que realmente han llegado. Por ello, el tiempo muerto del detector debe medirse, corregirse e incluirse regularmente en el software del sistema para una medida fiable de las relaciones isotópicas [87]. En cambio, el carácter analógico de la detección en equipos multicolectores con copas de Faraday evita los efectos de tiempo muerto, ya que se mide la intensidad neta de la corriente eléctrica generada y no el número de pulsos por unidad de tiempo.

#### A.2.2.2. Factores que afectan a la precisión

Mientras que la exactitud de una medida aporta información sobre la cercanía entre el valor medido y el valor teórico de una relación isotópica, la dispersión de los resultados obtenidos de varias mediciones repetidas nos indica cuán precisa ha sido la medida experimental de esa relación [71]. Varios factores relacionados con las fluctuaciones del plasma, el tipo de detector utilizado y el perfil de la señal analítica influyen directamente en la precisión final. Una elevada precisión en la medida de relaciones isotópicas se hace imprescindible principalmente en aquellos casos en los

que es necesario determinar variaciones muy sutiles en la composición isotópica de un determinado elemento, por lo que es interesante conocer la precisión que alcanza cada espectrómetro de masas para saber a cuál recurrir según la precisión requerida en cada ocasión. En la Tabla A.3 se incluyen los valores de precisiones típicas de cada tipo de espectrómetro de masas en forma de desviación estándar relativa (RSD, %) cuando la muestra se introduce de forma continua mediante nebulización líquida.

**Tabla A.3. Precisiones típicas de cada tipo de analizador de masas acoplado a una fuente ICP (se incluye el TIMS para comparación).**

TIPO DE ESPECTRÓMETRO DE MASAS	RANGO TÍPICO DE RSD (%)
Cuadrupolo, Q-ICP-MS	0.1 – 0.5
Doble enfoque, SF-ICP-MS	0.05 – 0.2
Tiempo de vuelo, TOF-ICP-MS	0.05 – 0.2
Multicolector, MC-ICP-MS	0.005 – 0.02
TIMS	0.005 – 0.01

**Estabilidad del haz de iones.** El carácter ruidoso del sistema de introducción de muestra y de la fuente de ICP ocasiona fluctuaciones en el plasma que afectan directamente a la estabilidad del haz de iones, y por consiguiente, a la precisión en la medida de las relaciones isotópicas. Estas oscilaciones tienen mayor influencia en equipos provistos de analizadores secuenciales de tipo cuadrupolo que en equipos multicolectores donde los iones correspondientes a distintas masas se recogen simultáneamente. En los analizadores de cuadrupolo la señal de cada isótopo se recoge de manera secuencial, por lo que cualquier variación de las condiciones del

plasma a lo largo del tiempo tendrá mayor impacto que en los equipos multicolectores, en los que la detección simultánea permite compensar estas variaciones para cada isótopo. Asimismo, en los equipos multicolectores se han propuesto varias modificaciones experimentales para rebajar el ruido proveniente del sistema de introducción de muestra, como es el empleo de autoaspiración para evitar el ruido de la bomba peristáltica, la combinación de una cámara de doble paso Scott con una cámara ciclónica para mejorar la estabilidad de la nebulización, y el uso de nebulizadores de microflujo que reducen la dilución de la muestra mejorando la señal y la estadística de conteo. En el caso de la introducción de muestra utilizando la ablación láser, la estabilidad de la señal se verá comprometida por el proceso de ablación incluso en los equipos de detección simultánea como los multicolectores.

**Estadística de conteo de iones.** La precisión de las relaciones isotópicas obtenidas empleando un multiplicador de electrones secundarios como detector está limitada por la estadística de conteo de iones. Según la estadística de Poisson, la incertidumbre asociada a la medida de las relaciones isotópicas es menor cuanto mayor sea la intensidad de la señal, siendo además proporcional a la raíz cuadrada del número total de cuentas medidas, por lo que para obtener una buena precisión en equipos de cuadrupolo o de doble enfoque con detección simple se debe alcanzar un valor umbral de  $10^4$  cuentas por segundo (CPS). Esto significa que una alta velocidad de llegada de iones mejorará la precisión en un cierto tiempo de conteo total. Estas consideraciones también afectan a la medida de relaciones isotópicas con equipos multicolectores. Para que la estadística de conteo de iones no tenga una influencia sobre la medida de las relaciones isotópicas en sistemas donde se estudian variaciones naturales es necesario un mínimo de  $10^8$ - $10^{10}$  cuentas por segundo. Obviamente, este elevado número de cuentas no puede medirse con multiplicadores de electrones secundarios por lo que las copas de Faraday son los detectores utilizados más habitualmente en equipos multicolectores.

**Perfil de los picos isotópicos.** La forma de los picos isotópicos es muy diferente en función del espectrómetro de masas utilizado. Dado que los picos isotópicos obtenidos en un equipo de tipo cuadrupolo tienen forma triangular la medida debe llevarse a cabo exactamente en el máximo del pico para conseguir precisiones adecuadas: pequeñas variaciones en la posición en el eje  $m/z$  durante la adquisición conducen a variaciones significativas de la intensidad de la señal provocando un empeoramiento en la precisión de las relaciones isotópicas. En cambio, los equipos ICP-MS de doble enfoque generan picos trapezoidales cuando se trabaja a baja resolución, por lo que la medida no es tan crítica en cuanto a la posición en el eje  $m/z$ : ligeros desvíos en la posición de  $m/z$  no tendrán una influencia tan severa en la precisión de las relaciones isotópicas. Sin embargo, el paso de baja a media resolución conlleva un empeoramiento en la eficacia de la transmisión iónica, lo que provoca un cambio en la forma del pico de trapezoidal a triangular dando como resultado precisiones típicas de los ICP-MS de tipo cuadrupolo. De igual modo, en los equipos ICP-MS multicolectores también se obtienen picos trapezoidales cuando se opera en baja resolución, pero a diferencia de lo que ocurre en los equipos de doble enfoque con detección sencilla, existe un modo de trabajo conocido como “pseudo” alta resolución que permite mantener un perfil de pico trapezoidal mientras se trabaja a alta resolución y asegurando una excelente precisión de las relaciones isotópicas.

**Perfil de la señal analítica.** De manera general, la precisión que se alcanza en la medida de relaciones isotópicas en señales continuas y constantes es superior a la obtenida en señales que varían en función del tiempo. Estas últimas proceden del acoplamiento del equipo ICP-MS como detector a técnicas de introducción de muestras alternativas a la nebulización convencional, como son técnicas cromatográficas de separación de gases, líquidos y electroforesis capilar, o técnicas de introducción de muestra sólida como la ablación láser. En estos casos se obtiene una curva de respuesta para cada  $m/z$  en función del tiempo, y el tiempo de integración está limitado por la duración de la señal y por el número de isótopos medidos para poder seguir el perfil de pico para cada  $m/z$ .

Las relaciones isotópicas se pueden calcular por relación de áreas de picos, promediando las medidas de la relación de intensidades punto a punto o representando la intensidad de un isótopo frente a la de otro isótopo de manera que la pendiente de la línea que correlaciona ambas intensidades nos proporcione la relación isotópica entre ambos. La elección de una u otra forma depende de la duración del pico y del tipo de detección del espectrómetro de masas (secuencial o simultánea). Para las medidas de relaciones isotópicas por ablación láser con equipos multicolectores hemos utilizado la regresión lineal múltiple para el cálculo de las relaciones isotópicas.



## A.3. Ablación láser - ICP-MS como técnica de análisis directo de sólidos

### A.3.1. Principios de la radiación láser

El término LASER es un acrónimo del inglés “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” que en español se define como “amplificación de la luz mediante la emisión estimulada de radiación”, y que hace referencia a un dispositivo que produce luz monocromática, colimada, coherente y de muy alta intensidad. El concepto de emisión estimulada fue inicialmente elaborado por Albert Einstein en 1917 [88], aunque no fue hasta 1954 cuando Charles Townes demostró este principio de manera práctica con la fabricación del primer máser [89]. El desarrollo en este campo no se hizo esperar y en 1960 Theodore Maiman desarrolló el primer láser por estimulación de un cristal de rubí, que fue utilizado en el campo de la oftalmología [90].

Todo dispositivo láser tiene tres componentes principales: un medio activo, una fuente de alimentación y un sistema de retroalimentación. El **medio activo** es la parte más importante de la fuente láser y está constituido por moléculas que mediante una fuente de energía externa se excitan y producen una emisión de fotones al exterior. El medio activo define la frecuencia de emisión del láser y puede consistir en un cristal sólido (rubí, Nd:YAG), un semiconductor (GaAs), una disolución de un colorante orgánico o un gas (argón, kriptón,...). La **fuente de alimentación** es necesaria para excitar o bombear los átomos de este medio activo hacia un nivel cuántico superior para que después éstos puedan emitir fotones que se propaguen en el medio activo y vayan generando más fotones iguales (coherentes). Para favorecer esta generación de fotones en cadena se necesita un **sistema de retroalimentación** consistente en dos espejos, uno totalmente reflectante y otro parcialmente reflectante, que permitan el

viaje de ida y vuelta de los fotones en todo el medio de manera reiterada. En este recorrido cada fotón estimula la formación de otro idéntico, de manera que cuando estos fotones superan una cantidad de energía determinada pueden ser liberados generando un haz estrecho y sumamente intenso. Un esquema general de un sistema láser se ilustra en la Figura A.13.

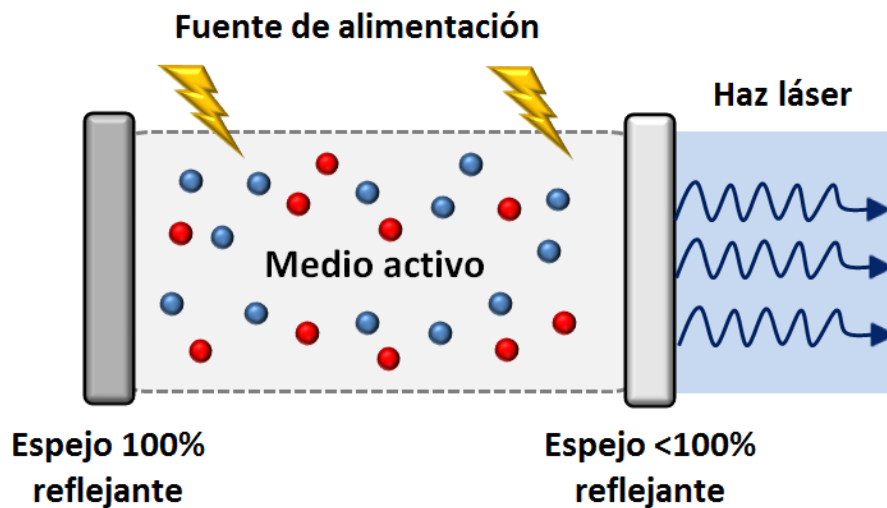


Figura A.13. Esquema de un sistema láser genérico.

Varios parámetros caracterizan a cada sistema láser, como la longitud de onda de emisión, dependiente del medio activo; la duración de la emisión, según opere en modo continuo o pulsado; y la potencia o energía del haz.

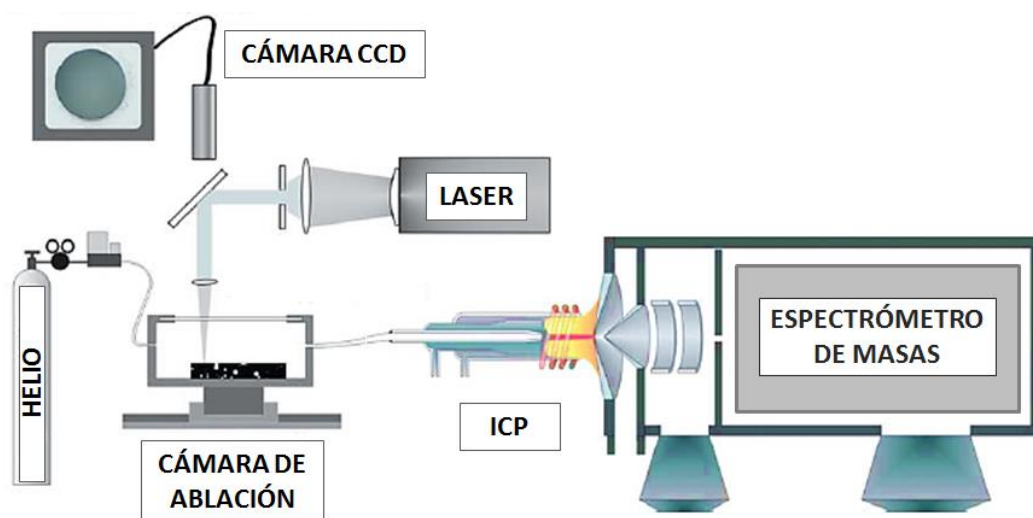
El desarrollo de este tipo de dispositivos les ha hecho indispensables en aplicaciones militares, médicas, en el mundo de las telecomunicaciones y en industria. En investigación científica numerosas técnicas cuentan con los láseres como pieza fundamental, como la técnica LIDAR (Light Detection And Ranging) para la monitorización de la contaminación atmosférica [91]; la técnica MALDI (Desorción de la matriz asistida por láser) para la detección de biomoléculas [92], o la ablación láser acoplada a espectrometría de masas (LA-ICP-MS) para el análisis de muestras sólidas [93].

### A.3.2. Ablación láser acoplada a espectrometría de masas (LA-ICP-MS)

El empleo de los láseres para el análisis de trazas, relaciones isotópicas y mapeo de superficies hizo de la ablación láser ICP-MS una potente herramienta alternativa a técnicas como la fluorescencia de rayos X (XRF) [94], la descarga luminiscente (GD-MS) [95] o la espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS) [96]. Desde 1985, año en que por primera vez Alan Gray presentó sus estudios basados en el acoplamiento de la ablación láser al ICP-MS para el análisis de rocas [97], las aplicaciones de esta metodología híbrida han aumentado exponencialmente. De hecho, actualmente es la técnica de espectrometría de masas inorgánica más frecuentemente empleada para el análisis directo de sólidos dada su idoneidad para la determinación multielemental a nivel de trazas y ultratrazas [98], análisis de relaciones isotópicas [99] y mapeo de superficies [100]. Además, es compatible con gran variedad de muestras, se considera una técnica mínimamente destructiva con buena resolución lateral, no requiere largo tratamiento de las muestras y sus análisis son rápidos [101].

La ablación láser acoplada a espectrometría de masas funciona de la siguiente manera: un haz láser pulsado de alta energía se focaliza sobre la superficie de la muestra a analizar en una atmósfera de gas inerte a presión atmosférica. La radiación láser impacta sobre la superficie vaporizando una pequeña cantidad de material cuyas partículas forman un aerosol seco que es transportado hacia el ICP donde se vaporiza, atomiza e ioniza para su posterior análisis en el espectrómetro de masas. Dada la pequeña porción de material que se arranca de la superficie, la alteración de la muestra es casi despreciable, lo que ha hecho de la ablación láser acoplada a espectrometría de masas una técnica de referencia en estudios forenses [102], medioambientales [103], arqueométricos [104], metalúrgicos [105], de materiales radiactivos y nucleares [106] y en el campo de la proteómica [107], la biología [108] y la industria farmacéutica [109].

En la Figura A.14 se muestra un esquema de un sistema LA-ICP-MS genérico:



**Figura A.14. Esquema de un sistema LA-ICP-MS genérico [110].**

Como se puede ver en la Figura A.14, el acoplamiento del sistema de ablación láser con el espectrómetro de masas no resulta complejo. Generalmente, se lleva a cabo por conexión directa de la salida de la cámara de ablación a la antorcha de la fuente ICP a través de un tubo de Tygon inerte. En otras configuraciones es necesaria también la entrada en el ICP de disolución por nebulización convencional, por lo que a la salida de la antorcha se coloca una pieza en Y que permite la introducción simultánea del aerosol sólido y la disolución [111]. En el campo de la geocronología también es habitual dividir el flujo de salida de la cámara de ablación hacia dos espectrómetros de masas diferentes a través de una pieza en forma de Y [112].

Las ventajas del análisis directo de sólidos mediante LA-ICP-MS sobre el análisis por ICP-MS mediante nebulización convencional se resumen en la Tabla A.4.

Tabla A.4. Comparación de las técnicas ICP-MS y LA-ICP-MS [113].

	ICP-MS	LA-ICP-MS
<b>Preparación de muestra</b>	Generalmente simple	Despreciable
<b>Cuantificación</b>	Excelente	Difícil, SRM necesarios
<b>Límites de detección</b>	0.001-0.1 pg·mL <sup>-1</sup>	0.0001-0.1 µg·g <sup>-1</sup>
<b>Cantidad de materia</b>	ng-fg	mg-µg
<b>Precisión (trazas)</b>	± 1-5 %	± 2-10 %
<b>Resolución lateral</b>	-	> 10 µm
<b>Resolución en profundidad</b>	-	> 1 µm
<b>Paso crítico</b>	Preparación muestra	Cuantificación
<b>Riesgo de contaminación</b>	Alto	Bajo
<b>Limitaciones</b>	Interferencias	Interferencias Inhomogeneidades

Cabe destacar que la heterogeneidad de la muestra es una desventaja de la ablación láser cuando ésta se utiliza para la determinación de concentraciones en el material estudiado. Sin embargo, cuando el objetivo es estudiar materiales heterogéneos la ablación láser es la única forma de introducción de muestras al ICP que permite estos estudios.

### A.3.2.1. Conceptos básicos del análisis de sólidos mediante LA-ICP-MS

El análisis de sólidos mediante LA-ICP-MS se basa en la conjunción de tres etapas: el proceso de ablación y la generación del aerosol seco, el transporte de este aerosol y la atomización e ionización de las partículas en el ICP. Idealmente, durante el proceso de ablación y generación del aerosol no debería producirse modificación de la composición elemental en el cráter, y las partículas arrancadas deberían tener la misma composición estequiométrica que la muestra original. La matriz circundante debería permanecer inalterada química y físicamente, y la redeposición de partículas alrededor del cráter de bordes afilados y nítidos debería ser mínima. Además, durante el proceso de transporte del aerosol desde la cámara de ablación hasta la fuente ICP-MS no debería producirse pérdida de muestra, y la atomización e ionización de estas partículas debería desarrollarse completamente sin modificación de las condiciones del plasma [114]. Sin embargo, estas suposiciones difieren de la realidad en tanto en cuanto durante cualquiera de estas tres etapas, si no se optimizan las condiciones de análisis, puede producirse el enriquecimiento preferente del aerosol en un determinado elemento, fenómeno conocido como **fraccionamiento elemental**. Generalmente, el aerosol se enriquece en los elementos más volátiles, por lo que la fracción de partículas que llegan al ICP-MS no es representativa de la composición de la muestra ablacionada. Por ello, para evitar los indeseados efectos del fraccionamiento elemental y que los procesos de arrancado de material, transporte y medida en el espectrómetro de masas procedan adecuadamente, es necesario tener en cuenta el efecto que ciertos parámetros pueden tener sobre todo el conjunto de etapas (Tabla A.5).

Tabla A.5. Parámetros relevantes y sus efectos en el análisis por LA-ICP-MS [110].

	Muestra	Láser	Transporte	ICP-MS
Parámetros	Absorbancia	Longitud onda	Volumen cámara	Potencia RF
	Reflectividad	Duración pulso	Diámetro tubo	Potencial plasma
	Capacidad calorífica	Tamaño spot	Longitud tubo	Flujos gases
	Conductividad calorífica	Fluencia	Gas portador	Composición gas
		Irradiancia		Posición antorcha
		Frecuencia repetición		Config. antorcha
		Modo ablación		Presión interfase
		Gas ambiente		Voltaje lentes
			Adquisición datos	
Influencia	Tasa de ablación	Profund. penetración	Velocidad gas	T plasma
	Composición material	T superficie	Dispersión de señal	Vaporización
	Morfología material	Tasa de ablación	Eficiencia transporte	Atomización
		Composición vapor		Ionización
		Tamaño partícula		Extracción iones
		Composición aerosol		Transmisión iónica
		Material transportado		Sensibilidad
				Discriminación masas

El proceso de ablación láser se fundamenta en el fenómeno de absorción de radiación por parte de un material y los efectos que ello conlleva. El grado en el que se desarrolla esta interacción entre la radiación láser y la muestra depende de las características del propio láser, de la muestra y del ambiente en el que se lleve a cabo.

Por ejemplo, uno de los parámetros más influyentes en esta interacción es la **longitud de onda ( $\lambda$ )** de la radiación, característica inherente al medio activo de cada tipo de láser. Los láseres que emiten en el rango ultravioleta (UV) son más energéticos que los que emiten en la zona del infrarrojo (IR). Se ha comprobado que los láseres UV producen menor efecto térmico sobre la superficie ablacionada ya que se adentran

menos en la muestra que los láseres de IR, hecho que minimiza el fraccionamiento elemental asociado al proceso de ablación [101]. Igualmente, la **densidad energética (fluencia)** bajo la que se trabaja, así como la **duración del pulso** de radiación son parámetros estrechamente ligados a la eficiencia de la ablación [115]. Cuando se opera a fluencias altas, dependiendo de la longitud de onda del láser y de la matriz de la muestra, el material arrancado es parcialmente ionizado en la cámara de ablación, formando una especie de plasma de la muestra justo por encima de la superficie de ésta. Esta nube de partículas ionizadas, cuya forma es muy irregular, absorbe una porción de la radiación incidente evitando que la energía llegue en su totalidad a la superficie de la muestra y pueda usarse para un arrancado eficiente del material. Este fenómeno se conoce como **“plasma shielding”** y afecta directamente a la reproducibilidad de la velocidad de ablación [116]. Este fenómeno se minimiza trabajando con láseres de UV y en un ambiente de helio. La conductividad térmica del helio es mucho mayor que la del argón, por lo que disipa mejor la energía y favorece la formación del aerosol.

La **duración del pulso** también tiene influencia directa sobre el fraccionamiento elemental. Los láseres que generan pulsos en el rango de los femtosegundos (fs) son más adecuados que aquellos con pulsos “largos” (rango de los nanosegundos, ns), porque apenas originan fraccionamiento elemental dado que la duración del pulso ( $10^{-15}$  s) es más corta que el tiempo de enfriamiento de los electrones ( $10^{-13}$  s -  $10^{-12}$  s) y que el tiempo de calentamiento de la red ( $>10^{-12}$  s) [117]. Además, con el empleo de pulsos largos (rango ns) se observa una mayor pérdida de energía derivada del calentamiento del material circundante (Figura A.15). Este fenómeno también se observa con materiales de una alta conductividad térmica, como metales y aleaciones. Por ello, la **naturaleza** de la **muestra** también juega un papel importante. Aunque prácticamente todo tipo de muestras son susceptibles a su análisis mediante LA-ICP-MS, aquellos materiales que presenten menor reflectividad de su superficie serán más eficientemente ablacionados ya que la pérdida de energía del haz láser será mínima.



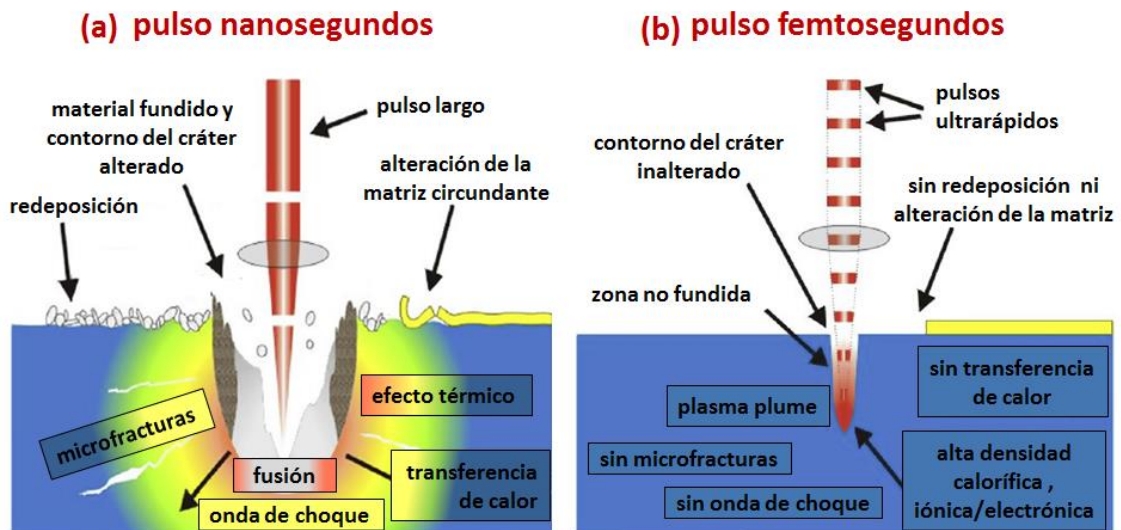


Figura A.15. Interacción láser-materia en función de la duración del pulso: (a) pulso de nanosegundos y (b) pulso de femtosegundos [118].

Como ya se ha comentado anteriormente, la **composición** del **gas** en el que se lleva a cabo la ablación tiene influencia directa en la formación del aerosol y en la **distribución del tamaño de partícula**. Durante el proceso de ablación se forma una especie de “microplasma” caliente que se expande en el gas de la cámara. Al contacto con el gas circundante, esta nube condensa formando el aerosol sólido. El tamaño de partícula del aerosol, su distribución, forma y composición elemental dependerán fuertemente de la eficiencia del gas circundante para disipar el calor. En este contexto, el helio se elige preferentemente frente al argón ya que su mayor conductividad térmica favorece que el calor se disipe rápido aumentando así la sensibilidad y evitando que las partículas pequeñas condensen hacia partículas más grandes y se depositen en los alrededores del cráter.

Por su parte, para que el **transporte del aerosol** se produzca sin pérdida de materia se debe tener en cuenta el diseño de la cámara de ablación, que permita una rápida evacuación del material; la distancia total del tubo que conecta el sistema láser con la

antorcha, que debe ser lo más corta posible para evitar pérdidas o deposiciones de material; y el gas portador, cuyo flujo determinará la velocidad de transporte.

En definitiva, la dupla longitud de onda corta (UV) – pulsos cortos (fs) se presenta actualmente como la configuración más adecuada para una ablación eficiente con bajo efecto de fraccionamiento elemental. Un menor tiempo de interacción de la radiación con la materia permite un proceso de ablación menos térmico, mayor homogeneidad del tamaño de las partículas, menor redeposición del material ablacionado y mayor resolución espacial [118].

Tras años de investigación, se sigue considerando que el talón Aquiles de esta metodología es la cuantificación, limitada principalmente por las inhomogeneidades del propio material en estudio. Para contrarrestar estos efectos, el uso de un estándar interno resulta indispensable, y se han desarrollado diversas metodologías de calibración en torno a esta idea: calibración matrix-matched con estándares sólidos [119], nebulización de estándares en disolución [120] o análisis por dilución isotópica [121].

### A.3.2.2. LA-ICP-MS para la medida de relaciones isotópicas en muestras sólidas

- **Medida de relaciones isotópicas de alta precisión: antecedentes**

La medida exacta y precisa de las relaciones isotópicas es crucial en un sinnúmero de aplicaciones como son la evaluación de la variabilidad isotópica natural para estudios de datación [122], la determinación de elementos radiogénicos en la industria nuclear para el control de los residuos [123] o los estudios de trazabilidad mediante el uso de isótopos enriquecidos [26].

Durante un largo periodo de tiempo la espectrometría de masas con fuente de ionización térmica (TIMS) se estableció como técnica de referencia para la medida altamente precisa (0.005 %, RSD) de las relaciones isotópicas de elementos pesados [124]. Ejemplo de ello es que la mayor parte de las recomendaciones de la IUPAC para los pesos atómicos de los elementos están calculadas en base a los datos obtenidos por esta técnica [125]. Ahora bien, la introducción en el mercado de los equipos ICP-MS multicolectores supuso un importante avance en el desarrollo de las técnicas analíticas disponibles para la medida precisa (0.002 %, RSD) de relaciones isotópicas, ya que permitió superar ciertas limitaciones operacionales del TIMS [126].

Mientras que la alta energía de la fuente de ionización de plasma hace que ésta apenas presente restricción respecto a la energía de ionización de los elementos en estudio, la ionización en la fuente del TIMS presenta una eficiencia limitada para aquellos elementos con una energía de ionización superior a los 7 eV. Esta mayor eficiencia de ionización de la fuente de plasma la hace aún más sensible que la fuente térmica.

Además, el plasma opera a presión atmosférica y permite la introducción directa de la muestra como un aerosol sólido, líquido o gaseoso, mientras que en TIMS, la muestra debe ser exhaustivamente purificada previa a su deposición en estado sólido sobre el filamento, lo que conlleva largos y tediosos procesos de tratamiento de muestra. Asimismo, en la fuente de TIMS la muestra debe ser calentada cuidadosamente para obtener un haz iónico estable, lo que junto al proceso previo de purificación de la misma, hace que el tiempo de análisis se alargue en comparación con la medida por ICP-MS multicolector.

La precisión y exactitud en la medida de las relaciones isotópicas mediante cualquier técnica de espectrometría de masas se ve limitada por los efectos de fraccionamiento isotópico durante la ionización, el transporte del analito y/o la separación en el analizador. En este sentido, el origen del fraccionamiento isotópico en TIMS proviene de la evaporación preferencial de los isótopos más ligeros y volátiles en el filamento, mientras que en ICP-MS la desviación preferencial de los iones ligeros del centro del haz iónico debida a repulsiones es la principal fuente del enriquecimiento del haz en los iones más pesados [127]. Los efectos de fraccionamiento isotópico en TIMS son dependientes del tiempo, están en el orden de las partes por mil y suelen ser estables y sistemáticos. Por su parte, los efectos isotópicos en ICP-MS, normalmente conocidos como discriminación de masas, se encuentran en el rango de los tantos por ciento y no dependen del tiempo debido al casi estado estacionario en el que opera el equipo durante el análisis [125].

Aunque el TIMS sigue siendo una de las técnicas más utilizadas en laboratorios de geoquímica, geocronología e incluso en la industria nuclear para la investigación medioambiental, el acoplamiento de la ablación láser a equipos ICP-MS multicolectores ha ido ganando popularidad debido a la conjunción de la alta precisión obtenida mediante MC-ICP-MS y el análisis directo de muestras sólidas con alta resolución espacial ofrecido por la ablación láser.

- **Carácter transitorio de la señal analítica: interferencias espectrales, cálculo de relaciones isotópicas y corrección de la discriminación de masas**

La mejor precisión en la medida de relaciones isotópicas mediante espectrometría de masas se alcanza a través de señales estacionarias de varios minutos de duración. Sin embargo, todo tipo de acoplamiento de un espectrómetro de masas con un sistema cromatográfico, de electroforesis capilar o de ablación láser, conduce a señales transitorias de generalmente muy corta duración: desde menos de 5 segundos para cromatografía de gases hasta 60 segundos para cromatografía líquida [128].

En el caso concreto del acoplamiento LA-ICP-MS las señales generadas son muy ruidosas incluso cuando se comparan con otro tipo de señales transitorias. Por ello, el empleo de ICP-MS multicolectores minimiza los efectos de estas fluctuaciones ya que la detección de todas las relaciones  $m/z$  en estudio se lleva a cabo de manera simultánea. Además, resulta muy útil examinar visualmente las señales en función del tiempo mientras que el proceso de ablación se está llevando a cabo, para no eludir información importante para el operador y poder optimizar las condiciones de operación en cualquier momento de la sesión de medida [129].

Para una medida exacta y precisa de las relaciones isotópicas en señales transitorias obtenidas mediante LA-ICP-MS, el cálculo de las relaciones isotópicas, la corrección de las interferencias espectrales y la corrección de la discriminación de masas son ligeramente diferentes a las aplicadas para la determinación de relaciones isotópicas en disolución, aunque se fundamentan en los mismos principios.

### Corrección de las interferencias espectrales

La gran ventaja de la ablación láser acoplada a ICP-MS frente a otras técnicas es el análisis directo de muestras sólidas sin apenas preparación previa de las mismas. Esto a su vez entraña una pequeña dificultad a la hora de obtener relaciones isotópicas con alta precisión y exactitud: como la matriz de la muestra no ha sido eliminada posibles interferentes del analito siguen presentes en la misma y pueden causar desviaciones en el valor de la relación isotópica medida.

Para controlar y minimizar la contribución de los interferentes se han descrito diversas metodologías. Una de las más habituales se basa en la **corrección matemática** de la contribución del interferente. Por ejemplo, el análisis de relaciones isotópicas de plomo por LA-MC-ICP-MS no se ve fuertemente afectado por interferencias isobáricas atribuibles a la matriz, a excepción de la interferencia de  $^{204}\text{Hg}$  sobre  $^{204}\text{Pb}$ . Esta problemática se puede abordar de dos maneras. Para eliminar la contribución del mercurio derivada de los gases del sistema se adquiere la señal de fondo de los gases a la masa del interferente en cuestión antes de empezar la ablación, y se resta a la señal obtenida durante la ablación. Por su parte, para corregir la posible presencia de mercurio en la muestra se suele medir la señal del isótopo  $^{202}\text{Hg}$  y usando las abundancias naturales de  $^{202}\text{Hg}$  y  $^{204}\text{Hg}$  se resta la contribución de  $^{204}\text{Hg}$  sobre el isótopo minoritario del plomo [130].

Otra corrección matemática también útil es la **deconvolución de perfiles isotópicos (IPD)**. En el ejemplo concreto de la medida de relaciones isotópicas de bario enriquecido en otolitos de peces, el xenón se presenta como principal interferente del bario a las masas 130, 132, 134 y 136. Como la abundancia isotópica del xenón natural es conocida, se incluye en la matriz de cálculo de las fracciones molares, obteniéndose así la contribución de éste en la muestra [26].

### Cálculo de las relaciones isotópicas

Una metodología habitualmente utilizada para el cálculo de relaciones isotópicas se basa en la **relación de áreas**. Al igual que en aplicaciones cromatográficas, se integra el área por debajo de cada una de las curvas correspondientes a cada relación  $m/z$  y se halla la relación entre los perfiles deseados [131]. En aquellas ocasiones en que las muestras objeto de estudio son homogéneas, como es el caso de los vidrios de referencia (SRM NIST 61X), las relaciones isotópicas se pueden calcular como la **media** de las relaciones isotópicas calculadas **punto a punto** [132].

Recientemente Fieztke y colaboradores [133] presentaron una metodología de cálculo de las relaciones isotópicas basada en el uso de las respuestas simultáneas de todos los isótopos medidos. Mediante esta metodología se tiene en cuenta la señal de cada masa a lo largo de todo el proceso de análisis, lo que suele incluir una etapa de ablación y dos etapas de recogida de la señal de fondo, antes y después de la ablación respectivamente. Se representan las señales a las masas deseadas y mediante mínimos cuadrados se obtiene la relación isotópica a partir de la **pendiente** de la recta de regresión que relaciona las señales de estas dos masas. Este método es aplicable de manera general a todo tipo de medidas mediante LA-ICP-MS.

Una última alternativa para el cálculo de relaciones isotópicas es el uso de modelos de mezclas finitas, o como se suele conocer por su nombre en inglés, “**finite mixture model**”. Se suele aplicar para calcular un número desconocido de huellas isotópicas diferentes asociadas a una relación isotópica: es como si la relación isotópica experimentalmente medida estuviese compuesta por varias componentes. Un algoritmo es el encargado de asociar los datos en grupos, que representan las diferentes huellas isotópicas, y que se calculan también a través de la pendiente de las rectas de regresión [132].

### Corrección de la discriminación de masas

Al igual que en la medida de relaciones isotópicas en disolución, el efecto de la discriminación de masas es inevitable y por eso debe ser corregido para obtener resultados con gran exactitud.

La **corrección externa** se lleva a cabo de la misma manera que para los análisis en disolución, con la única diferencia de que en este caso los materiales de referencia se presentan en forma sólida, generalmente en pastillas. Los materiales más universalmente utilizados son los vidrios de referencia NIST SRM 61X, que incluyen un gran número de elementos y se presentan bajo un amplio rango de concentraciones. Se intercalan entre las muestras a lo largo de la sesión de medida con el fin de calcular el factor de discriminación de masas que luego se aplicará para las muestras en estudios, de manera análoga a lo que se hace en disolución [130].

Por su parte, la **corrección interna** se puede llevar a cabo desde tres aproximaciones diferentes. Una de ellas se basa en calcular el factor de discriminación de masas a partir de alguna relación isotópica invariable del elemento analizado, como es el caso de la relación isotópica  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  [134]. Esta metodología presenta la limitación de ser solamente aplicable para aquellos elementos que posean al menos una relación isotópica inalterable. Por ello, una alternativa a esta metodología se basa en nebulizar simultáneamente durante la ablación una disolución de un elemento que tenga una masa y un comportamiento en el plasma similares a los del analito, y que sirva para el cálculo del factor de discriminación. Recientemente F. Vanhaecke y colaboradores utilizaron la nebulización de una disolución de cobre para la corrección de la discriminación de masas de las relaciones isotópicas de zinc en muestras de crustáceos por LA-SF-ICP-MS [111].



Finalmente, una última alternativa es la corrección interna mediante deconvolución de perfiles isotópicos (IPD). Ejemplo de este procedimiento es el ya mencionado estudio de relaciones isotópicas enriquecidas de bario en otolitos [26]. En esta caso esta herramienta matemática toma las abundancias del bario como si fueran “materiales de referencia isotópicos”, y a partir de ahí minimizando el error residual del ajuste matemático se calcula el factor de discriminación de masas. Como ya hemos comentado antes, esta herramienta matemática solo puede aplicarse en estudios con isótopos enriquecidos ya que asume que las relaciones isotópicas del elemento de abundancia isotópica natural son invariables.



## **B. Objetivos**



La presente Tesis Doctoral tiene como objetivo **el desarrollo de nuevas metodologías para la medida directa de relaciones isotópicas en muestras sólidas mediante ablación láser acoplado a ICP-MS y su aplicación a la resolución de distintos problemas analíticos dentro del campo de los estudios de trazabilidad**. Se considerarán tanto sistemas naturales, donde la medida de relaciones isotópicas sea utilizable para definir el origen de un material (arqueología y denominación de origen de alimentos), como sistemas artificiales donde se utilizan isótopos enriquecidos para marcar sustancias u organismos. Dentro de este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos parciales:

**1.** Desarrollo de una metodología para la medida de relaciones isotópicas de molibdeno por ablación láser ICP-MS y su aplicación a la detección de marcas isotópicas cuando se utilizan mezclas de dos isótopos enriquecidos de molibdeno. Esta metodología se aplicará tanto a la detección de alubias (faba asturiana) marcadas isotópicamente como al desarrollo de una metodología de codificación de tintas y documentos mediante una doble marca isotópica de molibdeno.

**2.** Desarrollo de una metodología para la medida de relaciones isotópicas de plomo por ablación láser ICP-MS y su aplicación al estudio de heterogeneidades en minerales de cobre de la mina La Profunda (Cármenes, León). Dentro de este objetivo parcial se estudiará la posibilidad de la medida directa de relaciones isotópicas de plomo en muestras arqueológicas tras su comparación con el método tradicional de análisis en disolución.

**3.** Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio en presencia de rubidio por ablación láser ICP-MS. Se evaluará la regresión lineal múltiple para corregir la contribución del  $^{87}\text{Rb}$  a la señal del  $^{87}\text{Sr}$  y se aplicará la metodología al estudio de diversas matrices sólidas bajas en rubidio (minerales como yeso y calcita) así como a muestras con alto contenido en rubidio (faba asturiana). En este último caso se evaluará la posibilidad de utilizar las relaciones isotópicas de estroncio en faba asturiana para certificar el origen geográfico de este alimento.

## C. Experimental





## C.1. Instrumentación

### C.1.1. Espectrómetros utilizados en este trabajo

A lo largo de la presente Tesis Doctoral se hizo uso de dos espectrómetros de masas ICP situados en el Edificio Severo Ochoa de los Servicios Científico- Técnico (SCTs) de la Universidad de Oviedo (Campus de El Cristo), y cuyas características pasamos a resumir en las siguientes líneas.

#### C.1.1.1. ICP-MS de tipo cuadrupolo

El equipo de ICP-MS de tipo cuadrupolo empleado en este trabajo es el modelo Agilent 7500ce de la compañía japonesa Agilent Technologies (Tokio, Japón), que está equipado con una celda de colisión/reacción de tipo octapolo (ORS) como se puede ver en la Figura C.1. La muestra líquida se aspira con ayuda de una bomba peristáltica cuya velocidad se controla a través del software del propio equipo. El sistema de nebulización está compuesto por un nebulizador concéntrico tipo Meinhard de vidrio acompañado de una cámara de nebulización refrigerada entre 2 y 4 °C. Dispone de una antorcha de cuarzo tipo Fassel con un tubo inyector de 1.5 mm de diámetro interno. Tanto el cono de muestreo (“sampler”) como el cono de extracción (“skimmer”) están hechos de níquel y sus orificios tienen de diámetro interno 1 y 0.4 mm, respectivamente. La celda de colisión/reacción se sitúa entre el sistema de lentes y el analizador de cuadrupolo, y puede presurizarse con hidrógeno, helio, algún gas opcional o una mezcla de los anteriores. Es conveniente destacar que a lo largo de todo este estudio no fue necesario presurizar esta celda, y se operó en el modo de trabajo “reaction mode off”. Dispone de un detector de multiplicador de electrones

secundarios que permite la detección secuencial en modo digital o analógico, dependiendo del flujo de iones incidente.

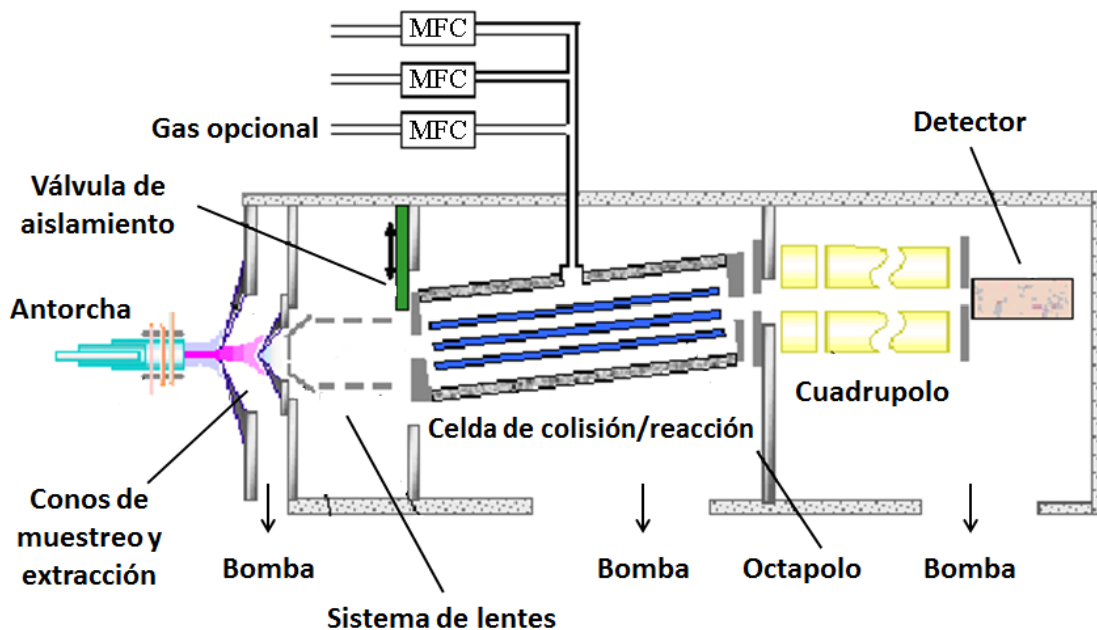


Figura C.1. Esquema del equipo ICP-MS de cuadrupolo Agilent 7500 ce.

La posición de la antorcha y los voltajes de las lentes son optimizados diariamente para conseguir una sensibilidad óptima haciendo pasar una disolución de  $1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de Li, Y y Tl en  $\text{HNO}_3$  1% (v/v). Se monitorizan las señales de  ${}^7\text{Li}^+$ ,  ${}^{89}\text{Y}^+$  y  ${}^{205}\text{Tl}^+$ , cubriendo así un amplio rango de masas, la relación  ${}^{156}\text{CeO}^+ / {}^{140}\text{Ce}^+$  para controlar la contribución de óxidos y la relación  ${}^{70}\text{Ce}^{2+} / {}^{140}\text{Ce}^+$  con el fin de minimizar la contribución de las especies doblemente cargadas.

### C.1.1.2. ICP-MS de doble enfoque multicolector

Para la medida de relaciones isotópicas con alta precisión se usó un ICP-MS de tipo multicolector modelo Neptune Plus de la compañía Thermo Fischer Scientific (Bremen, Alemania). El esquema de este equipo se ilustra en la Figura C.2. La muestra líquida entra en el equipo por autoaspiración y se nebuliza a través de un nebulizador microconcéntrico de PFA (perfluoroalcoxi) con un flujo de  $100 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  (Savillex, AHF Analyssentechnik, Tübingen, Alemania), que trabaja junto con una cámara de nebulización combinada (ciclónica y de doble paso) hecha de cuarzo.

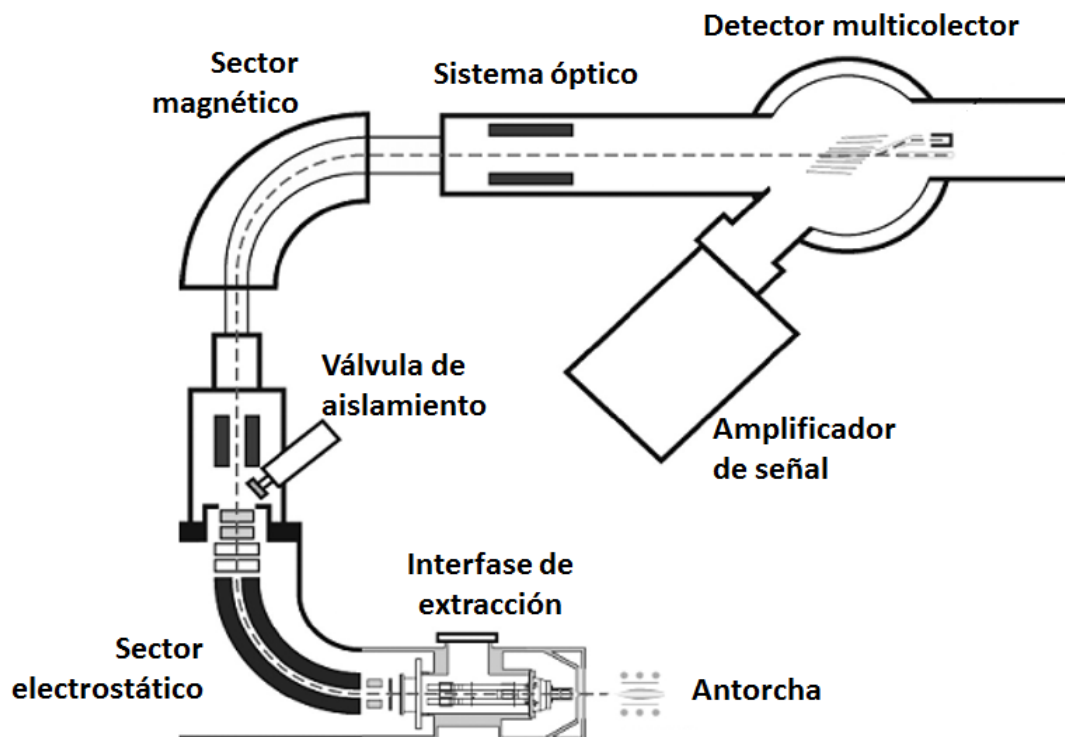


Figura C.2. Esquema del equipo ICP-MS multicolector Neptune Plus.

Trabajando en modo de resolución bajo, la posición de las copas, voltaje de lentes, posición de la antorcha y flujos de gases se optimizan cada día para maximizar la señal de los analitos en estudio, haciendo pasar una disolución de  $50 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de Tl, y  $200 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de Sr (SRM NIST 987), Pb (SRM NIST 981) y U, en medio  $\text{HNO}_3$  3% (v/v) con trazas de HF (Thermo Fischer Scientific, Bremen, Alemania).

En la Tabla C.1 se recoge un breve resumen de las características diferenciadoras entre el equipo de cuadrupolo y el multicolector utilizados en el presente trabajo para la medida de relaciones isotópicas.

**Tabla C.1. Comparativa de los equipos ICP-MS utilizados a lo largo de este trabajo.**

		<b>ICP-Q-MS (Agilent 7500 ce)</b>	<b>MC-ICP-MS (NEPTUNE Plus)</b>
<b>NEBULIZACIÓN</b>	<b>Nebulizador</b>	Concéntrico Meinhard (vidrio)	Micro-concéntrico 100 $\mu\text{L}$ (PFA)
	<b>Cámara</b>	Scott doble paso (cuarzo)	Scott + ciclónica (cuarzo)
	<b>Bomba</b>	Peristáltica	Autoaspiración
<b>ANALIZADOR</b>		Cuadrupolo	ESA + Sector magnético
<b>RESOLUCIÓN</b>		Baja	Baja, media, alta, pseudo-alta
<b>DETECCIÓN</b>		SEM (secuencial)	9 copas de Faraday (simultáneo)

## C.1.2. Sistema de ablación láser

El sistema de ablación láser que se acopló a los dos equipos ICP-MS previamente descritos es un sistema de la compañía estadounidense Cetac Technologies (Omaha, NE, Estados Unidos) modelo CETAC LSX-213 equipado con un láser de Nd:YAG operando en el ultravioleta lejano (213 nm) con una anchura de pulso menor de 6 ns. El esquema general del sistema se ilustra en la Figura C.3.

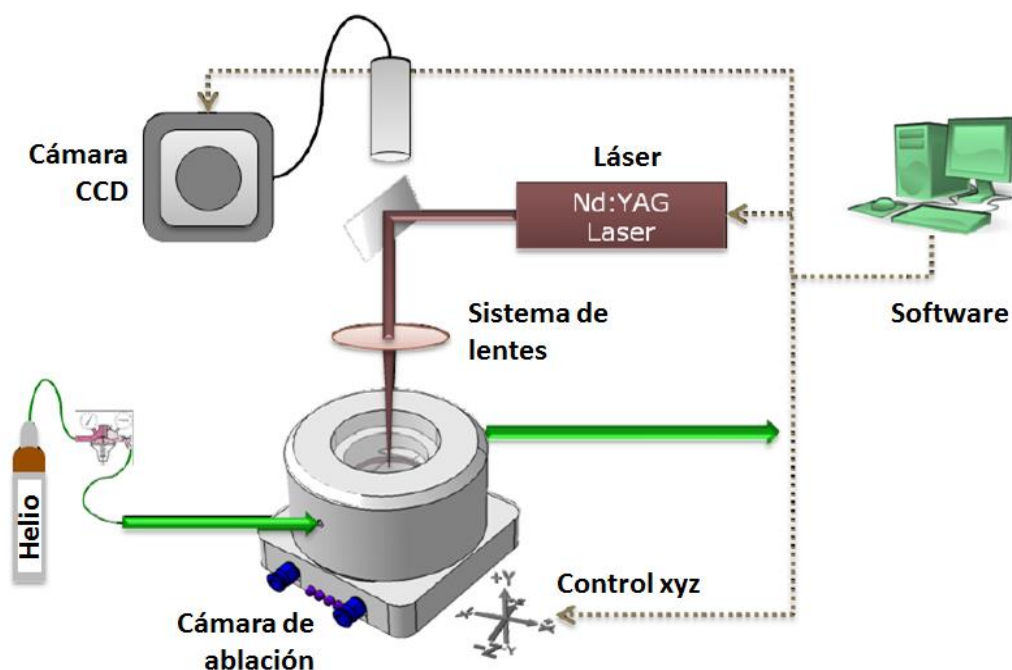


Figura C.3. Esquema del sistema láser empleado en este trabajo [135].

La energía del láser es modulable en el rango 0-100 % con un valor máximo de 5.6 mJ, mientras que el tamaño del haz puede variar entre 10-200  $\mu\text{m}$ . Estos parámetros, junto con la frecuencia de disparo (1-20 Hz), la velocidad de barrido, el número de disparos o el retardo del disparador, son controlados a través del programa Digilaz 213™. La cámara de ablación, con un volumen efectivo de 60  $\text{cm}^3$ , está situada sobre una plataforma que permite su movimiento en los ejes X-Y dejando libre el eje Z para enfocar el láser a través de una cámara CCD controlada vía software.

El material ablacionado es transportado hasta el plasma por un flujo de helio a través de un tubo de Tygon de alta pureza revestido de Teflón (1/4" de diámetro externo y 1/8" de diámetro interno). En condiciones de plasma seco, este tubo se conecta directamente a la antorcha, mientras que operando bajo condiciones de plasma húmedo es necesaria una pieza de cuarzo en forma de Y que conecte el tubo proveniente del láser y la cámara de nebulización a través de la cual pasa un flujo en forma líquida.

Una vez acoplado el sistema de ablación láser al equipo de tipo cuadrupolo, la optimización diaria se lleva a cabo mediante ablación en continuo (barrido en línea) del material de referencia "Glass Standard" NIST 612 ("National Institute of Standards and Technology", Gaithersburg, MD, Estados Unidos) buscando una máxima intensidad de las señales de los isótopos  $^{59}\text{Co}^+$ ,  $^{139}\text{La}^+$ ,  $^{232}\text{Th}^+$  y  $^{238}\text{U}^+$ . Igualmente se monitoriza la relación  $^{238}\text{U}^+ / ^{232}\text{Th}^+$  cuyo valor debe ser cercano a la unidad para asegurar un bajo efecto de fraccionamiento elemental, y la relación  $^{248}\text{ThO}^+ / ^{232}\text{Th}^+$  para controlar la formación de óxidos, siempre por debajo del 0.3% en las condiciones mostradas en la Tabla C.2.

**Tabla C.2. Parámetros de la optimización diaria del acoplamiento ablación láser- ICP-MS cuadrupolo.**

Parámetros acoplamiento láser-cuadrupolo			
Energía (%)	70	Velocidad ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ )	20
Tamaño haz ( $\mu\text{m}$ )	150	Flujo He ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	750
Frecuencia (Hz)	10	Flujo Ar ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	800

Cuando se acopla el sistema de ablación al ICP-MS multicolector el material de referencia "Glass Standard" elegido es el NIST 610 ("National Institute of Standards and Technology", Gaithersburg, MD, Estados Unidos), de mayor concentración que el material NIST 612 utilizado para la medida en ICP-MS cuadrupolar. En este caso, se monitoriza por separado la señal del  $^{238}\text{U}^+$  para optimizar el acoplamiento, y seguidamente las masas de nuestros elementos de interés en cada caso (plomo, estroncio y rubidio) buscando una máxima intensidad. Los parámetros generalmente elegidos para este fin se recogen en la Tabla C.3.

**Tabla C.3. Parámetros de la optimización diaria del acoplamiento ablación láser-ICP-MS multicolector.**

<b>Parámetros acoplamiento láser-multicolector</b>			
Energía (%)	100	Velocidad ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ )	10
Tamaño haz ( $\mu\text{m}$ )	200	Flujo He ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	400
Frecuencia (Hz)	10	Flujo Ar ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ )	800

### C.1.3. Otra instrumentación

- Balanza analítica AB 104 (Mettler Toledo, Barcelona, España) con una resolución de 0.1 mg.
- Baño de ultrasonidos (Selecta, Barcelona, España).
- Placa calefactora RCT Basic (IKA, Staufen, Alemania).
- Horno microondas Ethos 1 (Milestone Srl, Sorisole, Italia) equipado con un rotor de capacidad para 10 bombas de PTFE (politetrafluoretileno) de media presión y sensor de temperatura.
- Estufa UNB 300 (Memmert, Büchenbach, Alemania).
- Centrífuga Heraeus Multifuge 1L-R (Thermo Scientific, Estados Unidos).
- Dispositivo clásico de destilación de ácidos “sub-boiling” de PFA (Savillex, AHF Analystechnik, Tübingen, Alemania) y lámpara de luz infrarroja (DAGA, Barcelona, España).
- Mortero de ágata.
- Tamizador circular de acero inoxidable.



## C.2. Materiales y reactivos

- Agua ultrapura con un contenido orgánico total (TOC) inferior a  $5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , filtrada ( $0.22 \mu\text{m}$ ) y desionizada ( $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) obtenida a través de un sistema de purificación Milli-Q Gradient A10 (Millipore, Molsheim, Francia).
  
  - Disoluciones patrón de abundancia natural de antimonio, arsénico, bismuto, cobalto, cobre, estaño, hierro, itrio, molibdeno, níquel, oro, plata, plomo, renio, uranio y zinc, obtenidas por dilución de disoluciones patrón certificadas de  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  suministradas por las siguientes casas comerciales:
    - Hierro, cobalto, rubidio, plata, renio, plomo y bismuto ( $\text{HNO}_3$ , 2%), y antimonio ( $\text{HCl}$ , 2%): High Purity Standards (Charleston, SC, Estados Unidos).
    - Níquel, arsénico e itrio ( $\text{HNO}_3$ , 2-3%): Merck (Darmstadt, Alemania).
    - Cobre ( $\text{HNO}_3$ , 2%): Fluka (Suiza).
    - Zinc ( $\text{HNO}_3$ , 2%) y estaño ( $\text{HNO}_3$ , 2% -  $\text{HCl}$ , 6%): Absolute Standards (Estados Unidos).
    - Oro ( $\text{HCl}$ , 20%) y uranio ( $\text{HNO}_3$ , 1%): Baker Analyzed (Deventer, Holanda).
    - Molibdeno ( $\text{NH}_4\text{OH}$  dil.): AccuStandard (New Haven, Estados Unidos).
  
  - Trióxidos de molibdeno enriquecidos en molibdeno-95 (93.8 %) y molibdeno-97 (89.6 %) respectivamente (Isoflex, San Francisco, CA, Estados Unidos).
  
  - Materiales de referencia certificados en composición isotópica, proporcionados por el “National Institute of Standards and Technology” (NIST, Gaithersburg MD, Estados Unidos):
-

- NIST SRM 981 (plomo)
  - NIST SRM 987 (carbonato de estroncio)
  - NIST SRM 997 (talio)
  - NIST SRM 610 - Glass Standard
  - NIST SRM 612 - Glass Standard
- 
- Ácido nítrico y ácido clorhídrico ultrapuros obtenidos a partir de la destilación lenta “sub-boiling” de ácido nítrico concentrado al 65 % (p/v) y ácido clorhídrico concentrado al 37 % (p/v), respectivamente, de calidad pro-análisis (Merck).
  - Ácido fluorhídrico al 40 % (p/v) de alta pureza (Suprapur, Merck).
  - Peróxido de hidrógeno al 30 % (p/v) de alta pureza (Suprapur, Merck).
  - Oxalato de diamonio de calidad pro-análisis (Merck).
  - Resina de intercambio aniónico fuerte AG1-X8 (Bio-Rad, Alcobendas, España), consistente en una sal de amonio cuaternaria con un tamaño de partícula entre 150 y 300  $\mu\text{m}$ , y en este caso cloruro como contraión.
  - Resina PbSpec (TrisKem International, Bruz, Francia) consistente en un éter corona selectivo (4,4'(5')-di-*tert*-butilciclohexano-18-corona-6) disuelto en isodecanol, con un tamaño de partícula entre 50 y 100  $\mu\text{m}$ .
  - Columnas de PP (polipropileno) para la separación cromatográfica con una capacidad de 10 mL (Bio-Rad)
  - Viales de PFA de 15 mL con fondo plano y tapón de rosca (Savillex) suministrados por AHF Analysentechnik (Tübingen, Alemania).

- Recipientes de HDPE (polietileno de alta densidad) (Brand, Wertheim, Alemania).
- Filtros de jeringa de de di-fluoruro de polivinilideno (PVDF, 0.45  $\mu\text{m}$ ) de la casa Teknokroma (Barcelona).
- Tubos de ensayo, tubos de microcentrífuga y jeringas de PP (Deltalab, Llanera, España).

### C.3. Procedimientos experimentales

Es necesario mencionar que debido a que se ha trabajado con concentraciones a nivel de trazas a lo largo de todo el estudio, la limpieza de los materiales utilizados ha sido exhaustiva para evitar cualquier tipo de contaminación de fondo e interferencias, por lo que es inevitable señalar que todo el material de plástico empleado fue cuidadosamente lavado previo a su uso. El proceso de limpieza se llevó a cabo en tres etapas: inmersión en baño de ácido clorhídrico “sub-boiling” al 10% (v/v) durante 24 horas, seguido de otro baño de HNO<sub>3</sub> “sub-boiling” al 10% (v/v) durante 24 horas, y un baño final de agua ultrapura Milli-Q durante otras 24 horas. Por su parte, los viales de PFA siguieron el siguiente protocolo de limpieza previa a su uso:

- Se añade HCl sub-boiling 6M hasta la mitad del vial, se cierran y se calientan en placa calefactora a 110 °C durante 24 horas.
- Aclarado con agua Milli-Q.
- Se añade HNO<sub>3</sub> sub-boiling 7M hasta la mitad del vial, se cierran y se calientan de nuevo en placa calefactora a 110 °C durante 24 horas.
- Aclarado con agua Milli-Q.
- Se añade agua Milli-Q hasta la mitad del vial, se cierran y se calientan 110 °C durante 24 horas.
- Aclarado con agua Milli-Q.
- Se introducen en la estufa a 110 °C hasta secado completo.

Como el proceder experimental es diferente para todas las muestras en estudio dada su diversa naturaleza, las etapas de preparación de muestra, análisis y tratamiento de datos serán expuestas en cada apartado temático para mejor comprensión de las mismas en su contexto individual.

## D. Resultados y Discusión



## Capítulo 1. Medida de relaciones isotópicas de molibdeno para el marcaje isotópico de productos y organismos vivos

*“Algunas falsificaciones reproducen tan bien la verdad que sería un error de juicio no dejarse engañar por ellas”*

François de La Rochefoucauld.

Aristócrata, militar y escritor francés del s. XVII.

La picaresca es intrínseca al ser humano. Si consideramos que la primera manifestación conocida sobre comercio fue el trueque, se podría afirmar que las primeras falsificaciones pasaban por entregar productos, enseres o animales defectuosos cuando se había prometido algo como bueno, aprovechando este engaño para beneficio personal. Tras el trueque, y con el descubrimiento de los metales, no tardaron en llegar las primeras falsificaciones de monedas, cuyo impacto fue muy acusado en la Antigua Roma. Desde entonces el problema de la falsificación se ha extendido como la pólvora a lo largo de la historia de la humanidad.





## Codificación de productos y organismos vivos

Toda metodología de marcaje pretende codificar muestras con el fin último de hacerlas perfectamente distinguibles de otros congéneres similares. Cualquiera que sea el procedimiento de marcaje elegido, la marca añadida a la muestra no debe dejar lugar a duda sobre la verdadera naturaleza de la misma y debe permitir su monitorización a lo largo de toda su vida útil. En este contexto, el marcaje de productos manufacturados se vuelve de gran importancia en la lucha antifraude y en estudios forenses [136], mientras que el marcaje de organismos vivos como las plantas supone una potente herramienta de investigación [137].

De manera general, cualquier técnica de marcaje debería ser: (i) difícil de copiar o falsificar; (ii) difícil de reetiquetar o reutilizar; (iii) fácil de detectar si es falsificada y (iv) visualmente identificable sin necesidad de equipamiento especial para su reconocimiento. Ahora bien, que una marca sea detectable a primera vista presenta ventajas para el usuario a la hora de su identificación pero hace que la posible falsificación de esta etiqueta sea mucho más sencilla. En este sentido, los procedimientos de marcaje se pueden dividir en dos grandes grupos: procedimientos obvios o evidentes, y procedimientos encubiertos [138]. Sus principales características y variantes para el marcaje de las matrices en estudio, plantas y productos (documentos, tintas), serán comentadas en las siguientes líneas. Un breve resumen de las mismas se recoge en la Figura D.1.

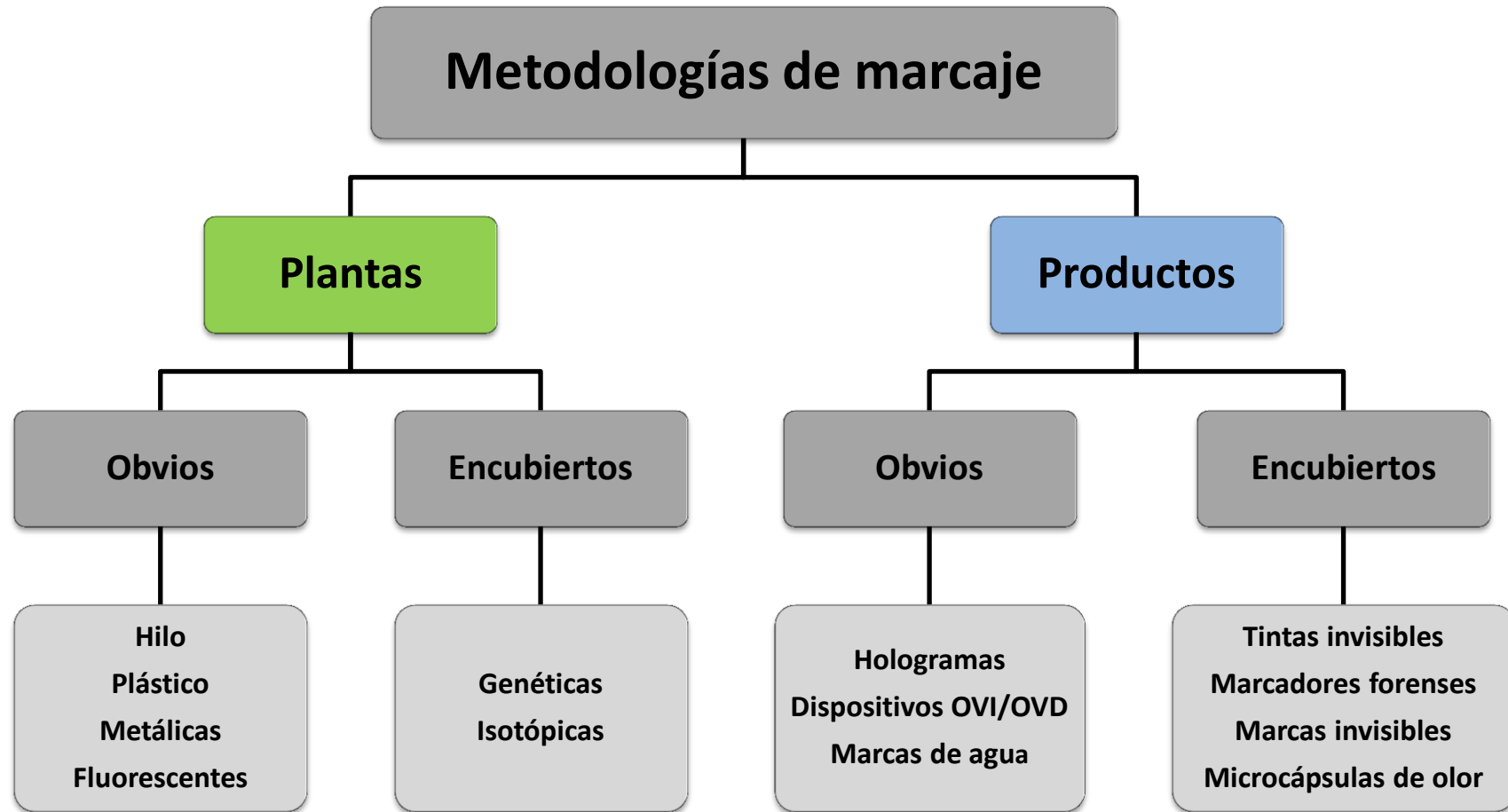


Figura D.1. Esquema de las diversas metodologías de marcaje de plantas y productos manufacturados.

Los **procedimientos obvios o evidentes** se basan en la identificación del producto gracias a códigos con características visibles que se colocan sobre la superficie del mismo de manera directa, indeleble y permanente. Ejemplos de este tipo de marcaje de **productos manufacturados (documentos)** son entre otros el uso de (i) hologramas consistentes en el grabado microscópico de una imagen que al ser iluminada desde la perspectiva adecuada se proyecta de manera tridimensional [139]; (ii) dispositivos y tintas ópticamente variables (OVD y OVI, respectivamente) que reflejan distintas longitudes de onda según el ángulo de incidencia de la luz blanca sobre la superficie produciendo cambios de color dependiendo del ángulo de visión [140]; o (iii) marcas de agua en documentos y billetes que se crean confiriendo diversos grados de espesor al papel y que se pueden apreciar cuando el documento se observa a contraluz [141]. Algunos de estos ejemplos, utilizados en la codificación de papel moneda, se muestran en la Figura D.2, de izquierda a derecha: holograma, tinta ópticamente variable y marca de agua.



**Figura D.2. Ejemplos de procedimientos obvios de marcaje de billetes.**

Una gran variedad de procedimientos obvios de marcaje también son frecuentemente utilizados como herramienta para el estudio de la dispersión de las semillas de árboles y **plantas**. El uso de marcas de hilo [142], metálicas [143], de plástico o fluorescentes [144] es una práctica típica para este fin, aunque presenta la desventaja de que estas marcas visibles pueden causar un efecto adverso en los animales que las dispersan, haciendo que las discriminen o prefieran frente a las no marcadas. Además, las marcas

que afecten al peso o a la forma de la semilla afectarán a los procesos de dispersión promovidos por agentes meteorológicos como lluvia, viento o gravedad.

Por el contrario, los **procedimientos encubiertos** de marcaje se basan en la adición de un trazador al producto u organismo vivo que no sea perceptible a simple vista, y de manera que para su identificación sea necesario recurrir a técnicas analíticas más o menos sofisticadas. Este hecho dificulta enormemente su falsificación, por lo que estos procedimientos son considerados de mayor potencial que los obvios. Por ello, para la identificación inequívoca del producto u organismo marcado es necesario establecer unas bases de codificación conocidas al detalle por el usuario y desconocidas para el resto del público. Además, el trazador encubierto adicionado debe cumplir una serie de requisitos generales tales como: (i) no presentar riesgos para la salud humana ni el medio ambiente; (ii) no afectar a las propiedades del producto en su uso habitual, (iii) ser de fácil aplicación y detectable mediante técnicas analíticas de uso general; (iv) no ser susceptible de adulteración o fraude; (v) ser estable frente a procesos físicos, químicos o biológicos por tiempo indefinido, y (vi) no verse afectado por la contaminación o mezcla con otros productos o por la dispersión del producto en el medio ambiente.

Por todo ello, para el marcaje de **documentos y billetes** se suele recurrir a (i) tintas invisibles al ojo humano, que contienen nanopartículas dopadas con lantánidos que presentan propiedades luminiscentes cuando son expuestos a la luz infrarroja, o propiedades fosforescentes, que generan una huella dactilar por decaimiento a distintos tiempos de vida [145]; (ii) marcas de agua invisibles [146]; o (iii) marcadores forenses, como son los microtrazadores consistentes en partículas microscópicas que contienen información codificada únicamente detectable por microscopio, los trazadores basados en secuencias de ADN y cuyo reconocimiento requiere de otra hebra de ADN complementaria, o trazadores químicos solamente detectables mediante análisis químico y que habilitan una autenticación inequívoca del producto. Éste último es el caso de los isótopos estables.

Por su parte, el uso de marcadores genéticos es habitual para el marcaje encubierto de **plantas**, aunque su principal limitación surge a la hora de diferenciar dos especímenes con la misma información genética [147]. También se propuso el empleo de isótopos radiactivos, pero su uso presenta un alto riesgo para la salud humana y el medioambiente [148] [149].

## Uso de los isótopos estables como trazadores

Conviene resaltar que los únicos trazadores que cumplen todos los requisitos anteriormente reseñados de manera satisfactoria son los isótopos estables. Éstos han ido ganando popularidad como sustitutos de los radioisótopos ya que su uso facilita la codificación individual de individuos y la diferenciación inequívoca entre aquellos que presentan la misma composición química sin sufrir las terribles consecuencias derivadas de la exposición a la radiación. Esta “huella dactilar” única que caracteriza a cada producto u organismo marcado se obtiene tras una modificación de las abundancias isotópicas de los isótopos de un mismo elemento químico, creando así marcas únicas prácticamente infalsificables y muy difíciles de detectar. La identificación de esta huella se lleva a cabo mediante el uso de espectrómetros de masas, que permiten medir ligeras variaciones en las abundancias isotópicas con alta precisión.

Ciertos trabajos promulgan el uso de isótopos de **elementos ligeros** para el marcaje de **productos manufacturados**, como la patente francesa de Jean-Pierre Frideling, quien describe un procedimiento en el que se utilizan compuestos orgánicos presentes originariamente en el producto y cuya abundancia isotópica se modifica por la adición de ese mismo compuesto marcado con deuterio, carbono-13, nitrógeno-15 u oxígeno-18 [150].

Por su parte, Carlo y colaboradores diseñaron un spray de urea enriquecida en nitrógeno-15 para fertilizar **plantas** durante la etapa de floración y conseguir así semillas enriquecidas isotópicamente [39]. Para la medida precisa de las relaciones isotópicas de estos elementos ligeros se recurre generalmente a la técnica conocida como IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry) que suele acoplarse a una técnica de separación cromatográfica previa. Sin embargo, la principal desventaja de estos trazadores es que en muchos casos no sobreviven a reacciones químicas y son inestables a altas temperaturas, lo que limita su uso

El uso de isótopos estables enriquecidos de **elementos pesados**, que soportan condiciones más extremas que los ligeros, permite generar marcas cuyas abundancias isotópicas deben ser medidas en espectrómetros ICP-MS.

Las patentes de marcaje publicadas por Richard P. Welle y Lufei Lin y colaboradores describen sendas metodologías de marcaje de **productos manufacturados y tintas**, respectivamente, mediante el uso de isótopos estables enriquecidos de elementos pesados. Así pues, en las patentes americanas descritas por Richard P. Welle se propone una metodología de marcaje de sustancias o productos basada en la adición de un trazador que contenga al menos dos elementos, que a su vez posean un mínimo de dos isótopos estables cada uno de ellos, con una relación de abundancias isotópicas artificial. La medida de las relaciones isotópicas de ambos elementos en el producto permitiría detectar la marca utilizada. Alternativamente, se podría realizar el marcaje mediante el uso de un único elemento trazador con un tercer isótopo adicional cuya abundancia isotópica se mantuviera constante en todos los trazadores y para la misma clase de sustancias marcadas [151]. El requisito de un tercer isótopo de abundancia isotópica constante es difícilmente conseguido en la práctica, lo que resta potencial a esta alternativa de marcaje.

Por su parte Lufei Lin y colaboradores plantean un sistema de marcaje específico para **tintas** basado en el empleo de isótopos enriquecidos de elementos poliisotópicos y elementos monoisotópicos añadidos a la tinta a codificar. Midiendo las intensidades absolutas y las relaciones isotópicas en las tintas mediante equipos ICP-MS, se podría distinguir entre tintas originales y adulteradas. Otra opción planteada por los autores es el empleo de dos isótopos de marcaje de un mismo elemento con una abundancia isotópica diferente a la natural, de manera que la relación isotópica entre estos dos isótopos de marcaje fuese suficiente para clasificar las muestras en originales o adulteradas [152].

En lo relativo al marcaje de **plantas**, James R. Guy presentó una patente que describe una forma de codificación de animales o plantas y productos derivados mediante el uso de isótopos ya presentes en los mismos, como pueden ser el boro, hierro o selenio. Alterando la relación isotópica natural entre dos isótopos de un elemento se obtendría un producto marcado que permitiría garantizar su origen y calidad. Sin embargo, aunque estos elementos no son perjudiciales para la salud y están presentes en el individuo a marcar, su uso genera cierta controversia entre los consumidores [153].

Todos los procedimientos de marcaje comentados anteriormente presentan problemas cuando la concentración del elemento de abundancia isotópica natural varía en la muestra o se incrementa considerablemente respecto a la cantidad de marca añadida. Por ello, las metodologías propuestas deberían modificarse para cada lote de producto en función de las impurezas de elemento de abundancia isotópica natural detectadas. Ante todo lo expuesto con anterioridad, una metodología de marcaje encubierta que combine el uso de isótopos estables enriquecidos de elementos pesados junto con un procedimiento capaz de corregir la contaminación con el isótopo de abundancia natural resultaría la opción más conveniente para el marcaje universal de productos manufacturados y organismos vivos.

## Metodología de marcaje de productos manufacturados y organismos vivos mediante doble huella isotópica

La patente española denominada “Método para el marcaje e identificación de objetos manufacturados, sustancias y organismos, y sus usos” [154] desarrollada en nuestro grupo de investigación, describe una metodología de marcaje basada en la adición al producto a marcar de una mezcla conocida de dos o más perfiles isotópicos de un mismo elemento químico, enriquecidos en distintos isótopos estables. La medida de la relación de fracciones molares entre esos perfiles isotópicos presentes en el producto mediante Espectrometría de Masas permite su identificación, que en este caso se lleva a cabo mediante espectrometría de masas con fuente de ionización de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Esta invención se considera de carácter universal ya que permite el marcaje de objetos manufacturados, sustancias y organismos (en adelante “productos”), pertenecientes a una amplia variedad de sectores, como el farmacéutico, alimentario, de explosivos, joyas, obra de arte, plantas o drogas, entre otros.

El empleo de isótopos de elementos pesados genera etiquetas de alta estabilidad frente a reacciones químicas, a diferencia de lo que ocurre con los elementos ligeros. Como trazadores se proponen elementos que posean al menos tres isótopos estables, como Mg, Si, Fe, Ni, Zn, Sr, Zr, Mo, Pd, Sn, Ba, Nd, Sm, Gd, Dy, Pt o Pb entre otros, en cualquier forma física o química. Asimismo, dado que estas marcas son generadas por la adición de dos o más perfiles isotópicos enriquecidos, se puede obtener una gran variedad de etiquetas modificando la relación de fracciones molares de ambos perfiles, los isótopos elegidos para el marcaje o incluso el enriquecimiento de los mismos, permitiendo así una codificación individual para cada espécimen si fuera necesario. Todo esto, junto con que se trata de un procedimiento encubierto de marcaje, hace que esta codificación sea única, estable y prácticamente infalsificable.



Además, el cálculo de la relación de fracciones molares por IPD (Deconvolución de Perfiles Isotópicos) para la identificación de la marca permite corregir la contaminación producida por el isótopo de abundancia natural, incluso si éste está presente en concentraciones grandes y variables.

## Proceder experimental del proceso de marcaje

El procedimiento experimental de marcaje de productos conlleva las siguientes etapas:

1. **Estudio preliminar de la muestra:** es necesario un análisis inicial del producto a marcar con el fin de conocer la matriz de la muestra (componentes mayoritarios, minoritarios, impurezas...)
2. **Elección del elemento trazador y los isótopos correspondientes:** generalmente se selecciona un elemento presente en la muestra a nivel de trazas y que posea al menos tres isótopos estables. Preferiblemente, los isótopos de marcaje elegidos no deben presentar importantes interferencias espectrales.
3. **Caracterización de los perfiles isotópicos alterados y preparación de la mezcla isotópica de marcaje:** una vez elegidos los isótopos enriquecidos con los que se llevará a cabo el marcaje, el enriquecimiento isotópico de ambos perfiles debe calcularse experimentalmente mediante ICP-MS antes de preparar la mezcla que posteriormente se añadirá al producto. La mezcla de trazadores se prepara en base a una relación molar fija y conocida. Si se varían las características de la misma se podrá crear un gran abanico de etiquetas. Las abundancias isotópicas de la mezcla trazadora ya preparada deben calcularse experimentalmente mediante ICP-MS.

4. **Marcaje del producto:** se adiciona la mezcla de trazadores al producto a marcar.
  
5. **Detección de la marca e identificación del producto marcado:** la marca se detecta mediante la medida experimental de las abundancias isotópicas del elemento trazador en el producto mediante ICP-MS y el posterior cálculo de la relación de fracciones molares mediante IPD (considerando la fracción molar del perfil isotópico del elemento de abundancia isotópica natural y las de los dos o más perfiles isotópicos alterados). La relación de fracciones molares entre cada uno de los perfiles isotópicos alterados añadidos al producto debe ser igual a la relación de fracciones molares en el trazador, dentro de la incertidumbre experimental de la medida, e independientemente de la fracción molar correspondiente al perfil isotópico natural del elemento presente en la muestra. El procedimiento utilizado con isótopos enriquecidos de molibdeno se ilustra en la Figura D.3.

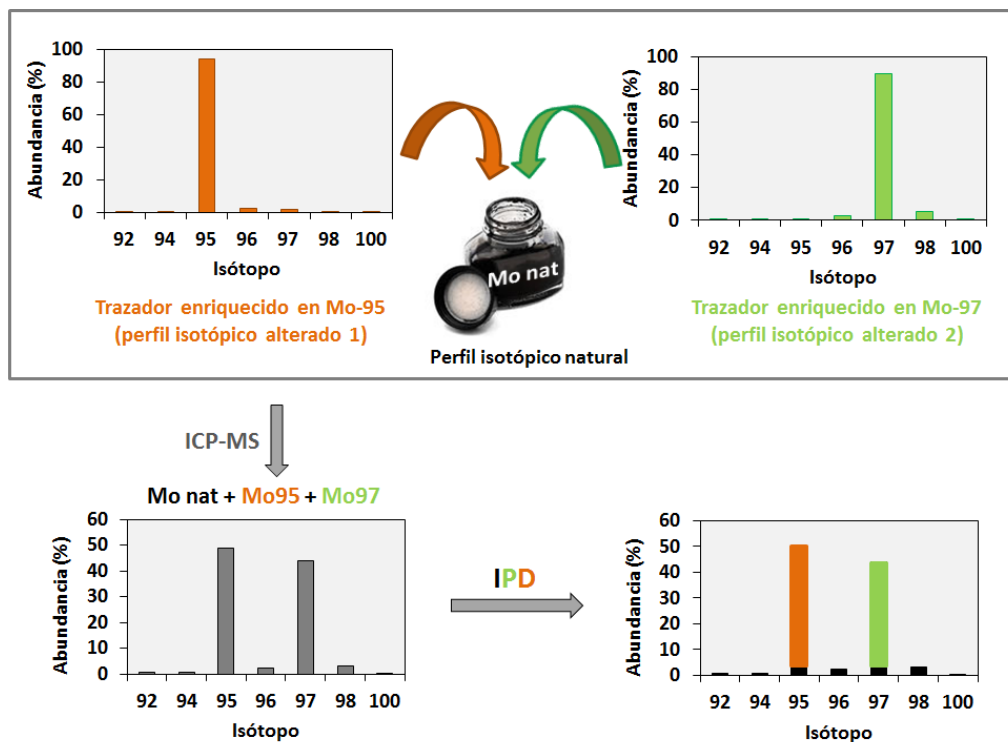


Figura D.3. Procedimiento de marcaje con isótopos estables enriquecidos e IPD.

## Fundamentos matemáticos del proceso de marcaje

- **Conceptos básicos para la aplicación de la metodología de marcaje con doble huella isotópica**

A continuación se define una serie de conceptos usados a lo largo de la presente explicación matemática y que resultan necesarios para la comprensión de la misma.

**Perfil isotópico:** Conjunto de abundancias isotópicas relativas de todos los isótopos estables de un elemento, cuya suma es igual a 1 (o 100% si se expresan las abundancias en átomos por ciento).

**Perfil isotópico natural:** Es el perfil isotópico de un elemento que se encuentra en la naturaleza, y que se puede considerar aproximadamente constante e invariable en toda la Tierra para la mayoría de los elementos de la tabla periódica. Las abundancias isotópicas naturales de los elementos y sus respectivas incertidumbres están tabuladas por la IUPAC.

**Perfil isotópico alterado:** Es el perfil isotópico de un elemento donde la abundancia relativa de uno o varios isótopos estables de dicho elemento es claramente distinta de la natural, presentando normalmente una abundancia isotópica más elevada que en el elemento natural (isótopo enriquecido), mientras que el resto de isótopos presentan una abundancia menor.

**Fracción molar de un perfil isotópico:** Es la cantidad de moles correspondiente a un determinado perfil isotópico de un elemento, dividida por la cantidad de moles totales de ese mismo elemento en la muestra analizada.

**Deconvolución de perfiles isotópicos (IPD):** Proceso matemático basado en la regresión lineal múltiple que permite el cálculo de la contribución de cada perfil isotópico de un mismo elemento sobre el perfil isotópico medido experimentalmente en la muestra por espectrometría de masas. El resultado de este proceso matemático es la fracción molar de cada uno de los perfiles isotópicos en la muestra.

- **IPD como herramienta matemática fundamental**

La deconvolución de perfiles isotópicos, o IPD, está basada en la regresión lineal múltiple, y el principal concepto en el que se apoya es que los balances de masas se establecen en función de los perfiles isotópicos del elemento natural y de los isótopos enriquecidos. La principal ventaja que presenta esta metodología es que permite la descomposición del perfil isotópico medido experimentalmente en una muestra, en los respectivos perfiles que lo componen (el del elemento natural y los de los enriquecidos), sin la necesidad de conocer las cantidades exactas del trazador isotópico inicialmente añadido al producto ni el grado de impurezas presentes en la matriz. Además, como se comentará a continuación, otra de las ventajas que ofrece este procedimiento frente a otros métodos de cálculo es la posibilidad de emplear más isótopos, y por tanto más ecuaciones, que incógnitas.

Para la explicación del desarrollo matemático utilizado en este apartado de la Tesis Doctoral vamos a considerar el caso específico de la adición de dos perfiles isotópicos alterados o trazadores, t1 y t2, coincidiendo con el proceder experimental de los estudios del presente trabajo. Como el producto a marcar contiene una cantidad variable y desconocida del mismo elemento de abundancia isotópica natural, el número total de moles del elemento en la mezcla ( $N_m$ ) viene dado por la siguiente ecuación:

$$N_m = N_{nat} + N_{t1} + N_{t2} \quad (\text{Ec. D.1})$$

Donde  $N_{nat}$  es el número de moles desconocidos del elemento de abundancia isotópica natural, y  $N_{t1}$  y  $N_{t2}$  son los moles desconocidos de los perfiles isotópicos enriquecidos t1 y t2, respectivamente.

De manera análoga, se puede expresar un balance de masas individual para cada uno de los isótopos que configuran el perfil isotópico del elemento. En la (Ec. D.2) se muestra el balance de masas para un isótopo genérico:

$$N_m^i = N_{nat}^i + N_{t1}^i + N_{t2}^i \quad (\text{Ec. D.2})$$

Si se recurre a las abundancias isotópicas de cada uno de los perfiles, la ecuación (Ec. D.2) se puede expresar como combinación lineal de la cantidad total del elemento en cada uno de los perfiles isotópicos y de las abundancias isotópicas conocidas o medidas de cada perfil, según indica la siguiente ecuación:

$$N_m * A_m^i = N_{nat} * A_{nat}^i + N_{t1} * A_{t1}^i + N_{t2} * A_{t2}^i \quad (\text{Ec. D.3})$$

Donde  $A_m^i$ ,  $A_{nat}^i$ ,  $A_{t1}^i$ ,  $A_{t2}^i$  son las abundancias isotópicas del isótopo  $i$  en cada uno de los perfiles isotópicos considerados (mezcla, abundancia natural, trazador 1 y trazador 2, respectivamente). Dividiendo la ecuación (Ec. D.3) entre la ecuación (Ec. D.1) se obtiene la siguiente expresión matemática general:

$$A_m^i = A_{nat}^i * x_{nat} + A_{t1}^i * x_{t1} + A_{t2}^i * x_{t2} \quad (\text{Ec. D.4})$$

En esta expresión matemática,  $x_{nat}$ ,  $x_{t1}$  y  $x_{t2}$  son las fracciones molares de cada uno de los perfiles isotópicos que contribuyen al perfil isotópico observado en la muestra, y que se corresponden con las siguientes expresiones:

$$x_{nat} = \frac{N_{nat}}{N_{nat} + N_{t1} + N_{t2}}; \quad x_{t1} = \frac{N_{t1}}{N_{nat} + N_{t1} + N_{t2}}; \quad x_{t2} = \frac{N_{t2}}{N_{nat} + N_{t1} + N_{t2}}$$

Como el elemento químico utilizado como marca debe poseer al menos tres isótopos estables y medibles por ICP-MS se pueden establecer al menos tres ecuaciones con tres incógnitas (una por cada isótopo) que expresen la combinación lineal de abundancias isotópicas y fracciones molares. Entonces, la ecuación (Ec. D.4) se puede expresar en notación matricial para todos los isótopos medidos como sigue:

$$\begin{bmatrix} A_m^1 \\ A_m^2 \\ A_m^3 \\ \dots \\ A_m^{n-1} \\ A_m^n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_{nat}^1 & A_{t1}^1 & A_{t2}^1 \\ A_{nat}^2 & A_{t1}^2 & A_{t2}^2 \\ A_{nat}^3 & A_{t1}^3 & A_{t2}^3 \\ \dots & \dots & \dots \\ A_{nat}^{n-1} & A_{t1}^{n-1} & A_{t2}^{n-1} \\ A_{nat}^n & A_{t1}^n & A_{t2}^n \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} x_{nat} \\ x_{t1} \\ x_{t2} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e^1 \\ e^2 \\ e^3 \\ \dots \\ e^{n-1} \\ e^n \end{bmatrix} \quad (\text{Ec. D.5})$$

En el caso de que  $n > 3$ , siendo  $n$  el número de isótopos del elemento, existirán más ecuaciones que incógnitas (fracciones molares), por lo que se debe incluir un vector de error  $e$ , obteniéndose así la ecuación fundamental de la deconvolución de perfiles isotópico (Ec. D.5).

Los valores de las incógnitas  $x_{nat}$ ,  $x_{t1}$  y  $x_{t2}$  se obtienen por regresión lineal múltiple mediante un ajuste por mínimos cuadrados y minimizando el vector de error  $e$ . Una vez determinados los valores de las fracciones molares y sus incertidumbres en la muestra, se calcula la relación de fracciones molares  $x_{t1}/x_{t2}$ , que coincide con la relación de moles  $N_{t1}/N_{t2}$  añadidos al producto a marcar. Por tanto, la identificación del producto se basa en la comparación de la relación  $x_{t1}/x_{t2}$  experimentalmente medida en el producto y la de la mezcla trazadora. Esta relación de fracciones molares no se ve afectada por procesos físico-químicos ni biológicos, lo que confiere una gran estabilidad a la marca generada. Además, es independiente del valor absoluto de la fracción molar del elemento de abundancia natural en la muestra ( $x_{nat}$ ), y por tanto, no se ve afectada por la concentración del elemento natural, sea ésta constante o variable.

Variando la proporción  $N_{t1}/N_{t2}$  de la mezcla de trazadores se puede generar una gran variedad de etiquetas para marcar los productos en función de su origen, lote, fecha o cualquier característica que se desee codificar. Incluso, se pueden incluir más perfiles isotópicos a la mezcla de trazadores utilizada para el marcaje. Si se añade una cantidad conocida de un tercer perfil isotópico  $N_{t3}$  de un elemento que posea al menos cuatro isótopos estables, se pueden calcular dos relaciones de perfiles isotópicos  $x_{t1}/x_{t2}$  y  $x_{t1}/x_{t3}$ , que confieren una codificación extra del producto

- **Ventajas de la deconvolución de perfiles isotópicos: corrección interna de la discriminación de masas y de las interferencias espectrales**

Esta metodología no sólo permite la identificación de la marca en el producto codificado sin necesidad de conocer la concentración absoluta de la misma, sino que presenta también la ventaja de no verse afectada por la presencia de cantidades variables o constantes del elemento de abundancia natural. Además, la deconvolución de perfiles isotópicos permite la corrección interna de la discriminación de masas cuando se miden más isótopos que incógnitas. En este contexto, las abundancias isotópicas de la muestra y de los distintos isótopos enriquecidos utilizados como trazadores actúan como materiales certificados isotópicamente que se emplean para el cálculo del factor de discriminación de masas  $K$ . El valor adecuado de dicho factor  $K$  es aquel que minimiza la suma del error cuadrático de la regresión lineal múltiple del ajuste, y se puede calcular aplicando la herramienta SOLVER de Excel (Figura D.4). De esta manera, se evita la medida adicional de un estándar isotópico externo, o la adición de un estándar o material certificado a la muestra.

La aplicación del IPD también resulta ventajosa para la eliminación de forma interna de la contribución de interferencias espectrales cuando no es posible la monitorización de un isótopo alternativo del analito de interés. Para ello, el perfil isotópico del interferente debe ser conocido y se debe incluir en el cálculo de la matriz. De esta manera, la fracción molar del interferente en la muestra puede ser calculada, lo que permite corregir su contribución sobre los perfiles isotópicos del elemento en estudio. Por ello, en estos experimentos no es necesario hacer una corrección del blanco. En la Figura D.4 se muestra la hoja de cálculo utilizada para hallar las fracciones molares de molibdeno en documentos codificados. En ella se incluye el perfil isotópico natural del circonio (posible interferente) para calcular la contribución del circonio de abundancia natural en la mezcla y conocer la extensión de este interferente en la muestra.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1										
2	92/95	94/95	95/95	96/95	97/95	98/95	100/95	Suma		
3	0.01412	0.01650	1.00000	0.05184	0.94890	0.06625	0.00976	2.10737	experimentales	
4	0.01530	0.01695	1.00000	0.05047	0.89933	0.06113	0.00853	2.05171	corregidas	
5	3	1	0	-1	-2	-3	-5		delta m	
6										
7	-0.080	-0.027	0.000	0.027	0.054	0.080	0.134	error	LN(exp/corr)	
8										
9										
10										
11			Mo	Mo 95	Mo 97	Zr	Ab. Exp.mezcla	Ab. Teóricas	error^2	error
12		92	14.84	0.3890	0.6460	17.15	0.75	0.74	8.423E-05	0.00918
13		94	9.25	0.7668	0.4608	17.38	0.83	0.83	5.391E-05	-0.00734
14		95	15.92	93.8018	1.0025	0	48.74	48.74	5.650E-08	0.00024
15		96	16.68	2.3027	2.5445	2.8	2.46	2.47	1.131E-04	-0.01064
16		97	9.55	1.6673	89.5573	0	43.83	43.83	2.227E-08	-0.00015
17		98	24.13	0.8280	5.2042	0	2.98	2.97	6.947E-05	0.00833
18		100	9.63	0.2443	0.5848	0	0.42	0.43	9.594E-05	-0.00979
19										
20									-0.01017	
21	X Zr	X Mo 97	X Mo 95	xMo						
22	0.01147	0.47966	0.51413	0.00203	K		-0.0268267			
23	0.00057	0.00014	0.00014	0.00040						
24	0.9999999	0.011786526	#N/A	#N/A						
25	7762003.23	3	#N/A	#N/A						
26	4313.25824	0.000416767	#N/A	#N/A						
27										
28		Relación	0.9329462							
29		Incertidumbre	0.0003781							
30										

Figura D.4. Hoja de cálculo de fracciones molares mediante la función ESTIMACIÓN LINEAL de Excel.

Como última ventaja que ofrece la deconvolución de perfiles isotópicos cabe destacar que mediante el uso de los grados de libertad extras que resultan de la medida de un gran número de masas, el procedimiento de regresión lineal múltiple permite llevar a cabo correcciones internas de errores sistemáticos.



# I. Desarrollo de una metodología para la detección de Fabas Asturianas marcadas isotópicamente mediante LA-ICP-MS

*“Marzo en lluvias, buen año de alubias”*

Refrán popular.

El refranero popular es sabio, y no menos la naturaleza. Las plantas, los animales y el medio ambiente en general son registros vivientes de lo que ocurre en nuestro planeta. El clima nunca ha sido estático y tiende a variar como consecuencia de alteraciones en el balance energético, aunque en muchas ocasiones estas variaciones tienen un carácter cíclico: periodos de vastas precipitaciones seguidos de periodos de fuerte aumento de las temperaturas se han ido sucediendo a lo largo de la vida de la Tierra. Sin embargo, ahora parece que el ser humano está empeñado en dejar su huella indeleble: el calentamiento global va poco a poco minando la salud del planeta, por lo que vamos a tener que ir modificando nuestro refranero, que muy sabiamente basado en la vida agraria, puede que ahora vaya perdiendo cierto sentido.



## Marcaje de plantas como herramienta de investigación

No sólo es importante resaltar la necesidad de una metodología de etiquetado de productos sino que también el marcaje de organismos vivos cobra importancia. Así, el marcaje de animales domésticos es ampliamente utilizado para la detección de pérdidas o robos [155], mientras que el marcaje de animales salvajes permite conocer las estrategias y rutas migratorias de ciertos animales [156]. En este contexto, el marcaje de poblaciones piscícolas se considera relevante para el estudio de las tasas de mortalidad o la eficacia de repoblación de determinadas especies, cuyo control es necesario debido a su impacto económico en la industria pesquera [157].

Por su parte, el marcaje de plantas es una práctica cada vez más habitual que goza de un sinfín de variedades y aplicaciones. En este sentido, el mayor potencial del marcaje de plantas se aprovecha para el control y monitorización de especies. Con el proceso de calentamiento global cada vez más acelerado, las especies vegetales tienden a migrar hacia el norte en busca de zonas más frías y húmedas donde poder asentarse y asegurar su comida y supervivencia [158]. El movimiento de los bosques se produce gracias a la dispersión de sus semillas en el medio por la acción de animales o agentes ambientales [159], por lo que el marcaje de estas semillas resulta crucial para monitorizar el desplazamiento de plantas y árboles a lo largo del tiempo [160].

De la misma manera, el marcaje de plantas resulta muy útil para la evaluación de la asimilación de los nutrientes en la planta [161], y también para mejorar la calidad de los cultivos [162]. Además también es importante como método de codificación extra para alimentos con etiquetado DOP (Denominación de Origen Protegida) o IGP (Indicación Geográfica Protegida).

## Marcaje de Faba Asturiana a través de doble huella isotópica

Sea cual sea el fin último del marcaje, la marca añadida a las plantas no debe provocar ningún tipo de modificación en las mismas y debe permanecer inalterada por largos periodos de tiempo. Bajo estas premisas, los isótopos estables de elementos pesados se perfilan como los candidatos perfectos para tal efecto [163].

La viabilidad de esta metodología de codificación mediante doble marca isotópica ya fue confirmada para el marcaje de la especie *Melilotus alba* [164]. La eficiencia del proceso de marcaje de esta planta con isótopos enriquecidos de molibdeno bajo condiciones controladas (*in vitro*) hizo capaz la identificación de la marca en las semillas generadas por estas plantas tras su maduración, ratificando así el potencial de esta metodología para la codificación de especies vegetales.

A la vista de los satisfactorios resultados obtenidos en el marcaje de *Melilotus alba* en condiciones de laboratorio, se decidió extender esta metodología de marcaje para otro tipo de plantas leguminosas como es la planta de Faba Asturiana. Ésta es una planta considerablemente mayor que la *Melilotus alba*, lo que permite llevar a cabo estudios de asimilación de molibdeno a lo largo de las diferentes partes de la misma. Como sus semillas son mucho más grandes, sólo se necesita analizar una única faba para la detección inequívoca de la marca, y además, dado que las fabas son uno de los productos más típicos de nuestra región, su disponibilidad, cultivo y producción es muy accesible. Además, ya que la Faba Asturiana está sufriendo los continuos ataques de la venta ilícita de faba extranjera bajo el nombre de Faba Asturiana, el marcaje de este tipo de plantas en condiciones ambientales (*in vivo*) resultó de gran interés.

## Faba Asturiana

*Phaseolus vulgaris L.*, o más comúnmente conocida como judía, alubia, faba, frijol o habichuela, es la especie a la que pertenece la famosa Faba Asturiana. La alubia común fue originariamente un cultivo del Nuevo Mundo, pero actualmente se cultiva en todos los continentes y bajo prácticamente todo tipo de condiciones. Ha formado parte importante de la dieta humana desde tiempos inmemoriales, y aún sigue siendo el principal aporte de proteínas en aquellas poblaciones en las que el acceso a la carne sigue siendo un bien privilegiado [165].

Concretamente, la planta de Faba Asturiana es una planta herbácea anual de maduración tardía con tallos endebles de tres o cuatro metros de longitud. Sus hojas son grandes y están compuestas por varias hojuelas corazonadas unidas por la base. Generalmente sus flores son blancas y sus vainas lisas, de color verde y perfil alargado. Cada vaina contiene varias semillas, llamadas propiamente fabas, con forma de riñón y color blanco cremoso [166].

El cultivo de las alubias bajo la Indicación Geográfica Protegida “Faba Asturiana” o “Fabes de Asturias” suele ir asociado a maíz, que consiste en sembrar ambos cultivos conjuntamente e intercalados, lo que permite un mayor aprovechamiento del suelo y suele minimizar la proliferación de malas hierbas [167], aunque también pueden usarse tutores como malla, cuerdas o varillas metálicas.

## Elección del molibdeno como elemento trazador

Existen muchas metodologías para la clasificación de las alubias según su origen en función de su morfología física [168], sin embargo no suelen ser efectivas cuando las semillas presentan algún tipo de alteración y no se mantienen intactas. El marcaje isotópico como método de codificación supera con creces estas limitaciones.

Como el trazador no debe alterar las muestras a codificar, uno de los candidatos más adecuados para el marcaje de plantas es el molibdeno, dado que junto con el hierro, cobre, zinc, manganeso y boro, es considerado como un micronutriente esencial para el crecimiento eficiente de las plantas y que ellas mismas captan desde el suelo [169]. Las plantas leguminosas son especialmente receptivas a este nutriente ya que en colaboración con las bacterias tipo *Rhizobium* presentes en sus raíces, son capaces de convertir el nitrógeno atmosférico en formas más aprovechables para las plantas, estando este proceso de fijación de nitrógeno directamente influenciado por la cantidad de molibdeno disponible [170]. Además, el molibdeno se combina con una pterina (molibdopterina) para producir el co-factor Moco, involucrado en una serie de reacciones de hidroxilación, reducción de nitrato y oxidación respiratoria [171]. La presencia de molibdeno también está ligada al metabolismo de compuestos fenólicos como los flavonoides, con marcadas propiedades antioxidantes, que juegan un papel importante en el desarrollo de la planta y en la defensa frente a microorganismos y plagas.

El molibdeno presente en la tierra se encuentra en forma de molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) y su disponibilidad aumenta en función de la alcalinidad del suelo, por lo que un descenso en el pH de la tierra se traduce en una deficiencia de molibdeno que suele acarrear clorosis en los márgenes de las hojas, disminución del tejido embrionario y empeoramiento en el desarrollo de la planta [169].



## Diseño del experimento

Seguidamente pasamos a exponer un breve resumen del proceso de marcaje de faba asturiana, que aunque desarrollado durante la Tesis Doctoral de la doctora Isabel Caramés Pasarón, resulta necesario para poner en situación al lector antes de la presentación de los resultados obtenidos en la detección de la marca. Conviene destacar que la detección de la huella isotópica en las fabas en disolución se llevó a cabo durante la ya citada Tesis Doctoral, sirviendo esos resultados como guía para el trabajo desarrollado en el presente trabajo: estudio de la asimilación del molibdeno a lo largo de toda la planta y detección de la huella isotópica de molibdeno en fabas mediante LA-ICP-MS.

Un total de 27 plantas de faba asturiana (*Phaseolus vulgaris*) con Indicación Geográfica Protegida (IGP) fueron objeto de este estudio en vivo que se llevó a cabo a lo largo de cinco meses en los terrenos de cultivo que la empresa Menéndez y Peláez S.L. posee en Busto (Luarca, Asturias). Esta empresa asturiana es responsable de la marca comercial “Xuacón” y es miembro del Consejo Regulador de la Faba Asturiana. Las fabas en estudio fueron plantadas en el mismo terreno al aire libre que las fabas comerciales, crecieron bajo las mismas condiciones climatológicas que éstas y recibieron los mismos cuidados por parte de los agricultores (abono, pesticidas,...).

El elemento elegido para el marcaje fue el molibdeno, micronutriente esencial para las plantas, que fue adicionado una única vez a lo largo de la vida de las mismas por medio del agua de riego. Para ello, se preparó una mezcla trazadora a base de disoluciones enriquecidas en molibdeno-97 y molibdeno-95, cuya composición isotópica se recoge en la Tabla D.1, en una proporción teórica equimolar ( $N_{M097}:N_{M095} \approx 1:1$ ).

Tabla D.1. Composición isotópica del molibdeno natural y de las disoluciones enriquecidas para el marcaje de faba asturiana.

Composición isotópica (%)			
Isótopo	Trazador $^{95}\text{Mo}$	Trazador $^{97}\text{Mo}$	Mo natural
$^{92}\text{Mo}$	$1.1795 \pm 0.0013$	$0.2986 \pm 0.0002$	$14.53 \pm 0.3$
$^{94}\text{Mo}$	$1.6930 \pm 0.0008$	$0.3619 \pm 0.0002$	$9.15 \pm 0.09$
$^{95}\text{Mo}$	<b><math>94.8503 \pm 0.0075</math></b>	$0.4544 \pm 0.0002$	$15.84 \pm 0.11$
$^{96}\text{Mo}$	$2.1946 \pm 0.0014$	$1.4302 \pm 0.0003$	$16.67 \pm 0.15$
$^{97}\text{Mo}$	$0.0294 \pm 0.0009$	<b><math>96.6709 \pm 0.0006</math></b>	$9.60 \pm 0.14$
$^{98}\text{Mo}$	$0.0379 \pm 0.0023$	$0.7706 \pm 0.0002$	$24.39 \pm 0.37$
$^{100}\text{Mo}$	$0.0154 \pm 0.0009$	$0.0130 \pm 0.0001$	$9.82 \pm 0.31$

La relación molar experimental de la mezcla trazadora utilizada en el marcaje de las fabas se presenta en la Tabla D.2.

Tabla D.2. Relación molar de la mezcla trazadora utilizada para el marcaje de fabas.

Mezcla trazadora	
$N_{\text{Mo}97}/N_{\text{Mo}95}$	$0.988644 \pm 0.000005$

Con el objetivo de evaluar la cantidad mínima adicionada a la muestra que permitiría un marcaje efectivo y una identificación inequívoca de la marca isotópica, se dividió el total de las plantas en tres grupos, atendiendo a la concentración de marca añadida a cada una de ellas:

- **9 plantas tipo “Low” (L):** cada planta se marcó con 0.1 mg de Mo
- **9 plantas tipo “Medium” (M):** cada planta se marcó con 1 mg de Mo
- **9 plantas tipo “High” (H):** cada planta se marcó con 10 mg de Mo

Asimismo, para determinar en qué momento de la vida de la planta la asimilación de los nutrientes sería más efectiva, y por tanto, cuándo debería llevarse a cabo el marcaje, cada grupo de 9 plantas fue a su vez dividido en tres grupos de tres plantas cada uno. La adición del marcador se llevó a cabo en tres estadios diferentes del crecimiento de las fabas:

- **Planta pequeña:** 6 semanas tras la siembra
- **Planta en floración:** 10 semanas tras la siembra
- **Planta madura (vainas):** 14 semanas tras la siembra

En todos los casos, se añadió cuidadosamente un volumen de 50 mL de mezcla trazadora de manera individual directamente sobre cada planta. Para ello, se hizo un pequeño surco en la tierra alrededor de cada una evitando que la disolución de marcaje pasase a plantas vecinas. Posteriormente, se arrastró con otros 50 mL de agua los posibles restos que podrían haber quedado en las paredes del recipiente, favoreciendo así la penetración del molibdeno en la tierra.

El terreno en el que se plantaron las fabas, de dimensiones 15 m (largo) x 1.5 m (ancho), fue dividido a su vez en pequeñas parcelas para facilitar la diferenciación entre grupos de plantas. Las plantas de cada grupo, aquellas regadas con la misma concentración de mezcla trazadora (0.1, 1 o 10 mg), se separaron 0.5 m y 1 m, mientras que se dejaron 4 m de separación entre grupos distintos, como se indica en la Figura D.5.

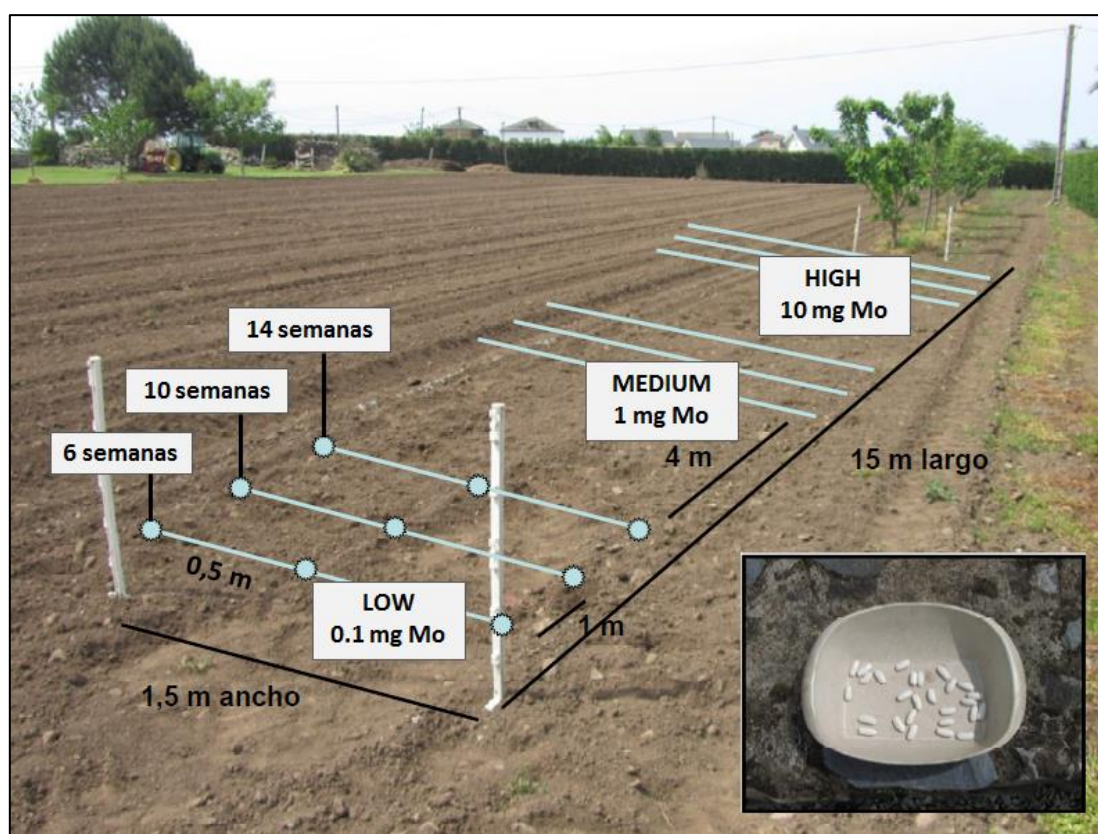


Figura D.5. Distribución del terreno de cultivo de faba asturiana [164].

La siembra de las fabas se llevó a cabo el 28 de mayo de 2012. Es conveniente destacar que el 2012 fue un año climatológicamente complicado para las cosechas, por lo que fue necesario reducir el volumen de muestras ya que no todas las plantas de faba sobrevivieron, reduciendo así el conjunto de fabas en estudio de 27 a 18: 6 plantas L, 6 plantas M y 6 plantas H. El desarrollo cronológico de todo el estudio se resume en la Tabla D.3.

**Tabla D.3. Esquema temporal del experimento de marcaje de faba asturiana.**

<b>Esquema temporal</b>		
<b>Fecha</b>	<b>Labor</b>	<b>Muestras</b>
28-mayo-12	Siembra	27
13-julio-12	Riego planta pequeña	L1, L2, M1, M2, H1, H2
6-agosto-12	Riego planta en flor	L3, L4, M3, M4, H3, H4
5-septiembre-12	Riego planta madura	L5, L6, M5, M6, H5, H6
31-octubre-12	Recogida	18

En la Tabla D.4 se recoge el cómputo total de gramos de faba recogidos en cada una de las plantas.

**Tabla D.4. Cantidad de fabas recogidas por planta [164].**

<b>PLANTAS LOW</b>			<b>PLANTAS MEDIUM</b>			<b>PLANTAS HIGH</b>		
<b>Planta</b>	<b>Fabas</b>	<b>g</b>	<b>Planta</b>	<b>Fabas</b>	<b>g</b>	<b>Planta</b>	<b>Fabas</b>	<b>g</b>
<b>L1</b>	92	93.27	<b>M1</b>	70	50.53	<b>H1</b>	81	68.66
<b>L2</b>	7	7.34	<b>M2</b>	131	106.53	<b>H2</b>	36	31.05
<b>L3</b>	182	170.92	<b>M3</b>	40	29.52	<b>H3</b>	66	59.01
<b>L4</b>	67	57.07	<b>M4</b>	168	164.94	<b>H4</b>	109	113.83
<b>L5</b>	57	51.96	<b>M5</b>	184	178.97	<b>H5u</b>	29	26.65
<b>L6u</b>	51	51.32	<b>M6u</b>	24	24.03	<b>H5d</b>	19	15.31
<b>L6d</b>	31	33.36	<b>M6d</b>	13	11.38	<b>H6</b>	20	16.77

Cabe destacar que para el caso de las plantas L6, M6 y H5 se decidió hacer una distinción entre las fabas recogidas en la parte superior (UP, u) e inferior (DOWN, d) de la planta, con el fin de valorar el enriquecimiento isotópico en las fabas más cercanas a la tierra (donde se depositó la marca) y las más alejadas. Además de recoger las fabas generadas por cada planta, se recogieron muestras de tierra, raíces, tallo, hojas y vainas para el estudio de la asimilación del molibdeno a lo largo de la planta.

En la Figura D.6 se muestran imágenes de las plantas durante los 5 meses del experimento.



**Figura D.6. Imágenes de las plantas a lo largo de todo el proceso [164].**

De izquierda a derecha se muestran: planta pequeña de faba 3 semanas después de la siembra, plantas de faba ya con varillas 6 semanas después de la siembra, plantas de faba a las 10 semanas de la siembra y finalmente, plantas de faba tras el último riego a las 14 semanas de la siembra.

En la Figura D.7 se resume todo el procedimiento experimental llevado a cabo para el marcaje de faba asturiana en condiciones ambientales.

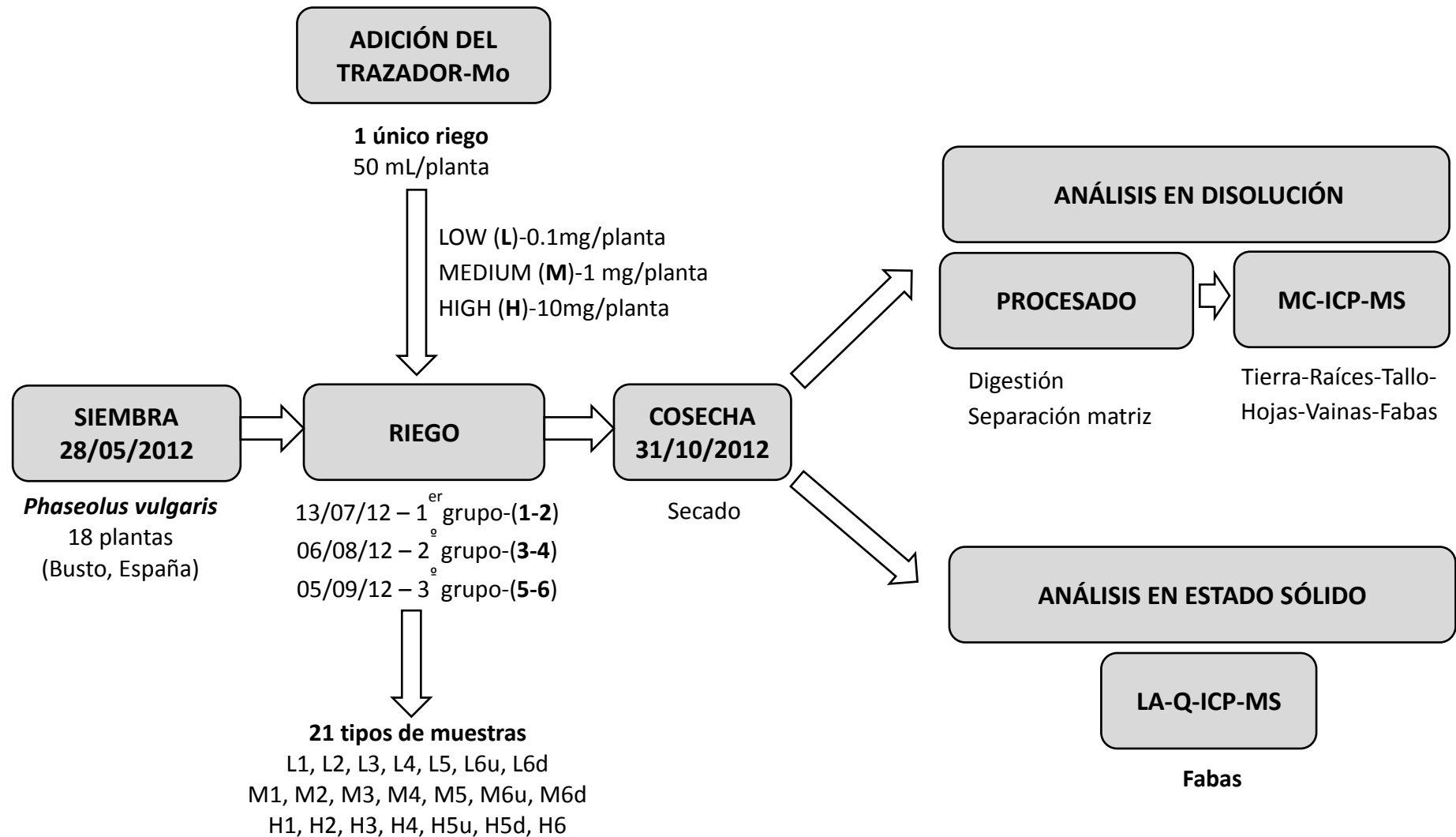


Figura D.7. Esquema del diseño del experimento a lo largo de los cinco meses.

## Resultados previos [164]

Es lógico que el molibdeno, micronutriente esencial necesario para el buen desarrollo y crecimiento de la planta de faba, se acumule en aquellas zonas que después darán lugar a nuevos individuos: las semillas. Por tanto, una vez marcada la planta de faba, la búsqueda de esta nueva huella dactilar se centró en el estudio de las fabas producidas por la planta.

Los análisis de estas fabas en disolución llevados a cabo por la doctora Isabel Caramés Pasarón se muestran en las siguientes tablas para las tres concentraciones de molibdeno añadidas bajo los tres tiempos de riego considerados: Tabla D.5 Tabla D.6 Tabla D.7. Estos resultados fueron tomados como guía para el posterior análisis de las fabas mediante LA-ICP-MS.

A la vista de los valores que se recogen en las tablas, se pudo concluir que para la detección de la huella isotópica de molibdeno en fabas, una concentración de 1 y 10 mg de trazador por planta (concentraciones Medium y High, respectivamente) permitiría una identificación inequívoca de las mismas. Además, el mejor momento para la adición de la mezcla trazadora pareció ser a las 6 semanas de vida de la planta, cuando ésta era aún pequeña y el aporte de nutrientes era más necesario.



Tabla D.5. Relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$  en las fabas “LOW” regadas con 0.1 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164].

Plantas “LOW”				
Planta	$x_{\text{Mo97}}$	$x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo-nat}}$ norm
L1 (1)	0.0031	0.0033	$0.9433 \pm 0.1015$	0.9926
L1 (2)	0.0072	0.0060	$1.1910 \pm 0.1190$	0.9846
L1 (3)	0.0052	0.0042	$1.2460 \pm 0.2580$	0.9879
L2 (1)	0.0147	0.0147	$1.0003 \pm 0.0206$	0.9698
L2 (2)	0.0123	0.0125	$0.9804 \pm 0.0216$	0.9742
L2 (3)	0.0125	0.0120	$1.0352 \pm 0.0474$	0.9739
L3 (1)	0.0010	0.0008	$1.2109 \pm 0.4188$	0.9971
L3 (2)	0.0013	0.0014	$0.9720 \pm 0.4562$	0.9954
L3 (3)	0.0012	0.0009	$1.3159 \pm 0.4613$	0.9968
L4 (1)	0.0027	0.0027	$0.9930 \pm 0.0646$	0.9941
L4 (2)	0.0024	0.0024	$0.9819 \pm 0.2854$	0.9935
L4 (3)	0.0035	0.0023	$1.4940 \pm 0.2819$	0.9931
L5 (1)	0.0008	0.0005	$1.4377 \pm 2.1791$	0.9974
L5 (2)	0.0007	0.0006	$1.1236 \pm 1.2905$	0.9972
L5 (3)	0.0005	0.0005	$0.9702 \pm 1.0358$	0.9980
L6 u (1)	0.0017	0.0017	$0.9448 \pm 0.3794$	0.9949
L6 u (2)	0.0026	0.0019	$1.3937 \pm 1.6796$	0.9921
L6 u (3)	0.0346	0.0018	$19.0353 \pm 7.9300$	0.9615
L6 d (1)	0.0019	0.0019	$0.9824 \pm 0.2909$	0.9945
L6 d (2)	0.0031	0.0028	$1.1065 \pm 0.1437$	0.9926
L6 d (3)	0.0032	0.0034	$0.9446 \pm 0.2785$	0.9904

Tabla D.6. Relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$  en las fabas “MEDIUM” regadas con 1 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164].

Plantas “MEDIUM”				
Planta	$x_{\text{Mo97}}$	$x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo-nat}} \text{ norm}$
M1 (1)	0.0156	0.0160	$0.9759 \pm 0.0139$	0.9677
M1 (2)	0.0129	0.0131	$0.9851 \pm 0.0298$	0.9724
M1 (3)	0.0123	0.0124	$0.9909 \pm 0.0416$	0.9737
M2 (1)	0.0171	0.0172	$0.9952 \pm 0.0443$	0.9639
M2 (2)	0.0271	0.0285	$0.9489 \pm 0.0168$	0.9439
M2 (3)	0.0284	0.0300	$0.9449 \pm 0.0159$	0.9408
M3 (1)	0.0326	0.0346	$0.9434 \pm 0.0167$	0.9318
M3 (2)	0.0351	0.0363	$0.9660 \pm 0.0153$	0.9279
M3 (3)	0.0386	0.0416	$0.9274 \pm 0.0190$	0.9190
M4 (1)	0.0138	0.0139	$0.9903 \pm 0.0034$	0.9701
M4 (2)	0.0707	0.0715	$0.9886 \pm 0.0045$	0.8566
M4 (3)	0.0428	0.0434	$0.9877 \pm 0.0103$	0.9123
M5 (1)	0.0137	0.0139	$0.9879 \pm 0.0057$	0.9701
M5 (2)	0.0117	0.0113	$1.0346 \pm 0.0409$	0.9751
M5 (3)	0.0129	0.0127	$1.0159 \pm 0.0382$	0.9730
M6 u (1)	0.0146	0.0146	$1.0030 \pm 0.0169$	0.9699
M6 u (2)	0.0189	0.0190	$0.9952 \pm 0.0143$	0.9612
M6 u (3)	0.0235	0.0236	$0.9981 \pm 0.0081$	0.9516
M6 d (1)	0.0042	0.0034	$1.2133 \pm 0.1272$	0.9913
M6 d (2)	0.0098	0.0098	$1.0041 \pm 0.0311$	0.9795
M6 d (3)	0.0070	0.0064	$1.0836 \pm 0.0949$	0.9845

Tabla D.7. Relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$  en las fabas “HIGH” regadas con 10 mg de mezcla trazadora y analizadas mediante MC-ICP-MS [164].

Plantas “HIGH”				
Planta	$x_{\text{Mo97}}$	$x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	$x_{\text{Mo-nat}} \text{ norm}$
H1 (1)	0.2583	0.2618	$0.9865 \pm 0.0004$	0.4793
H1 (2)	0.1944	0.1967	$0.9880 \pm 0.0027$	0.6073
H1 (3)	0.1998	0.2019	$0.9900 \pm 0.0018$	0.5969
H2 (1)	0.2941	0.2980	$0.9867 \pm 0.0004$	0.4070
H2 (2)	0.3470	0.3518	$0.9864 \pm 0.0003$	0.3008
H2 (3)	0.3179	0.3220	$0.9875 \pm 0.0004$	0.3598
H3 (1)	0.3360	0.3403	$0.9873 \pm 0.0003$	0.3233
H3 (2)	0.3387	0.3407	$0.9941 \pm 0.0015$	0.3202
H3 (3)	0.3326	0.3371	$0.9865 \pm 0.0002$	0.3298
H4 (1)	0.0972	0.0968	$1.0043 \pm 0.0083$	0.8040
H4 (2)	0.1327	0.1334	$0.9949 \pm 0.0044$	0.7314
H4 (3)	0.1662	0.1672	$0.9936 \pm 0.0023$	0.6652
H5 u (1)	0.0071	0.0072	$0.9837 \pm 0.1508$	0.9806
H5 u (2)	0.0109	0.0115	$0.9498 \pm 0.1524$	0.9700
H5 u (3)	0.0126	0.0130	$0.9632 \pm 0.1512$	0.9678
H5 d (1)	0.0041	0.0039	$1.0453 \pm 0.0629$	0.9907
H5 d (2)	0.0030	0.0030	$1.0224 \pm 0.0739$	0.9932
H5 d (3)	0.0110	0.0109	$1.0115 \pm 0.0627$	0.9760
H6 (1)	0.0037	0.0031	$1.1873 \pm 0.2212$	0.9915
H6 (2)	0.0047	0.0045	$1.0509 \pm 0.0778$	0.9891
H6 (3)	0.3030	0.0026	$1.1560 \pm 0.1786$	0.9930

## Estudios de asimilación del molibdeno por la planta de faba

Una vez finalizado el trabajo por parte de la doctora Isabel Caramés Pasarón sobre la detección de la marca isotópica en la faba asturiana quedaban aún muchas incógnitas que se pretenden resolver en la presente Tesis Doctoral. Por una parte, no se conocía la distribución del molibdeno en las distintas partes de la planta lo que requirió el análisis de muestras de tierra, raíces, vainas y hojas. Por otra parte, el procedimiento experimental para la detección de la marca isotópica en la faba era muy complejo ya que requería la puesta en disolución de la muestra y la separación del molibdeno del resto de elementos antes de su medida por MC-ICP-MS. Se evaluó entonces la detección directa de la marca isotópica mediante ablación láser ICP-MS.

### Naturaleza de las muestras

Para evaluar la asimilación del molibdeno por parte de la planta de faba se eligió la planta H3: planta regada el 6 de agosto de 2012 con alta concentración de trazador (10 mg Mo/planta) en la semana 10 después de su siembra. De ella se analizaron muestras de tierra, raíces, tallos, vainas, hojas y fabas. Dentro de estos tipos de muestras hay dos grandes grupos en función de cuándo fueron recogidas:

- **Grupo A:** muestras recogidas un mes después del riego (5 septiembre 2012)

Se recogieron dos muestras de hojas (Hoja 4 y Hoja 5), y de cada una de ellas se realizó un duplicado. Cada una de las tres muestras de vainas (Vaina 1, Vaina 2 y Vaina 3), supuso una réplica. De la misma manera, de cada una de estas vainas se recogió una

faba aun sin madurar (Faba 1A, Faba 2B y Faba 3C), que se analizaron individualmente (Figura D.8).

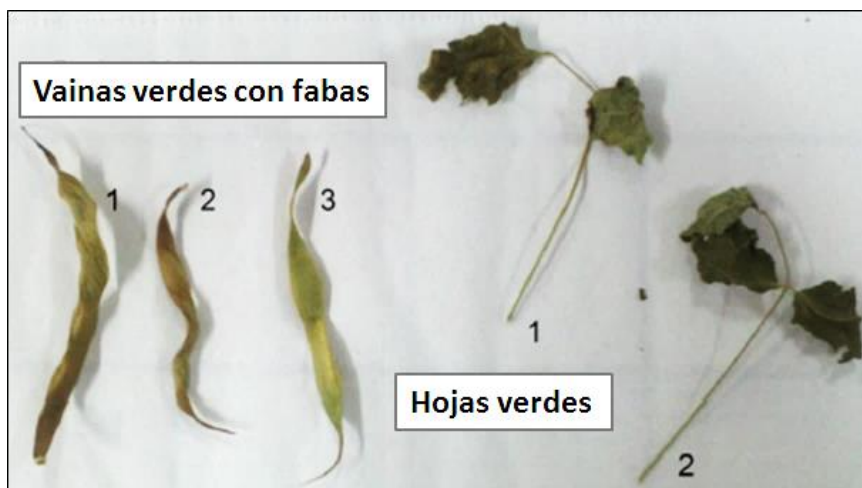


Figura D.8. Grupo A de muestras: vainas, fabas y hojas verdes.

- **Grupo B:** muestras recogidas tres meses después del riego (31 octubre 2012)

El grupo B está compuesto por muestras de tierra, raíces, tallo, vainas secas y fabas maduras recogidas tres meses después de su riego coincidiendo con la cosecha de todas las plantas en estudio (Figura D.9). Las muestras de tierra se dividieron en dos grupos (Tierra 1 y Tierra 2) y de cada uno de ellos se realizó un triplicado. De la raíz de la planta se realizó a su vez un triplicado (G-1, G-2 y G-3), tomando diferentes partes de la misma. El tallo fue dividido en 8 trozos de cada uno de los cuáles se realizó una réplica. Igualmente, se recogieron 8 vainas secas que se analizaron individualmente, y por último, se tomaron tres fabas (Faba D, Faba E y Faba F), suponiendo así un triplicado de este tipo de muestras.

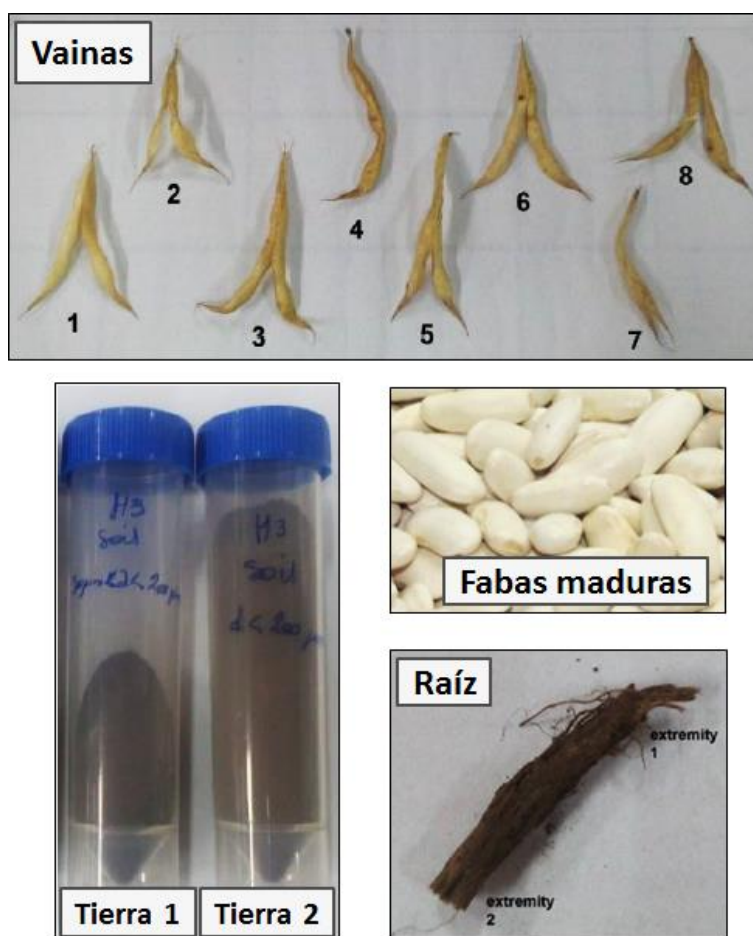


Figura D.9. Grupo B de muestras: vainas secas, tierra, fabas maduras y raíz.

## Tratamiento de muestra para análisis en disolución

Siguiendo el protocolo de preparación de muestra ya optimizado por Isabel Caramés Pasarón en su Tesis Doctoral, se procesaron muestras de tierra, raíces, tallos, vainas, hojas y fabas para evaluar el enriquecimiento en molibdeno en cada una de ellas, realizándose un triplicado de cada una de ellas siempre que su disponibilidad lo permitió.

## • Digestión

Las muestras de raíces, tallos, vainas, hojas y fabas se digirieron en placa calefactora, mientras que fue necesario el uso de un horno microondas para la digestión de las muestras de tierra. Se colocaron aproximadamente 0.05 g de las matrices de tierra, tallo, vainas y hojas en viales de PFA de 15 mL de tapón de rosca y fondo plano. Seguidamente, se añadieron 3 mL de HNO<sub>3</sub> sub-boiling y 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%), se cerraron los viales y se calentaron en placa calefactora a 110 °C durante 10-16 horas. Durante la primera hora de digestión, se abrieron los viales cada 5 minutos para liberar la sobrepresión creada por los gases de óxidos nitrosos (NO<sub>x</sub>) generados. Tras la digestión, se evaporó a sequedad y las muestras se redisolviéron en 2 mL de HCl 6 M durante 2-3 horas en placa calefactora calentando a 110 °C.

Por su parte, dado que las fabas son muestras muy duras, se sumergieron en un baño de agua Milli-Q durante 24 horas con el fin de reblandecerlas. Después fueron peladas y molidas en un mortero de ágata hasta obtener una pasta homogénea, de la que se tomaron 0.2 g y se colocaron en viales de PFA para seguir el proceso de digestión citado anteriormente.

Previamente a su digestión, las muestras de tierra fueron tamizadas para eliminar impurezas, para lo que se utilizaron tamizadores circulares de acero inoxidable de diferentes tamaños de partícula. Solamente se tuvieron en cuenta dos tipos de partículas: aquellas con un diámetro entre 300 y 200 µm, y aquellas con diámetro inferior a 200 µm. Para su digestión se pesaron 0.1 g de material en cada bomba de Teflón. Seguidamente se añadieron 7 mL de HNO<sub>3</sub> sub-boiling y 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%), se cerraron las bombas y se aplicó el siguiente programa de digestión en cuatro pasos: rampa 3 min a 100 °C (700W), rampa 10 min a 165 °C (800 W), rampa 5 min a 190 °C (800W), 15 min a 190 °C (800W) y ventilación durante una hora.

De los digeridos, 4 mL se almacenaron y los otros 4 mL se filtraron y se trasvasaron a viales de PFA para su redisolución siguiendo el protocolo anteriormente mencionado. Todas las muestras digeridas fueron filtradas mediante filtros de jeringa antes de la separación de la matriz del molibdeno.

### • Separación del molibdeno de la matriz

Las principales interferencias espectrales que se presentan a las masas 95 y 97 coincidentes con las masas de los trazadores enriquecidos seleccionados (Mo95 y Mo97) tienen un carácter poliatómico. Éstas se forman por combinación de los componentes de la matriz con oxígeno y/o argón, siendo ejemplos de ellas las especies poliatómicas  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^{39}\text{K}^+$  y  $^{79}\text{Br}^{16}\text{O}^+$ ; y  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^{41}\text{K}^+$ ,  $^{81}\text{Br}^{16}\text{O}^+$  y  $^{40}\text{Ar}^{57}\text{Fe}^+$ , interferentes a las masas 95 y 97, respectivamente.

De entre todas ellas, las especies con mayor potencial para interferir en la medida de las relaciones isotópicas de molibdeno en las fabas son las combinaciones de  $^x\text{Ar}^x\text{O}^x\text{K}^+$ , ya que el potasio es un macronutriente que la planta necesita para crecer y se encuentra en grandes proporciones en la misma. Por ello, para evitar este tipo de interferencias espectrales en la medida de las relaciones isotópicas de molibdeno en el equipo multicolector, se llevó a cabo la separación de la matriz de la muestra mediante resina de intercambio aniónico AG1-X8 en columnas de polipropileno. De esta manera, mediante un proceso de separación adecuado se eliminan todos los componentes que acompañan al analito en la matriz de la muestra.

La resina fue humedecida en agua Milli-Q y agitada. Tras ello, el sobrenadante se reemplazó por agua Milli-Q y se cargó en cada una de las columnas hasta conseguir un



lecho de en torno a 1 mL. Seguidamente se añadieron cuidadosamente 5 mL de agua Milli-Q para eliminar el posible molibdeno residual y se usaron otros 5 mL de HCl 6 M para acondicionar la resina. 2 mL de muestra filtrada en medio HCl 6 M fueron cargados en la columna y la matriz fue eliminada con 5 mL de HCl 6 M. Se eluyó el molibdeno, en forma  $\text{MoO}_4^{2-}$ , con 4 mL de HCl 6 M. El primer mililitro fue descartado, mientras que los siguientes tres mililitros fueron recogidos conjuntamente. Las muestras fueron diluidas en proporción 1:3 con agua Milli-Q, dejándolas preparadas para su análisis por MC-ICP-MS.

Bajo las condiciones experimentales anteriormente expuestas, el proceso de separación del molibdeno de la matriz no induce el fraccionamiento isotópico del molibdeno. En la Figura D.10 se muestra un esquema que resume los pasos de este procedimiento de separación.



Figura D.10. Esquema de separación de molibdeno de la matriz de las fabas.

## Metodología de medida

Para conocer el enriquecimiento en molibdeno de cada una de las partes de la planta se hizo uso del equipo ICP-MS multicolector. Para ello, como ya se ha mencionado en el apartado C.1.1.2, se llevó a cabo la optimización diaria de la señal analítica ajustando el voltaje de las lentes, flujos de los gases y configuración de copas.

Tras ello, la secuencia de medida empieza generalmente con un blanco de la muestra, una disolución de molibdeno de abundancia isotópica natural y después las muestras, entre las cuales se hace pasar  $\text{HNO}_3$  0.42 M para limpiar. Las condiciones experimentales bajo las que se llevaron a cabo las medidas se muestran en la Tabla D.8.

**Tabla D.8. Parámetros experimentales utilizados en la medida de relaciones isotópicas de molibdeno en el equipo multicolector Neptune Plus.**

<b>Parámetros instrumentales MC-ICP-MS Neptune Plus</b>								
Potencia RF aplicada	1200 W							
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>							
Flujo de gas portador	1.05 L·min <sup>-1</sup>							
Flujo de gas auxiliar	0.80 L·min <sup>-1</sup>							
<b>Parámetros de adquisición MC-ICP-MS Neptune Plus</b>								
Tiempo de integración	4.2 s							
Número de ciclos	50 por bloque							
Número de bloques	1							
<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS Neptune Plus</b>								
L4	L3	L2	L1	C	H1	H2	H3	H4
<sup>91</sup> Zr <sup>+</sup>	<sup>92</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>94</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>95</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>96</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>97</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>98</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>99</sup> Mo <sup>+</sup>	<sup>100</sup> Mo <sup>+</sup>
	( <sup>92</sup> Zr <sup>+</sup> )	( <sup>94</sup> Zr <sup>+</sup> )		( <sup>96</sup> Zr <sup>+</sup> )				
				( <sup>96</sup> Ru <sup>+</sup> )		( <sup>98</sup> Ru <sup>+</sup> )		( <sup>100</sup> Ru <sup>+</sup> )

## Cálculo de las relaciones isotópicas de molibdeno y corrección de la discriminación de masas

El valor de las **relaciones isotópicas** de molibdeno se toma directamente de la media de los valores obtenidos a partir de los 50 ciclos de medida. La **corrección de la discriminación de masas** se lleva a cabo mediante deconvolución de perfiles isotópicos como se ha descrito en apartados anteriores. Dado que estas muestras fueron sometidas a separación cromatográfica, no se esperaba encontrar contribución de posibles interferentes como el circonio, por lo que su contribución no fue calculada mediante IPD. Sin embargo, es conveniente destacar que dado que la intensidad de las señales de molibdeno en el MC-ICP-MS eran demasiado bajas, la intensidad a  $m/z = 96$  se vio interferida por la especie  $^{40}\text{Ar}^{56}\text{Fe}^+$ . Tras el estudio de residuales del ajuste se vio que el error asociado a la masa  $m/z = 96$  era mucho mayor que para el resto de masas, por lo que se decidió eliminar su contribución para el cálculo de fracciones molares. La ecuación (Ec. D.5) para este caso particular quedaría entonces de la siguiente manera:

$$\begin{bmatrix} A_m^{92} \\ A_m^{94} \\ A_m^{95} \\ A_m^{97} \\ A_m^{98} \\ A_m^{100} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_{\text{Mo-nat}}^{92} & A_{\text{Mo95}}^{92} & A_{\text{Mo97}}^{92} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{94} & A_{\text{Mo95}}^{94} & A_{\text{Mo97}}^{94} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{95} & A_{\text{Mo95}}^{95} & A_{\text{Mo97}}^{95} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{97} & A_{\text{Mo95}}^{97} & A_{\text{Mo97}}^{97} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{98} & A_{\text{Mo95}}^{98} & A_{\text{Mo97}}^{98} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{100} & A_{\text{Mo95}}^{100} & A_{\text{Mo97}}^{100} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} X_{\text{Mo-nat}} \\ X_{\text{Mo95}} \\ X_{\text{Mo97}} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e^{92} \\ e^{94} \\ e^{95} \\ e^{97} \\ e^{98} \\ e^{100} \end{bmatrix}$$

## Resultados

En la Figura D.11 se recoge la relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}097}/x_{\text{Mo}095}$ ) encontrada en las muestras del **Grupo A**. La línea negra horizontal representa la relación de fracciones molares de molibdeno en la mezcla trazadora ( $N_{\text{Mo}097}:N_{\text{Mo}095} = 0.988644$ ). En círculos rojos se representa el valor de la relación de fracciones molares obtenida para las fabas H3 en anteriores estudios y que se tomaron como referencia.

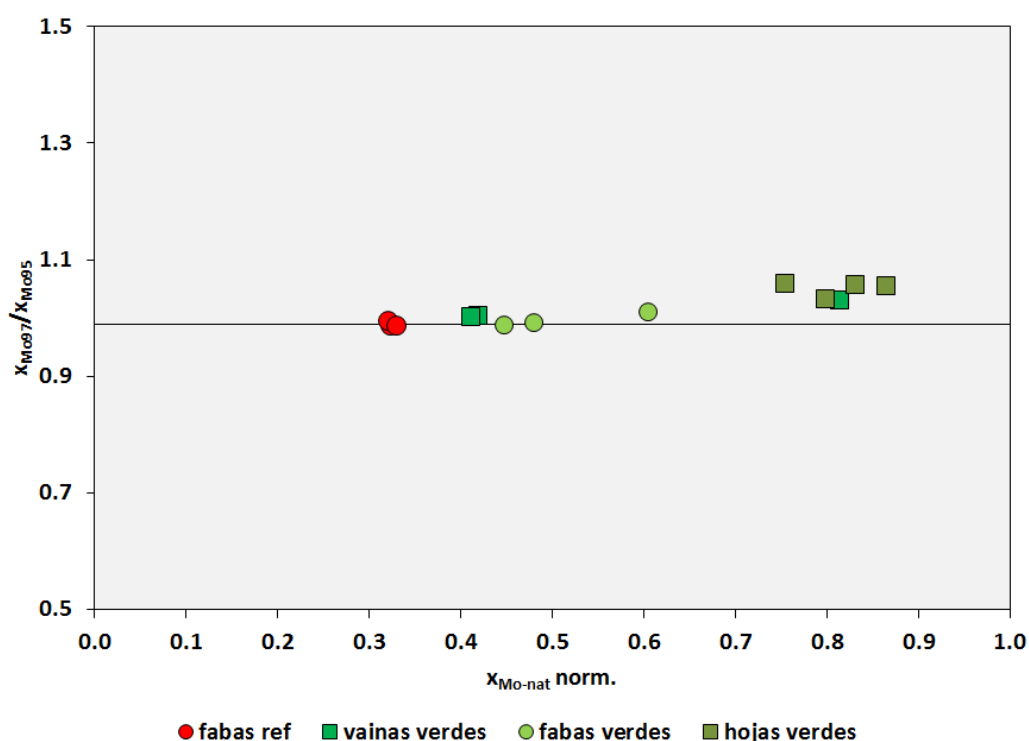


Figura D.11. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}097}/x_{\text{Mo}095}$ ) en las muestras del Grupo A.

Como se puede ver en la Figura D.11, las fabas aún verdes presentan un enriquecimiento en molibdeno destacable y su huella isotópica permite ya una identificación inequívoca. Las hojas verdes presentan el menor enriquecimiento de este grupo de muestras. Probablemente, estas hojas comenzaron a crecer antes de que se añadiera la mezcla trazadora y no habrían podido incorporar todo este

suplemento en su estructura. De todos modos la acumulación de molibdeno en las hojas no suele ser habitual, ya que este tipo de tejidos participan más activamente en procesos de fotosíntesis o de intercambio de materia con el medio ambiente.

Análogamente a los resultados del Grupo A de muestras, en la siguiente figura se representan los resultados obtenidos del análisis de las muestras del **Grupo B** (Figura D.12). La línea negra horizontal representa la relación de fracciones molares de molibdeno en la mezcla trazadora ( $N_{Mo97}:N_{Mo95} = 0.988644$ ), mientras que los círculos rojos representan las fabas tomadas como guía.

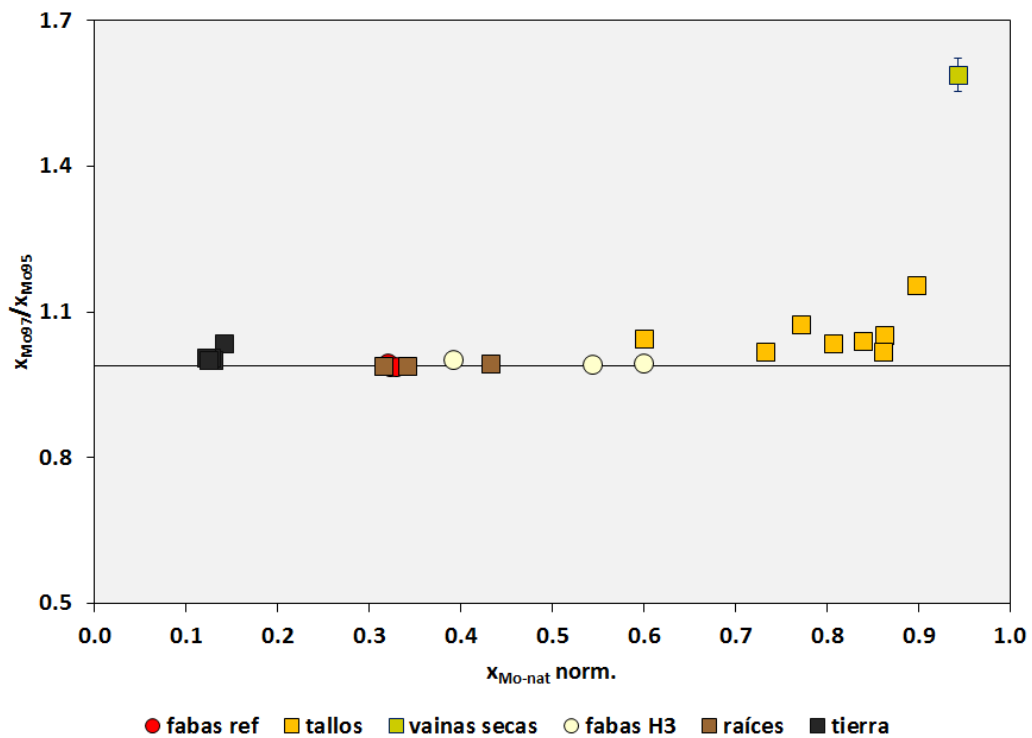


Figura D.12. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) en las muestras del Grupo B.

La mezcla trazadora fue directamente añadida sobre la tierra en íntimo contacto con la planta, lo que explica el alto enriquecimiento encontrado en las muestras de tierra y raíces, éstas últimas principales encargadas de la absorción de los nutrientes y

minerales desde el suelo. Por su parte, el tallo de las plantas está formado por un gran número de tejidos que cubren funciones estructurales y de transporte.

En estas muestras se encontró un enriquecimiento en molibdeno muy bajo y una alta contribución de molibdeno de abundancia natural. Este hecho se podría explicar suponiendo que el trazador de molibdeno añadido mediante un único riego hubiera sido rápidamente transportado desde las raíces hasta las partes superiores de la planta a través del tallo, con la consecuente absorción a una mayor escala de molibdeno de abundancia natural dada su esencialidad durante el proceso de crecimiento de la planta.

Los resultados de las vainas verdes y de las vainas secas exhiben valores de enriquecimiento de molibdeno en claro contraste. Las vainas de las plantas leguminosas actúan como cubierta protectora que cobija a las fabas en crecimiento proporcionándoles nutrientes y comida. Se encontró un mayor enriquecimiento en molibdeno en las vainas verdes, las cuales fueron recolectadas cuando todavía proporcionaban nutrientes a las fabas de su interior. El análisis de las vainas secas mostró un enriquecimiento en molibdeno escaso, pero sí una contribución alta de molibdeno natural. En el estado maduro de la planta, las vainas han transferido todos los nutrientes hasta las semillas y solamente dan protección a las nuevas fabas. Como se puede comprobar en la Figura D.12, sólo se puede ver una de las réplicas de las vainas secas, ya que los valores encontrados en el resto se salen totalmente fuera de escala con valores tremendamente diferentes a la relación del trazador.

Como era de esperar, tanto en las fabas verdes como en las maduras el enriquecimiento en molibdeno es alto, ya que serán las creadoras de nuevas vidas y los nutrientes se acumulan en su interior con ese fin.

En la Figura D.13 se representan los resultados obtenidos para las réplicas más representativas de cada tipo de muestra: Hoja 4, Vaina verde 1, Faba verde 3C, Tierra 2.1, Raíz G-2, Tallo 3, Vaina seca 6 y Faba madura E.

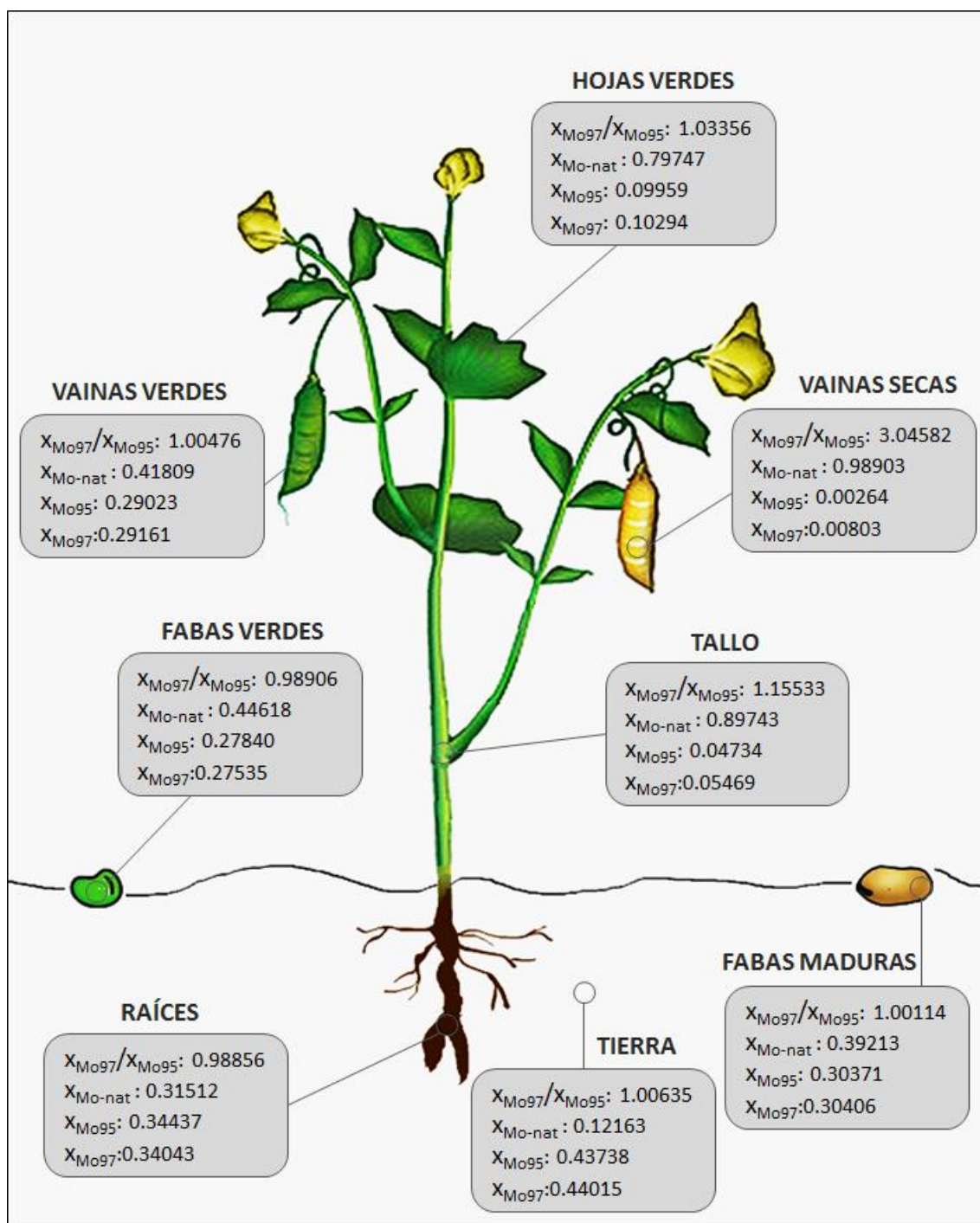


Figura D.13. Asimilación del molibdeno en la planta de faba asturiana.



## Detección de la marca de molibdeno en fabas mediante análisis directo por LA-ICP-MS

Como alternativa al análisis en disolución para la medida de las relaciones isotópicas de molibdeno en fabas marcadas, en este apartado se presenta una nueva metodología basada en el acoplamiento de ablación láser al ICP-MS de tipo cuadrupolo. La aplicación de la ablación láser permite el análisis rápido y directo de la muestra sin apenas destrucción de la misma y evitando los largos tiempos de tratamiento de muestra necesarios para su análisis en disolución. Se evaluó el equipo ICP-MS de cuadrupolo dada la baja concentración de molibdeno en las fabas que impedía su detección en el equipo multicolector.

### Naturaleza de las muestras

Para evaluar el enriquecimiento en molibdeno en las semillas se analizaron un total de 21 tipos de fabas, tal y como se muestra en el esquema de la Figura D.7, atendiendo a la concentración de marca añadida y al momento en el que fueron regadas, con el fin de conocer en qué estadio de la vida de la planta el riego es más efectivo bajo una mínima cantidad de trazador añadida.

### Tratamiento de muestra

No fue necesario ningún tipo de preparación de muestra para el análisis de las fabas por LA-ICP-MS. Simplemente, las fabas fueron divididas en dos mitades utilizando un cúter, y la parte que contenía el embrión se colocó directamente en la cámara de ablación para su análisis.

## Metodología de medida

La optimización diaria del acoplamiento ablación láser- ICP-MS de cuadrupolo se llevó a cabo diariamente tal y como se indicó en el apartado C.1.2. Las fabas fueron divididas en dos partes para su ablación bajo las condiciones de la Tabla D.9.

**Tabla D.9. Parámetros experimentales utilizados en la medida de relaciones isotópicas de molibdeno en fabas mediante LA-ICP-MS.**

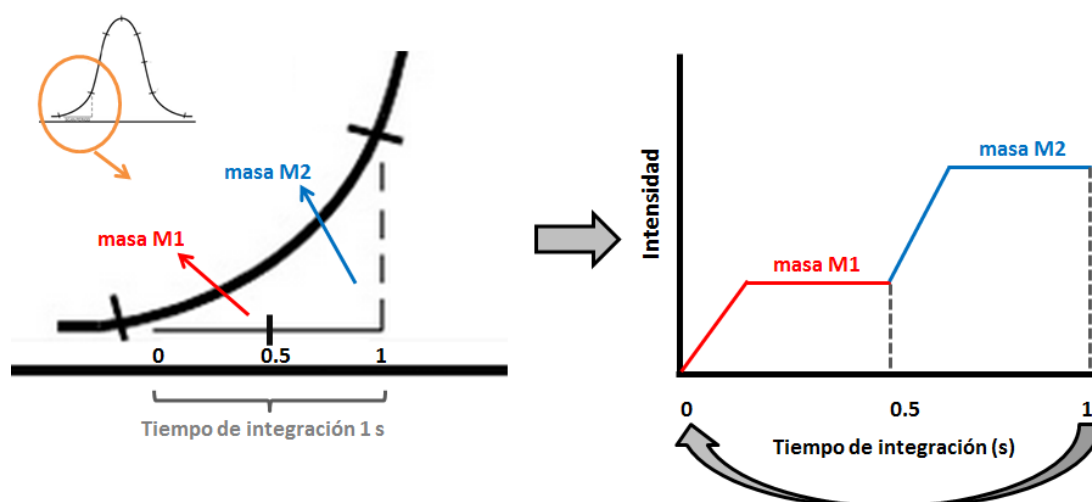
<b>Parámetros instrumentales Q-ICP-MS Agilent 7500ce</b>	
Potencia RF aplicada	1500 W
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>
Flujo de gas portador	0.75 L·min <sup>-1</sup>
Sampler y skimmer	Ni
<b>Parámetros de adquisición Q-ICP-MS Agilent 7500ce</b>	
Modo de adquisición	Análisis a tiempo resuelto (TRA)
Puntos por pico	1
Tiempo de integración por punto	0.1 s
Masas medidas	<sup>95</sup> Mo <sup>+</sup> , <sup>96</sup> Mo <sup>+</sup> , <sup>97</sup> Mo <sup>+</sup> , <sup>98</sup> Mo <sup>+</sup> , <sup>100</sup> Mo <sup>+</sup>
Tiempo total	90 s
<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS CETAC LSX-213</b>	
Energía del láser	100 % (5.6 mJ máx.)
Frecuencia de repetición	20 Hz
Tamaño del haz	200 μm
Distancia entre puntos	200 μm
Velocidad	10 μm·s <sup>-1</sup> (barrido en línea, mapeo)
Disparos (“Bursts”)	800 (single point)
Flujo de Helio	0.70 L·min <sup>-1</sup>

## Cálculo de las relaciones isotópicas de molibdeno: corrección del desfase espectral y de la discriminación de masas

Un tiempo total de 90 s para cada punto ablacionado incluye: en torno a 20 s de recogida de datos del fondo antes de empezar a ablación, 50 s del propio proceso de arrancado de materia mediante ablación láser, y otros 20 s finales de recogida de datos del fondo de los gases. Todos estos datos generados durante los 90 segundos de análisis se utilizaron para el cálculo de las relaciones isotópicas.

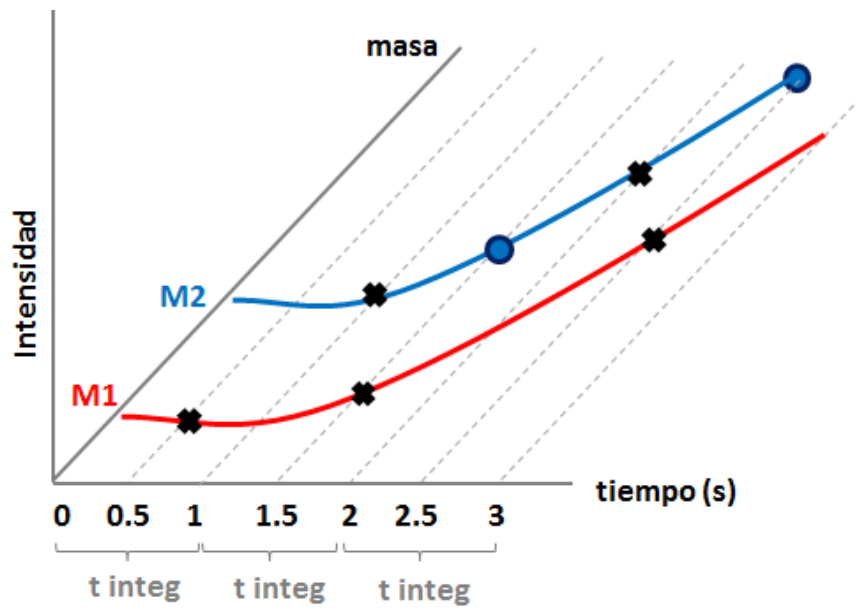
Dado que el cálculo de la relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$  es independiente del número de masas medidas, solamente cinco de los siete isótopos de molibdeno fueron seleccionados con el objetivo de evitar los efectos indeseados de “spectral skew” (desfase espectral) que se dan cuando se acopla un sistema de ablación láser a un detector secuencial trabajando en modo de análisis a tiempo resuelto. Se tuvieron en cuenta las contribuciones de  $^{95}\text{Mo}$ ,  $^{96}\text{Mo}$ ,  $^{97}\text{Mo}$ ,  $^{98}\text{Mo}$  y  $^{100}\text{Mo}$ , y se descartaron los isótopos  $^{92}\text{Mo}$  y  $^{94}\text{Mo}$ .

Cuando se acopla un sistema de ablación láser que genera señales que varían con el tiempo, a un ICP-MS equipado con un detector secuencial adquiriendo datos a tiempo resuelto, existe un leve desfase espectral que debe ser corregido. Este desfase se debe a los cambios en la intensidad de señal que ocurren en el intervalo de tiempo necesario para obtener un barrido de masas, o en otras palabras, cuando la velocidad de barrido es baja con respecto al cambio de concentración del analito. Suponiendo la medida de dos masas, masa M1 y masa M2, y un tiempo de integración total de 1 s, un detector secuencial adquiriendo datos a tiempo resuelto y cuando la señal analítica cambia en función del tiempo, funciona tal y como se muestra en la Figura D.14.



**Figura D.14. Modo de adquisición de datos a tiempo resuelto en un detector secuencial.**

Este detector adquiere datos de la masa M1 durante los primeros 0.5 s y una vez terminado ese periodo salta rápidamente hacia la siguiente masa M2, cuyos datos recoge durante los siguientes 0.5 s. Pasado este tiempo, vuelve de nuevo a empezar la adquisición de la masa M1, masa M2 y así sucesivamente. En el tiempo en el que está adquiriendo datos para la masa M1, cualquier cambio en la señal de la masa M2 no es detectable, y viceversa, lo que genera cierto desfase entre las intensidades medidas. Para minimizar este desfase, el rango de masas en estudio debería ser escaneado en el menor tiempo posible, por lo que la situación ideal sería el uso de un detector simultáneo tipo multicolector. Si esto no es posible, se debe realizar una corrección temporal de las intensidades medidas, simulando que todas las masas se han medido en el mismo instante de tiempo, como si de un detector simultáneo se tratara. En esta Tesis Doctoral se ha desarrollado un procedimiento de corrección matemática del desfase espectral que se ilustra en la Figura D.15 para los primeros instantes de subida de la señal analítica para las masas M1 y M2.



$$M_1(i) = M_1(i)$$

$$M_2(i) = M_2(i) - [M_2(i) - M_2(i-1)] \times (1/n)$$

$$n = n^{\circ} \text{ masas}$$

✖ Valor medido

● Valor interpolado (correctado)

Figura D.15. Corrección matemática del desfase espectral.

En la Figura D.15 se muestra gráficamente la corrección temporal de la intensidad de las señales de las masas M1 y M2. Como se puede comprobar, se simula que ambas señales son medidas en el mismo instante en el que se mide experimentalmente la masa M1: a 1.5 s, 2.5 s,... Para aplicar esta corrección se recomienda un número máximo de 4 o 5 masas para que esta interpolación genere resultados precisos.

La corrección temporal de las intensidades permite disminuir la dispersión de las señales, como se muestra seguidamente: Figura D.16 y Figura D.17. En estas figuras se representa con círculos negros la correlación de las intensidades M1 y M2 antes de la corrección del desfase espectral, y con círculos rojos tras la corrección.

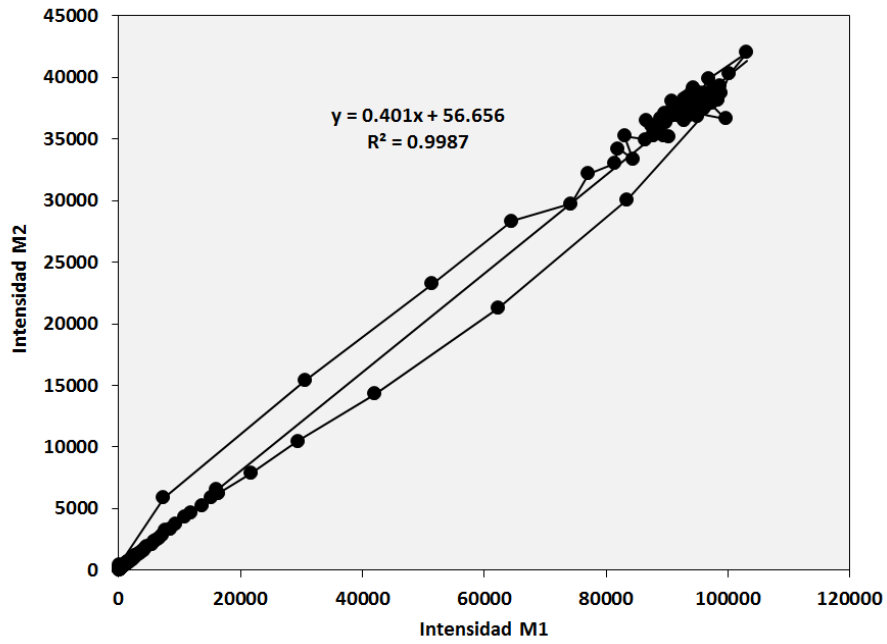


Figura D.16. Representación gráfica de la correlación entre las señales M1 y M2 antes de la corrección matemática del desfase espectral.

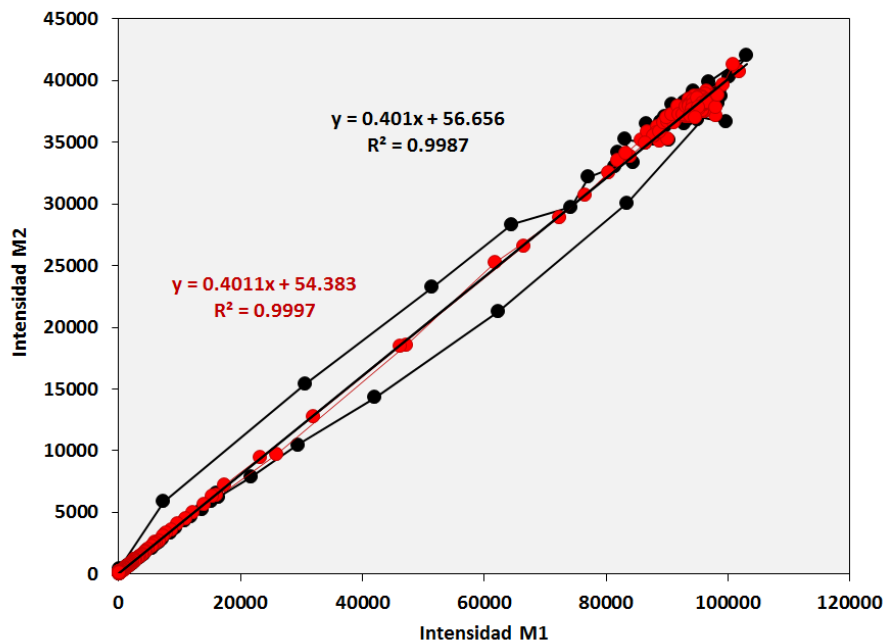


Figura D.17. Representación gráfica de la correlación entre las señales M1 y M2 tras la corrección matemática del desfase espectral.

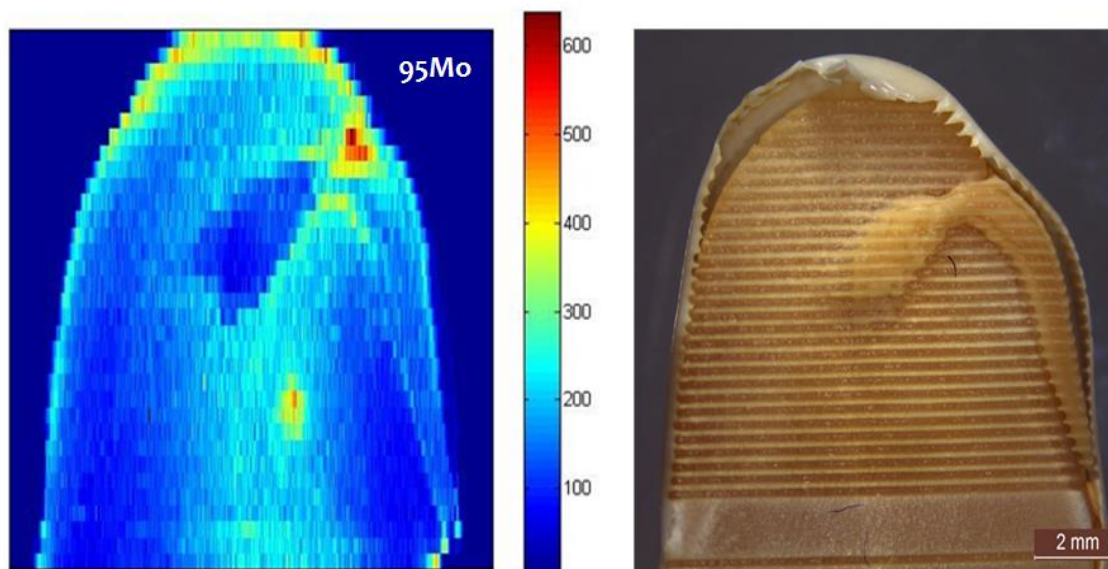
Como se puede observar, tras la corrección de las señales la dispersión de los resultados disminuye, lo que se traduce en una mejor precisión en la medida de la relación isotópica entre M1 y M basada en la pendiente de la representación de la Figura D.17.

Esta metodología se aplicó a la corrección de las intensidades de las masas de interés  $^{95}\text{Mo}$ ,  $^{96}\text{Mo}$ ,  $^{97}\text{Mo}$ ,  $^{98}\text{Mo}$  y  $^{100}\text{Mo}$ . Tras ello, todas las relaciones isotópicas  $i\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$  fueron calculadas a partir de los datos de las intensidades de señal, representando la señal de cada isótopo  $i$  frente a la señal de  $^{95}\text{Mo}$ . De la pendiente de esta correlación se saca la relación isotópica oportuna que después se corrige y transforma en abundancias isotópicas. De ahí, aplicando la deconvolución de perfiles isotópicos se obtienen las fracciones molares de ambos trazadores y finalmente la relación entre ellas. La deconvolución de perfiles isotópicos permite la corrección interna de la discriminación de masas por referencia a las abundancias naturales de los isótopos de molibdeno. De esta manera la ecuación(Ec. D.5) para este caso particular quedaría como sigue:

$$\begin{bmatrix} A_m^{95} \\ A_m^{96} \\ A_m^{97} \\ A_m^{98} \\ A_m^{100} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_{\text{Mo-nat}}^{95} & A_{\text{Mo95}}^{95} & A_{\text{Mo97}}^{95} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{96} & A_{\text{Mo95}}^{96} & A_{\text{Mo97}}^{96} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{97} & A_{\text{Mo95}}^{97} & A_{\text{Mo97}}^{97} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{98} & A_{\text{Mo95}}^{98} & A_{\text{Mo97}}^{98} \\ A_{\text{Mo-nat}}^{100} & A_{\text{Mo95}}^{100} & A_{\text{Mo97}}^{100} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} X_{\text{Mo-nat}} \\ X_{\text{Mo95}} \\ X_{\text{Mo97}} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e^{95} \\ e^{96} \\ e^{97} \\ e^{98} \\ e^{100} \end{bmatrix}$$

## Resultados

La radiación láser genera haces de mucha intensidad y estrechos, lo que permite alta resolución espacial. Dada la necesidad de conocer en qué región de la faba se acumulaba preferencialmente el molibdeno, se aprovechó esta característica del láser para generar imágenes detalladas de la distribución de éste en la faba y saber dónde enfocar el láser para la evaluación y detección de la huella de molibdeno. Para ello se tomó una faba de la marca comercial “Xuacón” cultivada en el mismo terreno que las fabas en estudio pero a la que no se le había adicionado la mezcla de trazadores. Se dividió en dos mitades y la parte que contenía el embrión, supuesta zona de acumulación de nutrientes, fue colocada directamente en el interior de la cámara de ablación para su análisis. Las líneas de ablación se adquirieron bajo las condiciones experimentales detalladas en la Tabla D.9: empezando en la piel, pasando por el cotiledón y acabando finalmente en otra zona de piel (Figura D.18)



**Figura D.18. Mapeo de la concentración de molibdeno en una faba Xuacón no marcada mediante LA-ICP-MS.**



La Figura D.18 muestra la distribución de  $^{95}\text{Mo}$  en dos dimensiones y una fotografía de alta resolución de la faba tras su análisis por ablación láser. Como se puede ver en esta figura el molibdeno se distribuye heterogéneamente en la faba siendo el principal punto de acumulación el embrión de la nueva faba, concretamente la región entre el meristema apical del tallo y el meristema apical de las raíces. Los meristemas (o meristemas) son tejidos embrionarios formados por células capaces de generar otros tejidos y órganos especializados, por lo que es razonable que nutrientes como el molibdeno se acumulen fundamentalmente en este tipo de tejidos de crecimiento. En la imagen de la derecha se pueden apreciar con todo detalle el embrión que dará lugar a la nueva faba. En él se pueden ver los futuros raíz, tallo y hojas. Por tanto, la detección de la huella isotópica de molibdeno se centró en el análisis de esta zona mediante ablaciones punto a punto en profundidad bajo las condiciones experimentales recogidas en la Tabla D.9. En la Figura D.19 se muestra la imagen de una faba tras su análisis mediante ablación en profundidad en el entorno de los tejidos de crecimiento del embrión.

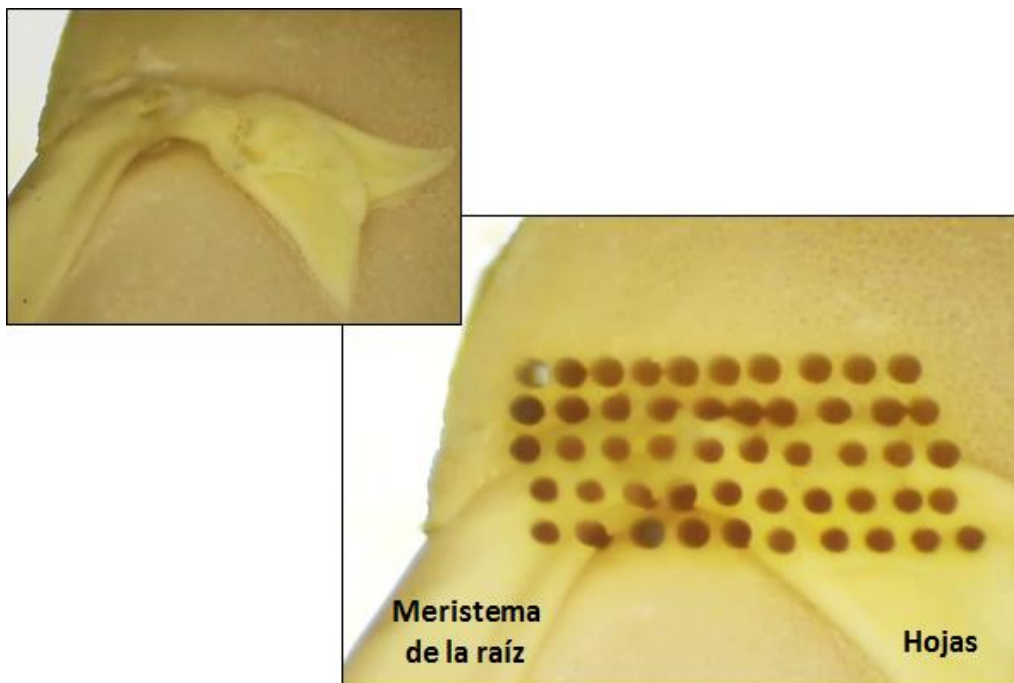
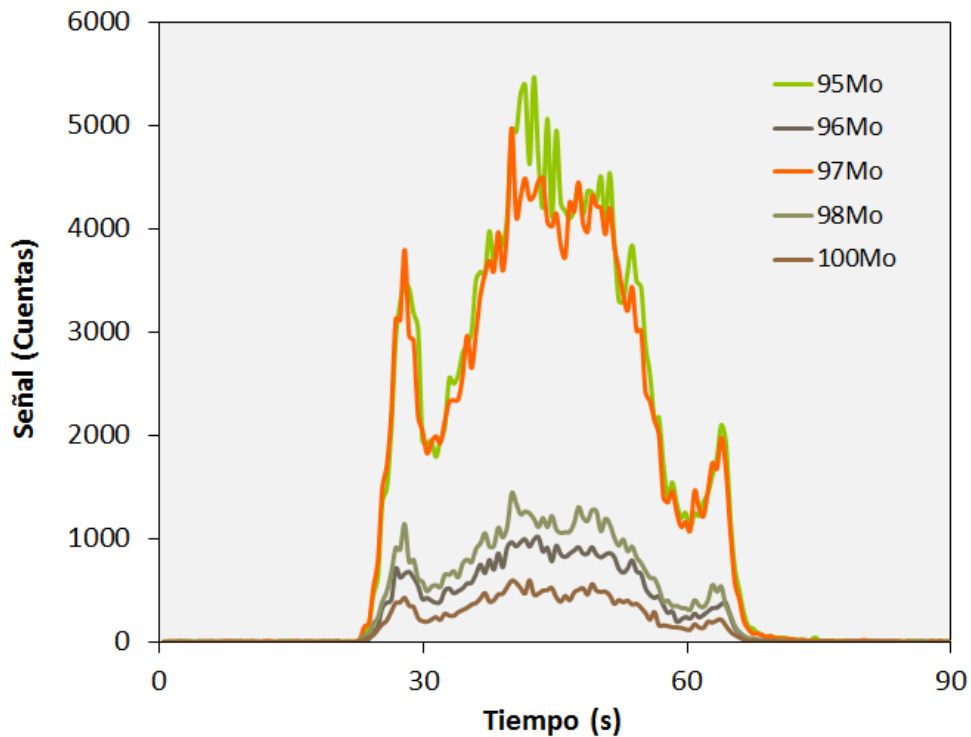


Figura D.19. Aspecto del embrión de una faba antes y después de su análisis por LA-ICP-MS.

Este método de ablación mostró que el molibdeno se distribuye en capas en el interior de la faba, como se muestra en la Figura D.20, y que además su concentración es mayor en la parte interna de los tejidos de crecimiento que en su superficie. Por ello, la ablación en profundidad fue el método elegido para la detección precisa de la marca de molibdeno.

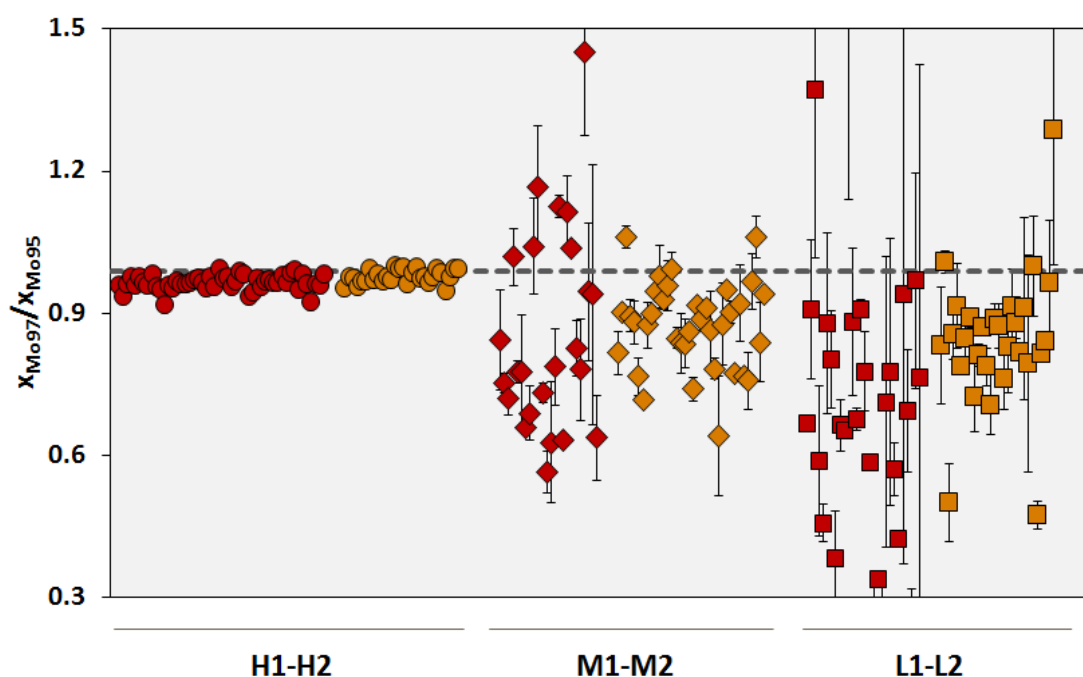


**Figura D.20. Perfil en profundidad del molibdeno en las fabas.**

Se analizaron los 21 tipos de fabas en estudio y se realizaron entre 24 y 50 puntos en cada faba dependiendo del tamaño del embrión en cada caso. Tras la corrección del desfase espectral de las masas  $^{95}\text{Mo}$ ,  $^{96}\text{Mo}$ ,  $^{97}\text{Mo}$ ,  $^{98}\text{Mo}$  y  $^{100}\text{Mo}$ , se calculó la relación de fracciones molares como se ha indicado en apartados anteriores y los resultados se muestran a continuación (Figura D.21, Figura D.22, Figura D.23). Cada una de estas figuras muestra la relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontrada en las fabas en función de su momento de riego: 6 semanas tras la siembra (Figura D.21), 10 semanas tras la siembra (Figura D.22) y 14 semanas tras la siembra (Figura D.23).

En todas estas figuras la línea gris horizontal indica la relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) de la mezcla trazadora, mientras que los círculos, rombos y cuadrados hacen referencia a las fabas marcadas con concentraciones “High”, “Medium” y “Low”, respectivamente. Conviene destacar que solamente se incluyen los resultados para un único individuo de cada tipo de faba analizada: cada individuo viene caracterizado por el valor de un total de entre 24 y 50 puntos de ablación.

En la Figura D.21 se muestran los resultados correspondientes a las fabas marcadas a las 6 semanas de siembra con diferentes concentraciones de mezcla trazadora.



**Figura D.21. Relación de fracciones molares ( $x_{M097}/x_{M095}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 6 semanas tras su siembra.**

Las fracciones molares medias de los distintos perfiles isotópicos de este grupo de fabas se recogen en la Tabla D.10.

**Tabla D.10. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 6 semanas de la siembra.**

<b>Muestra</b>	<b>X<sub>Mo-nat norm</sub></b>	<b>X<sub>Mo97</sub></b>	<b>X<sub>Mo95</sub></b>
<b>H1</b>	0.41	0.34	0.35
<b>H2</b>	0.26	0.40	0.41
<b>M1</b>	1.25	0.02	0.03
<b>M2</b>	1.22	0.03	0.04
<b>L1</b>	1.28	0.01	0.01
<b>L2</b>	1.23	0.03	0.03

A la vista de los resultados, se puede concluir que una concentración de marca de 10 mg Mo/planta es la necesaria para un buen enriquecimiento de la planta en molibdeno y una detección fiable de la marca. A una concentración de 1 mg Mo/planta la detección por vía húmeda si permite una identificación inequívoca de la planta, sin embargo, la detección mediante LA-ICP-MS requiere concentraciones más altas de analito para contrarrestar la limitada cantidad de materia ablacionada que llega al equipo. 0.1 mg Mo/planta resultan insuficientes para el marcaje y detección mediante LA-ICP-MS, como ya se dejaba entrever en análisis por vía húmeda.

Seguidamente se muestran los resultados obtenidos tras el análisis de las fabas marcadas con molibdeno enriquecido a las 10 semanas posteriores a la siembra, coincidiendo con la etapa de floración (Figura D.22). Las fracciones molares medias de los distintos perfiles isotópicos de este grupo de fabas se recogen en la Tabla D.11.

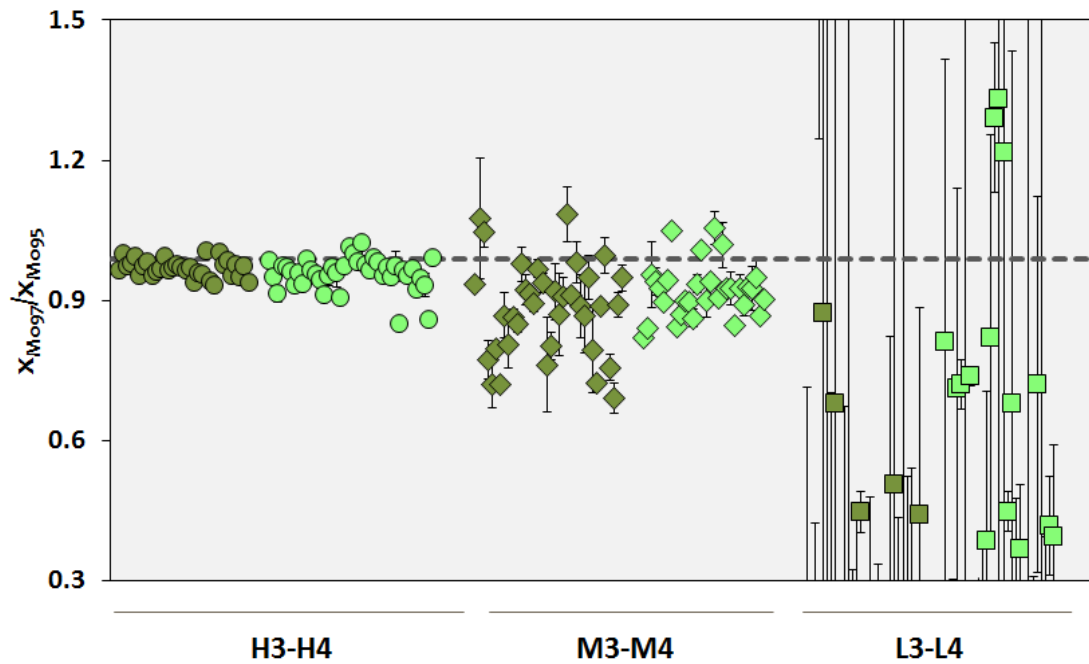


Figura D.22. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 10 semanas tras su siembra.

Tabla D.11. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 10 semanas de la siembra.

Muestra	$x_{\text{Mo-nat norm}}$	$x_{\text{Mo97}}$	$x_{\text{Mo95}}$
H3	0.25	0.41	0.42
H4	0.77	0.20	0.21
M3	1.19	0.04	0.05
M4	1.04	0.10	0.11
L3	1.30	0.00	0.01
L4	1.29	0.00	0.01

Como se puede observar, aunque la planta se haya regado en un estadio posterior al anteriormente evaluado, una concentración de 10 mg Mo/planta sigue siendo la más adecuada para la identificación de las fabas mediante ablación láser de manera precisa. Por su parte, la concentración de 0.1 mg Mo/planta sigue siendo insuficiente para, al menos, lograr cierto enriquecimiento de las semillas.

La adición de la marca de molibdeno a las 14 semanas de vida de las plantas no generó resultados satisfactorios como se muestra a continuación en la Figura D.23 y en la Tabla D.12.

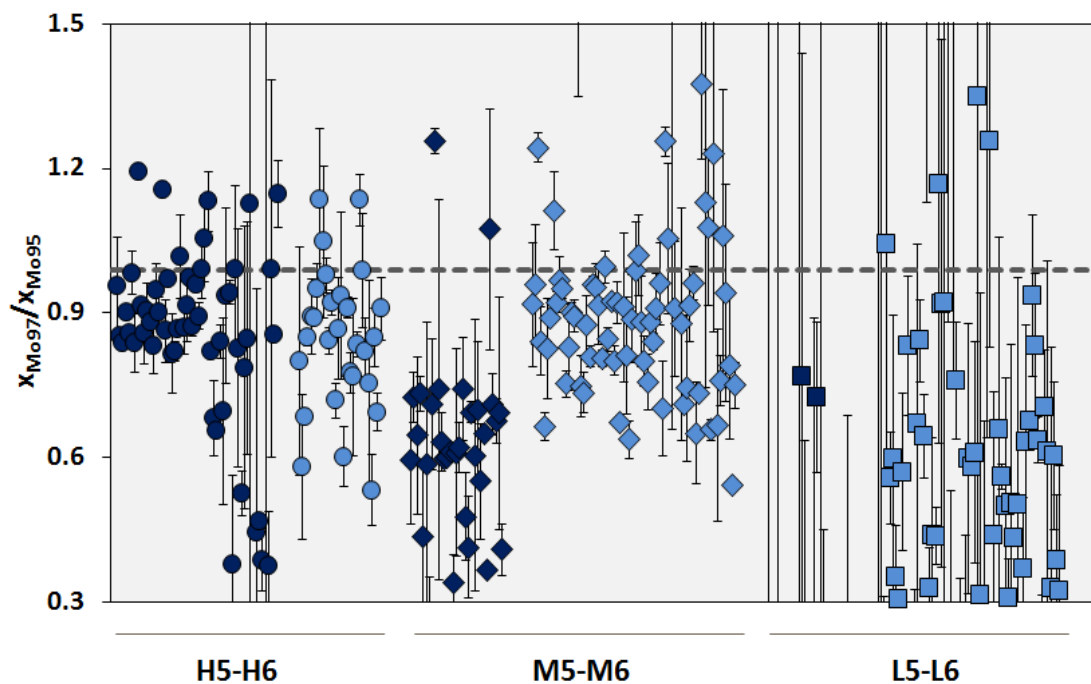


Figura D.23. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) en las fabas regadas con la mezcla trazadora 14 semanas tras su siembra.

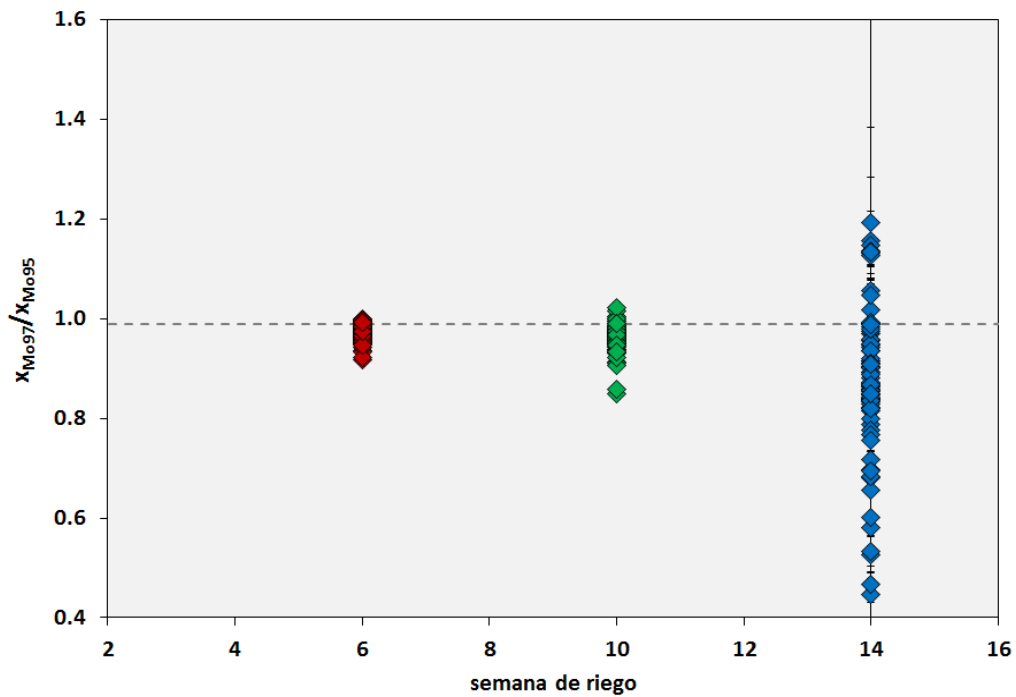
**Tabla D.12. Enriquecimiento de las fabas marcadas a las 14 semanas de la siembra.**

<b>Muestra</b>	<b>X<sub>Mo-nat</sub> norm</b>	<b>X<sub>Mo97</sub></b>	<b>X<sub>Mo95</sub></b>
<b>H5u</b>	1.18	0.05	0.05
<b>H5d</b>	1.29	0.01	0.01
<b>H6</b>	1.19	0.04	0.05
<b>M5</b>	1.27	0.01	0.02
<b>M6u</b>	1.22	0.03	0.04
<b>M6d</b>	1.28	0.01	0.01
<b>L5</b>	1.31	0.00	0.00
<b>L6u</b>	1.28	0.01	0.01
<b>L6d</b>	1.29	0.01	0.01

Como se puede ver en la Figura D.23 y en la Tabla D.12 no resulta eficaz marcar las plantas una vez formadas y maduras. Independientemente de la concentración de molibdeno añadida no tiene lugar un enriquecimiento indiscutible de las mismas, como ya se auguraba a través de los ensayos en disolución.

No se obtuvieron resultados concluyentes sobre el estudio de las fabas recogidas en la parte superior o inferior de la planta, ya que esta separación solamente se consideró para las plantas maduras, y como ya se ha visto, en este estadio de madurez la incorporación de molibdeno parece no ser necesaria para la planta. Para una evaluación más exhaustiva del enriquecimiento de las fabas en función de la altura de la planta se debería considerar otro momento de riego de las mismas.

En la Figura D.24 se resumen los datos expuestos anteriormente en función de los tres momentos en los que las plantas fueron regadas con la disolución de molibdeno enriquecido.



**Figura D.24. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) en las fabas marcadas en función de la semana de riego.**

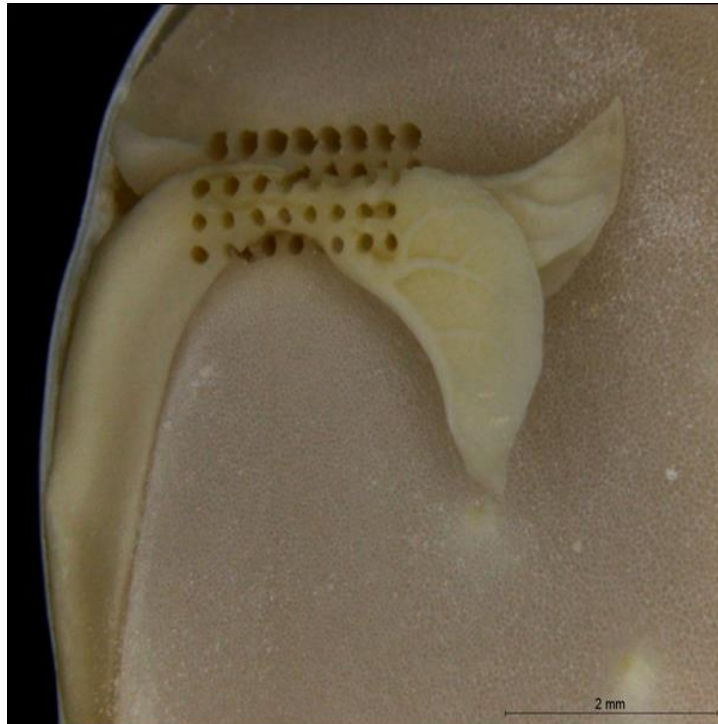
Parece claro que el momento idóneo para la adición del molibdeno es a las 6 semanas de vida de la planta, cuando ésta es todavía pequeña y necesita molibdeno para su crecimiento y desarrollo.



## Conclusiones

En vista de los resultados obtenidos, el uso de LA-ICP-MS se perfila como una metodología alternativa adecuada para la detección de molibdeno enriquecido en fabas. El análisis por vía húmeda permite una identificación inequívoca de las fabas hasta cuando éstas fueron marcadas durante su etapa de floración con una concentración de 1 mg Mo/planta, mientras que la detección mediante LA-ICP-MS requiere mayores concentraciones de marca para una identificación fiable. Esto no supone una desventaja de la ablación láser ICP-MS frente al análisis en disolución si se antepone la nula preparación de muestra necesaria para el análisis mediante LA-ICP-MS frente a la tediosa y larga preparativa para el análisis por vía húmeda. Además, la reducción en los tiempos de análisis, de 210 s por muestra mediante análisis en disolución frente a 90 s por punto ablacionado, también deja en clara ventaja a la ablación láser acoplada a espectrometría de masas con respecto al análisis convencional en disolución. Cabe destacar que la utilización de un equipo ICP-MS de tipo cuadrupolar permitió la detección del molibdeno en todas las muestras. Sin embargo, y aún a pesar de utilizar la corrección del desfase espectral, la precisión de la medida de relaciones isotópicas no fue totalmente satisfactoria con este equipo lo que nos impidió detectar la marca en las fabas que habían recibido un tratamiento con menores cantidades de molibdeno enriquecido.

Finalmente, la Figura D.25 muestra una imagen de alta resolución de una faba tras su análisis mediante LA-ICP-MS. Como se puede observar, el proceso de ablación laser no produce ninguna degradación en la muestra.



**Figura D.25.** Imagen de alta resolución de una faba tras su análisis mediante LA-ICP-MS.

## II. Desarrollo de una metodología de marcaje de tintas y detección de la marca mediante LA-ICP-MS

*“La tinta más pobre de color vale más que la mejor memoria”*

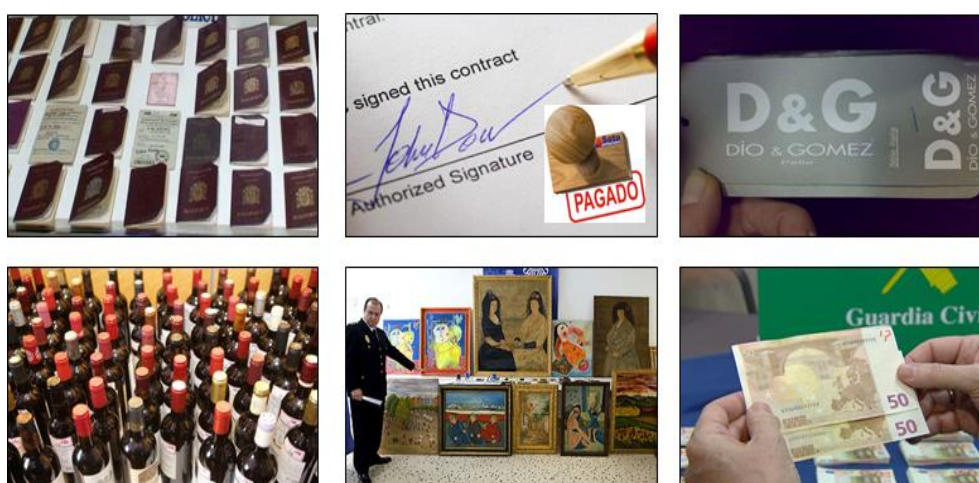
Proverbio chino

Y es que, sin ningún tipo de duda, en la mayor parte de las ocasiones las palabras se las lleva el viento. Si no se deja constancia por escrito de que algo ha pasado, entonces ese acontecimiento no ha tenido lugar en la historia. La memoria es voluble y los matices se van perdiendo con el tiempo de boca en boca y generación tras generación. Si no fuera por la tinta derramada por los cronistas medievales en escritos, murales y tapices, a día de hoy desconoceríamos la evolución de las Cruzadas, la Reconquista de España o el Descubrimiento de América. Eso sí, recordemos que la historia tiene varias versiones en función de la tinta con la que se escriba.



## Marcaje de documentos a través de tintas: aplicación en la lucha antifraude y estudios forenses

Actualmente casi todos los productos son susceptibles de ser alterados y copiados, y resulta “relativamente fácil” para los falsificadores imitar la apariencia, las características e incluso el etiquetado y empaquetado de ciertos productos (Figura D.26). Tal es el caso, que en ocasiones ante una buena imitación al consumidor le resulta muy difícil distinguir entre el producto verdadero y el falso, pudiendo llegar a pagar importantes cantidades de dinero por una copia [172].



**Figura D.26. Típicos productos susceptibles de falsificación.**

Dado que las tintas están presentes en la mayor parte de los productos, bien sea en ellos mismos, en sus etiquetas o en su propio envoltorio, el marcaje encubierto de las mismas permitiría una codificación extra de dichos productos. La aplicación de este sistema de marcaje resultaría útil en la codificación de productos de alto valor añadido como son las obras de arte o el mundo de la enología (Figura D.27), sectores que mueven grandes cantidades de dinero a nivel mundial pero sufren el continuo impacto de la falsificación [173].



**Figura D.27. Falsificadores de obras de arte en la ciudad china de Dafen (izquierda) y material incautado al falsificador de vinos indonesio Rudy Kurniawan (derecha).**

La codificación de las tintas también sería de gran ayuda para la resolución de casos por la vía forense. No sólo la documentación pública sino también los documentos personales pueden ser falsificados y usados con fines ilegales (Figura D.28). Por lo tanto, la presencia de evidencias de documentos en el lugar de los hechos y el análisis exhaustivo de su composición química pueden resultar decisivos en los casos que implican el examen y la autentificación de documentos dudosos [174]. De esta manera, el marcaje de tintas proporcionaría otra herramienta de investigación forense además del ya conocido potencial del estudio de fibras, hilos, ADN o fluidos biológicos presentes en la escena [175].



**Figura D.28. Títulos universitarios falsificados (izquierda) y firma falsificada (derecha).**

## Naturaleza de las matrices en estudio: papel y tinta

Tanto el papel como las tintas han sido el principal soporte para el intercambio de información a nivel mundial desde que fueron usados por primera vez hace miles de años [176].

El **papel** que actualmente todos utilizamos tiene como antecesores a aquellos papiros usados como soporte fundamental para manuscritos en el Antiguo Egipto, al papel fabricado por los chinos a partir de residuos de seda, algodón o cáñamo, y a los pergaminos medievales elaborados con pieles curtidas de cabra o carnero. Su composición ha variado ampliamente a lo largo de los años, y a día de hoy la celulosa es su principal componente [177]. Actualmente se adicionan al papel una serie de cargas minerales, como el caolín, la calcita mineral o el talco [178]. También conocidos como “fillers”, son materiales inertes cuya función principal es la de mejorar las propiedades de dureza, resistencia a impactos, o conductividad eléctrica del papel. Su presencia rellena los huecos entre las fibras del papel dando mayor uniformidad a la superficie, lo que conlleva una mejora en la calidad de la impresión. Ciertos pigmentos minerales utilizados como agentes blanqueantes, también suelen ser añadidos para modificar el grado de blancura, opacidad y porosidad de la superficie del papel. En función de los componentes de la matriz se obtiene una gran variedad de tipos de papel para diferentes propósitos, como papel para impresión de periódicos, revistas, libros, papel de embalaje, cartón o papeles industriales y especiales, como los empleados en papel moneda, cheques, papeles termosensibles o papel de fumar, entre otros.

Los documentos codificados a lo largo del presente trabajo fueron preparados a partir de papel blanco multifuncional, ya que es el soporte más habitual dado que sobre él se puede escribir y dibujar con una amplia variedad de tintas y es apropiado para su uso en impresión. El papel elegido fue de la marca comercial NAVIGATOR®, que se suele

presentar en paquetes de 500 folios, en formato universal A4 (210 mm x 297 mm) y con un espesor, expresado como masa de papel por unidad de área, de 80 g/cm<sup>2</sup>.

Por su parte, **las tintas** se consideran materiales líquidos o semilíquidos utilizados para colorear una superficie con el fin de crear imágenes o textos. De acuerdo con los historiadores, en la antigua China allá por el 400 a.C. ya usaban la tinta negra para su peculiar caligrafía. Desde entonces, las sucesivas civilizaciones hicieron uso de secreciones de animales, vegetales, líquidos de frutas y minerales para la creación de nuevas fórmulas [179]. A día de hoy, su composición ha cambiado mucho, y los fabricantes de tintas crean mezclas cada vez más complejas con el fin de mejorar sus productos, cumplir con los estándares de calidad y cumplir con las exigencias de los mercados. Las tintas constan principalmente de tres componentes: (i) el colorante, consistente en tintes (solubles en el vehículo), pigmentos (insolubles en el vehículo suelen presentarse como partículas en suspensión) o una mezcla de ambos; (ii) el vehículo, componente líquido de la mezcla que generalmente determina la fluidez de la tinta así como la velocidad de secado de la misma (para este propósito suelen utilizarse aceites, disolventes o resinas); (iii) los aditivos extra, como son los modificadores del pH, humectantes o agentes de secado, entre otros [180]. Existe una gran variedad de composiciones dependiendo de su aplicación. De entre todas ellas resaltamos las tintas de bolígrafos, las de sello de caucho y las de impresoras, objeto de estudio a lo largo de este trabajo.

En lo que se refiere a la escritura a mano, los **bolígrafos** basados en un mecanismo de bola son los instrumentos modernos más universalmente utilizados. Diseñados por el periodista e inventor búlgaro László József Bíró en torno a 1940, disponen de un pequeño reservorio donde se almacena la tinta y desde donde se transfiere al papel a través de una pequeña bolita. Se pueden distinguir varios tipos en función de las tintas que utilizan [181], y que se resumen en la Tabla D.13.



**Tabla D.13. Tipos de bolígrafos según su tinta.**

<b>Tipos de bolígrafos</b>			
<b>Nombre</b>	<b>Ballpoint</b>	<b>Rollerball</b>	<b>Gel</b>
<b>Colorante</b>	pigmento	tinte	pigmento colorido
<b>Vehículo</b>	oleico	acuoso	gel espeso
<b>Ejemplo</b>	Bic Cristal <sup>®</sup>	Pilot BX-V5 <sup>®</sup>	Pilot BL-G <sup>®</sup>

Otro tipo de tinta comúnmente encontrada en despachos y oficinas es la tinta de **sellos** de caucho. El uso de los sellos a lo largo de la historia ha venido ligado a usos diplomáticos [182] y en la actualidad, la mayor parte de los sellos están fabricados de caucho. Suelen presentar un diseño de carácter útil para un gran público, como fechadores o numeradores, o bien, un diseño individualizado y personal para cada cliente. Las tintas de sello de caucho suelen ser al agua, y tanto tintes como pigmentos son usados como colorantes. Estas recetas deben permanecer líquidas en la almohadilla y sin embargo deben secarse rápidamente sobre el papel para evitar ensuciar el papel de manera indeseable.

El último tipo de tintas a considerar es el de las **tintas de impresora**. Las tintas utilizadas por este tipo de aparatos suelen estar generalmente compuestas por pigmentos, resinas, disolventes y aditivos [183]. En las impresoras de inyección de tinta, la tinta se dispone en cartuchos y su fórmula está basada en tintes líquidos acidificados, mientras que las tintas de las impresoras láser se componen de pequeñas partículas de pigmentos en polvo que son almacenadas en tóneres y por efecto del calor son transferidas al papel.

El marcaje de tinta de bolígrafo se consideró interesante ya que éstos son los instrumentos más extendidos a nivel mundial para la escritura a mano, y en muchas ocasiones, son considerados exclusivos según su diseño exterior y calidad de escritura. La tinta líquida elegida fue la del bolígrafo Pilot BX-V5® de color azul, por tratarse de una matriz al agua fluida. Se estimó oportuno aplicar la metodología de marcaje a tintas de sello de caucho, ya que su uso va íntimamente ligado a la autorización y codificación de documentos. La tinta de sello elegida es de color rojo y menos viscosa que la de bolígrafo. También se recoge una pequeña aproximación al marcaje de tintas de impresora, claramente más espesas que las dos anteriores. Se eligió un cartucho de tinta negra perteneciente a una impresora de inyección de tinta de la marca HP. Cada tipo de tinta fue elegida en un color diferente, con el objetivo de buscar alguna relación entre el color y el contenido metálico de las mismas. Las tintas seleccionadas se muestran en la Figura D.29.



**Figura D.29. Imágenes de las tintas a marcar.**

La tinta de sello roja de la marca comercial MUSSO® se compró en botes de 27 mL, mientras que la tinta azul del bolígrafo Pilot BX-V5® fue extraída de cada bolígrafo individualmente, retirando cuidadosamente el cilindro de anillos de plástico de su interior y vertiendo el contenido de tinta (2-3 mL por cada bolígrafo) en tubos limpios de polipropileno. La tinta negra de impresora de la marca HP® y referencia número 21, fue extraída de la almohadilla interna de cada cartucho por medio de una jeringuilla, y su contenido (5-6 mL) fue también transferido a tubos limpios de polipropileno. Todos estos productos fueron comprados en tiendas locales.

## Desarrollo de la metodología de marcaje de tintas y documentos mediante doble huella isotópica

En el presente trabajo se da un paso más en la explotación de la metodología de doble marca isotópica para el marcaje de productos, ya que se extiende su campo de aplicación al sector de las tintas. El marcaje de tintas mediante doble marca isotópica es difícilmente falsificable e imposible de detectar sin la instrumentación analítica adecuada, por lo que la copia de este tipo de marcas quedaría fuera del alcance de todo falsificador. El fundamento teórico que respalda esta metodología ya ha sido comentado previamente, por lo que este apartado se limitará a mostrar el proceder experimental para el marcaje de tintas y se expondrán los resultados que respaldan la viabilidad y el potencial de esta metodología de codificación.

### Estudio preliminar de la matriz de muestra

Inicialmente se llevaron a cabo análisis cualitativos de las matrices de tinta y papel para conocer su contenido metálico. La matriz de tinta elegida para el análisis preliminar fue la de sello, ya que carece de partículas en suspensión, se trata de la matriz más fluida de las tres y además su coloración mancha menos el equipo. La tinta fue diluida en proporción 1:50 en HNO<sub>3</sub> 2% (v/v), sumergida en baño de ultrasonidos durante 15 minutos para su mejor homogeneización, e introducida directamente en el equipo ICP-MS de tipo cuadrupolo por nebulización convencional. El barrido de masas se llevó a cabo bajo las condiciones que se muestran en la Tabla D.14 cubriendo un rango de masas desde 7 hasta 240.

**Tabla D.14. Parámetros experimentales utilizados en los análisis por nebulización convencional ICP-MS y ablación láser LA-ICP-MS en el equipo de tipo cuadrupolo Agilent 7500ce.**

<b>Parámetros instrumentales ICP-MS</b>	
Potencia RF aplicada	1500 W
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>
Flujo de gas portador	1.10 L·min <sup>-1</sup> (nebulización) 0.75 L·min <sup>-1</sup> (ablación láser)
Nebulizador	Tipo Meinhard
Cámara de nebulización	Scott de doble paso (temperatura 2 °C)
Velocidad bomba peristáltica	0.1 rps
<b>Parámetros de adquisición (barrido de masas)</b>	
Tiempo de integración por punto	0.10 s
Tiempo de integración por masa	0.60 s
Repeticiones	1
Masas medidas	224
Tiempo total	163 s
<b>Parámetros de adquisición (relaciones isotópicas)</b>	
Tiempo de integración por punto	2 s (nebulización) 1 s (ablación láser)
Puntos por pico	3
Repeticiones	5
Isótopos medidos	<sup>92</sup> Mo, <sup>94</sup> Mo, <sup>95</sup> Mo, <sup>96</sup> Mo, <sup>97</sup> Mo, <sup>98</sup> Mo, <sup>100</sup> Mo
Tiempo total	275 s (nebulización) 170 s (ablación láser)
<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS</b>	
Energía del láser	5% (5.6 mJ max.)
Frecuencia de repetición	10 Hz
Tamaño del haz	150 μm
Velocidad	10 μm·s <sup>-1</sup>
Modo de ablación	single line scan
Flujo de Helio	0.80 L·min <sup>-1</sup>

Dado que las interferencias espectrales son menores a masas superiores a  $m/z=80$ , en la Figura D.30 se muestra el espectro de masas obtenido para la matriz de sello en el rango  $m/z = 79-240$ .

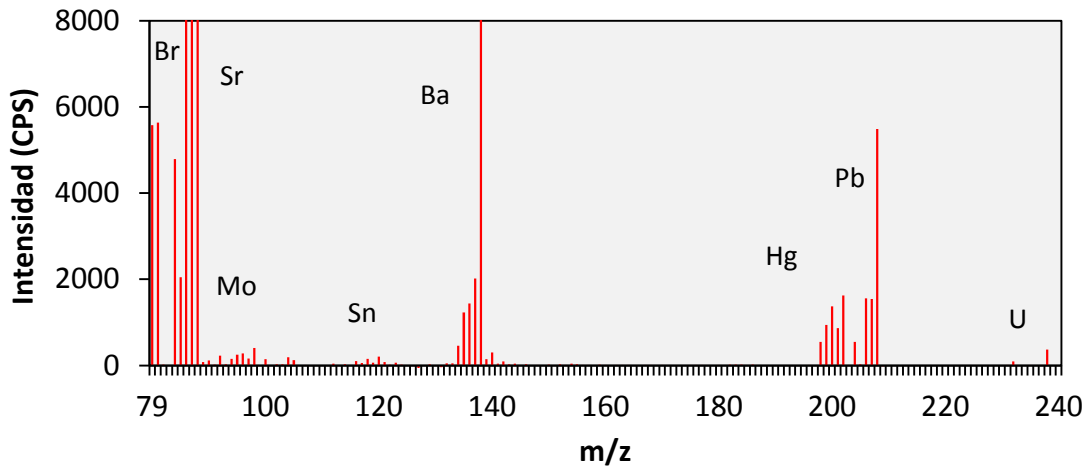


Figura D.30. Espectro de masas del análisis multielemental de tinta de sello.

Se detectan los elementos: bromo (Br,  $m/z = 79$ ), estroncio (Sr,  $m/z = 88$ ), bario (Ba,  $m/z = 138$ ), mercurio (Hg,  $m/z = 202$ ) y plomo (Pb,  $m/z = 208$ ). En la Figura D.31 se muestra una ampliación del espectro anterior para denotar la presencia de elementos más minoritarios en el rango  $m/z = 90-240$ .

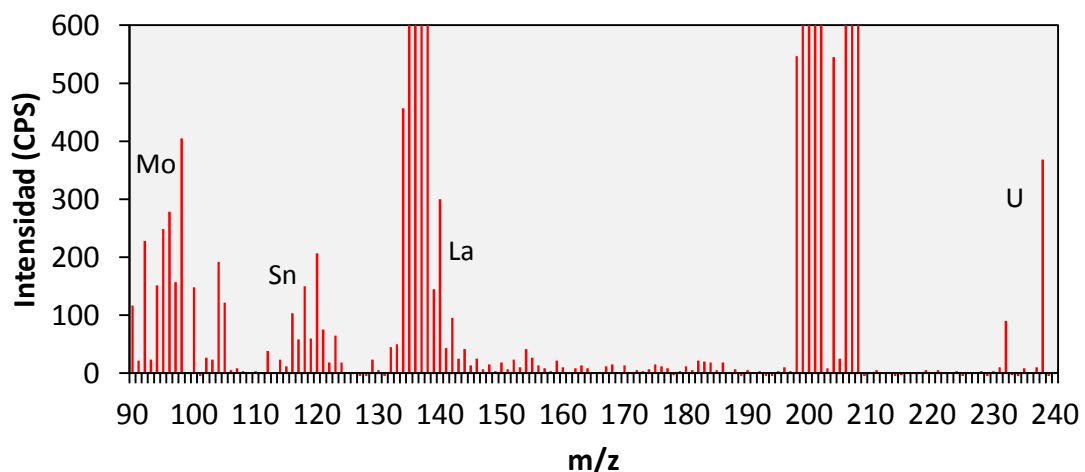


Figura D.31. Espectro de masas multielemental de la tinta de sello ( $m/z=90-240$ ).

En un orden de magnitud por debajo de las intensidades obtenidas para bromo, mercurio o plomo encontramos la contribución de elementos como molibdeno (Mo,  $m/z = 98$ ), estaño (Sn,  $m/z = 120$ ), lantano (La,  $m/z = 139$ ) o uranio (U,  $m/z = 238$ ).

Siguiendo el mismo proceso de análisis se evaluó el contenido metálico del papel de folio NAVIGATOR®. En esta ocasión, pequeños trozos de papel de 2 x 3 cm de tamaño se lixiviaron en 15 ml HCl 2% (v/v) en baño de ultrasonidos durante 15 minutos. Los resultados obtenidos se ilustran en la Figura D.32.

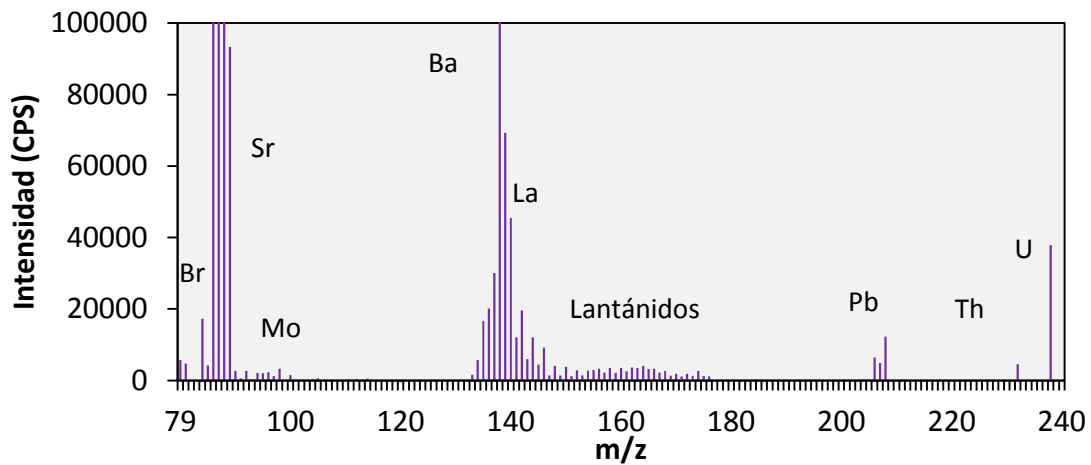


Figura D.32. Espectro de masas multielemental del papel de folio ( $m/z=79-240$ ).

A simple vista ya se observa que la mayor parte de los elementos presentan señales superiores en la matriz de papel que en la de la tinta de sello. En el caso particular del estroncio, cuya presencia ya era alta en la tinta, se denota que su señal se cuadruplica en el papel. Esta alta contribución del estroncio al papel ya fue reseñada por Van Es y colaboradores, quienes además sugirieron que la concentración del mismo en cada hoja de papel estaba distribuida uniformemente [184]. El bario, los elementos lantánidos y el plomo también aumentan considerablemente su concentración en el papel, mientras que a diferencia de lo que ocurría en la tinta, no se percibe señal notable ni de estaño ni de mercurio.

En cuanto a los elementos minoritarios, el lantano y el uranio aumentan cuantiosamente su presencia en el papel, la cantidad de molibdeno también aumenta aunque se mantiene como elemento minoritario, y el circonio apenas presente en la tinta sufre un incremento en el papel.

Es importante destacar que cuando estas muestras de papel son introducidas en el ICP-MS por nebulización convencional se deposita una pequeña capa blanca sobre el cono de muestreo. A medida que la sesión avanza el grosor de esta capa aumenta haciendo que el orificio del cono se vaya cerrando, lo que provoca una caída en la sensibilidad. Dado que se encontraron grandes cantidades de aluminio y silicio en el papel, esta capa se puede atribuir al caolín ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), un aluminosilicato utilizado como carga mineral que se añade a la pasta de papel durante el proceso de manufactura para mejorar sus propiedades y reducir la cantidad de celulosa [185]. Estos resultados tendrán que ser tenidos en cuenta posteriormente para los análisis directos por ablación láser ICP-MS.

## Elección del elemento trazador: caracterización y preparación de las mezclas trazadoras

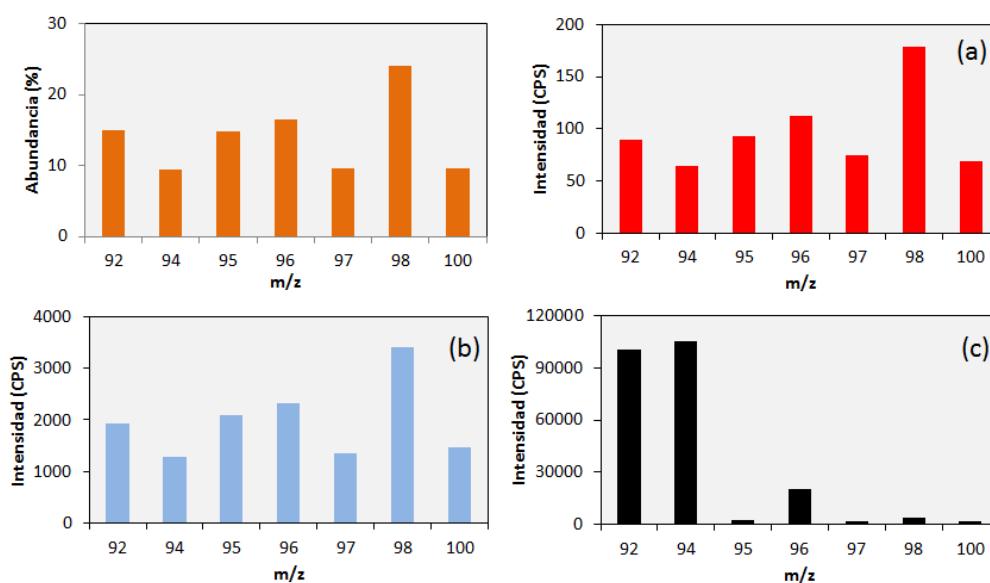
Generalmente, el elemento elegido como trazador suele estar en la muestra en una concentración baja, aunque también puede ser que su presencia sea casi inexistente y se deba adicionar intencionadamente. En cualquiera de los casos, el requisito que se debe cumplir al añadir la mezcla trazadora es que las propiedades del producto se mantengan inalteradas.

A la vista del resultado de los análisis cualitativos de ambas matrices, se consideró adecuado seleccionar al molibdeno como elemento trazador, ya que presenta un gran número de isótopos estables (7) de los cuales al menos dos no tienen interferencias isobáricas. Además, se encuentra a nivel de trazas en ambas matrices, lo que minimiza de antemano problemas de contaminación de la doble marca isotópica por acción del perfil de molibdeno de abundancia natural presente en la muestra. Asimismo, el molibdeno no presenta interferencias poliatómicas severas, su concentración en los ácidos utilizados es muy baja, el filtrado de las muestras no provoca incorporación de molibdeno de manera no cuantitativa y el proceder experimental con los isótopos enriquecidos de molibdeno ya era conocido por los estudios previos con Faba Asturiana.

Se evaluó entonces la presencia de molibdeno natural en las otras dos matrices de tinta restantes. En esta ocasión, se realizó una dilución 1:100 de cada una de las tres matrices de tinta en HCl 2% (v/v), que también se mantuvo durante 15 minutos en baño de ultrasonidos para mejor homogeneización. Dado que las tintas de bolígrafo rollerball y de cartucho de impresora son más densas que la de sello, se centrifugaron durante 20 minutos a 5000 G. Se recogió el sobrenadante y se introdujo directamente en el equipo ICP-MS para su análisis multielemental bajo las condiciones citadas en la Tabla D.14.

Los resultados obtenidos se recogen en la Figura D.33, en la que se muestra el perfil teórico del molibdeno de abundancia isotópica natural junto con el perfil de molibdeno en cada matriz de muestra: (a) tinta de sello, (b) tinta de bolígrafo y (c) tinta de cartucho de impresora.





**Figura D.33. Perfil isotópico de molibdeno natural y el encontrado en las matrices de tinta.**

Como se puede comprobar en la Figura D.33, la matriz que contiene menor cantidad de molibdeno es la de sello, seguida de la de bolígrafo y de la de cartucho de tinta. Es conveniente destacar que la tinta de cartucho presenta un perfil isotópico correspondiente a una mezcla de circonio y molibdeno con una cantidad extremadamente alta de circonio (las señales a  $m/z = 92, 94$  y  $96$  se corresponden con isótopos minoritarios del circonio).

Por ello, la disolución de marcaje elegida consistió en una mezcla de dos perfiles isotópicos de molibdeno enriquecidos, Mo95 y Mo97, ya que estas masas están libres de interferencias isobáricas de circonio y rutenio. Éste último comparte isótopos con el molibdeno a  $m/z = 96, 98$  y  $100$ . En la Tabla D.15 se recogen las abundancias isotópicas de los trazadores de molibdeno-95 y molibdeno-97, y del molibdeno natural, ésta última tabulada por la IUPAC [4].

Tabla D.15. Composición isotópica del molibdeno natural y de las disoluciones enriquecidas para el marcaje de tintas.

Composición isotópica (%)			
Isótopo	Trazador <sup>95</sup> Mo	Trazador <sup>97</sup> Mo	Mo natural
<sup>92</sup> Mo	0.3682 ± 0.0003	0.6123 ± 0.0007	14.53 ± 0.3
<sup>94</sup> Mo	0.7511 ± 0.0003	0.4376 ± 0.0005	9.15 ± 0.09
<sup>95</sup> Mo	<b>93.7755 ± 0.0011</b>	0.9751 ± 0.0022	15.84 ± 0.11
<sup>96</sup> Mo	2.3275 ± 0.0004	2.5252 ± 0.0008	16.67 ± 0.15
<sup>97</sup> Mo	1.6896 ± 0.0003	<b>89.6273 ± 0.0050</b>	9.60 ± 0.14
<sup>98</sup> Mo	0.8392 ± 0.0003	5.2332 ± 0.0010	24.39 ± 0.37
<sup>100</sup> Mo	0.2488 ± 0.0003	0.5893 ± 0.0006	9.82 ± 0.31

Dado que la relación molar entre los trazadores ( $N_{Mo97}/N_{Mo95}$ ) puede ser modificada para generar distintos tipos de marcas, se consideró un total de tres mezclas distintas para la codificación de las tintas. Las tres mezclas se prepararon en medio acuoso y fueron caracterizadas por análisis por ICP-MS seguido de IPD para el cálculo de las fracciones molares. Las características de las tres mezclas preparadas se resumen en la Tabla D.16.

Tabla D.16. Relación molar de las mezclas trazadoras A, B y C.

	Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C
$N_{Mo97}/N_{Mo95}$	0.7109 ± 0.0049	0.9342 ± 0.0050	1.3024 ± 0.0057

## Marcaje de las tintas y comprobación de la marca en disolución mediante ICP-MS

El marcaje de las tintas se llevó a cabo adicionando directamente la mezcla trazadora sobre cada una de las matrices de tinta. En una primera aproximación se consideró el marcaje con la mezcla B ( $N_{Mo97}:N_{Mo95} = 0.9342$ ) a concentraciones de molibdeno de 1 y 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  con el fin de evaluar si esa concentración de marca añadida a las tintas era suficiente para su correcta codificación y su detección inequívoca mediante ICP-MS. Se realizó un triplicado para cada concentración de marca y el tratamiento de las mismas antes de su entrada en el ICP-MS se llevó a cabo por dos vías: digestión ácida en horno microondas y extracción ácida asistida por ultrasonidos.

Dado que las tintas presentan una alta cantidad de compuestos orgánicos, se consideró adecuado eliminar esta materia orgánica antes de la introducción de las muestras en el equipo ICP-MS mediante **digestión ácida por microondas**. Con este fin se utilizó un horno microondas Ethos 1. Para ello, se pesaron 0.4 g de tinta en cada bomba, sobre los que se añadieron 6 mL de  $\text{HNO}_3$  sub-boiling, 2 mL de agua oxigenada ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 30 % (p/v) de alta pureza y 400  $\mu\text{L}$  de ácido fluorhídrico (HF) al 40% (p/v) de alta pureza. Tras el cierre de las bombas, las muestras siguieron un proceso de digestión en cuatro etapas a una potencia constante de 900 W: rampa 3 min hasta 95 °C; rampa 10 min hasta 160 °C; rampa 3 min hasta 200 °C, 20 min a 200°C y ventilación durante una hora. Tras el enfriamiento, las disoluciones digeridas fueron transferidas a tubos limpios de polipropileno y diluidas hasta un volumen final de 40 mL con agua Milli-Q, para alcanzar un medio de  $\text{HNO}_3$  de en torno al 2% en todas ellas.

Alternativamente a la digestión por microondas, las muestras se sometieron a **extracción ácida asistida por ultrasonidos** para su acondicionamiento previo a la entrada en el ICP-MS.

De forma análoga, se tomaron 0.4 g de tinta líquida y se diluyeron con HCl 2% (v/v) hasta un volumen final de 40 mL. Se sumergieron en baño de ultrasonidos durante 15 minutos y se centrifugaron a 5000 G durante otros 15 minutos.

Como se puede observar, ambos procesos de preparación conllevan una dilución 1:100 de la tinta marcada, por lo que es de esperar que las concentraciones que entren en el equipo sean 10 y 20  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , correspondiéndose con las concentraciones de marca de 1 y 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  originariamente añadidas a las tintas, respectivamente. Conocer la concentración exacta que llega al equipo no es un factor crítico para la detección de la marca en la tinta, simplemente es necesario que la cantidad de molibdeno presente en las muestras genere una buena estadística de conteo en el equipo para minimizar así la incertidumbre en la medida.

La medida de las relaciones isotópicas de molibdeno en las tintas se llevó a cabo en el equipo ICP-MS de tipo cuadrupolo Agilent 7500ce (Tokyo, Japón) bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.14. Al principio de cada sesión de medida se llevó a cabo la optimización de la señal previamente expuesta en el apartado C.1.1.1.

La secuencia de medida seguida diariamente para la detección de la doble huella isotópica de molibdeno en muestras líquidas empieza con la medida de un blanco al comienzo de la sesión, seguido de un estándar de molibdeno natural para la normalización de las señales de molibdeno natural y finalizando con la medida de las muestras, con una etapa de limpieza con  $\text{HNO}_3$  1% (v/v) entre muestras para evitar contaminaciones. Las relaciones isotópicas se calculan como la media de las cinco repeticiones durante el proceso de adquisición de datos. Se aplica IPD como se indicó anteriormente para la corrección interna de la discriminación de masas y se modifica la ecuación (Ec. D.5) para poder calcular la contribución del circonio interferente (predominante en la tinta de cartucho).

$$\begin{bmatrix} A_m^{92} \\ A_m^{94} \\ A_m^{95} \\ A_m^{96} \\ A_m^{97} \\ A_m^{98} \\ A_m^{100} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A_{Zr-nat}^{92} & A_{Mo-nat}^{92} & A_{Mo95}^{92} & A_{Mo97}^{92} \\ A_{Zr-nat}^{94} & A_{Mo-nat}^{94} & A_{Mo95}^{94} & A_{Mo97}^{94} \\ 0 & A_{Mo-nat}^{95} & A_{Mo95}^{95} & A_{Mo97}^{95} \\ A_{Zr-nat}^{96} & A_{Mo-nat}^{96} & A_{Mo95}^{96} & A_{Mo97}^{96} \\ 0 & A_{Mo-nat}^{97} & A_{Mo95}^{97} & A_{Mo97}^{97} \\ 0 & A_{Mo-nat}^{98} & A_{Mo95}^{98} & A_{Mo97}^{98} \\ 0 & A_{Mo-nat}^{100} & A_{Mo95}^{100} & A_{Mo97}^{100} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} x_{Zr-nat} \\ x_{Mo-nat} \\ x_{Mo95} \\ x_{Mo97} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e^{92} \\ e^{94} \\ e^{95} \\ e^{96} \\ e^{97} \\ e^{98} \\ e^{100} \end{bmatrix}$$

Los resultados obtenidos tras el análisis en disolución de todas las tintas marcadas con la mezcla B en concentraciones de 1 y 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  se recogen seguidamente en la Tabla D.17, junto con la incertidumbre expandida calculada por el método de Kragten.

Tabla D.17. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$ ) encontradas en las tintas codificadas con la mezcla de trazadores B ( $N_{\text{Mo97}}:N_{\text{Mo95}} = 0.9342$ ) en concentraciones de 1 y 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  tras su tratamiento por digestión microondas y extracción ácida por ultrasonidos.

	Digestión microondas			Extracción ácida us		
	$x_{\text{Mo-nat}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	U	$x_{\text{Mo-nat}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	U
<b>Sello</b>						
1 ppm (1)	0.0122	0.9337	0.0074	0.0041	0.9393	0.0070
1 ppm (2)	0.0116	0.9326	0.0043	0.0026	0.9387	0.0068
1 ppm (3)	0.0123	0.9328	0.0063	0.0019	0.9370	0.0063
2 ppm (1)	0.0055	0.9342	0.0066	0.0002	0.9356	0.0047
2 ppm (2)	0.0061	0.9351	0.0070	0.0004	0.9362	0.0047
2 ppm (3)	0.0051	0.9345	0.0062	0.0001	0.9359	0.0071
<b>Bolígrafo</b>						
1 ppm (1)	0.0330	0.9316	0.0071	0.0241	0.9389	0.0071
1 ppm (2)	0.0261	0.9334	0.0027	0.0249	0.9335	0.0051
1 ppm (3)	0.0255	0.9304	0.0037	0.0255	0.9345	0.0067
2 ppm (1)	0.0137	0.9329	0.0078	0.0081	0.9171	0.0080
2 ppm (2)	0.0138	0.9319	0.0054	0.0083	0.9207	0.0057
2 ppm (3)	0.0140	0.9318	0.0083	0.0084	0.9223	0.0063
<b>Cartucho</b>						
1 ppm (1)	0.0169	0.9330	0.0061	0.0224	0.9335	0.0004
1 ppm (2)	0.0119	0.9332	0.0088	0.0224	0.9330	0.0007
1 ppm (3)	0.0113	0.9331	0.0078	0.0226	0.9342	0.0008
2 ppm (1)	0.0074	0.9307	0.0049	0.0133	0.9360	0.0007
2 ppm (2)	0.0065	0.9325	0.0093	0.0136	0.9346	0.0007
2 ppm (3)	0.0065	0.9303	0.0090	0.0136	0.9353	0.0006

Como se puede comprobar, la relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) obtenida para cada muestra está en concordancia con la relación de fracciones molares de la mezcla trazadora. Además, para cada matriz individual no se observa diferencia significativa entre las muestras codificadas con 1 o 2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de marca.

Como ya se aventuraba en los análisis preliminares de las muestras, es importante destacar el bajo contenido de molibdeno natural en las mismas, las fracciones molares se encuentran en un rango global de 0.0001 – 0.0330, siendo las muestras sometidas a extracción ácida por ultrasonidos las que se sitúan en la parte baja de este intervalo.

Como los resultados obtenidos para ambos tratamientos de muestra no difieren significativamente, se adoptó la extracción ácida por ultrasonidos como procedimiento de preparación de muestra líquida frente a la digestión en microondas, un proceso largo, tedioso y que conlleva el consumo de grandes cantidades de ácidos ultrapuros.

Así pues, con el objetivo de estimar la cantidad mínima de mezcla a añadir a las muestras para una detección inequívoca de la marca, se evaluaron otros dos valores de concentraciones por debajo de los ya mencionados: 100 y 500  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . Las muestras fueron procesadas mediante extracción ácida asistida por ultrasonidos bajo las condiciones mencionadas anteriormente, por lo que la concentración que se espera llegue al ICP-MS sea de 1 y 5  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente. El análisis y procesado de los datos se llevó a cabo como se describió anteriormente, y los resultados se resumen en la Tabla D.18.

**Tabla D.18. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) encontradas en las tintas codificadas con la mezcla de trazadores B ( $N_{\text{Mo}97}:N_{\text{Mo}95} = 0.9342$ ) en concentraciones 100 y 500 ppb tras la extracción ácida por ultrasonidos.**

	$x_{\text{Mo nat}}$	$x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$	U
<b>Sello</b>			
100 ppb (1)	0.0127	0.9358	0.0106
100 ppb (2)	0.0141	0.9355	0.0135
100 ppb (3)	0.0515	0.9432	0.0209
500 ppb (1)	0.0022	0.9374	0.0067
500 ppb (2)	0.0024	0.9414	0.0077
500 ppb (3)	0.0026	0.9406	0.0080
<b>Bolígrafo</b>			
100 ppb (1)	0.2311	0.9313	0.0060
100 ppb (2)	0.2259	0.9327	0.0060
100 ppb (3)	0.2323	0.9371	0.0074
500 ppb (1)	0.0380	0.9308	0.0058
500 ppb (2)	0.0456	0.9355	0.0083
500 ppb (3)	0.0498	0.9351	0.0048
<b>Cartucho</b>			
100 ppb (1)	0.0726	0.9352	0.0008
100 ppb (2)	0.0635	0.9379	0.0013
100 ppb (3)	0.0630	0.9374	0.0024
500 ppb (1)	0.0353	0.9339	0.0003
500 ppb (2)	0.0353	0.9347	0.0009
500 ppb (3)	0.0363	0.9349	0.0009



Como se puede ver en la Tabla D.18, la relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$ ) obtenida para cada muestra está en concordancia con la relación de fracciones molares de la mezcla trazadora, y además, para cada matriz individual no se observa diferencia significativa entre las muestras codificadas con 100 o 500  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de marca.

A la vista de los resultados, la relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$  obtenida para las tres matrices concuerda con el valor de la mezcla de trazadores B ( $N_{\text{Mo}97}:N_{\text{Mo}95} = 0.93429$ ), por lo que se puede concluir que incluso la concentración más baja de marca, 100  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , es suficiente para detectar esta doble huella isotópica de manera inequívoca para las tres matrices consideradas, aunque la incertidumbre asociada a la medida de la matriz de sello sea ligeramente superior a la del resto de las matrices.

Aunque no se incluya en la Tabla D.17 y Tabla D.18, la presencia de circonio en las tintas de bolígrafo y de sello es casi inexistente, mientras que en la tinta de impresora negra estuvo en el rango de 0.4995 a 0.8141.

Resulta apropiado destacar que las muestras procesadas mediante extracción ácida por ultrasonidos mantienen una fuerte coloración tras su tratamiento. Para eliminar las coloridas manchas que las tintas de sello y bolígrafo dejan en el tubo de introducción de muestra, nebulizador y antorcha, basta con hacer pasar una disolución de  $\text{HNO}_3$  1% (v/v) durante varios minutos. Por su parte, la tinta de cartucho deja manchas más difíciles de limpiar, por lo que tras la sesión de medida se debe desmontar el sistema de introducción de muestra y proceder a una limpieza individual de cada parte. No obstante, este colorido sí se puede evitar si se somete a las muestras a digestión ácida por microondas, ya que de esta manera la materia orgánica que proporciona esta coloración desaparece. Este es el caso de las matrices de sello y bolígrafo, que tras ser digeridas pierden todo su color volviéndose totalmente transparentes. Sin embargo, tras la digestión ácida de la tinta de cartucho bajo las condiciones previamente descritas, ésta mantiene una tonalidad ocre con partículas

negras en suspensión, indicativo de que no toda la matriz es digerida incluso aplicando condiciones de digestión agresivas.

Una vez comprobada la eficacia de esta metodología de marcaje para la codificación de la tinta de impresora, se decidió descartar esta matriz de muestra para futuras etapas del trabajo debido a los inconvenientes experimentales que genera su pretratamiento y análisis por nebulización convencional en el ICP-MS, así como por la dificultad de devolver la tinta marcada a su cartucho de manera eficiente para su posterior uso para imprimir.

Ya evaluado el potencial de esta metodología de marcaje de tintas para el caso concreto de estas tres matrices, se valoró la opción de marcar las tintas con otro tipo de marcas generadas variando la relación de fracciones molares de la mezcla de trazadores. Asimismo, se procedió al marcaje de la tinta de sello y de bolígrafo con otras dos fórmulas de marcaje A ( $N_{Mo97}:N_{Mo95} = 0.7109$ ) y C ( $N_{Mo97}:N_{Mo95} = 1.3024$ ), cuyas relaciones de fracciones molares se encuentran ligeramente por debajo y por encima de la mezcla B, respectivamente. Las muestras fueron marcadas con las cuatro concentraciones hasta ahora consideradas ( $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y procesadas mediante extracción ácida con ultrasonidos.

En la Figura D.34 se representan los valores de  $x_{Mo97}/x_{Mo95}$  encontrados en cada muestra. La gráfica (a) de dicha figura se corresponde con los resultados de la tinta de sello mientras que la gráfica (b) resume los resultados de la tinta de bolígrafo. Las líneas grises horizontales se corresponden con las tres relaciones de fracciones molares correspondientes a cada tipo de mezcla de trazadores añadida a las muestras (A, B y C). Las concentraciones de  $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  vienen representadas mediante cuadrados, círculos, rombos y triángulos, respectivamente.

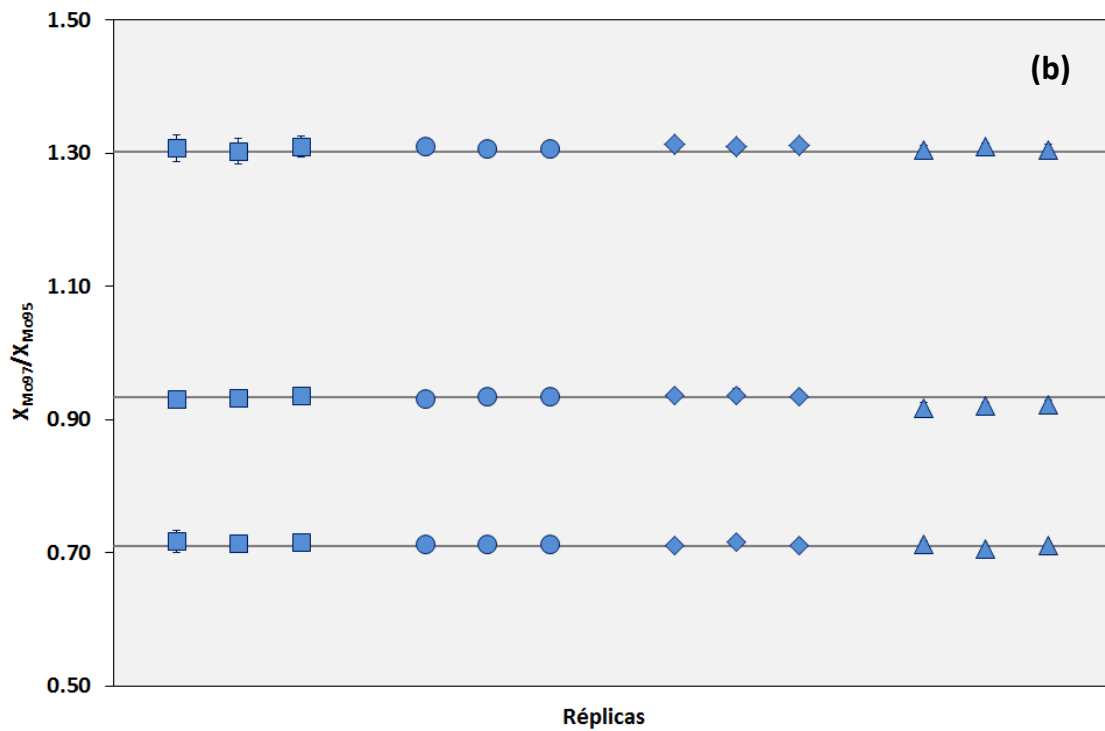
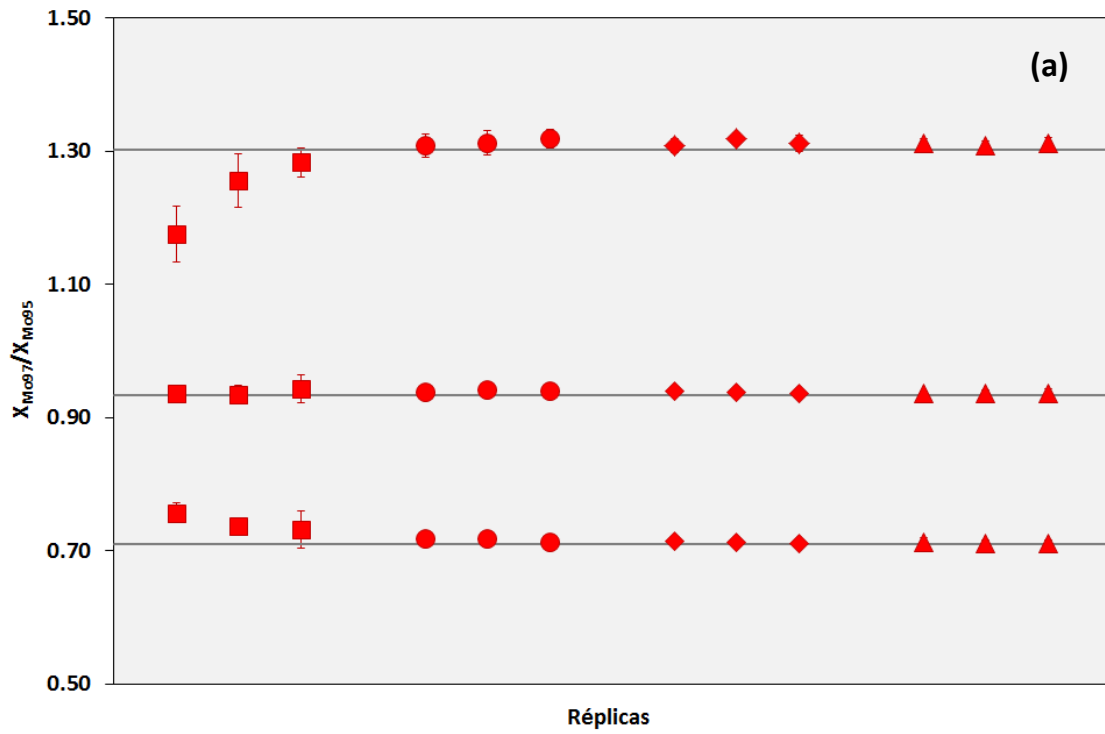


Figura D.34. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$ ) encontradas en la tinta de sello (a) y la tinta de bolígrafo (b) tras extracción ácida y análisis por ICP-MS.

Los resultados para ambas matrices indican que las tres marcas son perfectamente distinguibles y pueden ser correctamente atribuidas a cada una de las mezclas de trazadores. La desviación de las relaciones de fracciones molares encontradas en la tinta de sello marcada con  $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  es claramente superior que la incertidumbre asociada a la mezcla de trazadores. Por lo tanto, se puede afirmar que una concentración de marca de  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  resultaría suficiente para detectar de manera precisa la marca en ambas matrices de tinta tras su tratamiento mediante extracción ácida.

El análisis directo de tintas líquidas por nebulización convencional no sólo sirve para confirmar la presencia de la marca en la tinta y asegurar así su buen marcaje, sino que también se puede utilizar para la identificación de tintas fraudulentas cuando se disponga de las mismas en estado líquido.

## Codificación de documentos a través de las tintas marcadas

Una vez confirmada la viabilidad del marcaje de tintas mediante esta metodología de doble marca isotópica, se procedió al uso de estas tintas marcadas para estampar o escribir sobre papel y a la detección de dicha marca en los documentos, objetivo principal de este trabajo.

Dado que la ablación láser es una técnica que trabaja con cantidades extremadamente pequeñas de materia y que cuando se escribe o estampa sobre papel solamente una ínfima cantidad de tinta se deposita sobre la superficie del documento, es probable que una concentración de molibdeno de  $500 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , suficiente para su detección en tinta líquida, pueda no serlo para su correcta identificación por ablación láser.

Por ello, y para contrarrestar esta escasa cantidad de tinta depositada sobre papel y la posible pérdida de la misma cuando la muestra se seca, la concentración de molibdeno en la marca debe incrementarse, lo que favorece la detección precisa mediante LA-ICP-MS. En consecuencia, las matrices de sello y bolígrafo fueron marcadas con las tres mezclas trazadoras A, B y C, a cuatro concentraciones: 10, 20, 30 y 40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . El marcaje de las tintas se llevó a cabo adicionando directamente la mezcla de trazadores sobre las tintas como se indicó anteriormente.

En el caso concreto de la matriz de sello, la tinta una vez marcada se derramó sobre almohadillas de dimensiones 5 x 7 cm de la casa comercial Pelikan® y la presión del sello sobre la almohadilla fue suficiente para impregnarlo con la tinta marcada. Se utilizó una almohadilla para cada tipo de marca y para cada concentración, con el fin de evitar contaminaciones. Además, el sello utilizado, provisto de ruleta para elegir la fecha, permitió estampar diversas fechas sobre el papel en función de cada marca y cada concentración. En el caso de la tinta de bolígrafo, ésta fue cuidadosamente devuelta a cada uno de los bolígrafos de los que se extrajo. Al igual que para la tinta de sello, se dispuso de un bolígrafo individual para cada mezcla de trazadores y concentración. La tinta de impresora marcada no pudo ser devuelta eficazmente a su cartucho, por lo que no se pudieron imprimir documentos con esta tinta y por tanto no podremos adjuntar resultados.

Una vez que las tintas fueron codificadas se utilizaron para estampar y escribir sobre papel. En trozos de papel de folio NAVIGATOR (80  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) de dimensiones 3 x 5 cm se estampó una fecha con el sello de caucho y se escribió una pequeña frase de dos palabras (“ISÓTOPOS ESTABLES”) con el bolígrafo de tinta azul.

## Detección de la marca en documentos mediante ICP-MS

Se evaluó la lixiviación ácida por ultrasonidos para la extracción de la tinta de los documentos. Para ello, se realizó un duplicado de cada matriz de tinta, mezcla trazadora y concentración. Cada porción de papel, de en torno a 0.1 g, fue colocada en un tubo limpio de polipropileno, humedecida con un volumen final de 10 mL HCl 2% (v/v) e introducida en baño de ultrasonidos durante 15 minutos. Las muestras fueron filtradas e introducidas en el ICP-MS bajo las condiciones recogidas en la ya citada Tabla D.14.

El análisis de las muestras se llevó a cabo de manera análoga a las muestras de tinta líquidas: cálculo de las relaciones isotópicas como media de las cinco repeticiones y aplicación de IPD para la corrección interna de la discriminación de masas y para el cálculo de la contribución del circonio. Recordemos que aunque las tintas de bolígrafo y de sello no presentasen un contenido en circonio destacado, su presencia sí aumentaba en la matriz de papel.

Los resultados obtenidos se recogen en la Figura D.35. En ella, la gráfica (a) se corresponde con los resultados del papel estampado con la tinta de sello mientras que la gráfica (b) resume los resultados del papel escrito con la tinta de bolígrafo. Las líneas grises horizontales se corresponden con las tres relaciones de fracciones molares correspondientes a cada tipo de mezcla de trazadores añadida a las muestras (A, B y C). Las concentraciones de 10, 20, 30 y 40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  vienen representadas mediante cuadrados, círculos, rombos y triángulos, respectivamente.

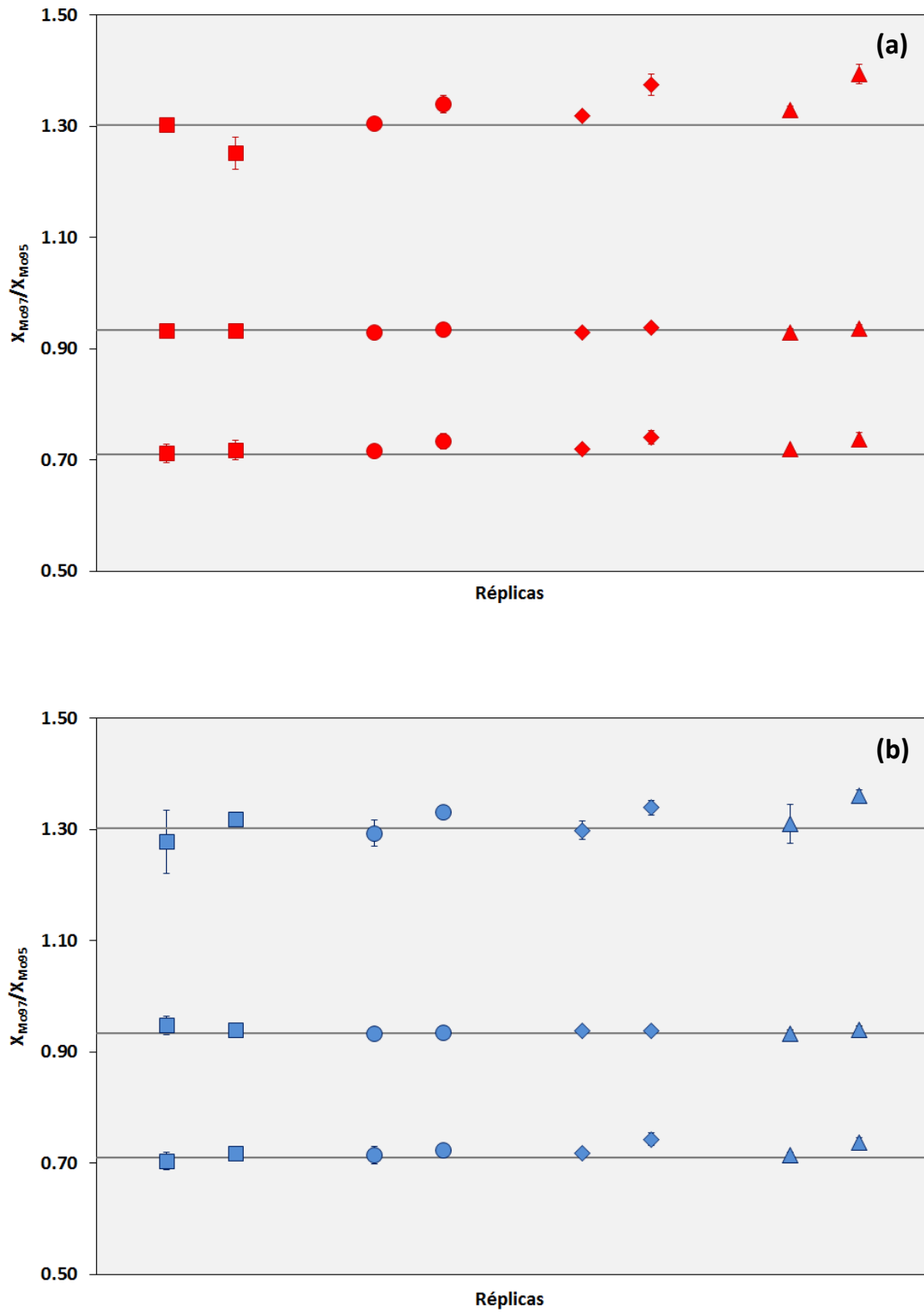


Figura D.35. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) encontradas en el papel tras lixiviación ácida y análisis por ICP-MS: (a) tinta de sello y (b) tinta de bolígrafo.

Como se puede observar, se obtuvo un alto grado de concordancia entre la relación de fracciones molares de cada mezcla trazadora y la encontrada en las muestras para todas las condiciones evaluadas. Aunque los resultados obtenidos sean concordantes, se observa cierta variabilidad de los resultados observados en la segunda réplica de cada tipo de muestras, que es atribuible a la bajada drástica de la sensibilidad debida a la capa de caolín del papel depositada sobre el cono de muestreo a medida que la sesión de medida avanza. En la gráfica se representan los resultados correspondientes a seis sesiones de medidas independientes, entre las cuales se quitaron los conos de extracción para limpiar la capa de caolín adherida. En todos los casos, la primera réplica de cada nivel de concentración fue medida al principio de cada sesión, mientras que la segunda réplica fue medida al final, de ahí esa pequeña diferencia observada.

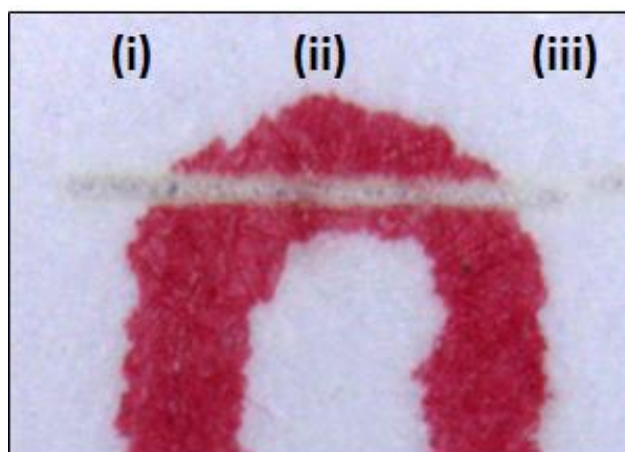
## Detección de la marca en documentos mediante LA-ICP-MS

Las muestras de documentos fueron preparadas como se mencionó anteriormente y no fue necesario ningún otro tratamiento previo para su análisis por LA-ICP-MS. Además de la optimización diaria del equipo ICP-MS de cuadrupolo a través de una disolución de patrones naturales de Li, Y y Tl, se lleva a cabo la optimización del acoplamiento sistema de ablación láser-ICP-MS siguiendo los pasos indicados en el apartado C.1.2. Seguidamente, se introducen individualmente en la cámara de ablación las muestras a analizar y son ablacionadas bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.14.

Se llevó a cabo un análisis preliminar de estos documentos por LA-ICP-MS sobre las muestras de papel con sello rojo marcadas con la mezcla trazadora B de mayor concentración ( $40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). El análisis a tiempo resuelto (Time Resolved Analysis, TRA) permitió conocer el perfil a lo largo de toda la línea de ablación.



Los análisis se efectuaron a través de tres zonas bien diferenciadas, empezando en una zona de papel blanco (i), atravesando el trazo de la tinta (ii) y acabando finalmente en zona de papel blanco sin tinta (iii), como se muestra en la Figura D.36.



**Figura D.36. Fotografía de la línea de ablación a lo largo del papel estampado con sello rojo marcado con la mezcla trazadora B (0.9342, 40 µg·g<sup>-1</sup>).**

El perfil de intensidades asociado a esta línea de ablación es el que se muestra en la Figura D.37 de la página siguiente. En ella se distinguen cinco estadios a lo largo del proceso de ablación. El primero de ellos se corresponde con el aporte de los gases circulantes por la cámara de ablación antes de que se dispare el láser (aproximadamente 20 segundos), que como se puede comprobar, proporcionan una señal de fondo de molibdeno y circonio casi inexistente. La segunda zona del perfil indica el comienzo de la ablación. En el momento en el que el láser incide en la zona de papel libre de tinta la señal de molibdeno apenas aparece, mientras que la señal del circonio aumenta (línea negra discontinua). La monitorización del circonio presente en el papel permite controlar cómo progresa la ablación. La siguiente zona muestra el área de ablación más importante: el trazo de la tinta marcada. La mezcla trazadora B está compuesta por los perfiles enriquecidos Mo95 y Mo97 en proporción prácticamente equimolar ( $x_{97\text{Mo}}/x_{95\text{Mo}} = 0.9342$ ), lo que implica que las señales de

ambos isótopos sean muy similares en la tinta, como se muestra en la Figura D.37, donde los círculos huecos y los negros se corresponden con las señales de  $^{95}\text{Mo}$  y  $^{97}\text{Mo}$ , respectivamente. Tras la ablación de la tinta, el láser pasa de nuevo por una zona de papel libre de tinta que se monitoriza con la señal del circonio, para acabar recogiendo de nuevo la señal del gas de fondo, como al principio del análisis, durante aproximadamente otros 20 segundos.

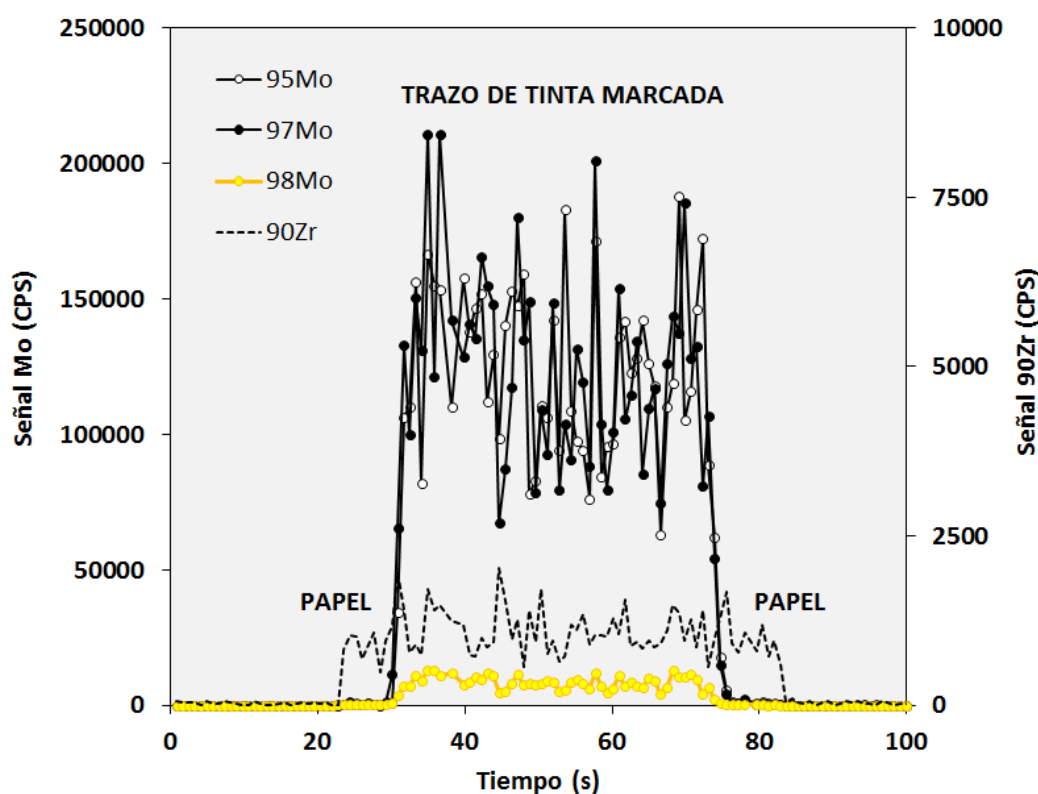


Figura D.37. Perfil de la línea de ablación a lo largo del papel estampado con sello rojo marcado con la mezcla trazadora B ( $0.9342$ ,  $40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) en función del tiempo. Señales de los isótopos de molibdeno representadas por círculos y de circonio por línea discontinua.

Utilizando este procedimiento de análisis a tiempo resuelto en un equipo ICP-MS de cuadrupolo equipado con un detector de tipo secuencial, hay dos alternativas para el cálculo de las relaciones isotópicas de molibdeno en la tinta. La primera de ellas consiste en calcular la relación isotópica  $^{97}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$  para cada punto durante la

ablación del trazo de tinta, que se corresponde con la parte central de la Figura D.37, y calcular la media y la desviación estándar de la media de este conjunto de datos.

La segunda alternativa se fundamenta en el uso del procedimiento de la pendiente mediante regresión lineal. Este método consiste en representar la señal de los dos isótopos de interés a lo largo de todo el perfil de la ablación y determinar la relación isotópica entre ambos como la pendiente de la línea de regresión obtenida por el método de los mínimos cuadrados. Este procedimiento se ilustra en la Figura D.38 para el mismo perfil de ablación previamente representado en la Figura D.37. La señal para  $^{95}\text{Mo}$  se representa en el eje X de abscisas mientras que las señales para  $^{97}\text{Mo}$  y  $^{98}\text{Mo}$  se muestran en el eje Y de ordenadas. Los círculos blancos se corresponden con la relación isotópica  $^{97}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$ , mientras que los círculos grises representan la relación isotópica  $^{98}\text{Mo}/^{95}\text{Mo}$ .

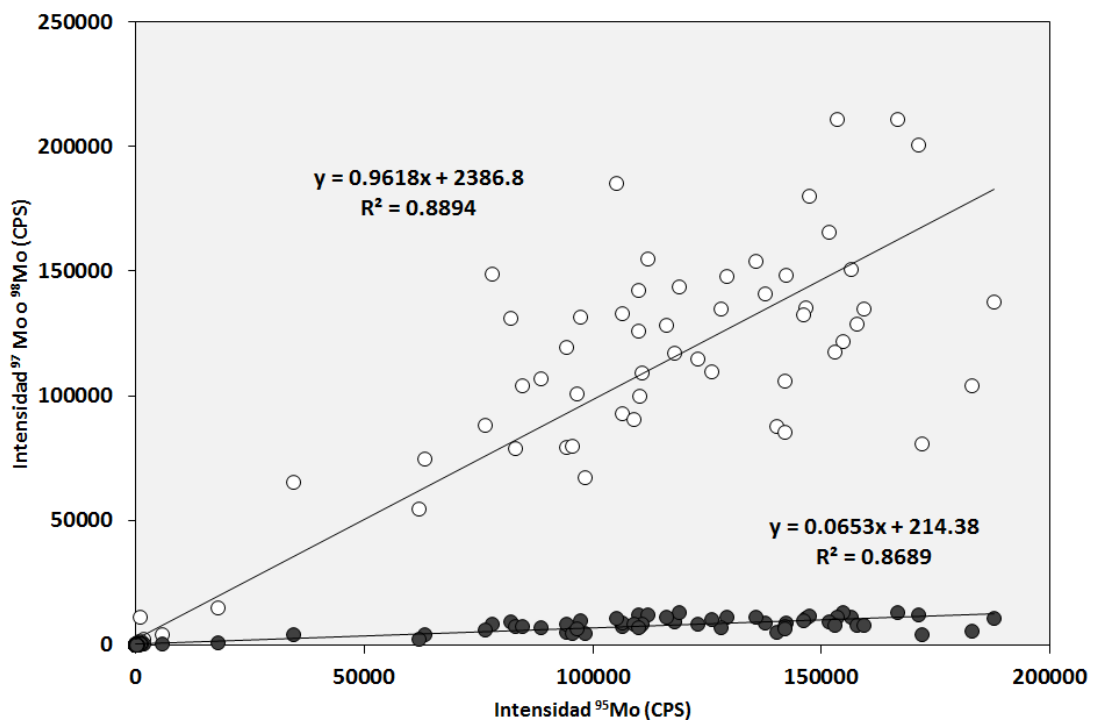


Figura D.38. Determinación de las relaciones isotópicas para el perfil de ablación láser de la Figura D.37.

Como se puede observar, hay una amplia dispersión de los puntos debido a la naturaleza secuencial del proceso de medida, lo que además conlleva grandes incertidumbres en las relaciones isotópicas. Cabe destacar que la corrección del desfase espectral aplicada previamente a las fabas no produjo una mejora significativa en el caso del papel debido al elevado número de isótopos medidos (7 en este caso) y al procedimiento de ablación utilizado (líneas en lugar de puntos).

La tercera alternativa de medida consiste en ablacionar solamente sobre los trazos de tinta, donde la señal de la tinta es constante a lo largo del proceso de ablación, permitiendo así la medida sobre líneas de ablación más largas y el uso del software del Agilent 7500 para la medida precisa de las relaciones isotópicas (Isotope Ratio mode = IR). En este procedimiento de medida, el “dwell time” para cada isótopo es de sólo 10 ms y el cuadrupolo cambia de una masa a otra muy rápido, minimizando así la variabilidad de las relaciones isotópicas por el efecto del desfase espectral. Esto se contrapone con el modo de análisis a tiempo resuelto previamente citado, en el que el “dwell time” de cada masa es igual al tiempo de integración total.

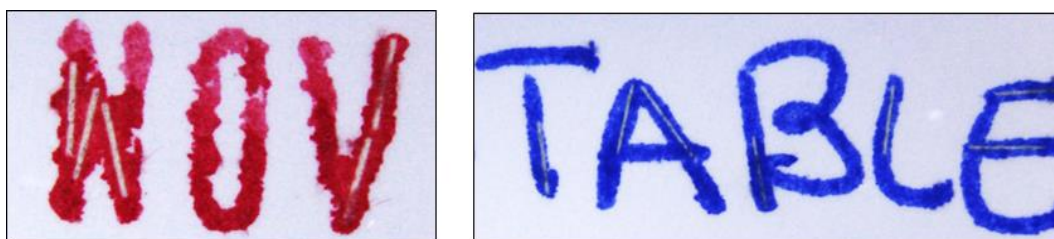
Los resultados obtenidos para estas tres metodologías de cálculo de las relaciones isotópicas se muestran en la Tabla D.19 correspondiéndose con el perfil de ablación mostrado en la Figura D.37. Las incertidumbres se presentan como desviación estándar.

**Tabla D.19. Comparación de las relaciones isotópicas de molibdeno y sus incertidumbres para los diferentes métodos de adquisición y tratamiento de datos evaluados durante el análisis mediante LA-ICP-MS.**

	Punto a punto (TRA, n=53)		Pendiente (TRA, n=134)		Adquisición IR (n=5)	
	Relación	SD	Relación	SD	Relación	SD
<b>92/95</b>	0.0153	0.0012	0.0123	0.0007	0.0117	0.0001
<b>94/95</b>	0.0170	0.0236	0.0145	0.0004	0.0146	0.0002
<b>96/95</b>	0.0557	0.0019	0.0518	0.0011	0.0516	0.0002
<b>97/95</b>	1.0499	0.0419	0.9618	0.0293	0.9500	0.0017
<b>98/95</b>	0.0714	0.0030	0.0653	0.0022	0.0657	0.0002
<b>100/95</b>	0.0107	0.0005	0.0095	0.0003	0.0099	0.0001

Para el equipo secuencial utilizado, el procedimiento que generó mejores resultados en términos de desviación estándar de la media, a pesar de emplear solamente cinco réplicas para el cálculo, fue el método de adquisición de relaciones isotópicas en lugar de cualquiera de los otros dos métodos a tiempo resuelto. Por tanto, este modo de adquisición fue el seleccionado para este estudio.

De esta manera, las líneas de ablación se llevaron a cabo directamente sobre los trazos de tinta (Figura D.39), evitando ablacionar sobre papel en blanco que no genera información ninguna sobre la tinta marcada.



**Figura D.39. Líneas de ablación sobre los trazos de la tinta de sello (izquierda) y de bolígrafo (derecha).**

Ambas matrices fueron marcadas con las tres mezclas trazadoras a las cuatro concentraciones en estudio (10, 20, 30 and 40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) y sometidas al mismo proceso de ablación bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.14. El cálculo de las relaciones isotópicas, corrección de la discriminación de masas y evaluación de la contribución de circonio es el mismo que el llevado a cabo para la detección de la huella isotópica en documentos en disolución.

La relación de fracciones molares encontrada en las muestras debe ser lo más parecida a la relación de fracciones molares de la mezcla de trazadores para permitirnos la identificación inequívoca de las tintas marcadas y diferenciarlas de las tintas falsas y por extensión, de los documentos falsificados.

Los resultados obtenidos tras el análisis por LA-ICP-MS de los documentos se resumen en la Figura D.40. Como en casos anteriores, las concentraciones de 10, 20, 30 y 40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  vienen representadas mediante cuadrados, círculos, rombos y triángulos, respectivamente.

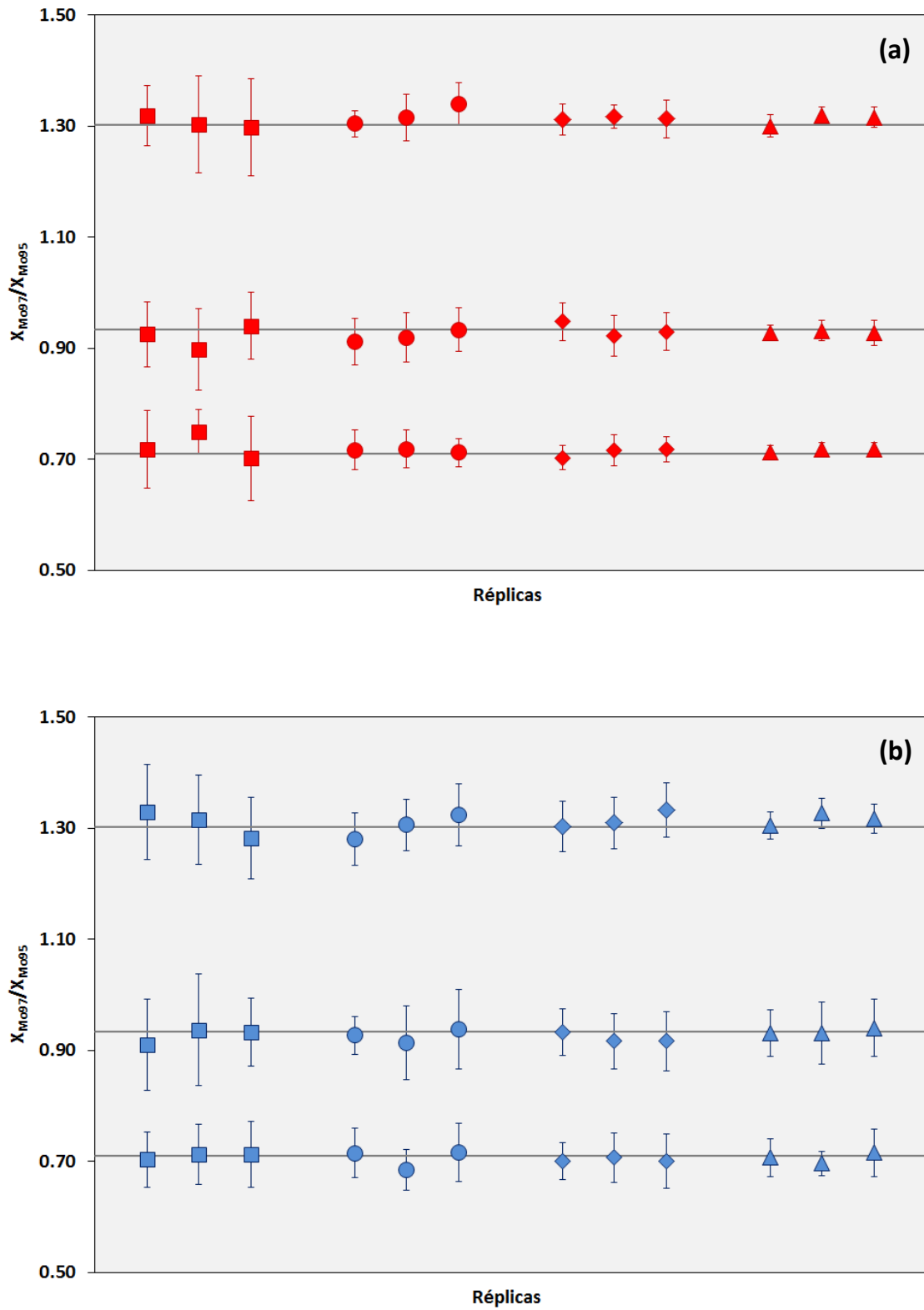


Figura D.40. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) encontradas en el papel tras análisis por LA-ICP-MS: (a) tinta de sello y (b) tinta de bolígrafo.

Como se puede comprobar en Figura D.40, la doble huella isotópica se detecta con absoluta claridad en ambas matrices de tinta a cada concentración de mezcla trazadora. Como era de esperar, las mayores incertidumbres se observan para las dos concentraciones más bajas de marca, 10 y 20  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . A pesar de ello, como se puede comprobar, fue posible diferenciar muestras de tintas marcadas con mezclas trazadoras de relaciones molares ( $\text{N}_{97\text{Mo}}:\text{N}_{95\text{Mo}}$ ) muy similares.

La exactitud en la medida de las relaciones de fracciones molares mediante ablación láser es suficiente. Sin embargo, las incertidumbres asociadas a estos resultados son mayores que las obtenidas mediante nebulización convencional, lo que es claramente atribuible a la pequeña cantidad de tinta que es ablacionada y llega al detector, y al propio proceso mismo de ablación. Aun así, estas incertidumbres se encuentran en el rango típico de análisis por ablación láser.

A pesar de ello, el uso de LA-ICP-MS como técnica para la detección de documentos fraudulentos se antepone al análisis en disolución mediante ICP-MS debido a que el acoplamiento del sistema de ablación láser al equipo ICP-MS permite el análisis directo de la muestra sin apenas preparación previa de la misma, reduciendo los tiempos de análisis y minimizando la alteración de la muestra.

## Estabilidad de la marca con el tiempo

Una de las cuestiones cruciales a la hora de proponer un elemento como trazador en una metodología de marcaje es la estabilidad del mismo con el tiempo. Por ello es importante comprobar que la marca permanece en los documentos pasado un periodo de tiempo prolongado desde su marcaje. Asimismo, para verificar la estabilidad de la



marca en la tinta líquida, también resulta útil volver a escribir sobre documentos y comprobar que la marca se transfiere al papel adecuadamente.

El marcaje de las tintas se realizó en Febrero 2012 y el análisis de las muestras de papel codificado con la tinta marcada mediante LA-ICP-MS se llevó a cabo en Enero 2013, generando los resultados expuestos en la Figura D.40. Para corroborar la validez del molibdeno como trazador de tintas y documentos se llevó a cabo un segundo análisis de estas muestras mediante LA-ICP-MS en Septiembre 2015. En esta última sesión de medida se evaluó la estabilidad de la marca de molibdeno (mezcla trazadora B,  $N_{Mo97}:N_{Mo95} = 0.9342$ ) añadida a la tinta de bolígrafo en una concentración de  $40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Para ello se analizaron tres tipos de documentos diferentes: (i) misma muestra ya analizada en Enero 2013 (resultados expuestos en la gráfica (b) de la Figura D.40); (ii) réplica de la muestra (i) que no había sido analizada en la sesión de medida de Enero 2013; y (iii) muestra recién generada tras escribir con el bolígrafo durante esta última sesión de medida. Las muestras (i) y (ii) se obtuvieron en Enero 2013 y fueron almacenadas en bolsas de plástico desde entonces. El análisis de estas muestras permitirá por tanto evaluar la estabilidad de la marca de molibdeno en la tinta ya depositada sobre papel con el paso del tiempo. Por su parte, el análisis de la muestra (iii) generada en el mismo momento de la medida nos dará una idea de la estabilidad de la marca de molibdeno en la tinta líquida pasados ya más de tres años tras su marcaje.

Los resultados obtenidos tras el análisis de estas muestras en Septiembre 2015 se resumen en la Tabla D.20 junto con los resultados de la muestra (i) ya analizada en Enero 2013 (Figura D.40) para mejor comparación.

Tabla D.20. Relación de fracciones molares ( $x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$ ) encontradas en las muestras de papel escrito con bolígrafo azul (B, 0.9342) tras sendos análisis mediante LA-ICP-MS.

	$X_{\text{Zr nat}}$	$x_{\text{Mo nat}}$	$x_{\text{Mo97}}/x_{\text{Mo95}}$	U
<b>Muestra (i)</b>				
<b>Ene 2013</b>				
(1)	0.0497	0.0087	0.9313	0.0426
(2)	0.0340	0.0078	0.9319	0.0560
(3)	0.0348	0.0069	0.9403	0.0516
<b>Muestra (i)</b>				
<b>Sept 2015</b>				
(1)	1.3805	0.2459	0.5830	0.0812
(2)	1.5892	0.1961	0.4838	0.0867
(3)	1.5247	0.2155	0.5414	0.1119
<b>Muestra (ii)</b>				
<b>Sept 2015</b>				
(1)	0.7556	0.1195	0.8378	0.0549
(2)	0.7870	0.0964	0.8266	0.0767
(3)	0.7123	0.0977	0.8175	0.0858
<b>Muestra (iii)</b>				
<b>Sept 2015</b>				
(1)	0.0106	0.0039	0.9375	0.0525
(2)	0.0187	0.0017	0.9381	0.0448
(3)	0.0191	0.0025	0.9353	0.0451

A la vista de los resultados recogidos en la Tabla D.20 se observa una pérdida de molibdeno enriquecido en la muestra (i) entre Enero 2013 y Septiembre 2015, así como un aumento relativo de la presencia de circonio y molibdeno de abundancia natural en estas muestras. Esta desaparición de la marca isotópica podría ser debida a varios factores. Por un lado, el molibdeno podría haber difundido hacia otras zonas en

este tipo de papel, se podría haber transferido el molibdeno a la funda de plástico o, lo más probable, se podría haber formado algún compuesto volátil de molibdeno que favoreciese su desaparición de la matriz de papel. Los resultados del análisis de la muestra (ii), réplica de la muestra (i), también denotan una pérdida de la marca isotópica  $Mo97/Mo95$  aunque en menor extensión. Sería necesario un estudio más exhaustivo de diferentes tipos de papel para ver en qué medida difunde el molibdeno en este tipo de matriz o si algún componente de la misma reacciona con el molibdeno favoreciendo su degradación o la formación de algún compuesto volátil. Por su parte, los resultados obtenidos tras el análisis de la muestra (iii) recién generada durante la sesión de medida de Septiembre 2015 son análogos a los obtenidos para la muestra (i) en su análisis de Enero 2013, lo que confirma la estabilidad del molibdeno en disolución en la matriz de tinta líquida.

El aspecto de la muestra (iii) tras su análisis por ablación láser ICP-MS se ilustra en la Figura D.41.



**Figura D.41. Muestra (iii) tras su análisis por LA-ICP-MS.**

## Aproximación a la codificación de billetes

Tras la aplicación de la metodología de marcaje con doble huella isotópica para la codificación de tintas y documentos, se procedió a una primera aproximación al marcaje de billetes. Dado que los billetes son productos manufacturados que llegan a nuestras manos sin posibilidad de realizar ningún cambio en su morfología o composición, la aplicación de la metodología de marcaje difiere ligeramente con respecto a la codificación de las tintas.

Se hizo uso de un billete de cinco euros en curso legal para su codificación con la mezcla de trazadores B ( $N_{97Mo}:N_{95Mo} = 0.9342$ ) a un nivel de concentración de  $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Se impregnó una zona reducida del billete con una pequeña gota de la mezcla trazadora, incluyendo papel con y sin tinta impresa. Seguidamente se dobló el billete y se colocó directamente en el portamuestras de la cámara de ablación para su análisis bajo las mismas condiciones de medida que las tintas en documentos. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura D.42.

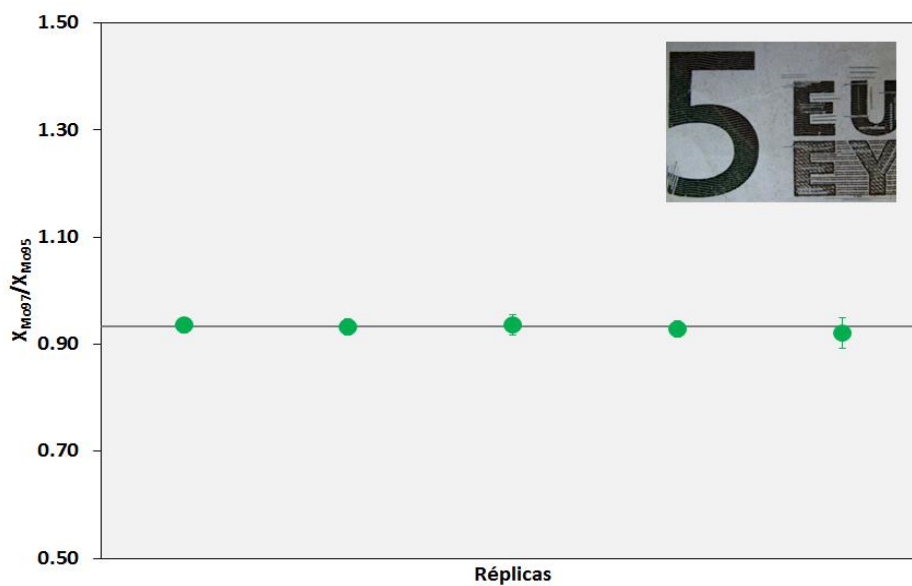


Figura D.42. Relación de fracciones molares ( $x_{Mo97}/x_{Mo95}$ ) en el billete tras su análisis.

Al igual que en las figuras anteriores, la línea gris horizontal indica la relación de fracciones molares  $x_{\text{Mo}97}/x_{\text{Mo}95}$  de la mezcla trazadora. Y como se puede observar, una concentración de  $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  es suficiente para la detección exacta e inequívoca de la marca en el billete.

Como el coste de fabricación de cada billete se estima en unos pocos céntimos, el proceso de marcaje con doble huella isotópica no debería aumentar demasiado el precio de todo el proceso de manufactura. Trabajando con una concentración en torno a  $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , unos pocos mililitros de la mezcla trazadora serían capaces de codificar miles de billetes a muy bajo coste, otorgándoles así una huella isotópica que los hiciera únicos. Además, dado que la ablación láser se limita a arrancar cantidades mínimas de la superficie del billete, la detección de la marca mediante esta técnica mantendría los billetes inalterados y disponibles para su uso tras el análisis, lo que es de gran importancia no sólo para billetes sino para todo tipo de productos de alto valor añadido.

Muchos son los elementos de seguridad que presentan de forma visible los billetes de euro: impresión en relieve, marca de agua, hilo de seguridad, holograma con retrato y número verde esmeralda (Figura D.2). Sin embargo, esta pequeña aproximación al marcaje de billetes mediante isótopos estables supone un buen punto de partida para la implementación de otro elemento de seguridad, en este caso encubierto, que supondría claras ventajas en la lucha antifraude.

## Conclusiones

Se ha comprobado la viabilidad del marcaje de tintas y documentos mediante doble huella isotópica, extendiendo así el campo de aplicación de esta metodología. El proceso seguido para el marcaje de documentos se ilustra en la Figura D.43. Tras la codificación de las tintas, la detección de la marca se pudo llevar a cabo tanto por vía líquida como por análisis directo de los documentos. La detección inequívoca de la marca en la tinta líquida requiere una concentración mínima de molibdeno en la matriz de entre 100 y 500  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , mientras que la concentración debe ser ligeramente mayor para una detección precisa en los documentos mediante LA-ICP-MS (30-40  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). La mínima alteración de la muestra y la amplia información isotópica que se obtiene mediante LA-ICP-MS hace de ésta la técnica la más recomendable para esta aplicación. La codificación en origen según productor, artista, dueño, lote, fecha o cualquier otra característica, supone una fuerte herramienta forense para la resolución de casos, detección de productos falsificados y en la lucha antifraude.

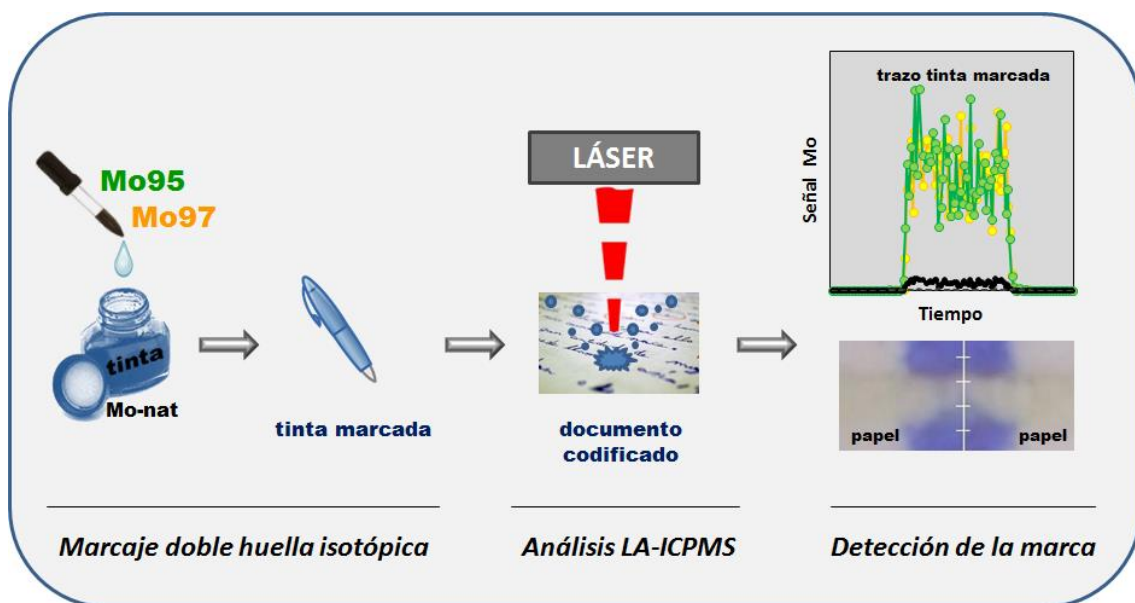


Figura D.43. Esquema del proceso de marcaje de tintas y codificación de documentos.

## Capítulo 2. Medida de relaciones isotópicas de plomo para el estudio de minerales y de procedencia de materiales arqueológicos

*¿Qué pesa más un kilogramo de paja o un kilogramo de plomo?*

Esta pregunta trampa que se suele hacer a los niños para que se estrujen las neuronas, podría haber dejado pensando a más de uno en la antigüedad, ya que por aquel entonces poco se conocía de las características y propiedades del plomo. Sin embargo, tal era su presencia en la vida cotidiana antigua, que a este elemento se le atribuye la muerte del magnífico compositor alemán Ludwig van Beethoven. Acostumbrado a ingerir agua y pescado de una región del Danubio contaminada con plomo, desarrolló una personalidad un tanto enloquecida y, valga la redundancia, plomiza. Gran amante del vino, que por aquel entonces se endulzaba con acetato de plomo, tenía en una copa hecha de una aleación de plomo su recipiente favorito para saborear tal succulento brebaje. Tras caer fuertemente enfermo por problemas pulmonares, los médicos le trataron con una medicina expectorante basada en sales de plomo, que pocos meses después le causaría irremediabilmente la muerte.





## El plomo a lo largo de la historia

El plomo, cuyo nombre deriva del latín *plumbum*, es un metal de apariencia grisplateada que se extrae principalmente de la galena (sulfuro de plomo, PbS) por procesos de abrasión. Su bajo punto de fusión y la facilidad con la que se trabaja en láminas, fueron la causa por la que su uso fue tan extendido por las diferentes civilizaciones a lo largo de los siglos. De hecho, descubrimientos arqueológicos fechados alrededor del año 7000 a.C (antes de Cristo) revelan que el plomo ya se usaba en la fabricación y decoración de objetos, probablemente con anterioridad a la explotación del cobre y del bronce [186]. Desde entonces, y pasando por los grandes imperios egipcio, griego y romano, y hasta llegar a la Revolución Industrial, el plomo ha sido ampliamente explotado para la fabricación de tuberías, utensilios de cocina, acuñación de monedas o incluso pigmentos decorativos en ataúdes y todo tipo de materiales [187]. Obviamente, la explotación tan temprana del plomo y su amplio desarrollo y uso ha derivado en una alta contaminación ambiental [188], generando graves problemas para la salud humana [189], que ya fueron descritos por los egipcios. Hasta ahora no se conoce ningún papel biológico del plomo en el organismo, y la ingesta crónica de pequeñas cantidades resulta tóxica. Por ello, en países desarrollados se han decretado serias medidas para la eliminación del plomo en productos como la gasolina, tintes de pelo e insecticidas con el objetivo de disminuir las emisiones hacia la atmósfera. Sin embargo, todavía se sigue utilizando ampliamente en munición, baterías de coches, soldadura o como protección radiológica [190].

Además, el plomo se encuentra como impureza en muchos minerales y productos derivados de estos. La variabilidad natural de las abundancias isotópicas del plomo ha permitido estudiar el origen de muchos de estos materiales como se describe a continuación.

## Geoquímica de los isótopos del plomo

El plomo posee cuatro isótopos estables:  $^{204}\text{Pb}$ ,  $^{206}\text{Pb}$ ,  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}$ ; y cuyas abundancias naturales medidas descritas por la IUPAC se muestran en la Tabla D.21.

**Tabla D.21. Abundancias naturales de los isótopos de plomo [4].**

Isótopo	$^{204}\text{Pb}$	$^{206}\text{Pb}$	$^{207}\text{Pb}$	$^{208}\text{Pb}$
Abundancia (%)	1.4	24.1	22.1	52.4

De los cuatro isótopos estables del plomo solamente el  $^{204}\text{Pb}$  presenta una concentración constante en la Tierra, es decir, la cantidad de  $^{204}\text{Pb}$  se ha mantenido invariable desde la formación de la Tierra hace aproximadamente 4600 millones de años hasta ahora. Sin embargo, la concentración de los otros tres isótopos restantes han ido aumentando con el tiempo como consecuencia del decaimiento radiactivo de isótopos de U y Th [191].

En la Tabla D.22 se recogen las características de los isótopos radiogénicos del plomo junto con sus isótopos padre, núcleos que decaen radiactivamente;  $\tau$  que indica la vida media del isótopo padre en años, es decir, el periodo de tiempo que ha de pasar para que la cantidad inicial de elemento se reduzca a la mitad; y  $\lambda$ , la constante de decaimiento radiactivo del mismo, que es un coeficiente de proporcionalidad que relaciona los átomos iniciales con los átomos que desaparecen por unidad de tiempo. Ambos valores son característicos de cada núcleo [192]. La cantidad formada de los isótopos de plomo radiogénicos dependerá de la abundancia del isótopo padre y de su tiempo de vida media.

Por ejemplo, el tiempo de vida media del  $^{235}\text{U}$  es menor que el de  $^{238}\text{U}$ , lo que indica que el  $^{207}\text{Pb}$  se forma más rápido que el  $^{206}\text{Pb}$ . Sin embargo, se produce relativamente más  $^{206}\text{Pb}$  que  $^{207}\text{Pb}$  debido a que la abundancia de  $^{238}\text{U}$  es 138 veces mayor que la de  $^{235}\text{U}$  [193].

**Tabla D.22. Isótopos estables de plomo con origen radiogénico.**

Serie	Isótopo padre	$\tau$ (años)	$\lambda$ (años <sup>-1</sup> )	Producto
U-Ra	$^{238}\text{U}$	$4.47 \times 10^9$	$1.55 \times 10^{-10}$	$^{206}\text{Pb}$
Actinio	$^{235}\text{U}$	$0.70 \times 10^9$	$9.82 \times 10^{-10}$	$^{207}\text{Pb}$
Torio	$^{232}\text{Th}$	$14.01 \times 10^9$	$4.95 \times 10^{-11}$	$^{208}\text{Pb}$

Generalmente, se asume que cuando se formó la corteza terrestre, ésta sólo contenía plomo primordial, con una determinada abundancia isotópica de los cuatro isótopos de plomo distinta de la actual, junto con uranio y torio, y que con el paso del tiempo los isótopos radiogénicos de plomo fueron reemplazando gradualmente a los de uranio y torio en sus minerales. Por ello, la cantidad de un isótopo de plomo radiogénico ( $^{206}\text{Pb}$ ,  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}$ ) encontrada en un mineral determinado vendrá dada por la suma del plomo primordial más el plomo derivado por decaimiento radiactivo del uranio y del torio.

Los estudios llevados a cabo por Tatsumoto y colaboradores en 1973 en minerales de triolita (FeS) provenientes del meteorito del Cañón Diablo (Arizona, Estados Unidos), revelaron que su contenido de U y Th era despreciable, por lo que el plomo presente en el mismo carecía de carácter radiogénico [194]. Desde entonces se asume que la composición isotópica del plomo primordial de la Tierra debería ser similar a la encontrada en el meteorito ( $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb} = 9.307$ ;  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb} = 10.294$  y  $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb} =$

29.476), y que con el paso del tiempo geológico el plomo presente en la Tierra se ha vuelto progresivamente más radiogénico por el decaimiento radiactivo de U y Th.

Este hecho hace que exista una amplia variabilidad de la composición isotópica del plomo en nuestro planeta, que depende tanto de la tasa de decaimiento radiactivo de los isótopos padres (U y Th) como de las proporciones relativas de U-Th-Pb en una cierta región geológica, haciendo que ésta tenga su propia identidad en cuanto a isótopos de plomo. De esta manera, las relaciones isotópicas de plomo constituyen una importante herramienta en el campo de la geocronología [195] y de la arqueometría [196], ya que la evaluación de las relaciones isotópicas de un mineral, artefacto o lecho geológico permite su datación y la determinación de su procedencia en función de las abundancias de  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y de sus relaciones en función de  $^{204}\text{Pb}$ .

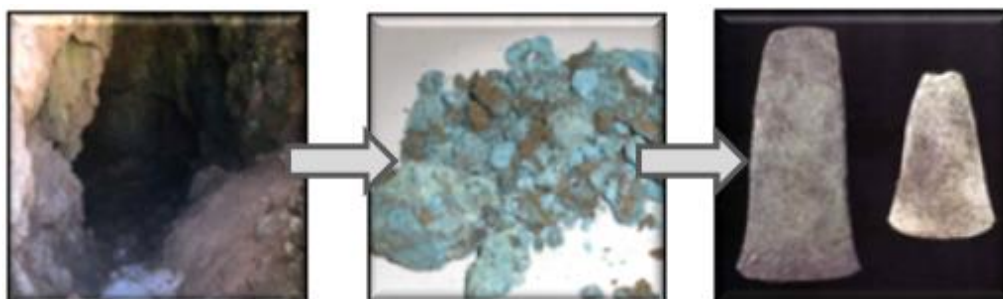
## Estudios de procedencia

La posibilidad de trazar una correspondencia directa entre un artefacto metálico y el yacimiento del cual se extrajo el mineral para su fabricación siempre ha sido una de las metas más atractivas en el campo de la arqueología, ya que su evaluación permite el estudio del tráfico de mercancías y de las relaciones comerciales entre las civilizaciones antiguas [197].

### Huella isotópica de plomo como principal trazador de procedencia

A mediados de los años 60 del pasado siglo, los grupos de investigación de Brill y Wampler, y de Grögler y colaboradores, propusieron el uso de las relaciones isotópicas de plomo como marcadores del origen de artefactos metálicos, basándose en la comparación de las relaciones isotópicas del objeto y del posible yacimiento de procedencia del mineral con el que se fabricó [198]. De esta manera, y ya en los años 70, una estrecha colaboración entre grupos de investigación de las universidades de Oxford y Heidelberg supuso notables avances en el estudio de los principios de la metalurgia en el Mediterráneo, empezando con estudios de procedencia de monedas de la antigua Grecia [199]. Desde entonces, y gracias al notable desarrollo de la instrumentación analítica, el análisis de las relaciones isotópicas de plomo se ha convertido en una herramienta clave utilizada para la caracterización de yacimientos minerales tanto a nivel internacional (Alemania [19], Bulgaria [200], Chipre [201], Gran Bretaña [202], Grecia [203] o Turquía [204]) como dentro del territorio peninsular (Andalucía [205], Asturias [206], [207], Castilla y León [208], Cataluña [209] o Islas Baleares [210]).

Una vez caracterizado un yacimiento, para lo que se necesitan en torno a 20-30 muestras del mismo [211], se puede concluir que si la composición isotópica de plomo de un objeto metálico en estudio se puede incluir dentro del rango isotópico del yacimiento, dicho objeto será “coherente” con la composición del yacimiento y se podría postular la posible conexión entre ambos. Ahora bien, si la composición isotópica del objeto no concuerda con la del yacimiento, se debe negar categóricamente la vinculación entre el objeto y dicho yacimiento mineral. Cabe destacar que la composición isotópica del plomo se mantiene inalterada desde el yacimiento mineral hasta el artefacto arqueológico como se ilustra en la Figura D.44.



**Figura D.44. La composición isotópica del plomo se mantiene inalterada desde el yacimiento mineral hasta el artefacto arqueológico.**

Dada la elevada masa atómica del plomo y que la diferencia de masa relativa entre sus isótopos es de tan sólo un 2%, cualquier discriminación química entre ellos se considera despreciable, es decir, no presentan fraccionamiento isotópico natural reseñable [212]. De este modo, la mayor parte de los yacimientos estudiados hasta la fecha presentan una composición isotópica de plomo característica que suele ser homogénea a lo largo del depósito mineral, independientemente de que la concentración de plomo varíe según la zona del depósito, del tipo del mineral analizado o de la localización topográfica del mismo dentro del propio yacimiento. No obstante, es importante destacar la existencia de yacimientos minerales con alta heterogeneidad en su composición isotópica de plomo, como es el caso de aquellos

depósitos que han sufrido procesos geoquímicos postdeposicionales o aquellos en los que la presencia de uranio y torio es significativa. Esta heterogeneidad isotópica se ve reflejada en relaciones isotópicas poco comunes que abarcan un amplio rango de composiciones isotópicas de plomo dentro del yacimiento o incluso dentro de un mismo tipo de mineral. Además, el decaimiento radiactivo del uranio genera grandes cantidades de  $^{206}\text{Pb}$ , mientras que la presencia de torio se hace patente por la aparición de relaciones  $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  inusuales [213].

## El análisis de impurezas metálicas como herramienta complementaria en estudios de procedencia

Además de considerar las posibles heterogeneidades del yacimiento, los objetos en estudio pueden presentar también ciertas anomalías en su composición isotópica de plomo que dificulten la designación de su procedencia. Este es el caso de las aleaciones metálicas: un mismo tipo de mineral procedente de varias fuentes y con diferente composición isotópica puede ser mezclado para forjar un artefacto [214], o bien, la aleación puede ser plomada intencionadamente durante el proceso metalúrgico, provocando así variaciones en la composición isotópica de plomo.

Por ello, como herramienta analítica complementaria al estudio de las relaciones isotópicas de plomo para la determinación de la procedencia de un artefacto metálico antiguo, se puede recurrir al estudio de las impurezas metálicas presentes en el mismo [215]. Generalmente, estos artefactos arqueológicos hechos de cobre, hierro o aleaciones metálicas (bronce, latón,...), suelen ir acompañados de ciertas impurezas metálicas, como por ejemplo arsénico, antimonio, bismuto, cobalto, níquel, cinc o plomo, que se transfieren desde el mineral al artefacto arqueológico.

Su eficacia como factor discriminante ha sido muy discutida, puesto que no se sabía si los elementos traza que caracterizan un determinado mineral se mantenían intactos o no durante la extracción y fundición del metal [216]. Algunos elementos como el oro, la plata o el níquel son bastante estables durante estos procedimientos y pueden relacionarse directamente con la fuente mineral, mientras que otros elementos como arsénico, cobalto y antimonio son lo bastante volátiles como para que su contenido se pueda reducir durante el procesado, pese a ello, también se suelen tener en cuenta durante el análisis de las piezas. Por otro lado, algunos elementos como el hierro o el cinc, bastante comunes en los depósitos minerales, en ocasiones no suelen resultar útiles para la identificación.

Además, la concentración de las impurezas en el artefacto depende tanto del origen del mineral de cobre como del proceso metalúrgico seguido. Por todo ello, la medida de las impurezas metálicas de un artefacto debe considerarse como una herramienta complementaria a la evaluación de las relaciones isotópicas de plomo, útil para confirmar conclusiones obtenidas mediante el estudio de la huella isotópica de plomo, pero nunca se debe utilizar como herramienta concluyente.



## Huella isotópica de plomo en geocronología y datación

### Papel de la radiactividad en metodologías de datación

Desde los albores de la humanidad, el deseo de determinar y controlar el tiempo ha sido uno de los principales empeños del ser humano. Conocer los procesos geológicos que habían tenido lugar en la Tierra y poder ordenarlos, permitiría la reconstrucción de la historia del planeta así como la estimación de la edad de la Tierra. De ahí la necesidad de una escala temporal que pudiese ordenar la sucesión de dichos acontecimientos geológicos estableciendo un pasado, un presente y un futuro.

En el siglo XVII se creía que la unidad más grande de tiempo era el periodo de vida de un hombre, según se indicaba en la genealogía bíblica, por lo que se estimó que la edad de la Tierra se encontraba en torno a 6000 años, una cifra que a día de hoy resulta extraordinariamente pequeña [217]. A finales del siglo XIX, la dirección en la que iban enfocadas las metodologías para la datación de la edad de la Tierra, basadas en el estudio de la colocación de los estratos [218] o en investigaciones termodinámicas, sufrió un tremendo cambio debido a la aparición del, hasta entonces desconocido, concepto de radiactividad.

En 1896 y durante un experimento sobre fluorescencia, el físico francés A.H. Becquerel descubre que ciertas sales de uranio emitían radiación invisible [219] similar a los rayos X descubiertos un año antes por su colega alemán Wilhelm C. Röntgen [220]. Los avances en este terreno no se hicieron esperar, y un par de años después, el matrimonio de físicos formado por Marie y Pierre Curie acuñó el término “radiactividad” como la propiedad de ciertos átomos inestables para desintegrarse espontáneamente y convertirse en otros átomos estables de distinta naturaleza

mediante la emisión de radiación. Uranio, torio, polonio y radio fueron los elementos principales de su investigación debido a su potente radiactividad natural [221].

A principios de siglo XX, los estudios llevados a cabo por Ernest Rutherford y Frederick Soddy sobre el decaimiento radiactivo del uranio, demostraron que éste, durante su decaimiento hasta un producto estable de plomo, emitía partículas  $\alpha$  durante su proceso de desintegración. Además, se demostró la naturaleza exponencial de la descomposición radiactiva [222], hecho que llevó a Lord Rutherford a estudiar las posibilidades de este fenómeno para determinar la edad de las rocas, considerando también que la proporción de elementos radiactivos en una roca guarda relación directa con la edad de la misma.

A estas alturas de siglo, el fenómeno de la descomposición radiactiva no estaba del todo claro y los investigadores desconocían que podía haber múltiples isótopos del mismo elemento con velocidades de desintegración diferentes. No fue hasta 1913 cuando el científico británico J.J. Thomson confirma la existencia de los isótopos tras sus experimentos con átomos de neón en el entonces conocido como equipo de rayo positivo [223]. Con el tiempo, el también británico F.W. Aston llega a descubrir 212 de los 287 isótopos que existen de manera natural [224].

Avanzado ya el primer tercio de siglo, Alfred Nier, físico norteamericano pionero en el desarrollo de la espectrometría de masas, comienza a hacer una serie de cuidadosas medidas sobre la composición isotópica del plomo. De esta manera, descubre que las proporciones isotópicas del plomo común presentan una alta variabilidad dependiendo de la edad y de la composición química de los minerales, y que mientras que los isótopos  $^{208}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}$  se van generando a partir de  $^{232}\text{Th}$  y  $^{238}\text{U}$  respectivamente, el  $^{204}\text{Pb}$  no es producido por descomposición radiactiva y su composición isotópica no varía con el tiempo [225]. Asimismo, demostró que los yacimientos ricos en uranio estaban enriquecidos isotópicamente en  $^{206}\text{Pb}$  y  $^{207}\text{Pb}$ ,

mientras que en los yacimientos donde estaba presente el torio el enriquecimiento era favorable hacia  $^{208}\text{Pb}$ . Grandes avances en la instrumentación [226] y en la metodología de análisis e identificación de isótopos se llevaron a cabo durante la segunda Guerra Mundial, resultando en una mejora en los límites de detección y en la precisión de las medidas. Mejoras en el espectrómetro de masas de sector magnético y la alta disponibilidad de este equipo permitieron a un número mucho más grande de investigadores establecer el uso de isótopos como potente herramienta en el campo de la geocronología.

Actualmente, se considera que la edad de la Tierra es de unos 4550 millones de años, edad estimada por el geoquímico estadounidense Clair C. Patterson en 1953 [227].

## Datación radiactiva Pb-Pb

En la naturaleza existen elementos radiactivos que durante su proceso de desintegración generan núcleos radiogénicos que son a su vez radiactivos, y que siguen decayendo hasta llegar a un último núcleo estable. El conjunto de radioisótopos involucrados en este proceso se conoce como serie de desintegración radiactiva, que se caracteriza por los elementos involucrados, por el valor de sus vidas medias y por la constante de decaimiento de cada núcleo [228]. En base a las diferentes series radiactivas se establecen los distintos métodos de datación geocronológica, cuya elección se realiza en función de la edad aproximada de la roca y de su composición mineralógica.

Ejemplos de estos pares isotópicos útiles para la geocronología son la serie del Rb-Sr [229], muy útil en datación de rocas metamórficas; la serie K-Ar, que cubre casi toda la escala de tiempo geológico permitiendo la datación de las rocas terrestres más

antiguas [230]; la serie Nd-Sm, aplicable principalmente a rocas precámbricas y extraterrestres [231]; o la datación por  $^{14}\text{C}$ , método empleado para una gran variedad de materiales orgánicos [232]. Por su parte, las series de decaimiento que involucran isótopos de uranio, torio y plomo son probablemente los cronómetros más precisos que se pueden utilizar para materiales geológicos con edades superiores a los 30 millones de años, ya que en materiales de esta antigüedad se puede considerar que el uranio y el torio se encuentran en equilibrio secular y que la filiación U-Pb y Th-Pb es directa.

Las series radiactivas que involucran U-Th-Pb son tres y se muestran en la Figura D.45: serie U-Ra, que comienza con el  $^{238}\text{U}$  y acaba en el producto  $^{206}\text{Pb}$ ; serie del actinio, cuyo núcleo inicial es  $^{235}\text{U}$  y el  $^{207}\text{Pb}$  es el núcleo final estable; y serie del torio, empezando en  $^{232}\text{Th}$  y acabando en  $^{208}\text{Pb}$  [233]. Los tiempos de vida media de los isótopos de uranio son lo suficientemente largos como para poder abarcar la totalidad de la historia de la Tierra, pero también lo suficientemente cortos como para que tanto los isótopos padre e hijo puedan ser medidos en un mismo mineral. De este modo, en aquellos minerales que contengan uranio y torio, se podrán llegar a calcular tres edades, una por cada par isotópico:  $^{206}\text{Pb}/^{238}\text{U}$ ,  $^{207}\text{Pb}/^{235}\text{U}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{232}\text{Th}$  [234].

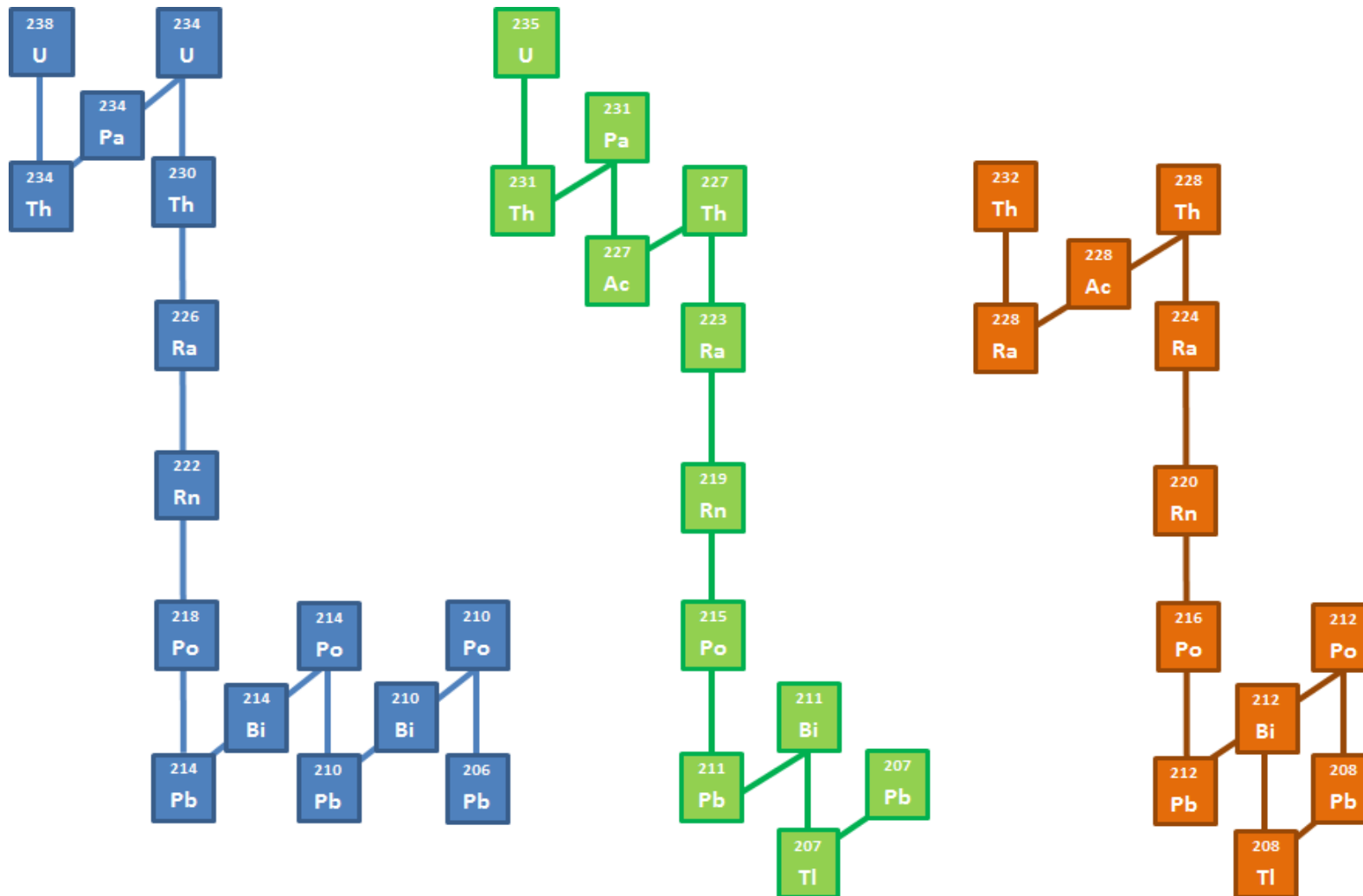


Figura D.45. Series de desintegración radiactiva: serie U-Ra, actinio y torio [235].

Dado que la relación isotópica  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  cambia sistemáticamente con el tiempo, se puede determinar la edad de una manera fiable teniendo en cuenta solamente los isótopos de plomo, ya que aunque la relación radiogénica  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  se mantenga constante, las concentraciones de  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}$  aumentan con el tiempo en función del uranio presente, por lo que se pueden representar en función de  $^{204}\text{Pb}$ , cuya concentración sí es invariable [236]. De esta manera, si se representan los valores de la relación  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  frente a  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  de una serie de rocas de la misma edad, estos valores se agruparán en torno a una línea recta, denominada isócrona, de cuya pendiente se extrae la edad de mineralización de dichas rocas [237]. La primera aplicación de esta metodología de datación fue el cálculo de la edad de la Tierra por parte del ya mencionado Clair C. Patterson a mediados del siglo pasado [227].

Por todo ello, las rocas deben considerarse registros del tiempo, ya que ellas mismas son producto de los eventos que han ocurrido a lo largo de la historia de la Tierra, y a partir de sus interrelaciones, estos acontecimientos pueden ser secuencialmente ordenados en orden cronológico.

## I. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre de la Mina La Profunda mediante LA-MC-ICP-MS

*Cobre: “aes Cryprium” (mineral de Chipre).*

Metal noble junto al oro y a la plata, ha jugado un papel muy importante en el desarrollo de prácticamente todas las civilizaciones influyentes en la historia de la humanidad. Su elevada conductividad eléctrica, extraordinaria capacidad para ser reciclado de forma indefinida sin llegar a perder sus propiedades mecánicas, y su gran facilidad para formar aleaciones, han hecho de él uno de los metales más cotizados y utilizados por los hombres desde sus orígenes. Todo esto, junto con sus ya conocidas funciones en el organismo como parte fundamental en el transporte de hierro o en la asimilación de vitamina C, permite entender la gran importancia de los minerales para la vida humana.





## La minería ligada a la historia del hombre

La minería ha sido siempre una actividad productiva ligada a la historia económica, social y cultural de los pueblos, y en este sentido la Península Ibérica ha contado con importantes yacimientos de minerales metálicos desde la prehistoria. Por ello, se puede afirmar que el hombre ha sido minero desde el principio de los tiempos, y que el uso de los minerales no se ha realizado de forma aleatoria, sino en base a sus propiedades [238]. De esta manera, elementos como el cobre o el hierro fueron muy socorridos en los orígenes de las sociedades para el desarrollo de las mismas.

En cuanto a la minería del cobre, la Península Ibérica es considerada referente del laboreo prehistórico del mismo, con importantes yacimientos en las zonas de Andalucía [239], Cataluña [240] y Navarra [241]. Sin duda, importantes yacimientos de cobre se localizan también en la Cordillera Cantábrica, dentro de los cuales las minas de El Aramo (Riosa, Asturias) [242], El Milagro (Onís, Asturias) [243] y La Profunda (Cármenes, León) [244] se merecen toda nuestra atención ya que aportan el testimonio más importante del laboreo de cobre de la antigüedad en la franja norte de la Península.

## Mina La Profunda

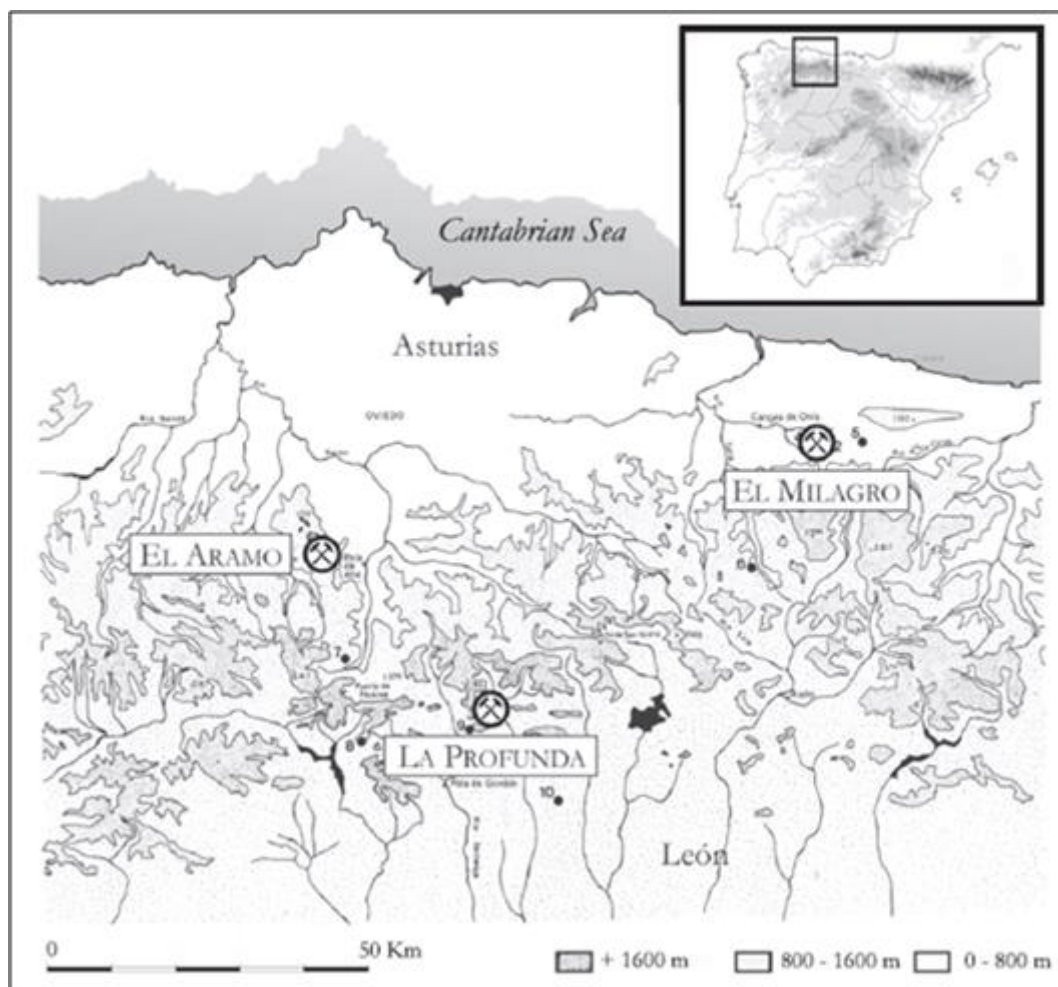
La mina “La Profunda” se localiza en la submeseta norte de la península Ibérica, concretamente en la ladera meridional de la Sierra de los Currilliles (1486 metros de altitud), en el término municipal de Cármenes (provincia de León). El símbolo del yacimiento es la gran cavidad de la entrada superior, conocida como “La Cuevona” (Figura D.46), producto de la conjunción de las explotaciones moderna y prehistórica y a la cual se accede desde la Collada de Cármenes a 1339 metros de altitud.



**Figura D.46. Entorno de la mina La Profunda, cavidad de entrada y recolección de muestras.**

Este espacio requiere todo tipo de atenciones tanto mineras como históricas, ya que junto con las minas asturianas de El Aramo (Riosa) y El Milagro (Onís) constituye uno

de los más importantes yacimientos cupríferos del norte de España (Figura D.47) a los cuales se les puede atribuir una explotación prehistórica a gran escala [245].



**Figura D.47. Localización de la mina La Profunda respecto de las minas asturianas de El Aramo y El Milagro [246].**

Los hallazgos arqueológicos encontrados en el yacimiento, como hachas de cobre y percutores elaborados con cantos rodados y material animal [247], hacen creer que su explotación se remonta a mediados del tercer milenio antes de Cristo, coincidiendo con el arranque de las minas de El Aramo y El Milagro [248], y cuya explotación prehistórica se extendió a lo largo de un milenio, aunque probablemente su

aprovechamiento continuase en época romana. Descubierta en 1859, su época de máximo esplendor fue a finales del siglo XIX (1870-1890), erigiéndose como la mayor productora de cobalto de España hasta 1930.

En términos geológicos, este yacimiento pertenece al Arco Astúrico, siendo la caliza de montaña la roca encajante de las mineralizaciones en más del 80% de los casos. El cuerpo mineral tiene un desarrollo marcadamente subvertical, presentando una fuerte alteración supergénica acompañada de procesos cársticos, de dolomitización, silicificación, removilización de la materia orgánica y granitización parcial [249]. La edad de estas mineralizaciones calculada mediante datación U-Pb en granos de uraninita libres de torio es de  $273 \pm 11$  Ma (millones de años) [250], situándose por tanto el origen de este yacimiento en el periodo Pérmico.

Cobre, cobalto, níquel, uranio y arsénico destacan como los cinco elementos mayoritarios presentes en el yacimiento que, como Paniagua y Rodríguez Pevida destacan, se distribuyen en relación a la Falla de León, con un predominio de cobalto y níquel en la parte norte, de uranio en el centro, y de plomo y zinc en el sur [251]. La presencia de minerales de uranio radiactivo en esta mina ya fue descrita en el año 1953 por la Junta de Energía Nuclear de España, y años después Paniagua y colaboradores, definieron a este yacimiento como la primera evidencia significativa de la presencia de minerales de uranio en la cornisa cantábrica. Ejemplos de estos minerales son la torbernita ( $\text{Cu}(\text{UO}_2)_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 8-12\text{H}_2\text{O}$ ), la tucholita (mezcla compleja de minerales de uranio y materia orgánica), la uraninita ( $\text{UO}_2$ ), o la zeunerita, ( $\text{Cu}(\text{UO}_2)_2(\text{AsO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), siendo esta última una de las mineralizaciones más llamativas por su cristalización y rareza, como se puede observar en la Figura D.48. Sus cristales aparecen a media altura del talud y presentan un contorno cuadrangular con un espectacular y brillante color verde oscuro. Su alta tendencia a deshidratarse, hace que pierdan su transparencia y su brillo vítreo derivando en metazeunerita, con cristales de color verde claro. Otros minerales abundantes en el yacimiento son los carbonatos,

como la azurita ( $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ ) y la malaquita ( $\text{Cu}_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_2$ ), o el aragonito verde y cuproso ( $\text{CaCO}_3$ ), que rellena anchas fracturas de la caliza en la parte superior de la mina.



**Figura D.48. Mineral de zeunerita de la mina La Profunda [252].**

Los amplios trabajos extractivos durante la actividad minera del siglo XIX y el expolio por parte de “domingueros arqueológicos” destruyeron irremediablemente la gran mayoría de los restos de la explotación prehistórica de la mina, así como gran parte del legado mineralógico de la misma. A pesar de ello, aún se conservan pequeñas galerías y cavidades primitivas dentro del complejo minero, cuya evaluación permite estimar el volumen de roca extraída a lo largo de la historia del yacimiento. En este sentido, alrededor de  $18000 \text{ m}^3$  de mineral fueron extraídos durante la época antigua, con un contenido medio en cobre metálico del 5%, lo que deja entrever la importancia de la explotación prehistórica en cuanto a sus dimensiones y rendimiento. Según los datos oficiales de la explotación moderna, en el periodo de máximo funcionamiento entre 1883 y 1890, se extrajeron 20000 toneladas de mineral, incluyendo carbonatos y sulfuros con un contenido medio de cobre de hasta el 33% [253].

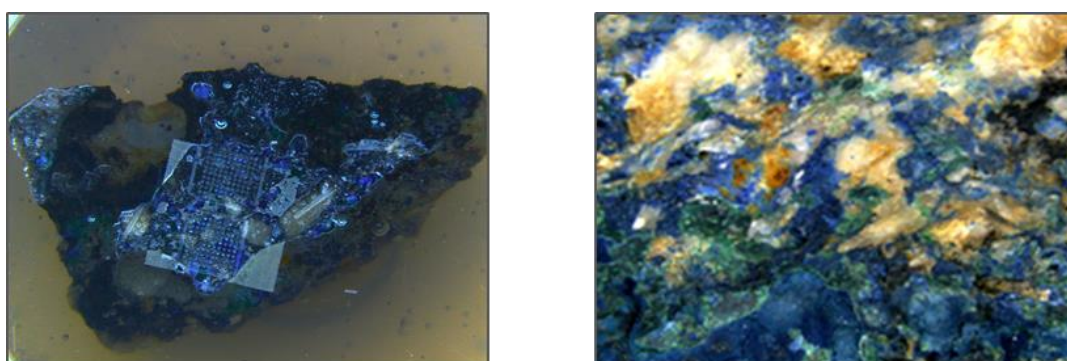
Por todo ello, se puede calificar esta mina como uno de los yacimientos de cobre más significativos de los explotados en la antigüedad, tanto por la dimensión de sus labores como por la presencia de minerales de uranio en su interior, lo que se refleja en una alta aparición de plomo radiogénico, caracterizado por relaciones isotópicas de valores inusuales, así como por un amplio rango de variabilidad de las mismas [246], algo que no es habitual en yacimientos libres de uranio. Esta alta variabilidad en la composición isotópica del plomo se manifiesta no solamente a nivel global de la mina, sino que se puede advertir incluso a escala micrométrica en un mismo mineral, por lo que un estudio exhaustivo de estos minerales es necesario para evaluar las heterogeneidades en cuanto a la distribución y composición isotópica del plomo radiogénico en las piezas minerales de este lugar.

## Muestras en estudio

La huella del extenso laboreo de cobre en la mina La Profunda se hace patente aún a día de hoy por la cantidad de minerales de cobre que todavía queda al alcance de los geólogos y aficionados en el interior de la mina y en la escombrera cercana a la misma, remanente de la actividad industrial. Muestras de dos carbonatos de cobre abundantes en la mina, como son la azurita y la malaquita, así como de un arseniato de cobre y uranio poco común, la zeunerita, son objeto de estudio en el presente trabajo.

La **azurita** ( $\text{Cu}_3 (\text{CO}_3)_2 (\text{OH})_2$ ) y la **malaquita** ( $\text{Cu}_2 (\text{CO}_3) (\text{OH})_2$ ) forman una pareja de hidroxicarbonatos de cobre pseudomorfos siendo la malaquita la forma más típica. La azurita se transforma en malaquita de manera muy lenta y constante al aire libre. Esta transformación no conlleva cambios en su estructura cristalina ya que ambos minerales cristalizan en el mismo sistema monoclinico, pero se manifiesta visualmente

con un cambio de color de azul a verde atribuible a los diferentes estados de oxidación del cobre. Estos minerales pertenecen al grupo V de los carbonatos según la clasificación de Strunz y se forman por la oxidación de sulfuros de cobre enclavados en rocas calizas debido a la acción de disoluciones hidrocarbonatadas, encontrándose normalmente asociados a minerales como la cuprita, el oligisto y la limonita. En la Figura D.49 se pueden observar los dos carbonatos de cobre analizados durante este trabajo.



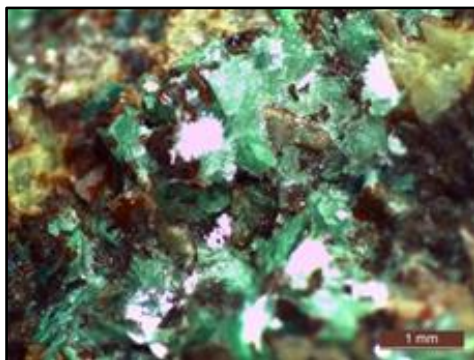
**Figura D.49. Muestras de malaquita (izquierda) y azurita (derecha) en estudio procedentes de la mina La Profunda.**

Ambos minerales son menas de cobre conocidas desde hace miles de años y que ya fueron usadas como amuletos contra los malos espíritus por griegos y romanos, como colorante en pinturas medievales o como sombra de ojos durante el Renacimiento. Desde entonces, y debido a la atención que llaman ambos minerales por sus impresionantes colores, han sido utilizados en joyas como piedras semipreciosas y en objetos decorativos y de colección.

Por su parte, la **zeunerita** ( $\text{Cu}(\text{UO}_2)_2(\text{AsO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), debe su nombre al físico alemán Gustav A. Zeuner, quien la descubrió en una mina de los Montes Metálicos de Sajonia en 1872. Se trata de un mineral radiactivo perteneciente al grupo VIII de los fosfatos en la clasificación de Strunz que cristaliza en el sistema tetragonal y presenta un color



verde esmeralda como se muestra en la Figura D.50, aunque frecuentemente se encuentra deshidratado a metazeunerita, volviéndose entonces translúcido tras la deshidratación. Suele aparecer como mineral secundario raro en zonas de oxidación de yacimientos de uranio sometidos a alteración hidrotermal en presencia de arsénico y asociado a minerales como la olivenita, la escorodita, o los ya mencionados azurita y malaquita. La presencia de este mineral es poco habitual en la Península Ibérica, y además de en la mina La Profunda, tan sólo un par de localizaciones más cuentan con este extraordinario mineral, como son la mina Eureka en Lérida y las minas de Los Sejas y El Negre en la provincia de Castellón, de ahí el gran interés en el estudio de este mineral tan peculiar.



**Figura D.50. Muestra de zeunerita en estudio procedente de la mina La Profunda.**



## Procedimiento experimental

### Tratamiento de muestras

En el caso particular de las muestras de malaquita, recogidas del interior de la mina por el doctor Gonzalo Huelga Suárez y el profesor José Ignacio García Alonso, con el objetivo de llevar a cabo un mapeo de las heterogeneidades sobre su superficie lisa y plana, fueron embebidas en resina poliéster Crystic R115 PA (Resinas Castro, Porriño, España) en el laboratorio de Preparación de Muestras Geológicas de la Facultad de Geología de la Universidad de Oviedo.

Las muestras de azurita y zeunerita, cedidas por aficionados al mundo de la mineralogía, no fueron sometidas a ningún tipo de preparación para no dañar su presencia, por lo que fueron colocadas en la cámara de ablación y analizadas directamente sin tratamiento previo de las mismas.

### Metodología de análisis

La medida de las relaciones isotópicas de plomo en muestras minerales se llevó a cabo mediante el acoplamiento del sistema de ablación CETAC LSX-213 al equipo ICP-MS multicolector Neptune Plus. Al principio de cada sesión, y trabajando a baja resolución, se lleva a cabo la optimización de la señal y de las condiciones experimentales haciendo uso de una disolución patrón tal y como se ha explicado en el apartado C.1.1.2. Tras ello, se desmonta el sistema de introducción de muestra y se coloca a la salida de la antorcha una pieza de cuarzo en forma de Y a la que se acopla por un lado

la cámara de nebulización para la introducción de la disolución de Tl para la corrección de la discriminación de masas, y por la otra salida se coloca el tubo proveniente del sistema de ablación láser para la introducción del aerosol sólido de la muestra, como se ilustra en la Figura D.51. Seguidamente se optimiza el acoplamiento haciendo uso del material de referencia certificado NIST SRM 610 en busca de una máxima sensibilidad para la ablación de los isótopos de plomo.

Una vez optimizadas las condiciones experimentales, se introduce cada muestra por separado en la cámara de ablación y se llevan a cabo los análisis en condiciones de plasma húmedo, nebulizando en continuo por autoaspiración una disolución de talio de composición isotópica certificada a una concentración de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  a lo largo de todo el proceso de ablación.

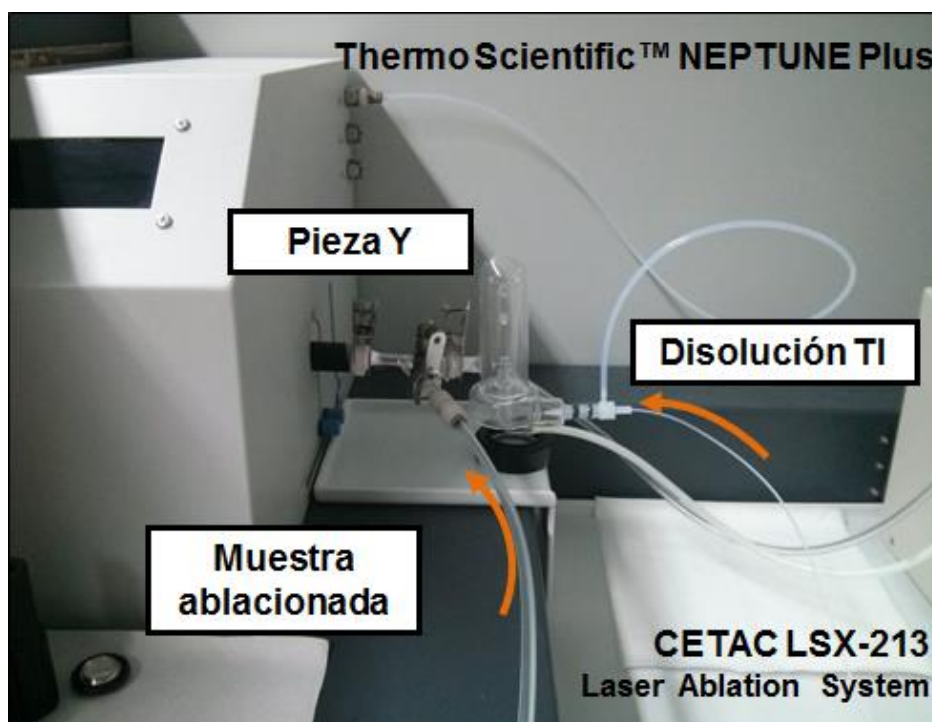


Figura D.51. Acoplamiento sistema de ablación -cámara de nebulización-MC-ICP-MS mediante pieza en Y.

En la Tabla D.23 se muestran las condiciones experimentales para la medida de las relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre:

**Tabla D.23. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre mediante LA-MC-ICP-MS.**

<b>Parámetros instrumentales MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
Potencia RF aplicada	1200 W					
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas portador	0.765 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas auxiliar	0.900 L·min <sup>-1</sup>					
<b>Parámetros de adquisición MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
Tiempo de integración	0.131 s					
Número de ciclos	500 por bloque					
Número de bloques	1					
<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
<sup>202</sup> Hg <sup>+</sup>	<sup>203</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>204</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>205</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>206</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>207</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>208</sup> Pb <sup>+</sup>
		<sup>204</sup> Hg <sup>+</sup>				
<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS CETAC LSX-213</b>						
	<b>Malaquita</b>	<b>Azurita / Zeunerita</b>				
Energía del láser (5.6mJ máx.)	20 %	100 %				
Frecuencia de repetición	10 Hz	20Hz				
Tamaño del haz	100 μm	200 μm				
Disparos ("Bursts")	200	400				
Distancia entre puntos	200 μm					
Velocidad	10 μm·s <sup>-1</sup>					
Flujo de Helio		0.6 L·min <sup>-1</sup>				

Sobre las muestras de malaquita embebidas en resina se llevó a cabo un mapeo de su superficie en modo de ablación de puntos como se indica a continuación:

- Malaquita 1 : dos cuadrículas de 10 puntos x 10 puntos
- Malaquita 2 : una cuadrícula de 8 puntos x 5 puntos ( y puntos aleatoriamente repartidos a lo largo de la superficie)

Igualmente, se realizaron líneas de ablación paralelas a estas cuadrículas bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.23. Por su parte, la ablación de los minerales de azurita y zeunerita se realizó en modo de puntos aleatoriamente a lo largo de la superficie de cada mineral.

El análisis de las muestras se realiza bajo las condiciones previamente expuestas en la Tabla D.23 de manera que según la configuración de copas elegida, el isótopo mayoritario del talio ( $^{205}\text{Tl}$ ) se detecta en la copa central y el resto de las masas se disponen en torno a este centro. Como se puede observar, además de recoger la señal de los cuatro isótopos de plomo a las masas 204, 206, 207 y 208, también se incluyen los dos isótopos de talio a masas 203 y 205 necesarios para la corrección de la discriminación de masas, y el isótopo de mercurio  $^{202}\text{Hg}$  para corregir matemáticamente la contribución de  $^{204}\text{Hg}$  sobre la señal de  $^{204}\text{Pb}$ .

## Corrección de interferencias, cálculo de las relaciones isotópicas de Pb y corrección de la discriminación de masas

Se recogen un total de 500 puntos a lo largo de cada análisis. Generalmente, en torno a los 20 primeros puntos de ablación se deben eliminar ya que corresponden a contaminación superficial. Igualmente, aquellos puntos que saturan el detector, por encima de 49 V, también deben ser eliminados del cálculo.

Para el cálculo de las relaciones isotópicas de plomo, se lleva a cabo inicialmente la **corrección matemática** de la **interferencia espectral** producida por la contribución de la señal de  $^{204}\text{Hg}$  sobre  $^{204}\text{Pb}$ . Para ello se utilizó el valor IUPAC de la relación  $^{204}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ , cuyo valor es 0.22988 [4], de manera que la intensidad de la señal de  $^{204}\text{Pb}$  vendría dada por la siguiente ecuación:

$$I_{204\text{Pb}} = I_{204} - I_{202\text{Hg}} \cdot \frac{^{204}\text{Hg}}{^{202}\text{Hg}}$$

Una vez corregida esta interferencia, las relaciones isotópicas de plomo de interés ( $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ,  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ,  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ ,  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ ) se determinan mediante **regresión lineal** representando la señal obtenida a una masa a lo largo de todo el proceso de análisis frente a la señal obtenida a la otra masa que se desea monitorizar. Esto incluye los primeros segundos antes de la ablación, durante los cuales se recoge solamente la señal de fondo de los gases y la contribución de la disolución de talio nebulizada en continuo; el periodo de ablación de la muestra de aproximadamente 30 segundos de duración; y finalmente el periodo tras la ablación en el que se recoge de nuevo la contribución del fondo y del talio en disolución.

La **corrección de la discriminación de masas** se realiza de manera interna mediante la nebulización en continuo de la disolución de Tl durante todo el proceso de análisis. Con este propósito, se calculó el factor de discriminación de masas utilizando el modelo de Russell tomando como valor real el correspondiente al material de referencia NIST SRM 997 ( $^{203}\text{Tl}/^{205}\text{Tl} = 0.41892$ ), y como valor experimental el calculado mediante regresión lineal a lo largo de todo el proceso de ablación para cada una de las muestras. Una vez calculado este factor  $f$  se aplica a la corrección de las relaciones isotópicas de plomo experimentales haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot \left( \frac{m_1}{m_2} \right)^f$$

Donde  $R_{\text{corr}}$  es la relación isotópica corregida,  $R_{\text{exp}}$  es la relación isotópica observada experimentalmente mediante regresión lineal,  $m_1$  y  $m_2$  las masas de los isótopos considerados y  $f$  el factor de discriminación de masas.

Finalmente, se lleva a cabo un estudio de los residuales de la regresión lineal de los isótopos de plomo con el fin de detectar la presencia de varios tipos de plomo. También, la evaluación de los residuales de la regresión lineal de los isótopos de talio permite detectar posibles cambios en la discriminación de masas durante el proceso de ablación.

## Resultados

A continuación se resumirán los aspectos más relevantes observados tras el análisis de los minerales de malaquita, zeunerita y azurita de la Mina La Profunda. Las relaciones isotópicas obtenidas y sobre las cuales se apoyan los siguientes resultados se recogen en el Anexo I.

### Perfil de las señales

Como cabría esperar, la señal del  $^{208}\text{Pb}$  debería ser la más intensa debido a que es el isótopo más abundante del plomo en la naturaleza. Sin embargo, durante la ablación de estas muestras se observó que la señal predominante era la de  $^{206}\text{Pb}$ , indicativo del fuerte carácter radiogénico de estos minerales. Muestra de ello son los dos perfiles de ablación que se presentan como ejemplo en las Figura D.52 y Figura D.53.

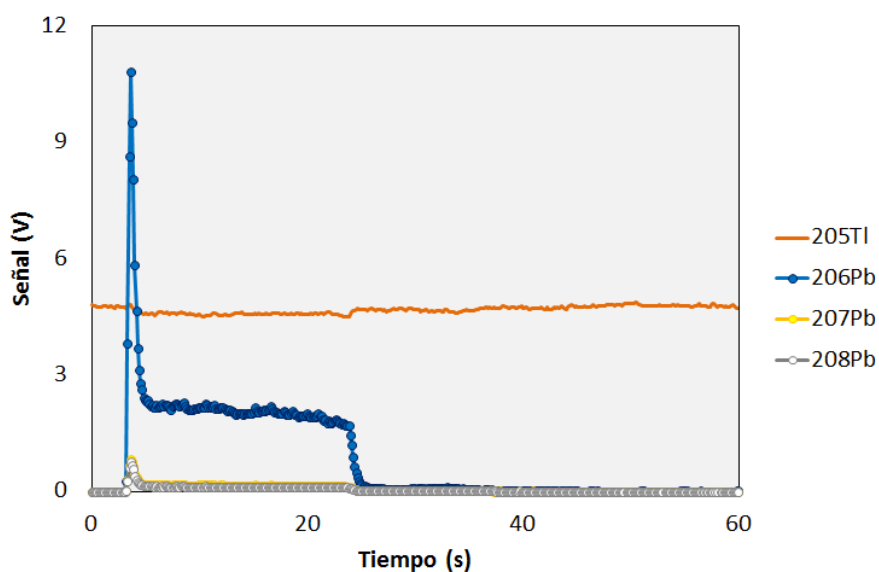
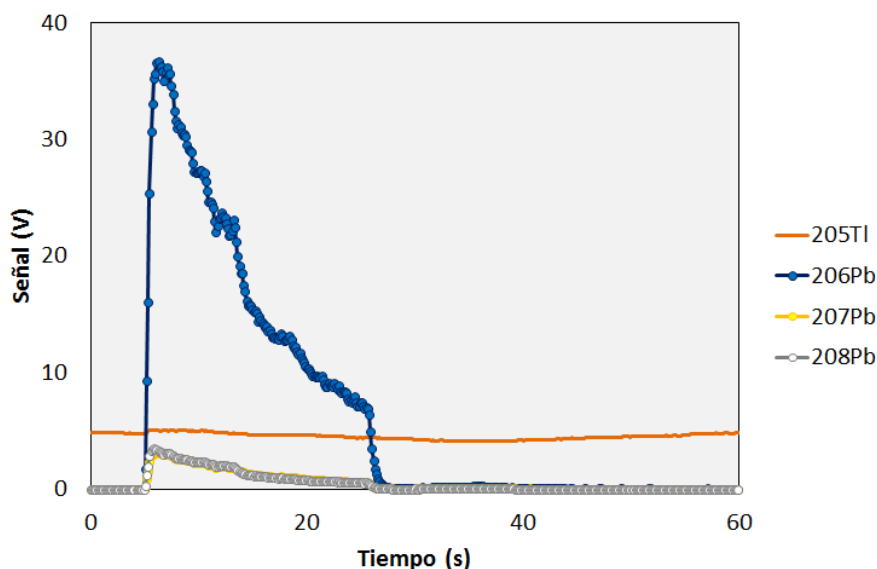


Figura D.52. Perfil de ablación del punto M1-Z1-84 (malaquita).



**Figura D.53. Perfil de ablación del spot M1-Z1-66 (malaquita).**

Como se puede observar, la señal correspondiente al isótopo  $^{206}\text{Pb}$  se eleva muy por encima de las de  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}$ , que se mantienen con una intensidad similar. En algunos casos la intensidad de señal de  $^{206}\text{Pb}$  rozó los 50 V, lo que refleja una intensa huella de plomo radiogénico. La señal naranja de  $^{205}\text{Tl}$  indica el flujo de la disolución de Tl de  $100\ (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$  nebulizada en continuo a lo largo de todo el proceso de análisis.

Las mayores intensidades de la señal  $^{206}\text{Pb}$  fueron las obtenidas en la ablación de las muestras de malaquita, seguidas de los minerales de zeunerita y azurita, respectivamente.

Como ya se ha indicado anteriormente, los valores por encima de 49 V fueron excluidos para el cálculo de las relaciones isotópicas, al igual que los 20 primeros puntos de ablación del mineral, que suponen una subida muy abrupta de la intensidad de señal desde su nivel de fondo y que se adscribe a contaminación superficial de la muestra.



## Existencia de dos componentes en la huella isotópica de plomo

Durante el cálculo de las relaciones isotópicas de plomo se observó un fenómeno singular: la existencia de dos componentes casi “iguales” pero ligeramente diferentes en la huella isotópica de plomo. Es de esperar que el cálculo de las relaciones isotópicas a través de la representación de las intensidades de señal de los isótopos de interés dos a dos, genere una recta alrededor de la cual se distribuyan los puntos uniformemente y de cuya pendiente se extraiga el valor de la relación isotópica. Sin embargo, durante el cálculo de las relaciones isotópicas de plomo en estas muestras se observaron ciertas desviaciones con respecto a esta recta de regresión, revelando así la existencia de al menos dos componentes que contribuyen a la huella isotópica de plomo, y cuya presencia se confirmó a través del estudio de los errores residuales. Los dos perfiles de ablación anteriormente expuestos nos sirven como ejemplo para explicar el procedimiento de cálculo utilizado.

Si consideramos el punto M1-Z1-84 y eliminamos los primeros 20 puntos de ablación su perfil quedaría tal y como se ilustra en la Figura D.54.

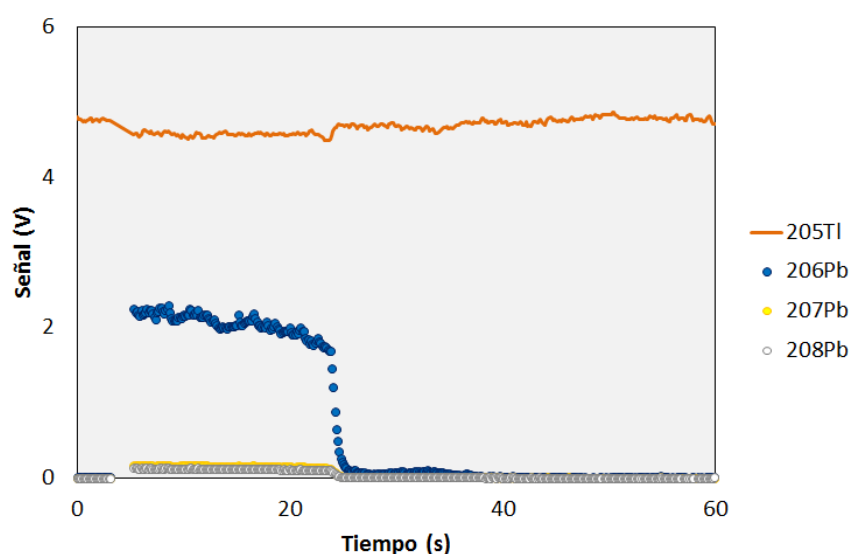


Figura D.54. Perfil del spot M1-Z1-84 tras eliminar los primeros 20 puntos.

A partir de estos datos se calculan las relaciones  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  enfrentando las intensidades de señal de  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}$  con  $^{206}\text{Pb}$ , como se muestran en las Figuras Figura D.55 y Figura D.56.

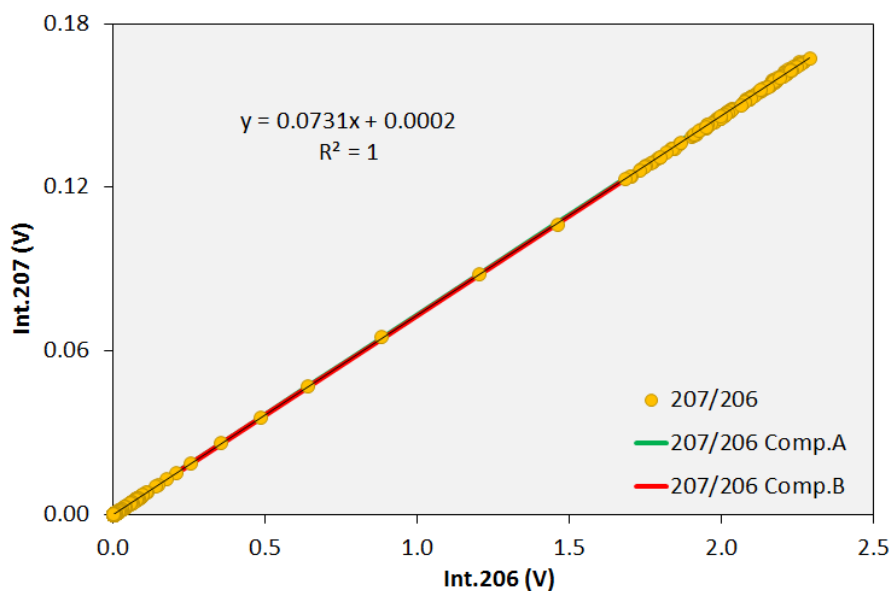


Figura D.55. Representación  $^{207}\text{Pb}$  frente a  $^{206}\text{Pb}$  del spot M1-Z1-84.

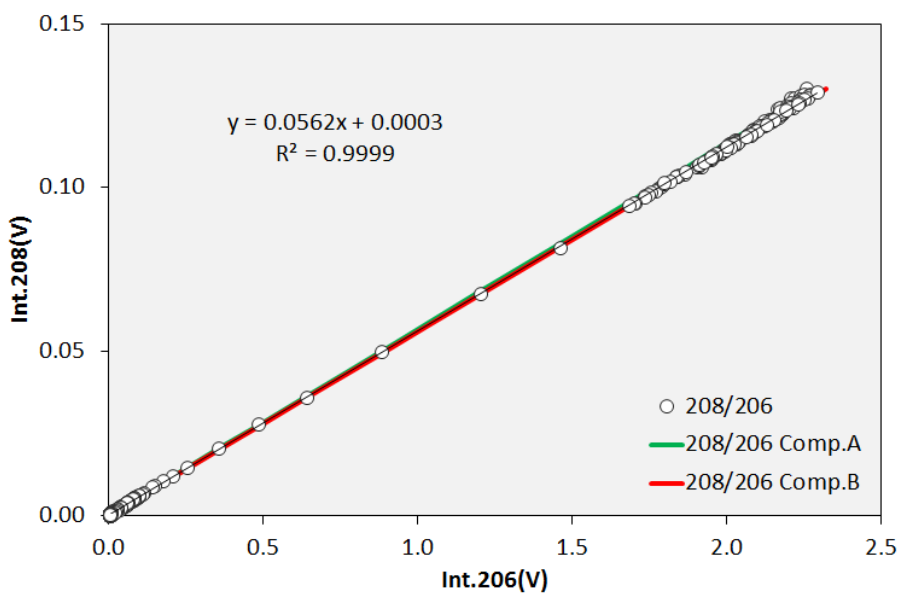


Figura D.56. Representación  $^{208}\text{Pb}$  frente a  $^{206}\text{Pb}$  del spot M1-Z1-84.

Según se observa en las representaciones gráficas de las Figura D.55 y Figura D.56 existe una buena relación lineal entre las señales a masa 206 y las señales a las masas 207 y 208 respectivamente. La pendiente de dichas representaciones se corresponde con las relaciones isotópicas  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  respectivamente (antes de corregir por discriminación de masas). Para confirmar la existencia de un solo tipo de plomo en la muestra ablacionada se calculan los residuales para las señales a masas 207 y 208 de las dos líneas de regresión mostradas en las Figura D.55 y Figura D.56 y se representan unos frente a los otros para todos los datos obtenidos. Dicha representación se ilustra en la Figura D.57.

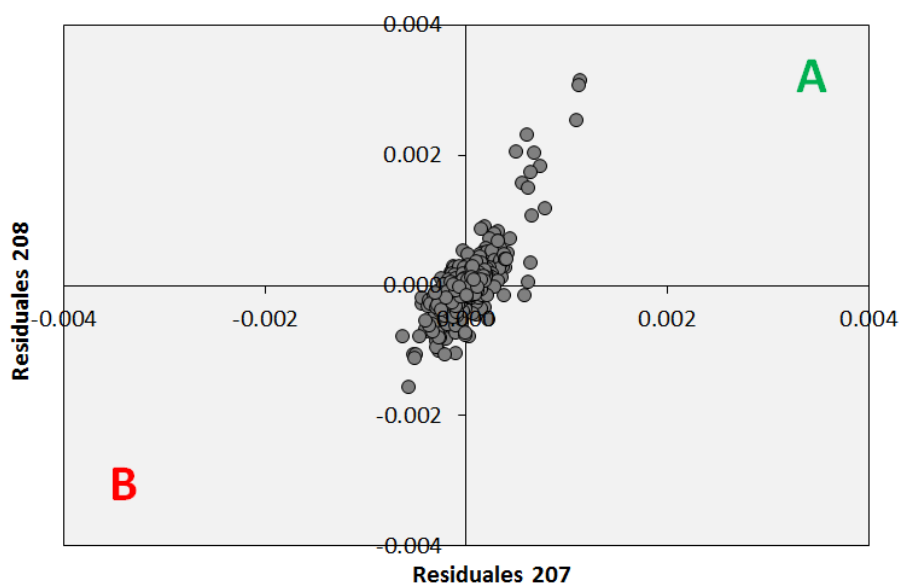
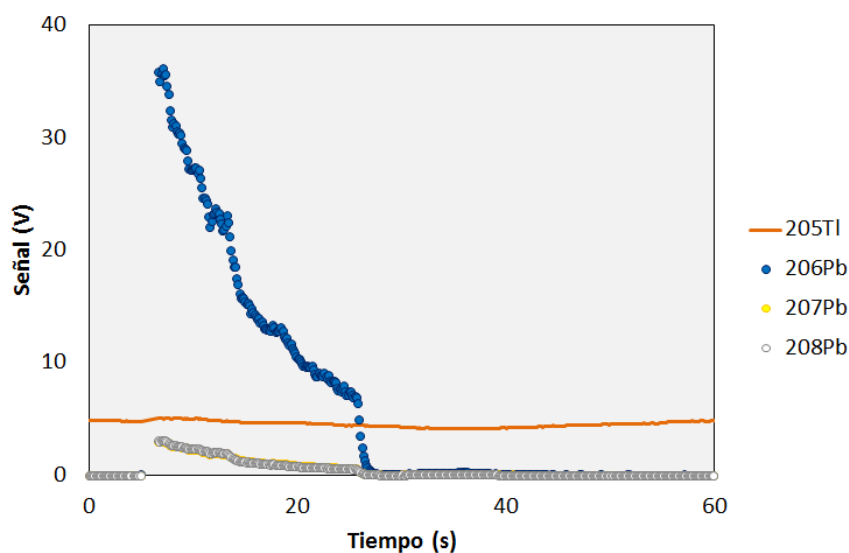


Figura D.57. Residuales de 207 y 208 para el spot M1-Z1-84.

Como se puede observar, los residuales se distribuyen aleatoriamente en torno al origen de coordenadas con errores inferiores a los 0.002 voltios en la mayoría de los casos. Este comportamiento aleatorio de los residuales parece indicar la presencia de una única componente en la huella isotópica de plomo.

A diferencia de lo que ocurre con el spot M1-Z1-84, las relaciones isotópicas observadas para el spot M1-Z1-66 tienen un comportamiento diferente. Al igual que hicimos anteriormente se eliminaron los primeros 20 puntos de ablación, dejando un perfil como el que se recoge en la Figura D.58.



**Figura D.58. Perfil del spot M1-Z1-66 tras eliminar los primeros 20 puntos.**

Enfrentando las intensidades de señal de  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}$  con  $^{206}\text{Pb}$  se obtuvieron las representaciones gráficas que se muestran en las Figuras Figura D.59 y Figura D.60, respectivamente.

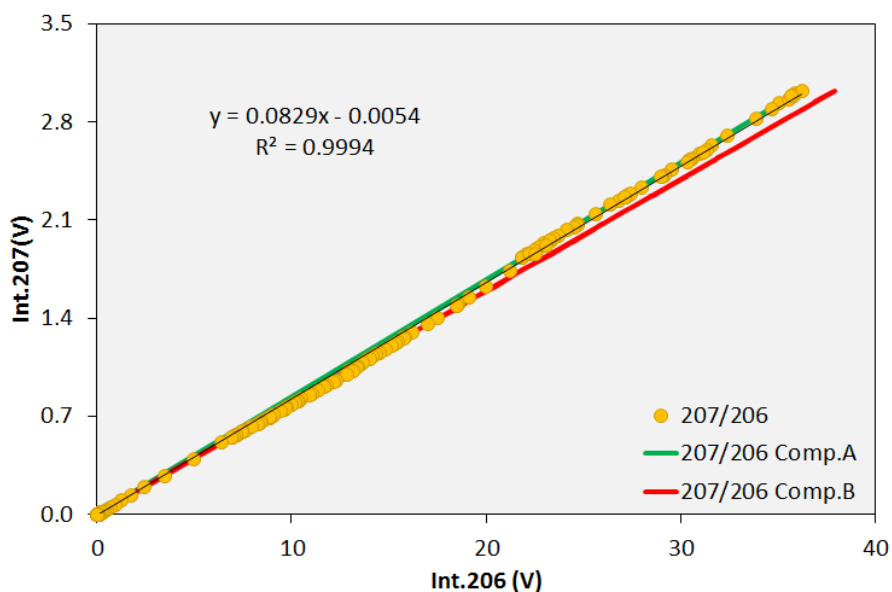


Figura D.59. Representación  $^{207}\text{Pb}$  frente a  $^{206}\text{Pb}$  del spot M1-Z1-66.

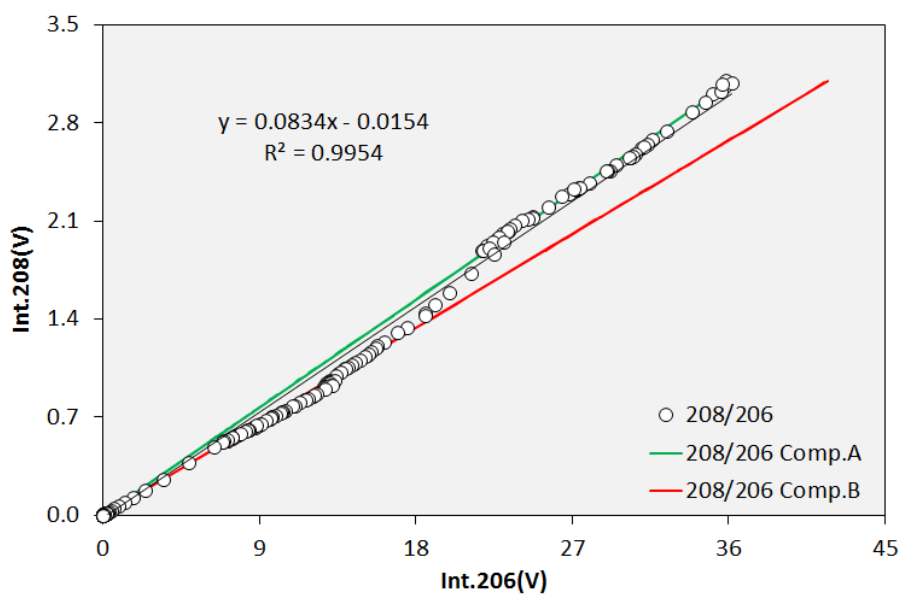


Figura D.60. Representación  $^{208}\text{Pb}$  frente a  $^{206}\text{Pb}$  del spot M1-Z1-66.

Como se puede observar, ahora existen grandes desviaciones con respecto a la recta de regresión indicada con la línea negra en ambas gráficas. Los datos parecen distribuirse en torno a dos rectas cercanas pero de pendiente ligeramente diferente,

indicativo de la posible presencia de dos tipos distintos de plomo en el punto ablacionado.

El estudio de los residuales se muestra en la Figura D.61. A diferencia de lo que ocurría para el spot M1-Z1-84, la distribución de los errores residuales no se produce de forma aleatoria en torno al origen de coordenadas, sino que presenta una tendencia diferente: los residuales se disponen de manera ordenada entre los cuadrantes 1 y 3, y su magnitud es muy superior al caso anterior. Esta distribución es característica de la presencia de dos tipos de plomo distintos en el punto de ablación. Como se advierte en la Figura D.61 existe una correlación clara entre los valores de los residuales. Se decidió clasificar los puntos en función del tipo de plomo considerado: tipo A o tipo B. Para que un plomo esté considerado dentro del tipo A los residuales deben ser positivos para ambas masas ( $^{207}\text{Pb} > 0$  y  $^{208}\text{Pb} > 0$ ), mientras que el plomo tipo B viene definido por valores negativos de los residuales ( $^{207}\text{Pb} < 0$  y  $^{208}\text{Pb} < 0$ ). Una vez clasificados los puntos en función del tipo de plomo se volvió a realizar la representación lineal de las señales y se calcularon las pendientes de las dos nuevas representaciones. En las Figuras D.54, D.55, D.58 y D.59 las líneas de regresión de color verde se corresponden con el plomo tipo A mientras que las líneas de regresión de color rojo se corresponden con el plomo tipo B. La práctica totalidad de los spots realizados sobre los minerales de malaquita, zeunerita y azurita presentaron una huella isotópica de plomo combinación de estas dos componentes A y B que se calcularon independientemente.

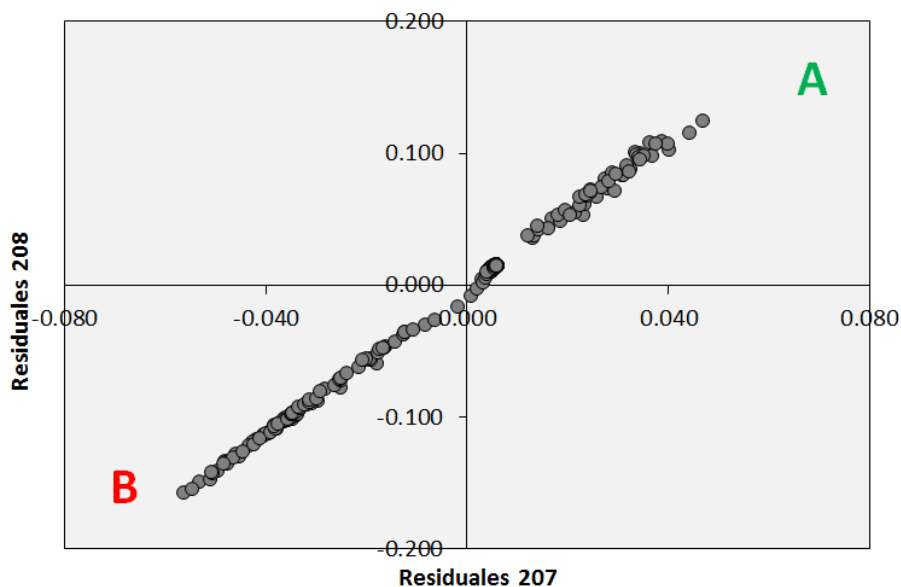
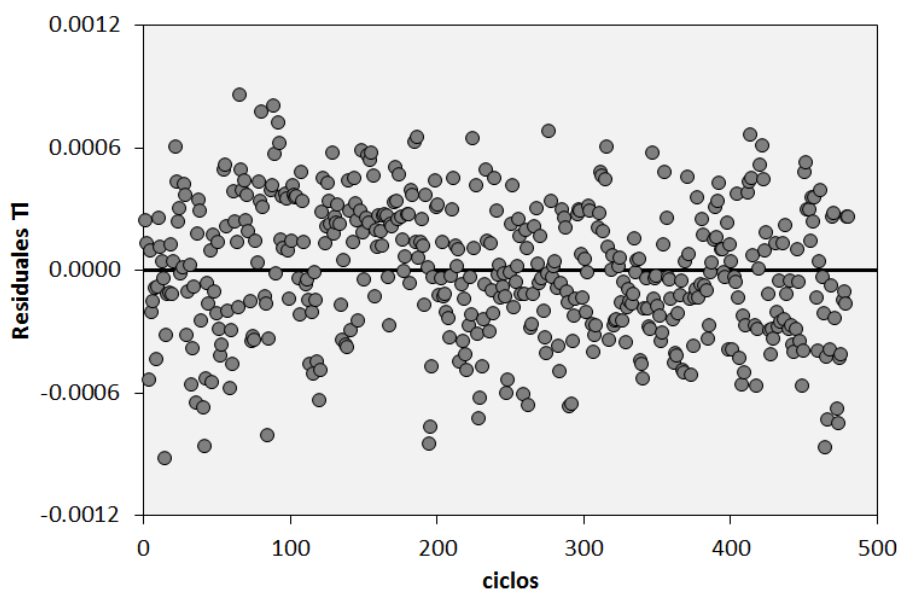


Figura D.61. Residuales de 207 y 208 para el spot M1-Z1-66.

## Corrección de la discriminación de masas a través del talio

El talio es el elemento elegido tradicionalmente para llevar a cabo la corrección interna de la discriminación de masas en las relaciones isotópicas de plomo, y en este caso fue introducido en el plasma a través de la nebulización en continuo de una disolución patrón. La relación isotópica de talio ( $^{203}\text{Tl}/^{205}\text{Tl}$ ) se midió de forma análoga al plomo representando las señales medidas para la masa 203 en el eje y y la señal medida para la masa 205 en el eje x. La pendiente de esta representación se corresponde con la relación isotópica medida. Este modo de medida de la relación isotópica del talio nos permite utilizar los residuales de la línea de regresión para estudiar cambios en la discriminación de masa entre el proceso de ablación y los periodos en los que el láser está apagado.

Los errores residuales del talio en las muestras de malaquita y azurita siguieron una distribución totalmente aleatoria, lo que indica que no hubo cambio en la discriminación de masas a lo largo de todo el análisis, como se muestra en la Figura D.62 para una de las muestras medidas.



**Figura D.62. Perfil de los errores residuales en muestras de malaquita y azurita.**

Sin embargo, los errores residuales de talio durante el análisis de las muestras de zeunerita presentaron una curiosa distribución como se muestra en la Figura D.63. A la vista de la variación de los residuales entre el pulso de ablación y el resto del análisis, se puede inferir que sí hay cambio en la discriminación de masas cuando el aerosol de la muestra sólida entra en el plasma. Este efecto se puede atribuir a la presencia de una alta concentración de uranio en la zeunerita. La presencia del uranio, elemento más pesado de la tabla periódica, puede cambiar las condiciones del plasma e influir por tanto en la discriminación de masas. Por tanto, para la corrección de la discriminación de masas del plomo en las muestras de zeunerita se utilizaron únicamente las señales de talio durante el proceso de ablación mientras que para las muestras de azurita y malaquita se utilizaron todos los datos medidos.



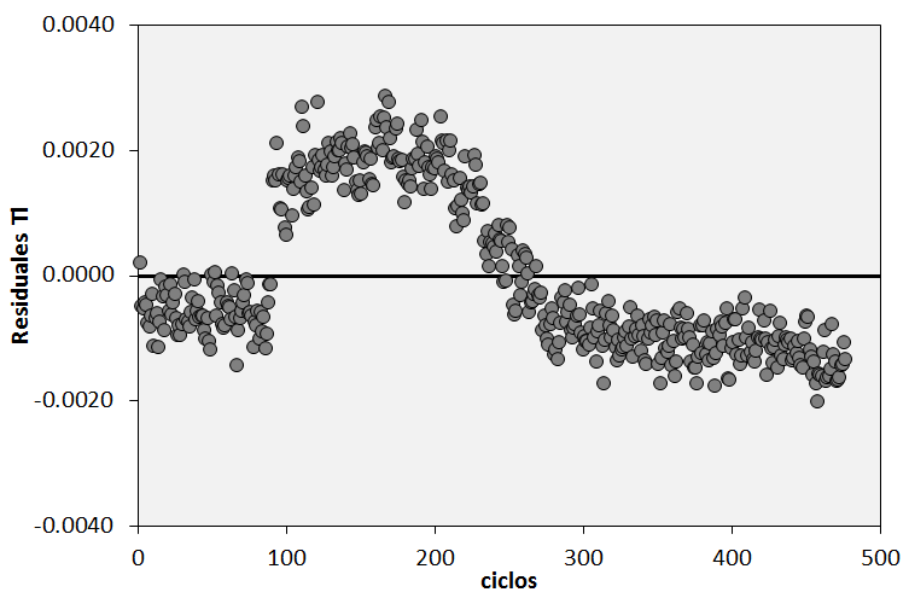


Figura D.63. Perfil de los errores residuales en la muestra de zeunerita.

## Heterogeneidad de las muestras

A diferencia de los análisis en disolución el empleo de la ablación láser permite el mapeo de la superficie de los minerales para su caracterización. En el presente trabajo la muestra M1, embebida en resina, fue sometida a análisis por microsonda electrónica (SEM) previamente a su análisis por LA-MC-ICP-MS. Los resultados del análisis por microsonda electrónica permitieron conocer la distribución de elementos tales como el hierro, cobre, plomo y uranio, suponiendo así un buen punto de partida para su comparación con las relaciones isotópicas de plomo obtenidas mediante LA-MC-ICP-MS.

Aunque la mayor parte de los spots ablacionados presentaron una huella isotópica de plomo constituida por dos componentes, los mapas de relaciones isotópicas de plomo se realizaron tomando el valor promedio de las componentes A y B.

En la Figura D.64 se muestra la malaquita M1 embebida en resina epoxi. En un cuadrado amarillo se destaca la zona sometida a análisis mediante SEM con una superficie de 25 mm<sup>2</sup>, y sobre la que posteriormente se llevó a cabo la ablación. Este cuadrado fue a su vez dividido en dos zonas de ablación, zona 1 (Z1) y zona 2 (Z2), compuestas por sendas cuadrículas de 10 x 10 spots y 2 mm x 2 mm (Figura D.65).

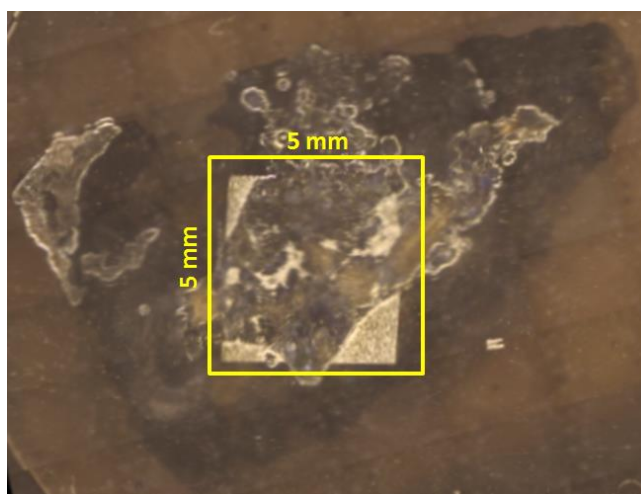


Figura D.64. Malaquita M1 embebida en resina epoxi tras su análisis por SEM.

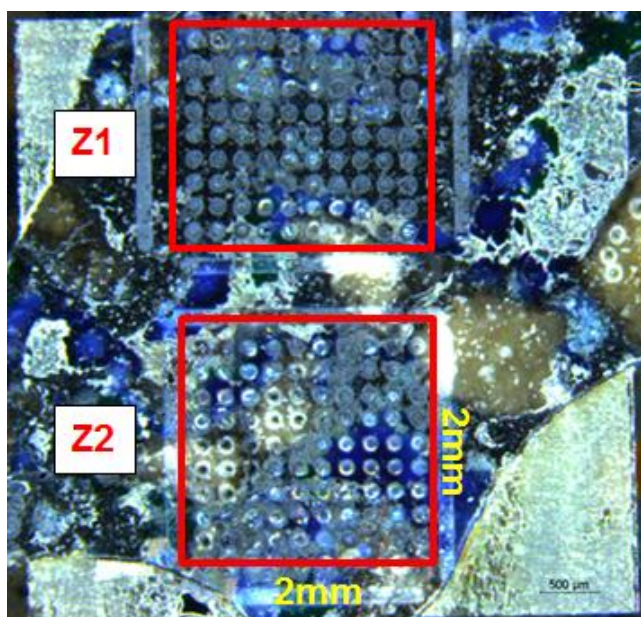
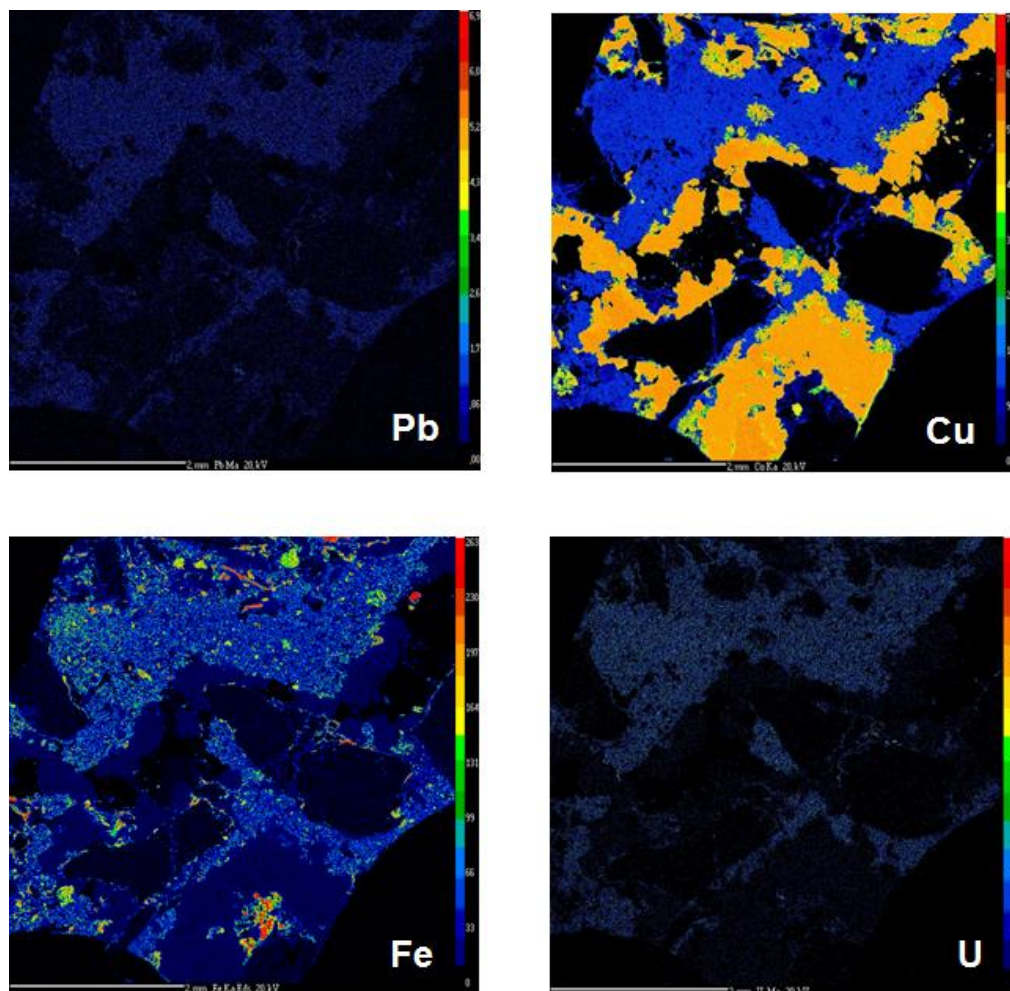


Figura D.65. Zonas de ablación Z1 y Z2 de la malaquita M1.

La distribución elemental de plomo, hierro, cobre y uranio obtenida mediante SEM de la cuadrícula de 5 mm x 5 mm se muestra en la Figura D.66.



**Figura D.66. Distribución espacial de Pb, Cu, Fe y U en la malaquita M1.**

La distribución de plomo y uranio parece seguir el mismo patrón: las zonas ricas en plomo se corresponden con aquellas más ricas en uranio, y una distribución similar parece tener el hierro. Contrariamente el cobre, elemento mayoritario, se acumula preferencialmente en las zonas más libres de plomo y uranio. La distribución de Pb, Fe, Cu, U y de la huella isotópica de plomo para las zonas Z1 y Z2 se muestra en las Figura D.67 y Figura D.68.



• Mapeo Zona 1

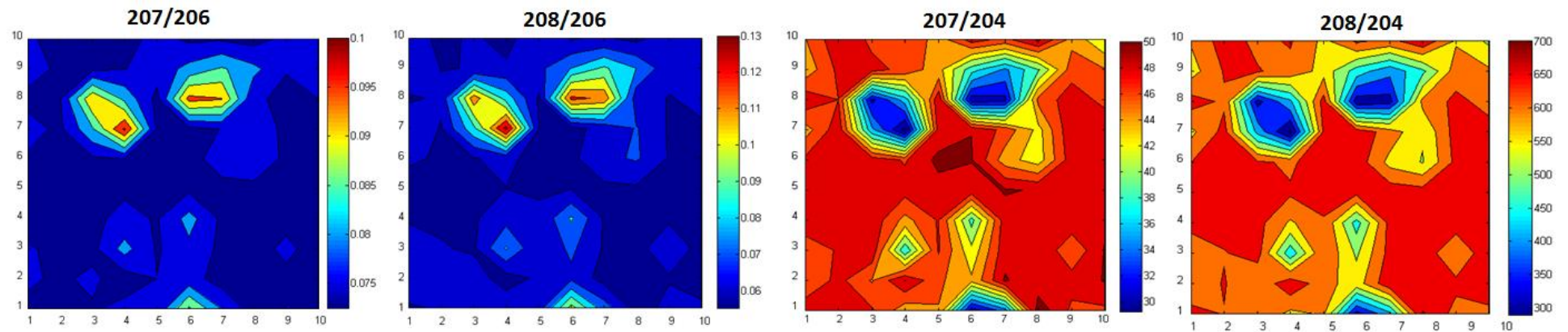
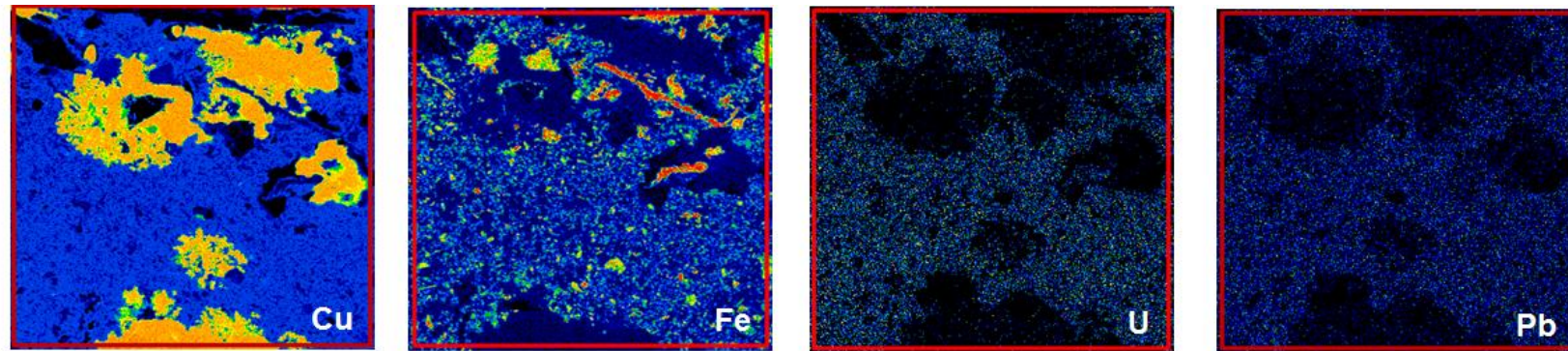


Figura D.67. Distribución de Pb, Fe, Cu y U mediante SEM y distribución de la huella isotópica de plomo en la Zona 1 mediante LA-MC-ICP-MS.

• Mapeo Zona 2

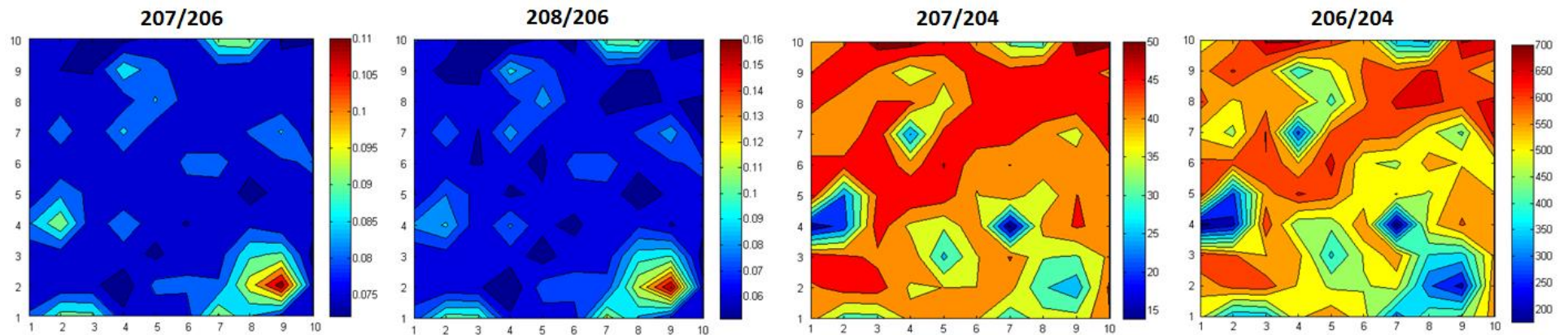
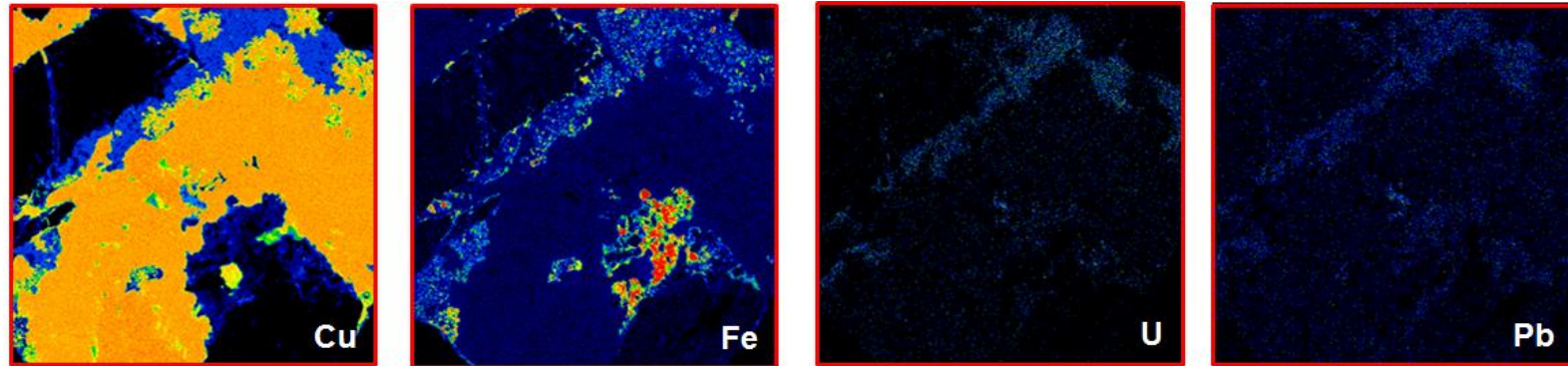


Figura D.68. Distribución de Pb, Fe, Cu y U mediante SEM y distribución de la huella isotópica de plomo en la Zona 2 mediante LA-MC-ICP-MS.

Los mapas de distribución de las relaciones isotópicas de plomo en estas muestras fueron obtenidos mediante el programa informático MATLAB®.

A la vista de las anteriores imágenes queda patente la fuerte huella radiogénica del plomo en este mineral. Si consideramos las relaciones  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , cuyos valores según las abundancias naturales se encuentran en torno a 0.9 y 2.17 respectivamente, los resultados obtenidos son sorprendentes. Los valores de la relación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  en estas dos zonas de ablación se encuentran en un rango entre 0.075 y 0.110, mientras que los valores de la relación  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  varían en torno a 0.06 y 0.16. Estos valores tan sumamente bajos evidencian el fuerte carácter radiogénico del plomo presente en la malaquita.

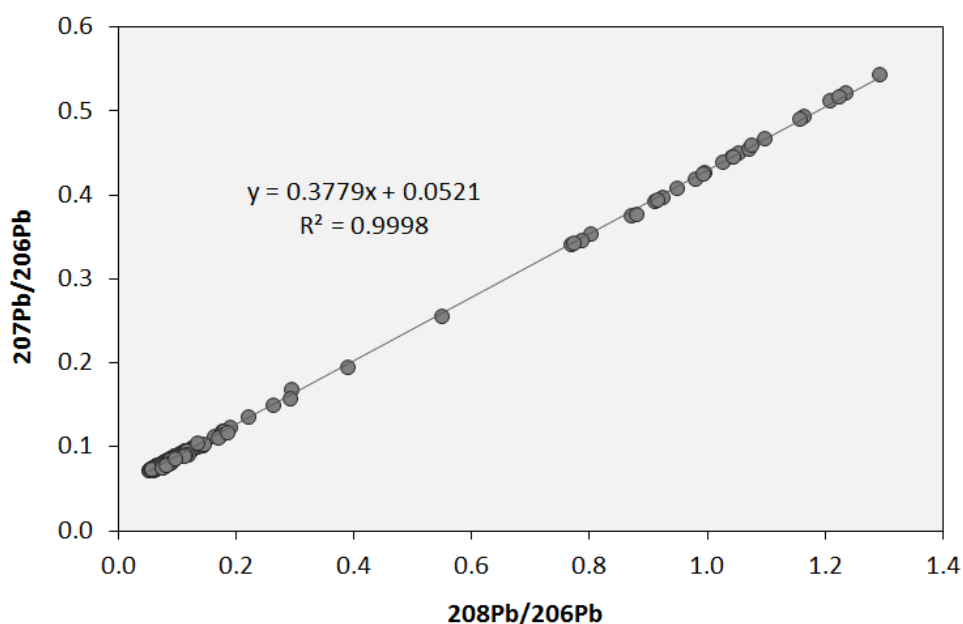
Esta huella también deja su marca en las relaciones  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ . El carácter tan marcadamente radiogénico del plomo hace que estas relaciones, con valores naturales en torno a 15.5 y 16.9 respectivamente, se eleven hasta valores entre 15 y 50 para la relación  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ , y entre 200 y 700 para la relación  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ .

Cabe destacar que las zonas pobres en cobre además de caracterizarse por ser aquellas con una mayor presencia de plomo y uranio, son las que presentan las relaciones isotópicas más radiogénicas, lo que parece lógico por coincidir con las zonas más ricas en uranio.

## Estudios de procedencia y datación

Es de sobra conocido el potencial de la huella isotópica de plomo en estudios de procedencia, por lo que las relaciones isotópicas halladas experimentalmente mediante LA-MC-ICP-MS en los minerales de malaquita, zeunerita y azurita procedentes de la Mina de la Profunda, sirvieron también para confirmar la procedencia de estas muestras por referencia a los valores tabulados que caracterizan esta mina [246].

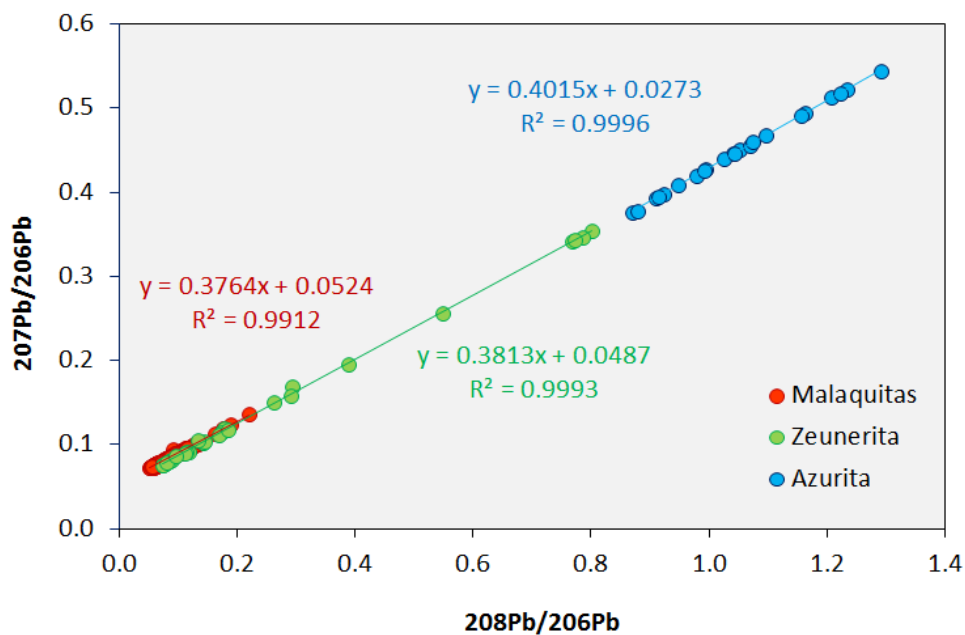
En la Figura D.69 se representa el valor de la relación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  para todos los datos obtenidos tras la ablación de los tres minerales.



**Figura D.69. Representación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  para todos los puntos ablacionados en los tres minerales.**

Parece que todos los valores se alinean perfectamente en torno a la misma recta de regresión, lo que podría indicar una misma procedencia. Si descomponemos esta recta en función de los diferentes minerales obtenemos la representación de la Figura D.70.



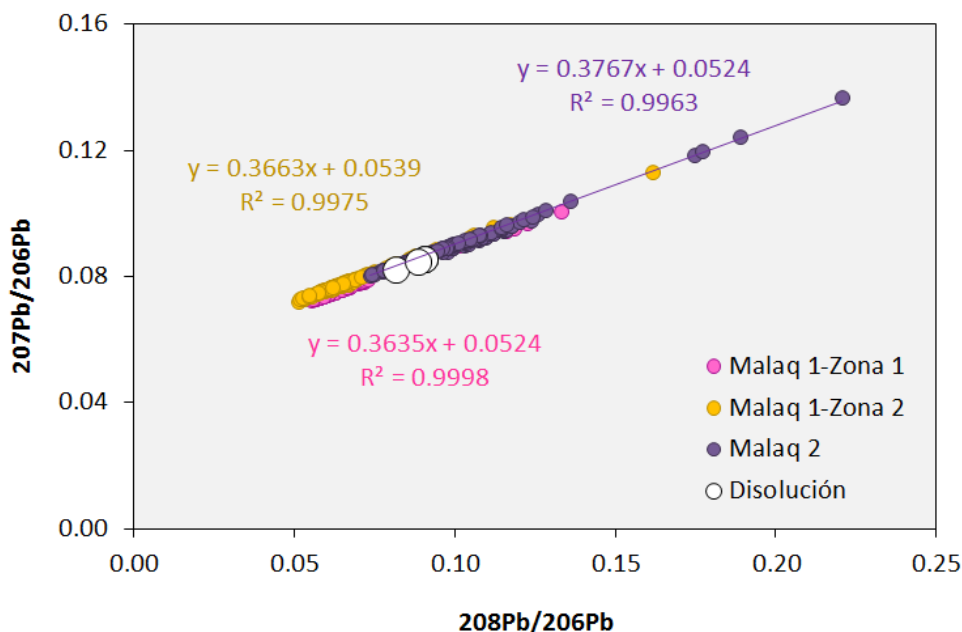


**Figura D.70. Representación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  en función de cada tipo de mineral.**

Según se puede observar en la Figura D.70 existe un amplio intervalo de valores de las relaciones isotópicas de plomo en estos minerales, característica típica de yacimientos en los que hay una fuerte presencia de uranio. El plomo presente en la muestra de azurita es el que presenta una huella menos radiogénica, en contraposición con lo que ocurre con las malaquitas. La composición isotópica del plomo presente en la zeunerita parece estar entremedias de ambos minerales, aunque también con un fuerte carácter radiogénico.

Resulta sorprendente una huella tan radiogénica en el plomo de las malaquitas, aunque esta característica ya se había denotado durante análisis previos en disolución [254]. Los valores obtenidos fueron de 0.08 para  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , de 0.09 para  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , 37 para  $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  y de en torno a 425-470 para  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ . Notablemente radiogénicas todas estas relaciones, su valores se encuentran en los intervalos de variabilidad obtenidos tras el análisis por ablación láser ICP-MS, como se muestra en la Figura D.71.

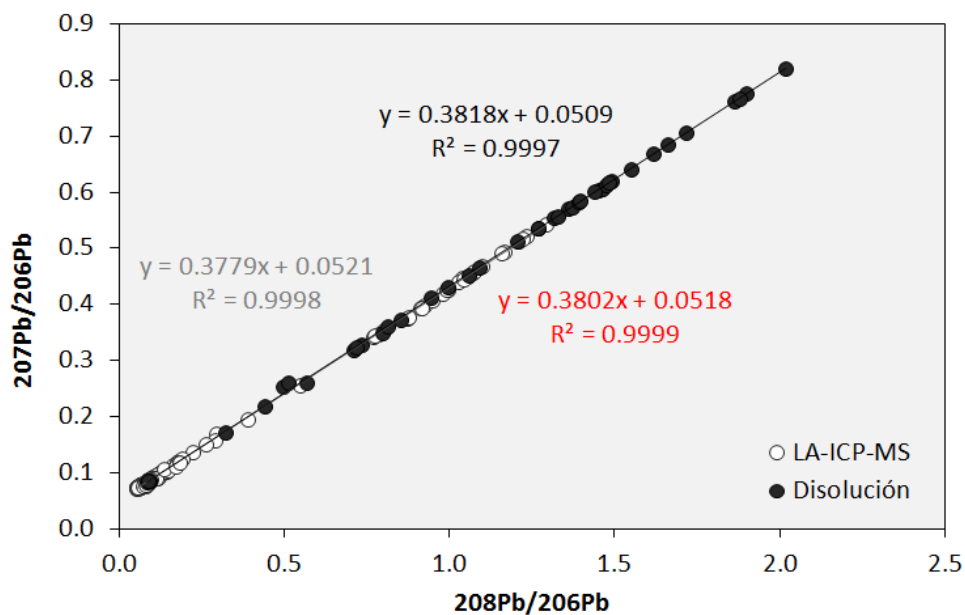




**Figura D.71. Representación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  de las malaquitas tras análisis en disolución y por LA-MC-ICP-MS.**

El empleo de la ablación láser para el análisis directo de estas muestras permite focalizar el haz con gran precisión sobre los diminutos cristales del mineral, a diferencia de lo que ocurre en el análisis en disolución, en el que se suelen analizar estos pequeños cristales junto con parte de la matriz circundante.

La representación conjunta de los valores obtenidos por ablación láser ICP-MS y por disolución se muestra en la Figura D.72, y según se puede observar, las relaciones isotópicas obtenidas mediante análisis en disolución y mediante LA-MC-ICP-MS parecen alinearse perfectamente en torno a la misma recta, corroborando así la viabilidad del empleo de la ablación láser ICP-MS como metodología alternativa y fiable al análisis en disolución.



**Figura D.72. Representación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  en muestras de malaquita, zeunerita y azurita obtenidas tras análisis en disolución [246] y mediante LA-MC-ICP-MS.**

De la misma manera que las relaciones isotópicas con respecto a  $^{206}\text{Pb}$  son una buena herramienta para estudios de procedencia y dejan entrever el carácter radiogénico de nuestras muestras, la evaluación de las abundancias de  $^{207}\text{Pb}$  y  $^{206}\text{Pb}$  frente a la huella invariable de  $^{204}\text{Pb}$  es útil para estimar la edad de los minerales en cuestión.

## Conclusiones

La llamativa huella isotópica de plomo de la Mina La Profunda (Cármenes, León) se ha puesto de manifiesto a través del análisis mediante ablación láser acoplada a espectrometría de masas de muestras de malaquita, azurita y zeunerita extraídas de la misma. El uso de esta técnica facilitó la medida rápida y precisa de las relaciones isotópicas de plomo en dichas muestras sin provocar modificaciones apreciables en el aspecto exterior de dichos minerales y generando resultados concordantes con los previamente obtenidos mediante análisis en disolución [246] pero acortando considerablemente los tiempos de preparación y análisis de muestra. El empleo de LA-MC-ICP-MS permitió revelar el carácter dual de la huella isotópica de plomo en estas muestras, manifestando de nuevo la notable singularidad de este yacimiento.



**Figura D.73. Sierra de los Currilliles en las proximidades del municipio de Cármenes (León).**



## II. Estudios de procedencia de artefactos arqueológicos de cobre del oriente de Asturias

Asturias, región minera.

Durante la Edad del Bronce, la amplia explotación de las minas de cobre asturianas y la expansión del laboreo metalúrgico facilitaron el desarrollo de sociedades cada vez más complejas en la cornisa cantábrica. Es entonces cuando Asturias comienza a forjar su futuro como una importante región minera, poniendo el primer granito de arena de lo que llegaría a ser el motor económico de esta comunidad siglos después durante la industrialización. El Principado de Asturias cuenta con numerosos yacimientos arqueológicos, en forma de castros, cuevas, minas y excavaciones que dan fe de la amplia actividad minera de la región a través de herramientas variadas, pinturas y grabados, entre otros. Cada una de estas piezas supone un archivo histórico de incalculable valor reflejo de un pasado lleno de riquezas y amplia diversidad cultural.



## Muestras en estudio: origen y tipología

Dada la extensa actividad minero-metalúrgica de las comarcas asturiano-leonesas allá por los albores de la edad de los metales, es lógico pensar que gran parte de esa producción pueda estar todavía escondida por toda la geografía de esta región. Un paseo por estos lugares, además de para contemplar sus maravillosos paisajes podría convertirse sin quererlo, en el descubrimiento extraordinario de pequeños tesorillos compuestos de piezas arqueológicas de incalculable valor histórico, como monedas, hachas, lingotes o todo tipo de utillaje antiguo, permitiéndonos así aportar nuestro pequeño granito de arena al estudio de las actividades y costumbres de los antiguos pobladores de nuestra comarca.

El conjunto de muestras a analizar fue suministrado por el profesor Miguel Ángel de Blas Cortina del departamento de Historia de la Universidad de Oviedo. Consta de un total de 27 muestras en polvo provenientes de artefactos arqueológicos de cobre procedentes de cuatro depósitos situados en el oriente de la comunidad asturiana, como se muestra a continuación.

- Depósito de Gamonedo (Onís): 14 piezas (hacha, lingotes, piezas informes).
- Depósito de Asiego (Cabrales): 11 piezas (hachas).
- Cueva del Cuélebre (Corao, Cangas de Onís): 1 pieza (puñalito de lengüeta).
- Depósito de Gueraño (Llano de Con, Onís). 1 pieza (hacha plana).

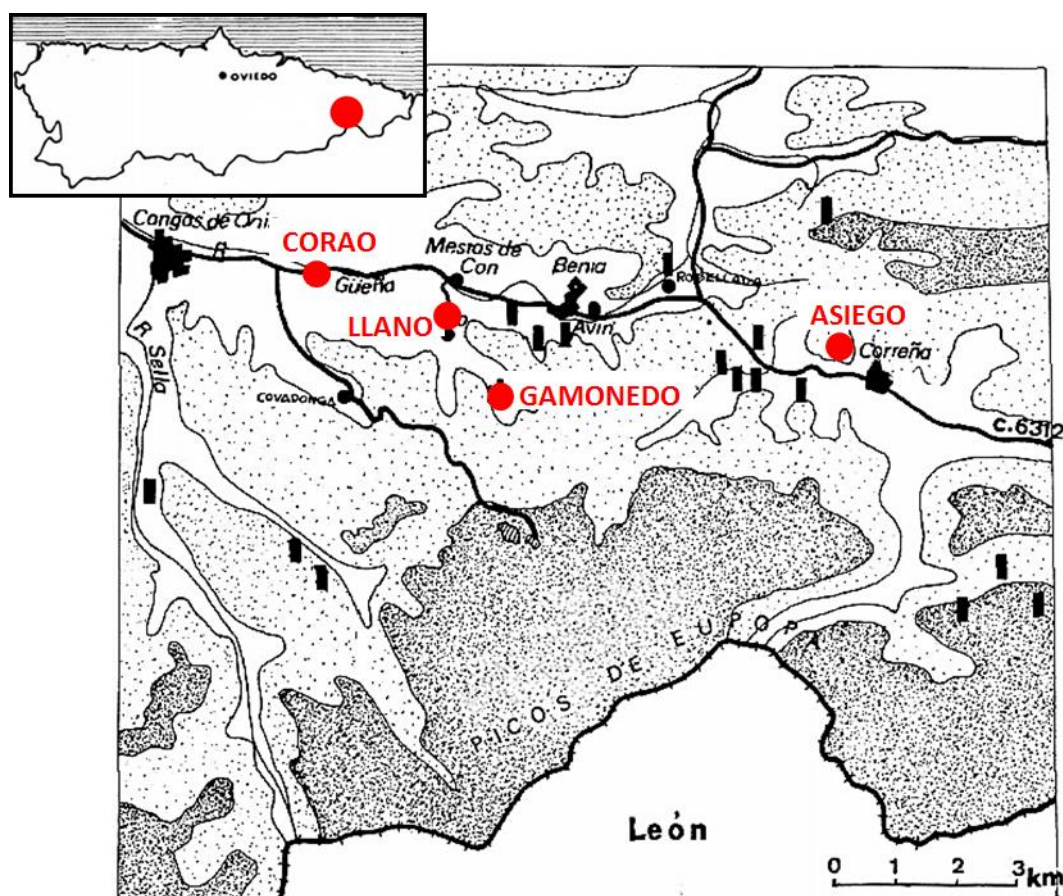


Figura D.74. Localización de los depósitos asturianos de Asiego, Gamonedo, Cueva del Cuélebre y Gueraño [255].

En la Figura D.74, además de situar los cuatro depósitos asturianos en estudio, se resaltan con un pequeño rectángulo negro los afloramientos cupríferos, que como se puede observar son múltiples en esta región cercana a los Picos de Europa. Geográficamente, este territorio se integra en la cuenca carbonífera denominada Gamonedo-Cabrales-Panes, extendiéndose en sentido E-O en contacto con calizas de montaña. Desde el punto de vista geológico, las explotaciones mineras de carbón y cobre cobran importancia. Éste último se presenta generalmente en forma de coladas cupríferas acumuladas en depósitos mesozoicos o incluso terciarios. Estas mineralizaciones no son regulares y su heterogeneidad se manifiesta al aparecer ligadas a piritas ( $\text{FeS}_2$ ) y galenas ( $\text{PbS}$ ) [255]. Dentro de esta región, la mina más conocida es la denominada El Milagro, abierta sobre el río Güeña a unos dos



kilómetros de Mestas de Con, que fue una mina muy explotada durante la Edad del Bronce.

- **Depósito de Gamonedo**

El tesorillo del depósito de Gamonedo fue descubierto de manera casual e inesperada en 1976, cuando D. Atilano Gutiérrez de Gamonedo fue a reparar un talud en el que se había producido un deslizamiento de tierras. Allí encontró una piedra rectangular que protegía un amontonamiento de piezas metálicas cuidadosamente asentadas unas sobre las otras y acompañadas, tanto por encima como por debajo del conjunto, de varios fragmentos cerámicos parecidos a trozos de tejas. La forma de ocultación consistente en un hoyo protegido por una laja de piedra es común a otros hallazgos similares de la Edad del Bronce, atribuyéndole entonces un carácter totalmente intencional a esta ocultación, probablemente introducida en un medio ajeno para dificultar así su descubrimiento [255].

Este tesorillo está compuesto de un total de 14 elementos: un hacha plana, diez lingotes o tortas de fundición y tres fragmentos metálicos informes, como se puede ver en la Figura D.75. La mayor parte de los artefactos que componen este tesorillo está compuesta por lingotes de fundición, cuya forma generalmente alargada responde notoriamente al fondo del crisol en el que se vertió la colada, cuya curvatura dio también lugar a la sección plano-convexa que presentan. La presencia de estos productos semielaborados deja entrever la importancia del reaprovechamiento del metal y la práctica habitual de la refundición para recuperar aquellos instrumentos inutilizados.

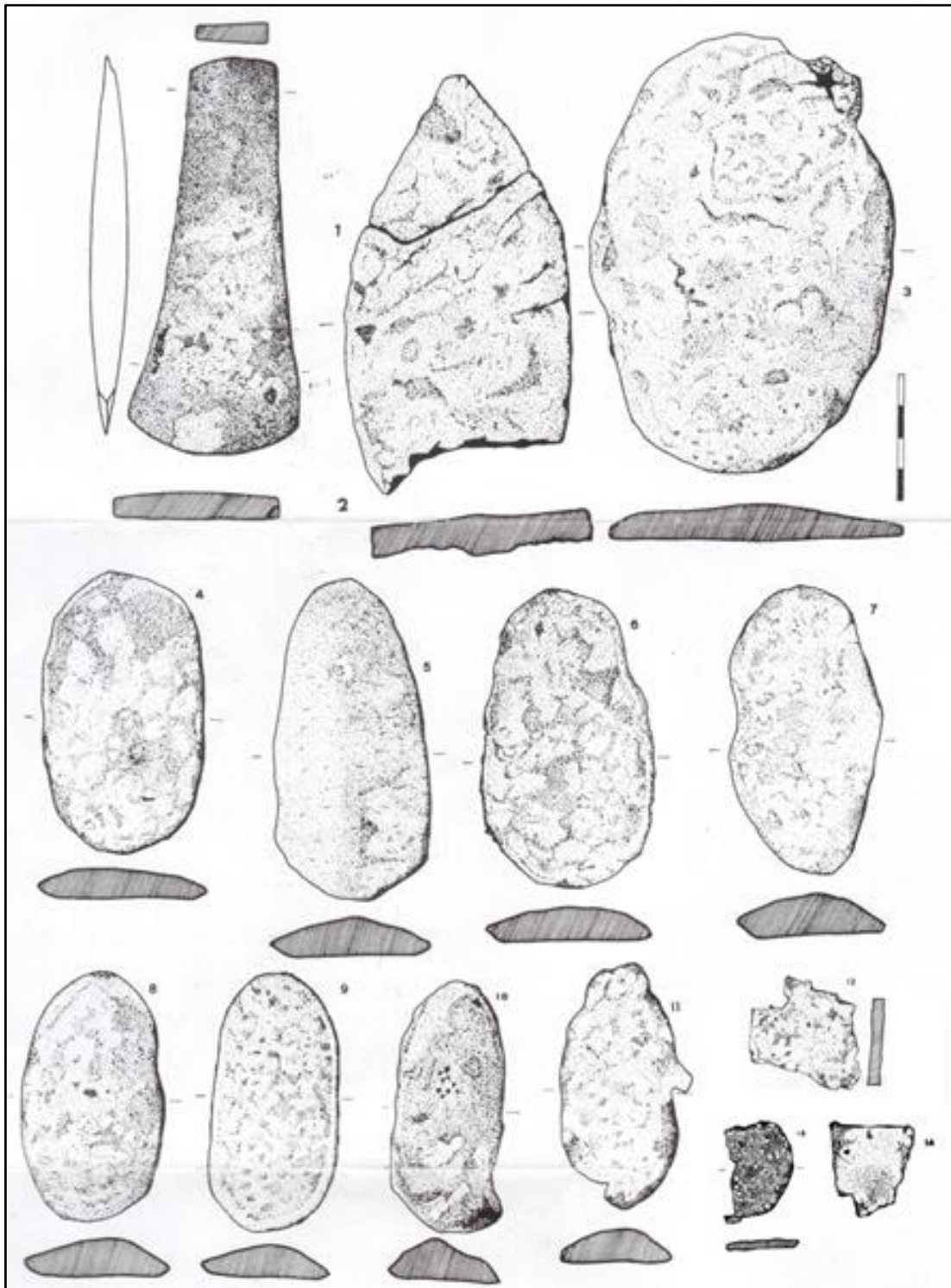


Figura D.75. Elementos encontrados en el depósito de Gamonedo (Onís).

### • Depósito de Asiego

Este depósito, situado en el actual concejo de Cabrales, presenta diferencias significativas respecto del depósito de Gamonedo, ya no sólo por el hecho de que este pequeño tesoro se encontrase en el interior de una cueva, sino porque a diferencia del anterior, en el depósito de Asiego se encontraron catorce hojas de hacha de gran tamaño, bien acabadas y prácticamente intactas en su totalidad, siendo mínimas las señales claras de empleo que sólo alguna presenta. La longitud de las mismas se encuentra entre 17.5 y 21.2 centímetros, lo que habla del dominio técnico de sus autores. Un peso medio por pieza de 850 gramos., supone un peso total del lote de en torno a los 11 kilogramos, lo que deja claro el alto consumo de metal necesario para su fundición[256]. La tipología de estas hachas se muestra en la Figura D.76.

### • Cueva del Cuélebre

La Cueva del Cuélebre, un gran abrigo situado en el pueblo de Corao en pleno Valle del Güeña, recibe su nombre porque según la leyenda en él habitaba esta famosa criatura mitológica. Fue descubierta en el siglo XIX por Roberto Frassinelli, artista y erudito interesado en historia, y conocido como “el alemán de Corao”. En ella se descubrió un puñalito de lengüeta rectangular, de perfil plano y sección ligeramente lenticular. De dimensiones 157 x 30 x 2 mm y con aproximadamente 30 g de peso, goza de una buena conservación general aunque con cierta pérdida de metal en todo el contorno. Según de Blas y Fernández-Tresguerres, esta cueva puede tener un uso fúnebre, aunque no se descartan otros usos previos o posteriores [257].



Figura D.76. Hachas encontradas en el depósito de Asiego (Cabrales).

### •Depósito de Gueraño

Apenas a una decena de kilómetros de la Cueva del Cuélebre se sitúa el depósito de Gueraño, en el pueblo de Llano de Con, también situado en el Valle del Güeña. En él se encontró un hacha plana de talón truncado, perfil trapecial y lados rectos. Las dimensiones de esta hacha son 164 x 61 x 15 mm y se corresponden con un peso de 780 gramos, recordándonos en morfología, a las hachas encontradas en el cercano depósito de Asiego [256].

Actualmente, todas estas piezas se encuentran en el Museo Arqueológico de Asturias y forman parte de la exposición permanente llamada “El Neolítico y la edad de los Metales”. En la Figura D.77 podemos observar fotografías de algunas de las piezas más representativas de estos tesorillos: el hacha plana (A) y dos de los lingotes (B y C) hallados en el depósito de Gamonedo; un hacha plana (D) representativa del depósito de Asiego; el puñalito de lengüeta de la Cueva del Cuélebre (E) y el hacha plana del depósito de Gueraño (F).



**Figura D.77. Piezas más representativas de los depósitos asturianos de Gamonedo, Asiego, Cueva del Cuélebre y Gueraño [258].**

En la Figura D.78 se muestran fotografías de parte de las muestras tal y como fueron recibidas en el laboratorio de Isótopos Estables Enriquecidos de la Facultad de Químicas. Algunas muestras presentaban esquirlas metálicas que pudieron utilizarse para su análisis mediante ablación láser mientras que otras muestras estaban en forma de polvo fino y no pudieron analizarse por esta técnica. De cualquier manera, todas las muestras se analizaron mediante la técnica de referencia de disolución y separación del plomo de la matriz con resinas quelantes. Los datos de ablación láser se obtuvieron a modo comparativo para demostrar la capacidad de esta técnica para el estudio de otras muestras arqueológicas.

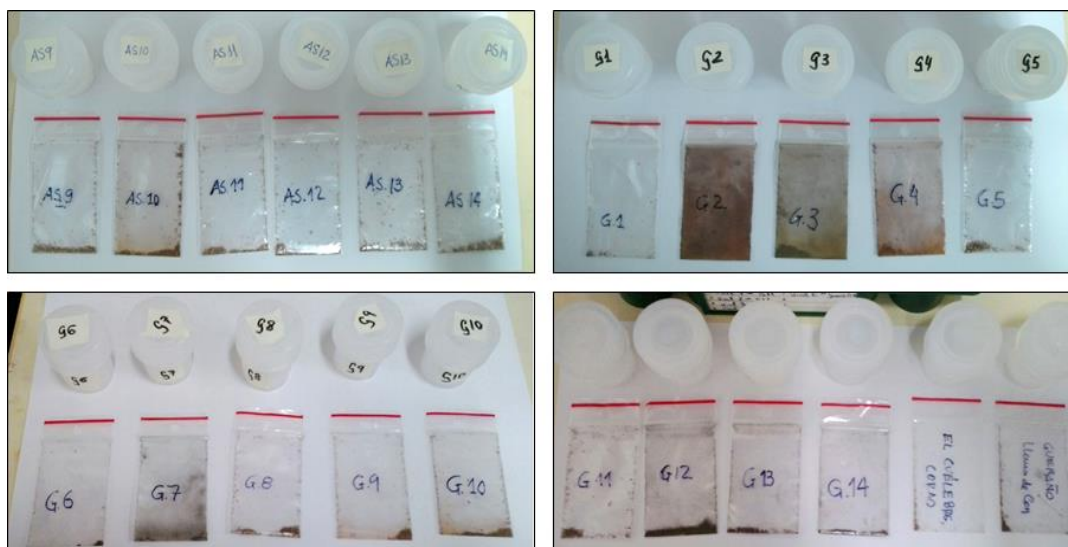


Figura D.78. Imágenes de parte de las muestras antes de su tratamiento.

La toma de muestra fue realizada por el profesor Miguel Ángel de Blas Cortina perforando ligeramente con un taladro sobre la superficie de cada una de las muestras. Dado que son piezas únicas, en todos los casos se tomó una cantidad inferior a 0.2 g de cada una de ellas para evitar cualquier alteración innecesaria de las mismas.

En la Tabla D.24 se recoge la cantidad de cada muestra sometida a análisis mediante disolución ácida. Es conveniente destacar que aunque el tesorillo de Asiego conste de un total de 14 artefactos, solamente 11 de esas hachas fueron analizadas en el presente estudio.

Tabla D.24. Listado de muestras y cantidad de las mismas sometida a análisis por disolución ácida.

<b>Cueva del Cuélebre</b>		<b>Depósito de Gueraño</b>	
<b>Muestra</b>	<b>Masa (g)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Masa (g)</b>
<b>Corao</b>	0.0090	<b>Gueraño</b>	0.0142

<b>Depósito de Gamonedo</b>		<b>Depósito de Asiego</b>	
<b>Muestra</b>	<b>Masa (g)</b>	<b>Muestra</b>	<b>Masa (g)</b>
<b>G-1</b>	0.0047	<b>AS-1</b>	0.0180
<b>G-2</b>	0.0404	<b>AS-3</b>	0.1037
<b>G-3</b>	0.0734	<b>AS-4</b>	0.0745
<b>G-4</b>	0.3690	<b>AS-6</b>	0.0974
<b>G-5</b>	0.0533	<b>AS-8</b>	0.0348
<b>G-6</b>	0.0075	<b>AS-9</b>	0.1038
<b>G-7</b>	0.0115	<b>AS-10</b>	0.0810
<b>G-8</b>	0.1041	<b>AS-11</b>	0.0638
<b>G-9</b>	0.0410	<b>AS-12</b>	0.0501
<b>G-10</b>	0.0481	<b>AS-13</b>	0.0606
<b>G-11</b>	0.0452	<b>AS-14</b>	0.0566
<b>G-12</b>	0.0573		
<b>G-13</b>	0.0189		
<b>G-14</b>	0.0293		



## Tratamiento de muestra

En las siguientes líneas se recogen los pasos seguidos durante el tratamiento de las muestras para el posterior análisis de impurezas metálicas, relaciones isotópicas de plomo.

### • Disolución de las muestras sólidas

En función de la disponibilidad de cada muestra, se tomaron cantidades variables de cada una de ellas (ver Tabla D.24) y se pesaron en un vial de PFA de 15 mL con fondo plano y tapón de rosca.

Tras pesar todas las muestras, se decidió comenzar a disolver cinco de las muestras del depósito de Asiego, por ser éste el depósito del que aparentemente mayor cantidad por muestra se disponía. Se comenzó por tanto con la disolución de las cinco primeras muestras (AS1, AS3, AS4, AS6 Y AS8) siguiendo el protocolo descrito por De Muynck y colaboradores para la disolución de muestras de cobre para su posterior separación del plomo de su matriz [259]. Según este protocolo, se añadieron 8 mL de HCl 7M a cada uno de los viales, se cerraron y calentaron en placa calefactora durante 24 horas a una temperatura de 110°C. Pasadas esas primeras 24 horas, se observó que la disolución de las muestras en medio de HCl no había resultado totalmente eficaz, ya que en la mayor parte de los viales se observaron pequeñas partículas de las muestras en estado sólido.

Por tanto, para favorecer la disolución de esas pequeñas partículas, se añadieron 500 µL de HNO<sub>3</sub> concentrado y se calentó durante otras 24 horas a la misma temperatura. Pasado ese tiempo, todas las muestras se disolvieron adecuadamente al añadir una

mínima cantidad de  $\text{HNO}_3$ , por lo que se decidió cambiar este primer paso del proceso de tratamiento de muestra descrito por De Muynck, por un medio más agresivo consistente en 8 mL de agua regia ( $\text{HCl}:\text{HNO}_3$ , en proporción 3:1) [32].

A continuación, y siguiendo los pasos del protocolo de De Muynck, se evaporó el contenido de los viales hasta sequedad, con el fin de eliminar ese medio ácido tan agresivo. Para este paso, manteniendo la placa a  $110^\circ\text{C}$  fueron necesarias en torno a unas 6 horas para total evaporación. Pasado este tiempo, se añadieron 2 mL de  $\text{HNO}_3$  1M a cada vial y se calentaron a  $110^\circ\text{C}$  durante 30 minutos para favorecer la redisolución del sólido, dejando las muestras preparadas para la separación química del plomo de su matriz. De este volumen de 2 mL se tomaron 200  $\mu\text{L}$  para realizar el análisis multielemental de trazas, dejando disponibles los 1.8 mL restantes para la separación mediante resina selectiva PbSpec.

#### • Separación del plomo de su matriz

Para la separación del plomo de su matriz continuamos con el protocolo desarrollado por De Muynck y colaboradores, dado que aunque sea un proceso de separación largo, no induce el fraccionamiento isotópico del plomo durante el mismo.

La resina selectiva PbSpec utilizada para la separación consiste en un éter corona disuelto en isodecanol. A aproximadamente 15 g de esta resina se le añadieron 100 mL de agua Milli-Q y se agitó. Tras dejar reposar, el sobrenadante se reemplazó por agua Milli-Q en otras dos ocasiones, con el objetivo de humedecer y activar la resina. Seguidamente, la resina se cargó en columnas Bio-Rad de polipropileno para obtener una base de 0.5 mL de resina. Una vez cargada la resina, se hicieron pasar 2 mL de agua Milli-Q para eliminar el posible plomo residual. Es conveniente resaltar, que durante todo el proceso de separación la resina no debe secarse en ningún momento.

Además, para evitar que la resina se mueva de su lecho o se puedan crear burbujas en su interior, es conveniente añadir el agua Milli-Q lentamente y de mililitro en mililitro por las paredes de la columna. Inmediatamente después se añadió 1 mL de  $\text{HNO}_3$  1M para acondicionar la resina con el mismo medio en el que se encuentra la muestra. A continuación, se añadieron los 1.8 mL de muestra redisuelta en medio  $\text{HNO}_3$  1M.

A partir de este momento, se coloca un tubo de polipropileno de 12 mL, convenientemente lavado, debajo de cada una de las columnas de separación para recoger la matriz de la muestra para un posible análisis posterior de las relaciones isotópicas de antimonio y de cobre. Seguidamente, se eliminó la matriz de la muestra empleando para ello 6 mL de  $\text{HNO}_3$  0.14M. Una vez recogida la matriz, se coloca un tubo de PFA debajo de cada una de las columnas para recoger la fracción de muestra eluida por adición de 5 mL de oxalato de di-amonio  $[(\text{NH}_4)_2\cdot\text{C}_2\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}]$  de concentración 0.05 M. Posteriormente, se evaporó a sequedad en placa calefactora a  $110^\circ\text{C}$  y se adicionaron 4 mL de agua regia para digerir el posible contenido orgánico introducido por el oxalato de di-amonio. Tras calentar durante 24 horas a  $110^\circ\text{C}$ , las muestras se evaporaron de nuevo a sequedad y finalmente se añadieron 2 mL de  $\text{HNO}_3$  0.42 M para su redisolución. Estas fracciones de plomo puro se diluyeron con  $\text{HNO}_3$  0.42 M para ajustar su concentración a  $400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  siempre que fuera posible, y se le añadió a cada una de las muestras el material de referencia de talio (NIST SRM 997) a una concentración de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para llevar a cabo la corrección interna de la discriminación de masas. Igualmente se prepararon disoluciones estándar de  $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  del material de referencia de plomo NIST SRM 981 (a las que también se le añadió el material de referencia de talio a concentración  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) para realizar la corrección externa de la discriminación de masas.

- **Preparación de la muestra para su análisis por LA-MC-ICP-MS**

De las 27 muestras analizadas en disolución, nueve de ellas presentaban esquirlas metálicas que fueron sometidas a análisis mediante LA-MC-ICP-MS: siete muestras del depósito de Asiego (AS-1, 3, 9, 11, 12, 13 y 14) y dos del depósito de Gamonedo (G-5 y 8). Las esquirlas fueron depositadas cuidadosamente sobre vidrios portamuestras cuya superficie superior fue cubierta con cinta adhesiva blanca de doble cara para favorecer la adherencia de las mismas, como se muestra en la Figura D.79. Una vez fijadas sobre estos portamuestras se introdujeron directamente en la cámara de ablación para su análisis por LA-MC-ICP-MS.



**Figura D.79. Esquirlas de la muestra AS-9 depositadas sobre el portamuestras.**

En la Figura D.80 se esquematiza de manera visual el largo proceso de tratamiento de muestras para su análisis en disolución.

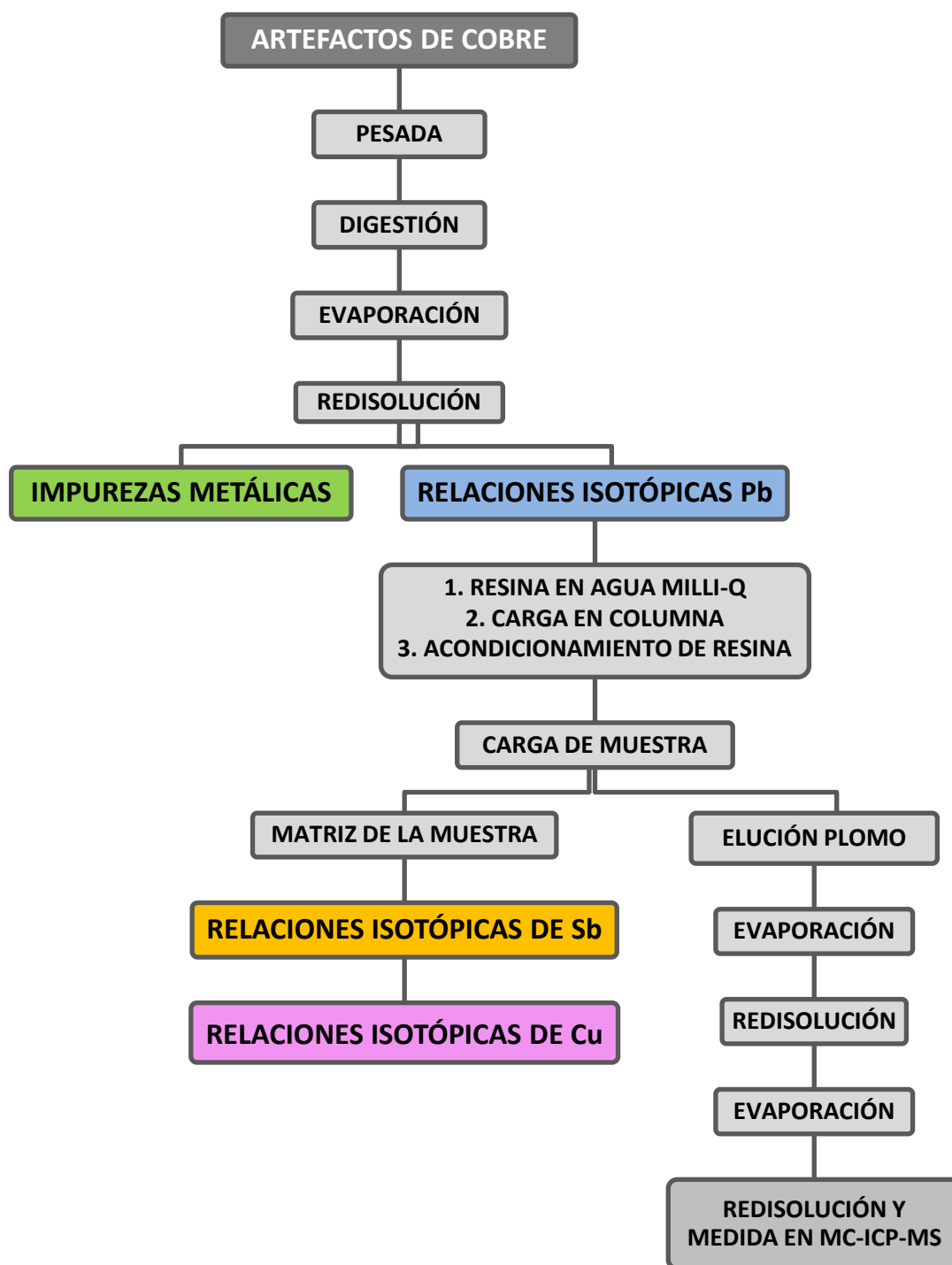


Figura D.80. Esquema de la preparación de muestras arqueológicas.

## Análisis de impurezas metálicas

A través del análisis de las impurezas metálicas presentes en estos 27 artefactos arqueológicos encontrados en la región oriental de Asturias, se pretendió indagar en el origen de las mismas, proponiendo ciertas hipótesis que pudieran apoyar a los resultados de la huella isotópica de plomo con el fin de asegurar con la mayor confianza posible la procedencia de tan valiosos tesorillos.

A los 200  $\mu\text{L}$  de muestra disuelta en  $\text{HNO}_3$  1M anteriormente apartados se les añadió  $\text{HNO}_3$  2% (v/v) hasta un volumen final de 10mL, lo que conlleva una primera dilución inicial 1 (1:1000), y se realizó un primer barrido de masas en el equipo de cuadrupolo Agilent 7500 ce bajo las condiciones que se recogen en la Tabla D.25. A su vez, junto con las muestras de bronces, se realizó un calibrado sopesado con concentraciones comprendidas entre 0 y 20  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , en un medio de  $\text{HNO}_3$  2% (v/v), de los elementos que previsiblemente pueden aparecer en este tipo de muestras a nivel de trazas, como son: hierro, cobalto, níquel, zinc, arsénico, plata, antimonio oro, plomo, bismuto y uranio. Además, también se monitorizaron los dos componentes fundamentales de los bronces: cobre y estaño. Se utilizaron itrio y renio como patrones internos a una concentración final de 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Dado que no todos los elementos se encuentran en la misma concentración dentro de cada pieza, y existe una amplia variabilidad entre las mismas, se decide ampliar el calibrado hasta concentraciones de 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y realizar una serie de diluciones de las muestras para cuantificar todos los elementos con el mismo calibrado

**Tabla D.25. Parámetros experimentales del análisis multielemental realizado en el equipo de cuadrupolo Agilent 7500ce.**

<b>Parámetros instrumentales ICP-MS</b>	
Potencia RF aplicada	1500 W
Flujo de gas plasmógeno	15 L/min
Flujo de gas portador	1.12 L/min
Velocidad bomba peristáltica	0.1 rps
<b>Parámetros de adquisición (barrido de masas)</b>	
Tiempo de integración por punto	0.10 s
Puntos por pico	3
Tiempo de integración por masa	0.30 s
Repeticiones	5
Masas medidas	<sup>57</sup> Fe <sup>63</sup> Cu <sup>89</sup> Y <sup>121</sup> Sb <sup>208</sup> Pb <sup>59</sup> Co <sup>66</sup> Zn <sup>107</sup> Ag <sup>185</sup> Re <sup>209</sup> Bi <sup>60</sup> Ni <sup>75</sup> As <sup>118</sup> Sn <sup>197</sup> Au <sup>238</sup> U
Tiempo total	41.1 s

Las concentraciones de todos los elementos medidos para todos y cada uno de los 27 artefactos analizados se muestran en las Tabla D.26 a Tabla D.30, expresados en  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  por pieza bronce, tras deshacer convenientemente las diluciones a las que fueron sometidas las muestras .

Tabla D.26. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Asiego.

Depósito de Asiego													
Nombre	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Sn	Sb	Au	Pb	Bi	U
AS-1	57	14	33	863467	30	30844	91	0.28	318	0.23	331	304	0.00
AS-3	15	3	158	619574	3	27695	26	0.09	264	0.23	28	242	0.00
AS-4	26	3	222	629674	10	42419	40	0.15	123	0.15	91	47	0.02
AS-6	45	1	297	604116	1	17164	40	0.18	175	0.22	19	105	0.00
AS-8	284	14	391	877464	31	59496	61	0.29	535	0.04	110	336	0.01
AS-9	18	16	404	816996	14	28690	25	0.07	394	0.02	198	142	0.00
AS-10	41	28	209	819629	39	31098	25	0.13	360	0.01	198	130	0.01
AS-11	53	3	493	894935	25	28482	33	0.27	155	0.02	118	122	0.04
AS-12	21	1	176	875474	4	30490	36	0.06	115	0.01	21	216	0.00
AS-13	24	11	945	882065	10	26996	38	0.39	352	0.01	516	125	0.00
AS-14	38	7	370	837109	2	33431	34	0.12	250	0.00	98	200	0.01



Tabla D.27. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Gamonedo.

Depósito de Gamonedo													
Nombre	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Sn	Sb	Au	Pb	Bi	U
<b>G-1</b>	37867	15	66	984920	24	13316	122	3.66	230	0.02	154	150	2
<b>G-2</b>	35452	763	630	700462	2665	74284	24	0.27	1147	0.19	2553	87	398
<b>G-3</b>	4186	19	165	821219	62	46145	28	3.42	402	0.05	193	285	4
<b>G-4</b>	1828	269	455	848126	259	45702	22	0.21	519	0.02	324	295	4
<b>G-5</b>	15994	2	114	941465	2	41236	45	0.03	179	0.02	44	118	0.06
<b>G-6</b>	31500	92	220	806847	210	58256	61	0.64	444	0.00	414	354	1.24
<b>G-7</b>	109269	3174	2145	315824	13837	62530	19	1.50	711	0.02	5633	84	1491
<b>G-8</b>	159	38	237	889614	126	38677	32	0.07	240	0.05	657	59	0.08
<b>G-9</b>	447	9	197	893395	15	42539	18	0.06	301	0.02	191	140	0.79
<b>G-10</b>	1204	369	487	923116	307	51219	17	0.37	486	0.03	683	103	0.41
<b>G-11</b>	696	45	280	871593	88	54082	29	0.22	263	0.00	951	55	0.01

Tabla D.28. Listado de muestras y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes en los artefactos del Depósito de Gamonedo (continuación).

Depósito de Gamonedo													
Nombre	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Sn	Sb	Au	Pb	Bi	U
<b>G-12</b>	4147	256	228	837117	590	8322	44	0.30	648	0.01	817	177	38
<b>G-13</b>	3461	317	285	879999	831	72214	18	0.57	626	0.00	872	166	2
<b>G-14</b>	1255	163	193	855824	460	62381	30	0.40	487	0.00	711	136	6

Tabla D.29. Muestra de la Cueva del Cuélebre y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes la misma.

Cueva del Cuélebre													
Nombre	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Sn	Sb	Au	Pb	Bi	U
Puñalito	16	32	938	949830	0	17099	84	1.5	835	0.00	89	86	0.02

Tabla D.30. Muestra del Depósito de Gueraño y concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de los elementos presentes la misma.

Depósito de Gueraño													
Nombre	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Ag	Sn	Sb	Au	Pb	Bi	U
Hacha	171	4	323	879173	142	27755	17	5.1	176	0.06	338	97	0.06

A la vista de los resultados expuestos en las anteriores tablas conviene destacar que, como era de esperar, la contribución de cobre es claramente mayoritaria en todas las muestras en un rango 60-95%. Por lo tanto se confirma que el cobre es uno de los componentes principales de los artefactos. Ahora bien, cabe subrayar la casi ausencia de estaño en todas las muestras analizadas, independientemente del depósito de procedencia, lo que indica claramente que estos artefactos no son bronce.

Otro elemento presente en alta concentración en todas las piezas en estudio fue el arsénico, que se perfila como segundo componente mayoritario presentando unos valores en el rango 0.8-7.4 %. El hecho de que el cobre y el arsénico se presenten como los dos elementos principales de estas muestras indica que el cobre a partir del cual se fabricaron estos artefactos tiene un marcado carácter arsenical, pudiendo entonces integrarlos prácticamente dentro del grupo E 01 característico de la Península Ibérica, cuyos márgenes se encuadran en el rango 0.1-6% de arsénico. Tal y como señala de Blas Cortina [255], estos objetos podrían haber sido fabricados en una época anterior a la Edad del Bronce, dado que en estos cobres arsenicales no existen restos de estaño o plomo en altas cantidades, algo propio de técnicas más avanzadas.

Como rasgo claramente diferenciador del depósito de Gamonedo se resalta el alto contenido en hierro en comparación con el resto de los depósitos en estudio. Se presenta en un amplio rango desde 0.016 % y llegando hasta valores de 10.9 %, mientras que los valores del resto de los depósitos son claramente inferiores: 0.001-0.028 % en el depósito de Asiego, 0.002 % el puñalito de la Cueva del Cuélebre y 0.017 % el hacha de Gueraño. Según los estudios presentes en la bibliografía, valores medios de hierro en torno al 0.10 % indican la utilización de hornos antiguos, mientras que valores superiores al 0.30 % serían propios de objetos procesados en hornos que alcanzaban temperaturas más elevadas, y por tanto más modernos [260]. Este hecho podría respaldar la hipótesis de antigüedad motivada por la presencia arsenical para los artefactos encontrados en Asiego, Cueva del Cuélebre y Gueraño, mientras que

entraría en claro conflicto con las muestras de Gamonedo, cuyo alto contenido en hierro podría indicar edades de procesamiento mucho más modernas.

Al igual que ocurre con el hierro, el contenido de uranio encontrado en las muestras originarias de Gamonedo es claramente superior al del resto de utensilios, en los que su contribución es prácticamente inexistente. Cabe destacar el alto contenido en uranio de las muestras G-2 y G-7, cuyo contenido en hierro también destaca por encima del resto de muestras. La presencia de altas cantidades de uranio en estos artefactos podría explicarse por el uso de minerales ricos en uranio. Este podría ser el caso del mineral de zeunerita,  $(\text{Cu}(\text{UO}_2)_2(\text{AsO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$ , que aparece en la cercana mina leonesa de La Profunda. La zeunerita, un arseniato de cobre y uranilo de un fuerte color verde, pudo ser confundida por los antiguos mineros durante la extracción de la malaquita verde  $(\text{Cu}_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_2)$  y de la azurita  $(\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2)$  para la obtención de cobre.

Otra posible explicación al alto contenido de metales traza y, por tanto, de hierro y uranio en las muestras de Gamonedo podría deberse a que los lingotes encontrados sean la primera fase del proceso de fabricación de utensilios de cobre. Es decir, los lingotes son el primer producto de cobre obtenido tras el tratamiento del mineral de cobre. Estos lingotes sufrirían un segundo tratamiento posterior para darles ya la forma definitiva que conllevaría una reducción importante en las impurezas metálicas.

Con el objetivo de encontrar algún patrón diferenciador de los diferentes depósitos, a, se realizaron una serie de combinaciones entre los elementos analizados. Un total de 156 representaciones resultarían de las combinaciones de los 13 elementos combinados dos a dos. Algunas de estas combinaciones no aportan ningún tipo de información, ya que no se observa ninguna tendencia o correlación, como ocurre con las parejas de elementos Ag-Au (Figura D.81), As-Ni (Figura D.82) o Sb-Bi (Figura D.83).

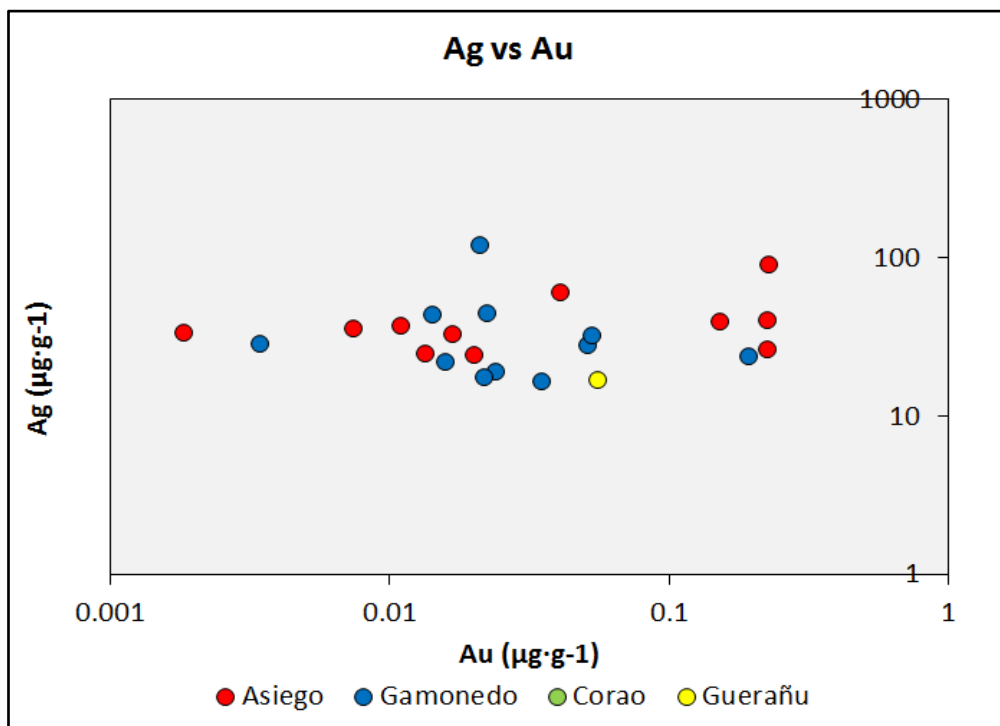


Figura D.81. Correlación entre los contenidos de Ag y Au en los artefactos arqueológicos.

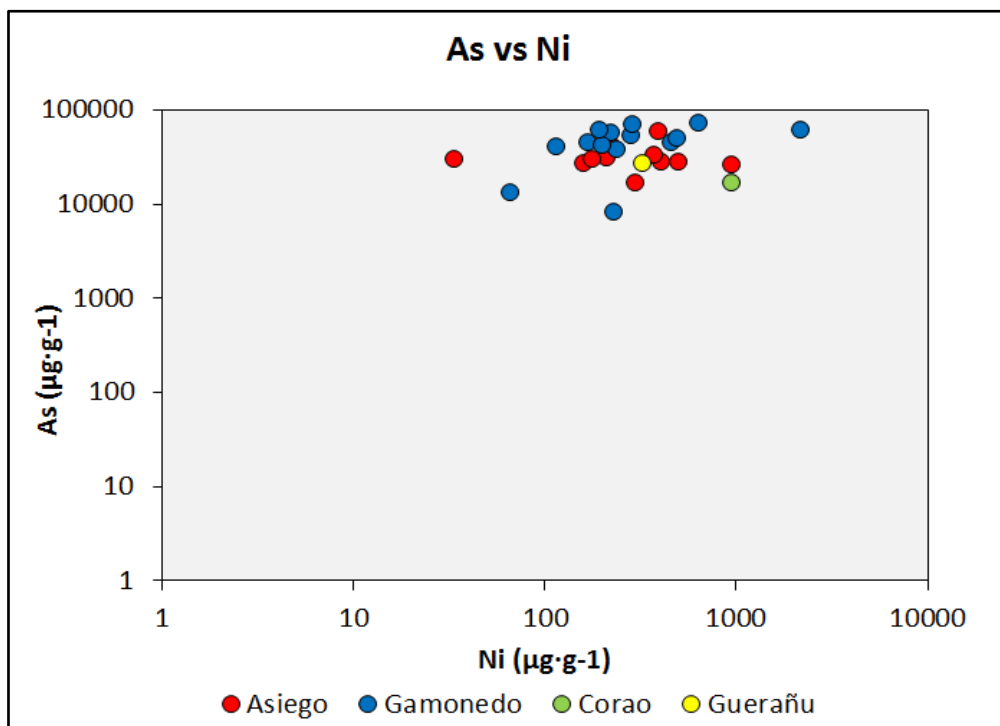


Figura D.82. Correlación entre los contenidos de As y Ni en los artefactos arqueológicos.

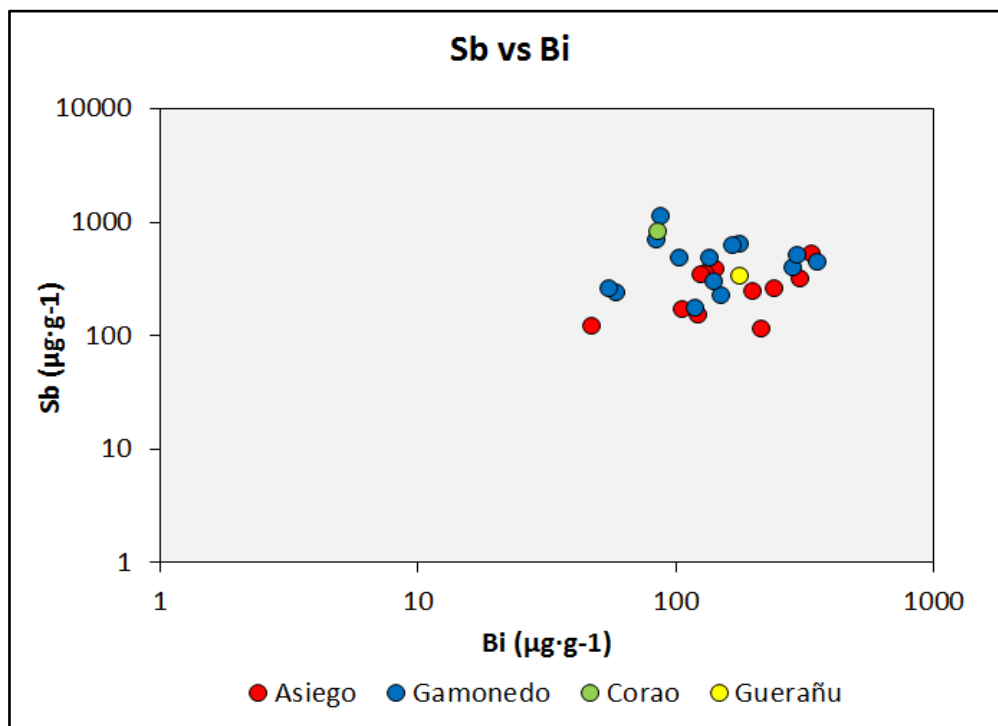
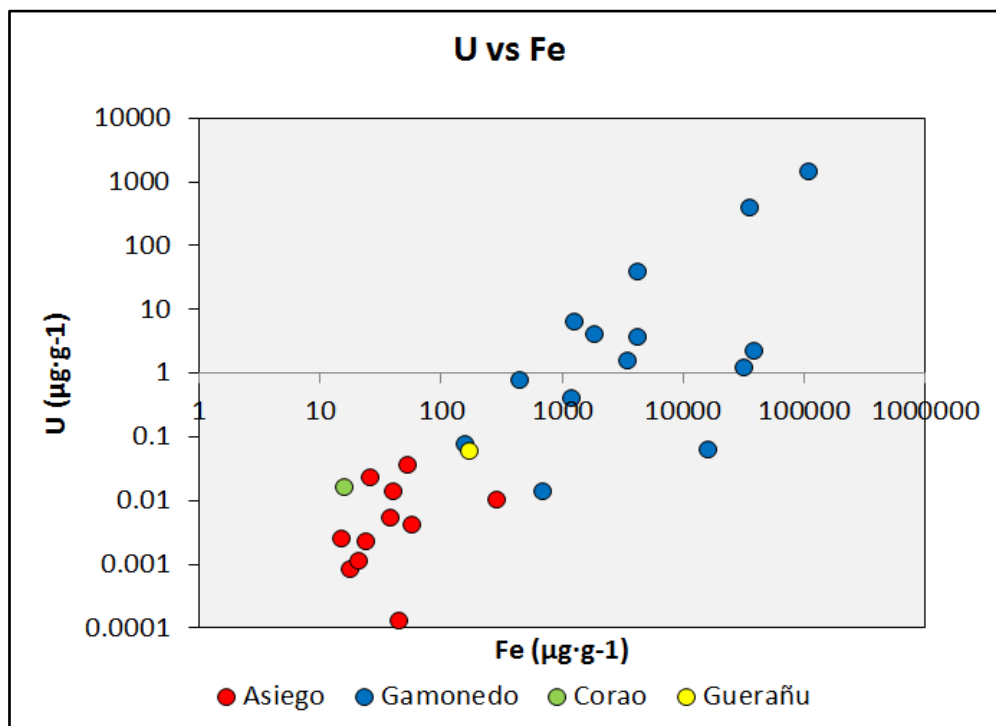


Figura D.83. Correlación entre los contenidos de Sb y Bi en los artefactos arqueológicos.

Por el contrario, existe otro tipo de combinaciones que sí dejan entrever cierta tendencia entre los elementos y dan una pista de la diferenciación preliminar entre las muestras de los diferentes depósitos. Este es el caso concreto de la relación entre U-Fe-Pb-Co. Según se muestra en las Figura D.84 a Figura D.87, la combinación de estos elementos dos a dos hace indicar que existe una correlación entre los contenidos de estos elementos, diferenciándose las muestras de Gamonedo del resto de las muestras.





Estas mismas tendencias se repiten para la correlación Pb-U (Figura D.85), Co-u (Figura D.86) y Pb-Fe (Figura D.87).

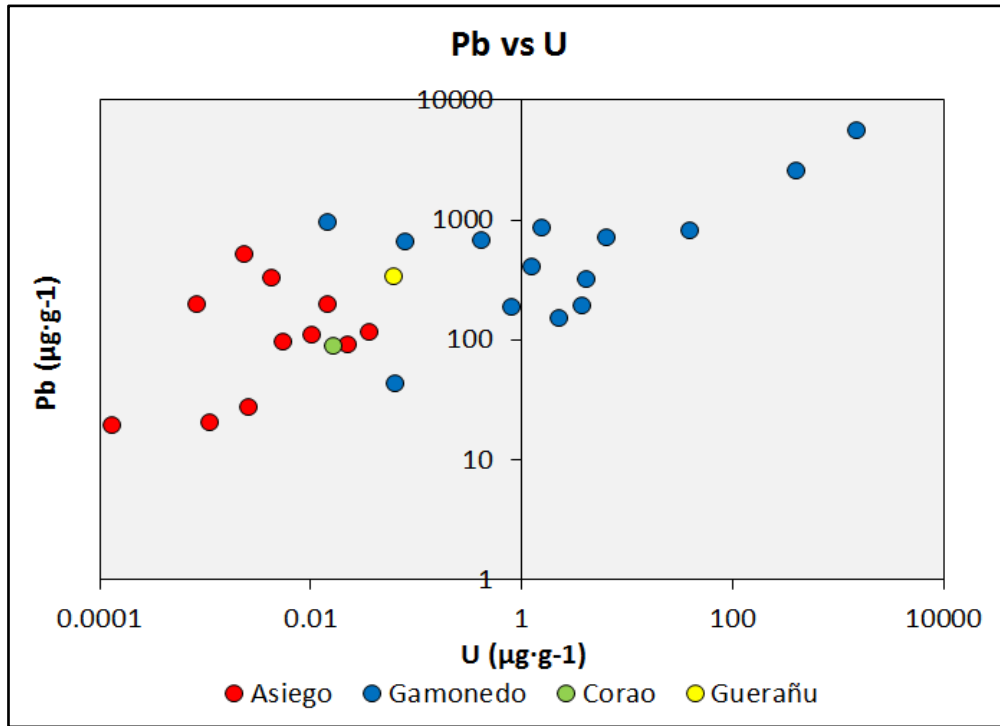


Figura D.85. Correlación entre los contenidos de Pb y U en los artefactos arqueológicos.

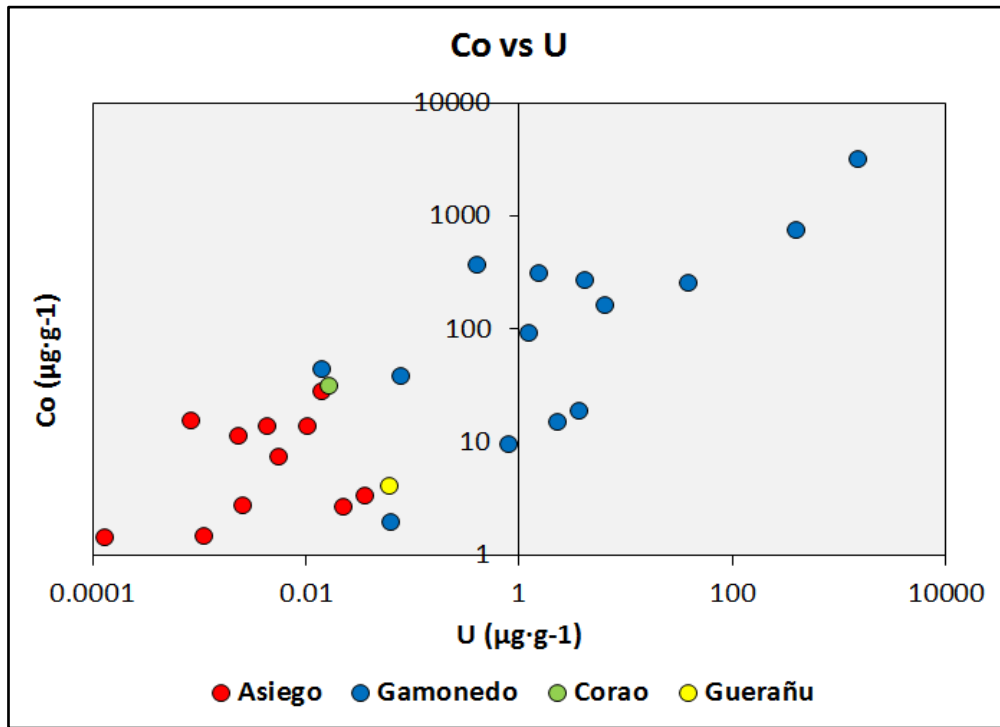


Figura D.86. Correlación entre los contenidos de Co y U en los artefactos arqueológicos.

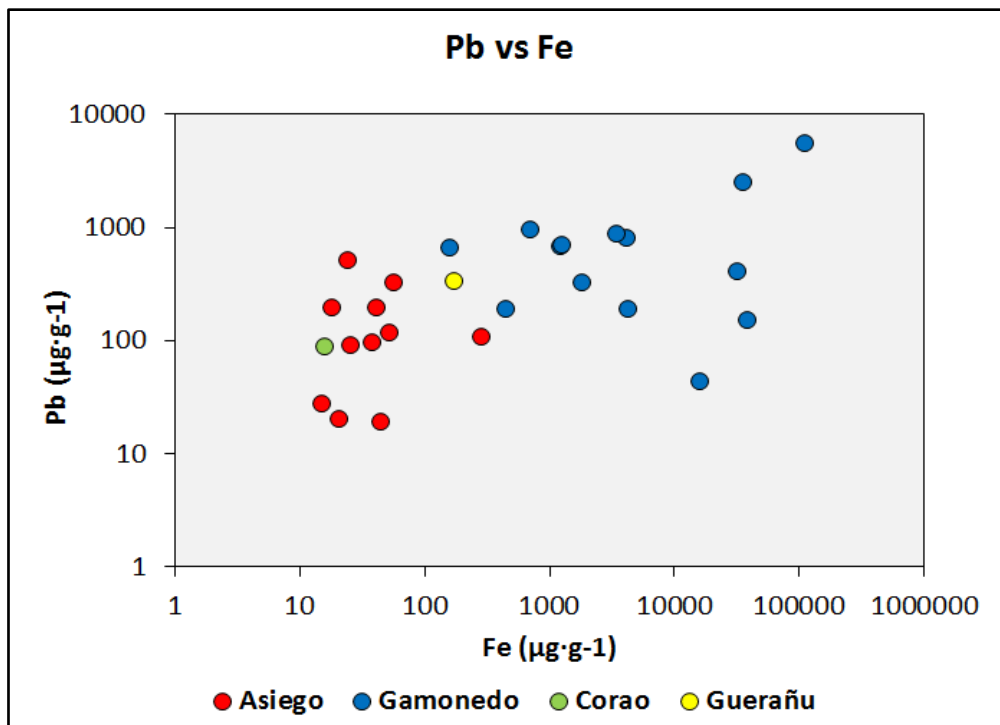


Figura D.87. Correlación entre los contenidos de Pb y Fe en los artefactos arqueológicos.

## Evaluación de la huella isotópica de plomo

### Análisis en disolución

La metodología de medida de relaciones isotópicas de plomo universalmente aceptada se basa en el análisis en disolución de las muestras mediante equipos de alta resolución con detección múltiple. Por ello, en este apartado se muestran los resultados obtenidos para los artefactos metálicos en disolución que luego compararemos con los obtenidos mediante análisis directo del sólido por LA-MC-ICP-MS.

#### • Metodología de medida

Las fracciones de plomo puro obtenidas tras separación en resina fueron convenientemente diluidas y analizadas en el equipo ICP-MS multicolector Neptune Plus. Al principio de cada sesión de medida se llevó a cabo la optimización del equipo como ya se ha indicado en el apartado C.1.1.2. Seguidamente, se monitorizó un blanco de  $\text{HNO}_3$  0.42 M y se introdujeron las muestras siguiendo la secuencia estándar-muestra-estándar (“sample standard bracketing” o SSB), de manera que tanto muestras como estándares se analizaron bajo las mismas condiciones de medida.

Tras la medida de cada disolución, el sistema de introducción de muestra fue convenientemente lavado haciendo pasar una disolución de  $\text{HNO}_3$  0.42 M hasta que las intensidades de las diferentes señales monitorizadas alcanzaran de nuevo los valores de blanco registrados al inicio de la sesión.

En la Tabla D.31 se muestran los parámetros experimentales optimizados para la medida de las relaciones isotópicas de plomo en disolución.

**Tabla D.31. Parámetros instrumentales para la medida de relaciones isotópicas de plomo en el equipo MC-ICP-MS mediante nebulización convencional.**

<b>Parámetros instrumentales MC- ICP-MS</b>						
Potencia RF aplicada	1200 W					
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas portador	0.920 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas auxiliar	0.900 L·min <sup>-1</sup>					
Tiempo de integración	4.2 s					
Número de ciclos	50					
Número de bloques	1					
<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS</b>						
<b>L3</b>	<b>L2</b>	<b>L1</b>	<b>C</b>	<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>
<sup>202</sup> Hg <sup>+</sup>	<sup>203</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>204</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>205</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>206</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>207</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>208</sup> Pb <sup>+</sup>
		<sup>204</sup> Hg <sup>+</sup>				

**• Cálculo de las relaciones isotópicas, corrección de interferencias y de la discriminación de masas**

A diferencia de lo que ocurre en el cálculo de las relaciones isotópicas en señales transitorias, en el análisis por disolución las señales son constantes, por lo que las

relaciones isotópicas de plomo se calcularon a partir de la media de las relaciones isotópicas calculadas punto a punto para los 50 ciclos de los que consta una medida.

La **corrección** del aporte de **mercurio** a la señal de  $^{204}\text{Pb}$  se lleva a cabo matemáticamente a través de las abundancias naturales de los isótopos  $^{202}\text{Hg}$  y  $^{204}\text{Hg}$  como ya se ha expuesto anteriormente, aunque no debería ser necesario dado que la matriz de muestra fue eliminada por separación cromatográfica mediante resina quelante.

Para llevar a cabo la **corrección de la discriminación** de masas se compararon dos metodologías: la corrección por estandarización externa (SSB) y la corrección interna mediante talio. La corrección de la discriminación de masas por **estandarización externa (SSB)** es la metodología más universalmente utilizada, aunque para su empleo es necesario disponer de materiales de referencia que estén certificados isotópicamente (en este caso el material de referencia isotópica SRM NIST 981) y además es crucial que la discriminación de masas sea idéntica en la muestra y el estándar, por lo que la eliminación de la matriz de muestra y el ajuste de las concentraciones de analito en muestras y estándares resultan tareas cruciales.

Para la aplicación de esta metodología, se alterna la medida de los estándares entre las muestras en estudio, de manera que las relaciones isotópicas corregidas vendrán dadas por la siguiente expresión:

$$R_{i\text{-corr}}^m = 2 \times \frac{R_i^m \times R_{\text{ref}}^{\text{std}}}{R_{i-1}^{\text{std}} + R_{i+1}^{\text{std}}}$$

Donde  $R_i^m$  es la relación isotópica experimental de la  $i$ -ésima muestra, y  $R_{i-1}^{std}$  y  $R_{i+1}^{std}$  indican las relaciones isotópicas experimentales del estándar de composición isotópica certificada medidas antes y después de dicha  $i$ -ésima muestra.  $R_{ref}^{std}$  indica el valor de referencia del estándar isotópico. Experimentalmente, se intercaló la medida de una disolución del material de referencia NIST 981 cada tres muestras analizadas.

Como ya se ha indicado anteriormente, el **talio** es el elemento tradicionalmente elegido para la **corrección interna** de la discriminación de masas del plomo, ya que tiene una masa similar al analito y se comportan de forma parecida en el plasma. Dado que el talio debe medirse conjuntamente con el plomo, para la corrección de la discriminación de masas en muestras líquidas se añadió el material de referencia certificado isotópicamente en talio (NIST SRM 997) a cada una de las muestras a una concentración final de  $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . La ecuación de Russell es la elegida nuevamente para el cálculo del factor de discriminación de masas:

$$R_{\text{corr}} = R_{\text{exp}} \cdot \left( \frac{m_1}{m_2} \right)^f$$

## • Resultados

Tras un largo proceso de preparación de muestra se midieron las relaciones isotópicas de plomo de los 27 artefactos arqueológicos en disolución mediante MC-ICP-MS en una única sesión de medida. Los resultados obtenidos para las 27 muestras se recogen en las Tabla D.32 a Tabla D.36, en las que la incertidumbre se expresa como el doble de la desviación estándar calculada para  $n=50$  (ciclos).

La totalidad de las piezas cubre un rango de relaciones isotópicas de 0.4539 a 0.8254 para la relación  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , 1.0535 a 2.0251 para la relación  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y 19.0138 a 36.5736 para la relación  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ , lo que pone de manifiesto un marcado carácter radiogénico del plomo presente en estas muestras. De hecho, si consideramos un valor de 19 para la relación  $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$  como valor discriminante de carácter radiogénico todas las muestras se encuentran por encima de dicho valor.

En su conjunto, las hachas del depósito de Asiego presentan una huella de plomo más radiogénica que las muestras procedentes de los otros tres depósitos de Gamonedo, Cueva del Cuélebre y Gueraño. Las muestras G-2 y G-7 del depósito de Gamonedo presentan las relaciones isotópicas de plomo menos radiogénicas de todas las muestras analizadas, en contraposición a lo que cabría esperar por su alto contenido en trazas de uranio.

Tabla D.32. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Asiego.

Depósito de Asiego										
Muestra	207/206Pb	2σ	208/206Pb	2σ	206/204Pb	2σ	207/204Pb	2σ	208/204Pb	2σ
AS-1	0.5389	0.0001	1.2757	0.0004	30.188	0.017	16.269	0.011	38.513	0.033
AS-3	0.4813	0.0000	1.1251	0.0002	34.247	0.011	16.4834	0.0060	38.530	0.016
AS-4	0.7818	0.0001	1.9110	0.0003	20.1557	0.0079	15.7578	0.0069	38.517	0.019
AS-6	0.4850	0.0001	1.1362	0.0002	33.950	0.014	16.4656	0.0076	38.573	0.019
AS-8	0.4539	0.0000	1.0535	0.0001	36.574	0.012	16.6018	0.0058	38.529	0.015
AS-9	0.5792	0.0001	1.3808	0.0002	27.9040	0.0094	16.1612	0.0064	38.531	0.018
AS-10	0.6297	0.0001	1.5130	0.0003	25.446	0.010	16.0241	0.0074	38.499	0.020
AS-11	0.7278	0.0001	1.7697	0.0003	21.7562	0.0086	15.8343	0.0073	38.502	0.020
AS-12	0.4551	0.0001	1.0568	0.0002	36.432	0.019	16.5809	0.0085	38.501	0.022
AS-13	0.7174	0.0001	1.7425	0.0004	22.101	0.011	15.8555	0.0090	38.511	0.029
AS-14	0.5836	0.0001	1.3929	0.0002	27.6602	0.0080	16.1428	0.0053	38.527	0.013



Tabla D.33. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Gamonedo.

Depósito de Gamonedo										
Muestra	207/206Pb	2 $\sigma$	208/206Pb	2 $\sigma$	206/204Pb	2 $\sigma$	207/204Pb	2 $\sigma$	208/204Pb	2 $\sigma$
G-1	0.7613	0.0002	1.8419	0.0011	20.688	0.029	15.750	0.027	38.105	0.076
G-2	0.8254	0.0001	2.0251	0.0003	19.0138	0.0066	15.6936	0.0059	38.505	0.016
G-3	0.7235	0.0001	1.7603	0.0002	21.8887	0.0083	15.8373	0.0062	38.530	0.016
G-4	0.5777	0.0001	1.3772	0.0002	27.9655	0.0090	16.1563	0.0059	38.516	0.014
G-5	0.6758	0.0001	1.6338	0.0003	23.577	0.011	15.9336	0.0084	38.521	0.022
G-6	0.7288	0.0001	1.7719	0.0004	21.7194	0.0074	15.8301	0.0065	38.485	0.020
G-7	0.8075	0.0001	1.9782	0.0003	19.4605	0.0061	15.7135	0.0056	38.496	0.014
G-8	0.7980	0.0001	1.9536	0.0002	19.7123	0.0064	15.7307	0.0053	38.510	0.015
G-9	0.6545	0.0001	1.5781	0.0003	24.4120	0.0082	15.9786	0.0060	38.525	0.017
G-10	0.7021	0.0001	1.7028	0.0003	22.6185	0.0072	15.8814	0.0061	38.515	0.017
G-11	0.8071	0.0001	1.9774	0.0003	19.4730	0.0070	15.7171	0.0062	38.505	0.018

Tabla D.34. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en las muestras del depósito de Gamonedo (continuación).

Depósito de Gamonedo										
Muestra	207/206Pb	2 $\sigma$	208/206Pb	2 $\sigma$	206/204Pb	2 $\sigma$	207/204Pb	2 $\sigma$	208/204Pb	2 $\sigma$
<b>G-12</b>	<b>0.7269</b>	0.0001	<b>1.7558</b>	0.0004	<b>21.9384</b>	0.0059	<b>15.9468</b>	0.0053	<b>38.519</b>	0.014
<b>G-13</b>	<b>0.7206</b>	0.0001	<b>1.7511</b>	0.0002	<b>21.9909</b>	0.0067	<b>15.8477</b>	0.0050	<b>38.508</b>	0.013
<b>G-14</b>	<b>0.7228</b>	0.0001	<b>1.7568</b>	0.0002	<b>21.9169</b>	0.0094	<b>15.8422</b>	0.0068	<b>38.504</b>	0.018

Tabla D.35. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en la muestra de la Cueva del Cuélebre.

Cueva del Cuélebre										
Muestra	207/206Pb	2 $\sigma$	208/206Pb	2 $\sigma$	206/204Pb	2 $\sigma$	207/204Pb	2 $\sigma$	208/204Pb	2 $\sigma$
Puñalito	<b>0.6134</b>	0.0001	<b>1.4712</b>	0.0003	<b>26.161</b>	0.015	<b>16.0472</b>	0.0093	<b>38.487</b>	0.025

Tabla D.36. Relaciones isotópicas de plomo encontradas en la muestra del depósito de Gueraño.

Depósito de Gueraño										
Muestra	207/206Pb	2 $\sigma$	208/206Pb	2 $\sigma$	206/204Pb	2 $\sigma$	207/204Pb	2 $\sigma$	208/204Pb	2 $\sigma$
Hacha	<b>0.7515</b>	0.0001	<b>1.8321</b>	0.0002	<b>21.0183</b>	0.0093	<b>15.7961</b>	0.0074	<b>38.507</b>	0.019

## Análisis por LA-MC-ICP-MS

El uso de la ablación láser acoplada a espectrometría de masas como técnica de análisis directo de sólidos está ganando cada vez más adeptos en el mundo de la arqueometría, ya que facilita el análisis de la muestra sólida sin apenas alteración de la misma, al contrario de lo que ocurre con el análisis en disolución. De esta manera, para el análisis de los artefactos de cobre en estudio no fue necesario ningún tipo de tratamiento previo, ya que pequeñas esquirlas de las muestras disponibles se depositaron sobre vidrios portamuestras y se colocaron directamente en la cámara de ablación para su posterior análisis.

No todas las muestras pudieron ser analizadas mediante ablación láser debido a la baja cantidad disponible, solamente fueron analizadas las muestras: AS-1, 3, 9, 11, 12, 13 y 14 del depósito de Asiego y las muestras G-5 y 8 del depósito de Gamonedo.

### • Metodología de medida

Al comienzo de la sesión de medida se optimizó el acoplamiento LA-MC-ICP-MS para una máxima sensibilidad de las señales de plomo (C.1.2). Estas muestras se analizaron de manera análoga a los minerales de cobre de la mina La Profunda. Conviene recordar que la introducción de una disolución de talio para la corrección interna de la discriminación de masas fue posible gracias a una pieza de cuarzo en forma de Y (Figura D.51). El análisis bajo se llevó a cabo bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.37.

**Tabla D.37. Parámetros instrumentales para la medida de relaciones isotópicas de plomo en el equipo MC-ICP-MS mediante ablación láser.**

<b>Parámetros instrumentales MC- ICP-MS</b>	
Potencia RF aplicada	1200 W
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>
Flujo de gas portador	0.810 L·min <sup>-1</sup>
Flujo de gas auxiliar	0.55 L·min <sup>-1</sup>
Tiempo de integración	0.131 s
Número de ciclos	400
Número de bloques	1

<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS</b>						
<b>L3</b>	<b>L2</b>	<b>L1</b>	<b>C</b>	<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>
<sup>202</sup> Hg <sup>+</sup>	<sup>203</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>204</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>205</sup> Tl <sup>+</sup>	<sup>206</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>207</sup> Pb <sup>+</sup>	<sup>208</sup> Pb <sup>+</sup>
		<sup>204</sup> Hg <sup>+</sup>				

<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS</b>	
Energía del láser (5.6 mJ máx.)	100 %
Frecuencia de repetición	10 Hz
Tamaño del haz láser	200 μm
Disparos (“Bursts”)	100
Flujo de Helio	0.4 L·min <sup>-1</sup>

- **Cálculo de las relaciones isotópicas, corrección de interferencias espectrales y corrección de la discriminación de masas**

El cálculo de las relaciones isotópicas, la corrección de interferencias espectrales de mercurio y la corrección de la discriminación de masas se llevaron a cabo análogamente al procedimiento desarrollado para la medida de las relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre. A modo de recordatorio: las relaciones isotópicas se calcularon mediante regresión lineal de las señales de interés a lo largo de todo el análisis, la corrección de la interferencia del  $^{204}\text{Hg}$  sobre  $^{204}\text{Pb}$  se llevó a cabo matemáticamente y la corrección interna de la discriminación de masas fue posible gracias a la introducción de una disolución de talio a través de una pieza de cuarzo en forma de Y, y escogiendo la ecuación de Russell como expresión para el cálculo del factor de discriminación de masas ( $f$ ).

- **Resultados**

En el presente trabajo se propone una metodología para el análisis directo de las esquirlas procedentes de los artefactos arqueológicos mediante ablación láser MC-ICP-MS como alternativa al análisis en disolución. Aunque el análisis en disolución mediante MC-ICP-MS tras la separación del plomo de su matriz concomitante es el procedimiento generalmente aceptado, requiere largos tiempos de preparación de muestra y el gasto de resinas quelantes, reactivos y material exhaustivamente lavado. Para evaluar la viabilidad de este nuevo procedimiento basado en el análisis directo del sólido mediante LA-MC-ICP-MS y la corrección de la discriminación de masas a través de una disolución de talio nebulizada en continuo durante todo el proceso de ablación, se analizaron las esquirlas metálicas de 9 de los artefactos arqueológicos disponibles.

Se realizaron 6 réplicas por cada muestra en modo de ablación de puntos. Las relaciones isotópicas de plomo se calcularon por regresión lineal y los resultados obtenidos se muestran en las Tabla D.38 a Tabla D.40, en las que las incertidumbres se expresan como el doble de la desviación estándar para n=6.

**Tabla D.38. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS.**

<b>Relación <math>^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}</math></b>				
<b>Muestra</b>	<b>Ablación láser</b>	<b>2<math>\sigma</math></b>	<b>Disolución</b>	<b>2</b>
AS-1	<b>0.5406</b>	0.0035	<b>0.5389</b>	0.0001
AS-3	<b>0.4815</b>	0.0006	<b>0.4813</b>	0.00004
AS-9	<b>0.583</b>	0.015	<b>0.5792</b>	0.0001
AS-11	<b>0.7276</b>	0.0025	<b>0.7278</b>	0.0001
AS-12	<b>0.4548</b>	0.0037	<b>0.4551</b>	0.0001
AS-13	<b>0.7179</b>	0.0007	<b>0.7174</b>	0.0001
AS-14	<b>0.5825</b>	0.0020	<b>0.5836</b>	0.0001
G-5	<b>0.6747</b>	0.0026	<b>0.6758</b>	0.0001
G-8	<b>0.8002</b>	0.0033	<b>0.7980</b>	0.0001
<b>Relación <math>^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}</math></b>				
<b>Muestra</b>	<b>Ablación láser</b>	<b>2<math>\sigma</math></b>	<b>Disolución</b>	<b>2</b>
AS-1	<b>1.2710</b>	0.0062	<b>1.2757</b>	0.0004
AS-3	<b>1.1219</b>	0.0044	<b>1.1251</b>	0.0002
AS-9	<b>1.3735</b>	0.0154	<b>1.3808</b>	0.0002
AS-11	<b>1.7635</b>	0.0036	<b>1.7697</b>	0.0003
AS-12	<b>1.0526</b>	0.0060	<b>1.0568</b>	0.0002
AS-13	<b>1.735</b>	0.011	<b>1.7425</b>	0.0004
AS-14	<b>1.385</b>	0.012	<b>1.3929</b>	0.0002
G-5	<b>1.6268</b>	0.0077	<b>1.6338</b>	0.0003
G-8	<b>1.922</b>	0.060	<b>1.9536</b>	0.0002

Tabla D.39. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS.

Relación $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$				
Muestra	Ablación láser	$2\sigma$	Disolución	$2\sigma$
AS-1	29.96	0.87	30.188	0.017
AS-3	34.24	0.12	34.247	0.011
AS-9	27.5	2.3	27.9040	0.0094
AS-11	21.779	0.088	21.7562	0.0086
AS-12	36.33	0.52	36.432	0.019
AS-13	22.133	0.025	22.101	0.011
AS-14	27.72	0.23	27.6602	0.0080
G-5	23.67	0.12	23.577	0.011
G-8	19.63	0.21	19.7123	0.0064
Relación $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$				
Muestra	Ablación láser	$2\sigma$	Disolución	$2\sigma$
AS-1	16.21	0.32	16.269	0.011
AS-3	16.487	0.047	16.4834	0.0060
AS-9	16.01	0.85	16.1612	0.0064
AS-11	15.848	0.071	15.8343	0.0073
AS-12	16.53	0.24	16.5809	0.0085
AS-13	15.890	0.029	15.8555	0.0090
AS-14	16.150	0.089	16.1428	0.0053
G-5	15.971	0.044	15.9336	0.0084
G-8	15.71	0.12	15.7307	0.0053



**Tabla D.40. Comparación de las relaciones isotópicas de plomo mediante LA-MC-ICP-MS y MC-ICP-MS.**

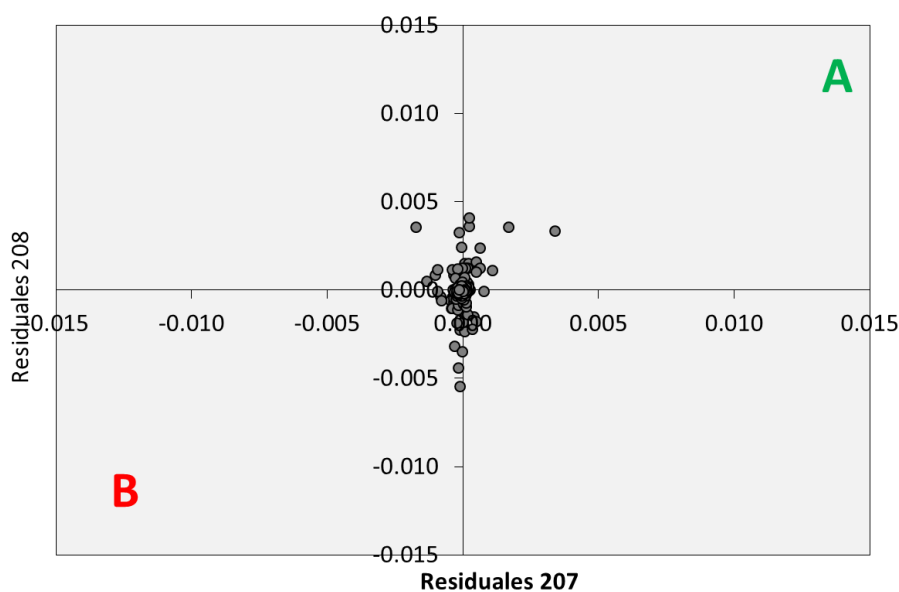
Relación $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$				
Muestra	Ablación láser	$2\sigma$	Disolución	$2\sigma$
AS-1	<b>38.1</b>	1.3	<b>38.513</b>	0.033
AS-3	<b>38.42</b>	0.19	<b>38.530</b>	0.016
AS-9	<b>38.451</b>	0.086	<b>38.531</b>	0.018
AS-11	<b>38.41</b>	0.15	<b>38.502</b>	0.020
AS-12	<b>38.26</b>	0.43	<b>38.501</b>	0.022
AS-13	<b>38.40</b>	0.23	<b>38.511</b>	0.029
AS-14	<b>38.39</b>	0.26	<b>38.527</b>	0.013
G-5	<b>38.51</b>	0.14	<b>38.521</b>	0.022
G-8	<b>37.7</b>	1.4	<b>38.510</b>	0.015

Los resultados obtenidos tras el análisis de las esquilas metálicas mediante LA-MC-ICP-MS son concordantes con los obtenidos mediante análisis en disolución por MC-ICP-MS dentro de las incertidumbres de la medida. Cabe destacar que las incertidumbres experimentales son mucho mayores en el caso de la ablación láser debido al hecho de que no se puede ajustar la concentración de plomo en cada muestra como se ha hecho para los análisis en disolución. De cualquier manera, esto hace de la metodología de ablación láser propuesta una potente herramienta alternativa al análisis en disolución para la medida de relaciones isotópicas de plomo en muestras sólidas de alto valor añadido y cuya integridad no debe ser alterada durante el análisis.

El uso de la ablación láser permite evaluar el carácter de la huella isotópica de plomo en sólidos. Como se ha discutido anteriormente para el caso de los minerales de malaquita, azurita y zeunerita procedentes de la Mina La Profunda, el análisis por

ablación láser permitió demostrar que la huella isotópica de plomo de dichos minerales estaba compuesta por al menos dos tipos diferentes de plomo, que denotamos como A y B.

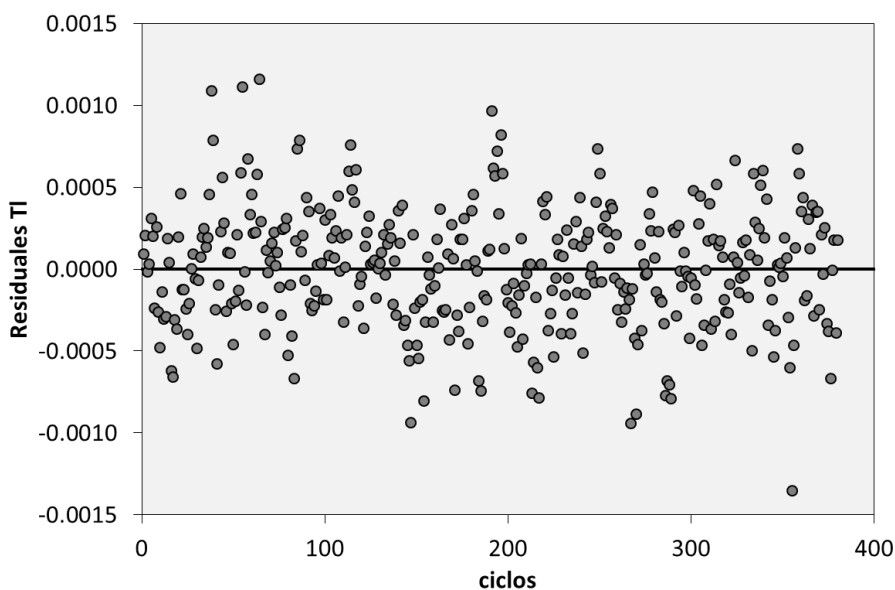
En el caso concreto de las esquirlas procedentes de estos nueve artefactos arqueológicos del oriente de Asturias no se observó dicha característica. El estudio de los errores residuales de las señales a las masas 207 y 208 mostró la presencia de un único tipo de plomo en estas muestras. Como ejemplo, en la Figura D.88 se ilustra la distribución aleatoria en torno al origen de coordenadas de los errores residuales de 207 y 208 en uno de los puntos de ablación sobre las esquirlas.



**Figura D.88. Residuales de 207 y 208 durante la ablación de una esquirla tipo.**

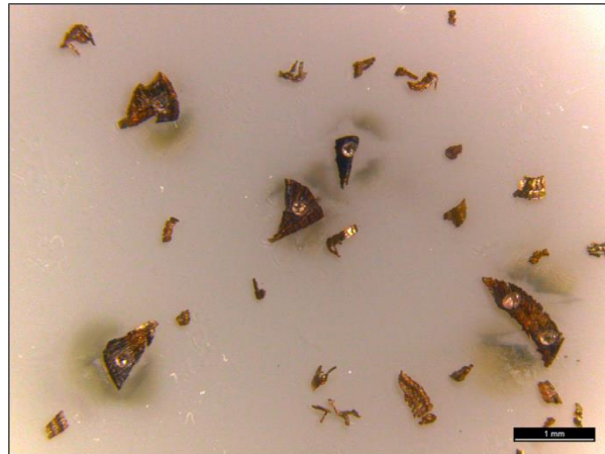
Además, para la totalidad de las muestras analizadas la representación de las señales de las masas 207 y 208 frente 206 a lo largo de todo el proceso de ablación se distribuye idealmente en torno a una recta sin desviación aparente.

Por su parte, la evaluación de los errores residuales del talio a lo largo de todo el proceso de ablación mostró una distribución totalmente aleatoria de los mismos, indicativo de que la discriminación de masas permanece constante durante el tiempo que dura el análisis. En la Figura D.89 se ilustran los errores residuales correspondientes a una de las esquirlas analizadas.



**Figura D.89. Residuales de TI durante el proceso de análisis de una esquirola.**

En la Figura D.90 se ilustra el aspecto de las esquirlas de la muestra AS-11 tras su análisis por ablación láser. En ella se puede observar la huella dejada por el láser tras el análisis de cada esquirola.

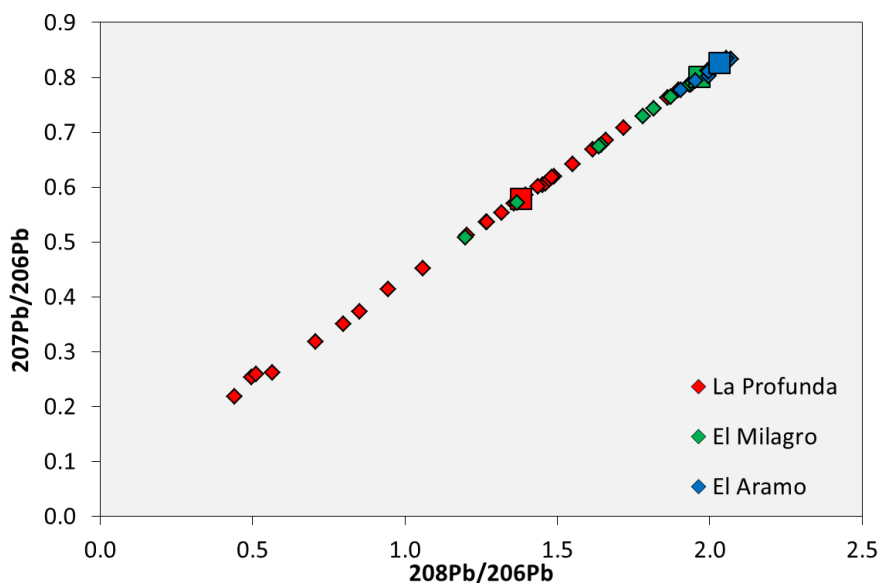


**Figura D.90. Aspecto de las esquirlas de la muestra AS-11 tras el análisis por LA-MC-ICP-MS.**

## Elucidación de la procedencia de las 27 muestras arqueológicas

Además de desarrollar una nueva metodología de medida de relaciones isotópicas de plomo en muestras arqueológicas mediante ablación láser MC-ICP-MS, el objetivo final del presente trabajo consiste en aplicar dicha metodología al campo de la arqueometría y arqueometalurgia, y más concretamente a la elucidación de la procedencia de los 27 artefactos metálicos encontrados en el oriente asturiano en forma de pequeños tesorillos en Asiego, Gamonedo, Corao y Gueraño. Sin embargo, como el análisis mediante ablación láser no se pudo llevar a cabo para todas las muestras, se tomaron los resultados obtenidos en el análisis en disolución para el estudio de procedencia de dichos artefactos.

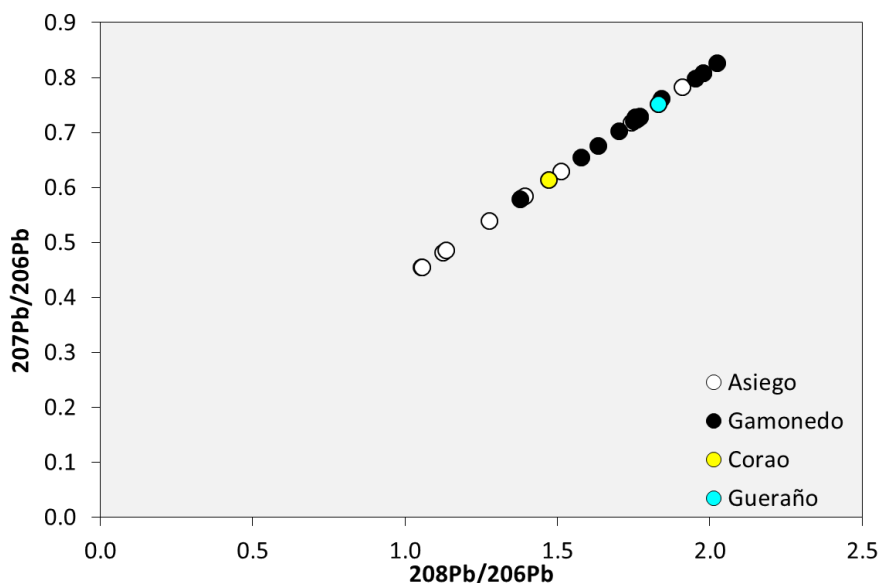
Como principales productoras de cobre de la edad antigua en el norte peninsular y debido a su cercanía a las localizaciones donde se encontraron los diferentes tesorillos, las minas de El Aramo (Riosa, Asturias), El Milagro (Onís, Asturias) y La Profunda (Cármenes, León) se erigen como las candidatas perfectas a la hora de elucidar el posible origen de los artefactos arqueológicos encontrados en el oriente de Asturias. El marcado carácter radiogénico del plomo de estos yacimientos es además una variable crucial a la hora de designar una posible procedencia de las citadas muestras. En la Figura D.91 se ilustra la huella isotópica de plomo de estas tres minas obtenida tras el análisis de muestras de azurita y malaquita de cada una de ellas [252]. En ella se muestran junto con los datos individuales de cada muestra la mediana de cada conjunto de muestras en forma de cuadrados. La huella de plomo de estos tres yacimientos se caracteriza por un marcado carácter radiogénico, siendo el plomo de la mina de La Profunda el que presenta valores menores de sus relaciones  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , lo que denota a una alta presencia del isótopo  $^{206}\text{Pb}$ . Además, estas relaciones isotópicas cubren un amplio rango de valores, hecho que se atribuye generalmente a la presencia de uranio en el interior del yacimiento, y que en el caso de esta mina está más que probada por la existencia de minerales de uranio como la zeunerita, la uraninita o la torbernita.



**Figura D.91. Representación de las relaciones isotópicas  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  de las minas de El Aramo, El Milagro y La Profunda.**

Para decir que una muestra es concordante con un yacimiento y postular a éste como una posible localización de procedencia de la misma, la marca isotópica de plomo de dicha muestra debe situarse dentro del rango de valores de relaciones isotópicas del yacimiento en cuestión. Si la composición isotópica de plomo de la muestra no cae dentro del intervalo del yacimiento se debe negar categóricamente cualquier relación entre la muestra y el yacimiento.

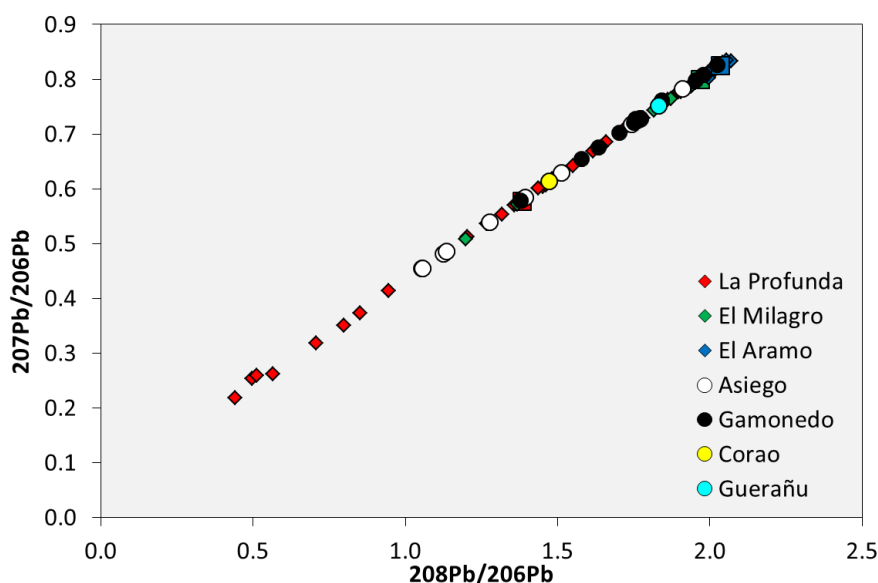
Si se enfrentan las relaciones  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  obtenidas para las 27 muestras arqueológicas, se obtiene una representación como la que se ilustra en la Figura D.92. Como ya se había considerado a la vista de los resultados recogidos en las Tabla D.32 a Tabla D.36, el plomo de algunas de las hachas de Asiego presentan un carácter más radiogénico que las muestras procedentes de los otros tres depósitos, y con valores que cubren un amplio intervalo.



**Figura D.92. Representación de las relaciones isotópicas  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  de los artefactos arqueológicos de Asiego, Gamonedo, Corao y Gueraño.**

Las muestras de Gamonedo también muestran un amplio intervalo de valores de las relaciones isotópicas de plomo, siendo las muestras G-2 y G-7 las que se sitúan en la parte más alta de la gráfica, correspondiéndose así con los valores de plomo menos radiogénicos. Por su parte, las muestras de Corao y Gueraño se encuentran entremedias de los depósitos de Asiego y Gamonedo.

Representando los valores de la huella isotópica de estos artefactos arqueológicos junto con los valores que caracterizan a cada una de las tres minas de El Aramo, El Milagro y La Profunda se obtiene una gráfica como la que se ilustra en la Figura D.93. En ella se puede observar cómo la huella isotópica de los 27 artefactos cae dentro del intervalo que caracteriza a los tres yacimientos, por lo que la composición isotópica de artefactos y yacimientos es coherente, lo que permite postular de manera fiable a estas tres minas como posibles puntos de extracción del mineral con el que se fabricaron los diferentes artefactos.



**Figura D.93. Representación de las relaciones isotópicas  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  frente a  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  de los 27 artefactos arqueológicos y los tres posibles yacimientos de origen.**

De esta manera, se podría llegar a concluir que ya en la antigüedad existían importantes vías para el transporte y posible comercio de metales entre la zona oriental de la región asturiana y la zona norte leonesa. Apenas 200 km separarían la mina leonesa de La Profunda de los depósitos donde fueron encontrados estos pequeños tesorillos, y aún mucha menos distancia separa estos depósitos de las minas asturianas de El Aramo (Riosa) y EL Milagro (Onís), cuyo perceptible carácter uranogénico dejó una huella palpable en cada uno de estos artefactos.



## Conclusiones

Como se ha dejado patente a lo largo de todo este capítulo, la evaluación de las relaciones isotópicas de plomo supone una herramienta fundamental en estudios de procedencia de minerales y artefactos arqueológicos. Generalmente, éstas suelen ser muestras de un alto valor histórico, por lo que el análisis de las mismas debe conllevar el menor desgaste posible. De esta manera, la metodología basada en el análisis por ablación láser MC-ICP-MS aquí propuesta facilita el estudio de estas muestras sin apenas alteración física de las mismas y con resultados análogos a los obtenidos mediante el hasta ahora universalmente aceptado análisis en disolución mediante MC-ICP-MS. Una vez caracterizada la huella isotópica de plomo de las esquirlas procedentes de los diferentes artefactos arqueológicos, su comparación con la composición isotópica de las minas de El Aramo, El Milagro y La Profunda resultó satisfactoria, postulando a estas minas como posibles puntos de extracción del mineral que constituye dichos artefactos. El empleo del cobre por las diferentes civilizaciones a lo largo de la historia pone de manifiesto la importancia de dicho metal. Prueba de ello es la Figura D.94, en la que se ilustra la restauración de un cuchillo de cobre encontrado en el yacimiento arqueológico de La Bastida (Murcia), capital de la cultura argárica.



**Figura D.94. Restauración de una pieza de cobre del yacimiento de La Bastida [261].**



## Capítulo 3. Huella isotópica de estroncio como indicador de procedencia

Chernóbil: una desafortunada huella de  $^{90}\text{Sr}$ .

Accidente nuclear más grave de la historia.

Si bien es cierto el potencial de los isótopos estables del estroncio como indicadores de las costumbres de vida, procedencia y movilidad de las poblaciones humanas y animales, el  $^{90}\text{Sr}$  se fija como huella radiactiva en aquellos individuos que encuentra a su paso. Aunque tras el desgraciado accidente de la central nuclear ucraniana en 1986 todas las miradas se centraban en la evaluación de daños producidos por el  $^{131}\text{I}$ , actualmente la preocupación se centra ahora en la contaminación por  $^{90}\text{Sr}$  y  $^{137}\text{Cs}$ . Ambos presentan tiempos de vida media en torno a los 30 años, justamente el tiempo que ha pasado desde su liberación. Estas especies altamente radiactivas se depositan en el suelo, donde son absorbidos por plantas e insectos entrando a formar parte de la cadena alimenticia. De esta manera, el  $^{90}\text{Sr}$  al igual que sus parientes estables, se va acumulando en tejidos óseos reemplazando a los cationes de calcio, prolongando así la exposición a la radiación y provocando desórdenes como el cáncer de huesos.



## Estroncio

El estroncio, metal alcalino de número atómico 38, debe su nombre a la localidad escocesa de Strontian (Sròn y t-Sithein). A finales del siglo XVIII esta pequeña población era conocida por sus minas de plomo, y fue en ellas donde el químico irlandés Adair Crawford descubrió un mineral extraño: la estroncianita ( $\text{SrCO}_3$ ), en cuya composición señaló la presencia de un elemento hasta entonces desconocido y que designó como estroncio. Pocos años después el científico escocés Thomas Charles Hope corroboró la existencia de este nuevo elemento, mientras que el químico inglés Sir Humphry Davy fue capaz de aislarlo mediante electrólisis [262].

El estroncio es un elemento blando de apariencia plateada que no se encuentra nativo en la naturaleza sino en estado de oxidación +2, debido a su alta reactividad frente a oxígeno y agua. Supone el 0.02-0.03 % de la corteza terrestre, donde se encuentra principalmente como celestina ( $\text{SrSO}_4$ ) y estroncianita ( $\text{SrCO}_3$ ), ocurriendo de manera muy minoritaria en rocas sedimentarias asociado a yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), anhidrita ( $\text{CaSO}_4$ ), halita ( $\text{NaCl}$ ), caliza ( $\text{CaCO}_3$ ) y dolomita ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ) [263]. Los océanos son los mayores depósitos de estroncio en disolución del planeta.

No juega ningún papel biológico en los humanos pero tampoco se considera tóxico. Sin embargo, su isótopo radiactivo  $^{90}\text{Sr}$  producido en reacciones nucleares es particularmente peligroso por su fácil penetración en los huesos [264]. Los compuestos de estroncio se utilizan en un amplio conjunto de sectores como la electrónica, las telecomunicaciones y la informática, pasando por la metalurgia, cerámica e incluso en aplicaciones médicas. Sus sales son también utilizadas para generar colores rojizos en los fuegos artificiales [263].

## Variabilidad natural del estroncio como sello de origen

Hasta el momento ya se han descubierto un total de 35 isótopos de estroncio en el rango de  $A = 73-107$  [265], dentro de los cuales tan sólo los cuatro que se encuentran en la Tabla D.41 son naturales.

**Tabla D.41. Abundancias naturales de los isótopos de estroncio [4].**

Isótopo	$^{84}\text{Sr}$	$^{86}\text{Sr}$	$^{87}\text{Sr}$	$^{88}\text{Sr}$
Abundancia (%)	0.56	9.86	7.00	82.58

Aunque estos cuatro isótopos son estables, la abundancia natural del  $^{87}\text{Sr}$  varía debido al decaimiento radiactivo del núcleo  $^{87}\text{Rb}$ , que tiene una vida media ( $\tau$ ) de  $48.8 \times 10^9$  años. Si rubidio y estroncio se incorporan a una roca o mineral durante su formación y el sistema permanece cerrado con respecto a estos elementos, entonces la cantidad de  $^{87}\text{Sr}$  aumentará con el tiempo como resultado del decaimiento de  $^{87}\text{Rb}$ , mientras que las cantidades de  $^{84}\text{Sr}$ ,  $^{86}\text{Sr}$  y  $^{88}\text{Sr}$  se mantendrán constantes. Este hecho da como resultado una amplia variabilidad natural de la huella isotópica de estroncio. Si se evalúa la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , en la que los isótopos involucrados tienen una abundancia natural similar, su valor primordial en el momento de la formación de la Tierra se considera similar al de los meteoritos: 0.699. Desde ese momento la evolución isotópica del estroncio en un lecho geológico determinado evoluciona proporcionalmente a su relación Rb/Sr [266]. De esta manera, las rocas antiguas presentarán valores altos con respecto a los encontrados en rocas más jóvenes con una misma relación Rb/Sr inicial. Así, las rocas compuestas por minerales con una alta relación Rb/Sr, como los granitos de la corteza continental, tendrán una relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  más radiogénica que las de las rocas con una baja relación Rb/Sr, como los

basaltos oceánicos [267]. Por lo tanto, la evaluación de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en materiales geológicos supone una potente herramienta indicadora tanto de su origen geoquímico como de su edad. Las relaciones isotópicas típicas del estroncio en distintos materiales se recogen en la Tabla D.42.

**Tabla D.42. Valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en materiales geológicos, medioambientales y de referencia [267], [268].**

<b>Material</b>	<b>Valor <math>^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}</math></b>
Primordial (meteoritos)	0.699
Basaltos oceánicos	0.702 – 0.706
Rocas graníticas	0.710 – 0.750
Calizas	0.706 – 0.709
Rocas sedimentarias	0.710 – 0.730
Agua de mar moderna	$0.70906 \pm 0.00033$
Agua de río	0.704 – 0.943
NIST SRM 987 ( $\text{SrCO}_3$ )	$0.71034 \pm 0.00026$

Las metodologías basadas en la huella isotópica de estroncio gozan de gran popularidad en el campo de la geoquímica y en estudios medioambientales. La composición isotópica de estroncio es útil en estratigrafía para la datación y correlación de sedimentos [269], en el estudio de la dinámica y la evolución magmática [270] y en estudios hidrológicos [271]. En todo caso, el principio sobre el que se apoya el uso de la huella isotópica de estroncio reside en que la composición isotópica de estroncio en la matriz en estudio es idéntica a la del lecho geológico al que pertenece o del que deriva, ya que el fraccionamiento de los isótopos de estroncio en la naturaleza se considera casi despreciable [272].

Del mismo modo, la huella isotópica de estroncio es muy útil en arqueología y antropología. La composición isotópica de un determinado lecho geológico depende de las rocas que lo componen y de su edad. Por continuos procesos de erosión y desgaste, las rocas se descomponen y su huella isotópica pasa al suelo, desde donde es absorbido por la vegetación. Aunque el estroncio no es necesario para el crecimiento de las plantas, el similar radio iónico de los cationes  $\text{Sr}^{2+}$  (1.18 Å) y  $\text{Ca}^{2+}$  (1.00 Å), hace que el estroncio acompañe al calcio en su trayectoria en plantas y árboles, entrando así en la cadena trófica al servir estas plantas como alimento de animales, y éstos, como alimento de seres humanos [267], como se puede ver en la Figura D.95.



Figura D.95. Movilidad del estroncio en el medioambiente.

El estroncio sustituye al calcio en huesos y dientes, cuyo principal componente mineral es la hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) [273]. El estroncio se deposita así en los cristales de hidroxiapatita, por lo que la composición isotópica de estroncio en los huesos y en el esmalte de los dientes reflejará la composición del agua, plantas y animales consumidos en la dieta habitual de cada individuo [274]. A diferencia del tejido óseo que se regenera continuamente incorporando así estroncio de manera regular, el



esmalte dental no absorbe elementos tras su formación durante la niñez [275]. De esta manera, la comparación entre la huella isotópica encontrada en huesos y esmalte dental de un mismo individuo permite conocer tanto sus hábitos alimenticios como posibles movimientos migratorios desde su niñez hasta la vida adulta [276]. Así, la evaluación de la composición isotópica de estroncio junto con la huella de plomo aportan información muy fiable a la hora de trazar patrones de movilidad poblacionales [277]. Bajo esta misma premisa, la composición isotópica de estroncio en restos óseos o fragmentos dentales en la escena de un crimen o en depósitos funerarios es pieza clave para estudios forenses cuando es necesaria la diferenciación entre individuos [278]. En este contexto es imprescindible hacer referencia a la diagénesis: conjunto de procesos físicos, químicos y biológicos que altera las propiedades químicas y/o estructurales de un material tras su deposición, y que serán responsables de su preservación o destrucción [279]. Para eliminar cualquier alteración de estos restos debida a su entorno arqueológico es necesario un pretratamiento de las muestras antes de su análisis.

Al igual que ocurre en los huesos y dientes, el estroncio sustituye al calcio en los otolitos, conchas y caparazones de animales marinos. La tasa de incorporación de estroncio en estos tejidos es fiel reflejo de las condiciones de las aguas (pH, salinidad, temperatura,...) en las que habitan, por lo que un estudio exhaustivo de estas piezas permite conocer las rutas migratorias de las diferentes especies así como cambios notables en las condiciones marinas [280]. Igualmente, la composición isotópica de estroncio depositada en el pelo humano es espejo de las condiciones ambientales y de contaminación a las que fue expuesto un individuo a lo largo de su vida [281].

Del mismo modo, dado que los alimentos evidencian las condiciones del medio donde fueron producidos, la huella isotópica de estroncio es una herramienta poderosa a la hora de autentificar el origen inequívoco de los mismos [282].

## Problemática Sr-Rb en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en análisis directo por LA-ICP-MS

En definitiva, la composición isotópica de estroncio funciona como un archivo de los hábitos de vida de un individuo y actúa como registro de los cambios en el ambiente que lo rodea. A la hora de calcular la relación isotópica  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en muestras sólidas, la presencia de rubidio en la matriz de las mismas se presenta como principal inconveniente. El rubidio, que comparte isótopo con el estroncio a la masa 87, supone la interferencia isobárica más típicamente encontrada en muestras geológicas.

Para minimizar la contribución de esta interferencia durante el análisis de muestras sólidas es necesaria una separación previa del estroncio de su matriz circundante, que se suele llevar a cabo a través de separación por cromatografía líquida [283], o bien mediante el uso de resinas quelantes [284]. Con la aparición de los nuevos ICP-MS de triple cuadrupolo este proceso de acondicionamiento de la muestra queda relegado a un segundo plano. En el trabajo presentado por Bolea-Fernandez y colaboradores [285], el empleo de una mezcla de fluorometano ( $\text{CH}_3\text{F}$ ) y helio como gases de reacción parece eliminar de manera eficiente todas aquellas especies que puedan interferir al análisis isotópico del estroncio. Una precisión mejor del 0.05 % (RSD) junto con el inexistente tratamiento previo de muestra, auguran para esta técnica un futuro muy prometedor en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras complejas.

Sin embargo, el análisis directo de los sólidos sigue teniendo que enfrentarse a la interferencia producida por la presencia de rubidio en la matriz. Dado que el cambio en las condiciones ambientales o en los hábitos de vida de un sujeto o un animal suele reflejarse en una acumulación específica de estroncio en sus huesos, dientes, otolitos o concha, un análisis en disolución de este tipo de muestras provocaría una pérdida incalculable de información a escala micrométrica. En este sentido, el análisis directo

de sólidos mediante LA-ICPMS cobra especial importancia, ya que permite obtener fiel testimonio de los procesos acaecidos en el entorno del individuo en función del tiempo y de su edad. De esta manera, es de vital necesidad el desarrollo de metodologías que corrijan de manera efectiva la presencia de rubidio en muestras sólidas para el análisis directo de la huella isotópica de estroncio.

De forma habitual, la interferencia de rubidio se corrige matemáticamente restando la contribución de rubidio a la señal de la relación  $m/z=87$  haciendo uso de la intensidad del isótopo  $^{85}\text{Rb}$  y de las abundancias isotópicas naturales de  $^{85}\text{Rb}$  y  $^{87}\text{Rb}$ . Esta metodología ha sido ampliamente descrita por varios autores que señalan buenos resultados cuando la relación  $\text{Sr/Rb}$  en material es de 500 [286], 7.14 [287] o incluso de 5 [288]. Generalmente, esta metodología de corrección funciona bien en materiales ricos en estroncio pero pobres en rubidio, y suponiendo además que la discriminación de masas para el rubidio funciona igual que para el estroncio [289]. Sin embargo, poco se ha discutido en la bibliografía sobre metodologías de corrección cuando la contribución de rubidio es alta.

Además del rubidio existe una serie de interferentes que pueden alterar la medida de las relaciones isotópicas de estroncio (Tabla A.1). Ejemplo de ello es la interferencia de  $^{86}\text{Kr}^+$  sobre la señal de  $^{86}\text{Sr}^+$ . El kriptón no suele estar presente en la matriz de muestra sino que acompaña al argón y helio empleados como gases portadores. Su contribución se suele corregir matemáticamente a través de la medida de la señal de  $^{83}\text{Kr}^+$  y usando las relaciones isotópicas naturales de los isótopos  $^{83}\text{Kr}$  y  $^{86}\text{Kr}$ . Como interferentes directamente ligados a la naturaleza de la matriz de muestra destacan las especies dímeras de calcio en aquellas matrices ricas en este mineral, y las especies doblemente cargadas de las tierras raras, cuya contribución se minimiza controlando directamente las condiciones de ionización del plasma para evitar su formación [290].



## I. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio con corrección de la discriminación de masas vía rubidio mediante LA-MC-ICP-MS

Rubidio, el elemento escondido en la lepidolita.

Aunque el rubidio no está relacionado con los rubíes, sus nombres derivan de la misma palabra latina *rubidus* que significa “rojo”. Su descubrimiento viene ligado al de la lepidolita, un filosilicato rico en litio y potasio que allá por la mitad del siglo XVIII guardaba secretamente en su interior el hasta entonces desconocido rubidio. Éste es un elemento que reacciona violentamente con el agua y que se suele almacenar en aceite mineral seco. El rubidio no desarrolla ningún papel biológico pero tampoco se considera tóxico. No suele tener mucha aplicación fuera del campo de la investigación, aunque dentro de éste juega un papel importante en la construcción de relojes atómicos, como los incluidos en los sistemas de posicionamiento global (GPS), y en la obtención de imágenes del corazón mediante tomografía por emisión de positrones.

## Fundamento de la metodología de medida propuesta

Ante la escasa bibliografía sobre la corrección de la interferencia de rubidio en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras sólidas mediante LA-MC-ICP-MS, resulta razonable pensar en el desarrollo de algún tipo de metodología que pueda corregir esta interferencia cuando la presencia de rubidio sea notable. Por ello, en este apartado se presenta una nueva metodología de corrección de dicha huella de rubidio combinando un nuevo proceder experimental junto con la regresión lineal múltiple como herramienta matemática.

Esta nueva metodología se basa en introducir un pulso de rubidio mediante nebulización convencional una vez finalizado el pulso generado por la ablación de la muestra en estudio. La introducción de este pulso de rubidio ayuda a minimizar la contribución del rubidio presente en la muestra cuando se aplica la regresión lineal múltiple para la medida de las relaciones isotópicas. Además, la presencia de tan alta contribución de rubidio ajena a la muestra permite evaluar la corrección de la discriminación de masas no sólo por referencia a  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  (modo clásico), sino también por referencia a la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ .

Ante la falta de muestras ricas en rubidio para evaluar la viabilidad de esta metodología, se decidió simular un “proceso de ablación” mediante el uso de una mezcla de disoluciones patrón de estroncio y rubidio en proporción equimolar, seguido del pulso de rubidio introducido también por nebulización convencional. De esta manera, mediante el análisis de esta muestra de relación  $\text{Sr}/\text{Rb} \approx 1$  se estudia una situación límite hasta ahora no contemplada en la literatura, donde los estudios más prometedores se han llevado a cabo en muestras con una relación de al menos  $\text{Sr}/\text{Rb} = 5$ [288].

El proceso de ablación de la muestra seguido del pulso de rubidio debería seguir un perfil como el que se muestra en la Figura D.96.

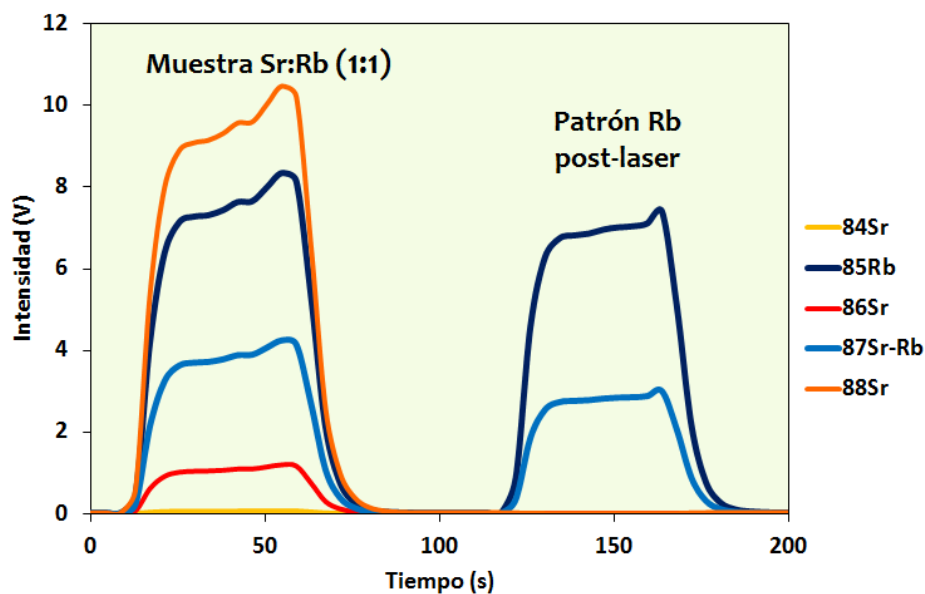


Figura D.96. Perfil de la “ablación líquida” seguido del pulso de rubidio en disolución.

Tras la adquisición de datos se corrige matemáticamente la contribución de  $^{86}\text{Kr}^+$  sobre la señal de  $^{86}\text{Sr}^+$  como ya se ha descrito con anterioridad, y el cálculo de las relaciones isotópicas se lleva a cabo mediante regresión lineal múltiple. Esto consiste en representar la intensidad de señal de un determinado isótopo a lo largo de todo el proceso de análisis, lo que incluye la zona de ablación de muestra, la zona del pulso de rubidio y las zonas en las que solamente se recoge la contribución de los gases de fondo; frente a la intensidad de señal de otro isótopo de interés en las mismas condiciones. De la pendiente de la recta de regresión entre ambas señales se saca la relación isotópica de esos dos isótopos en cuestión. Siguiendo esta metodología obtendremos representaciones como las que se muestran en la Figura D.97.

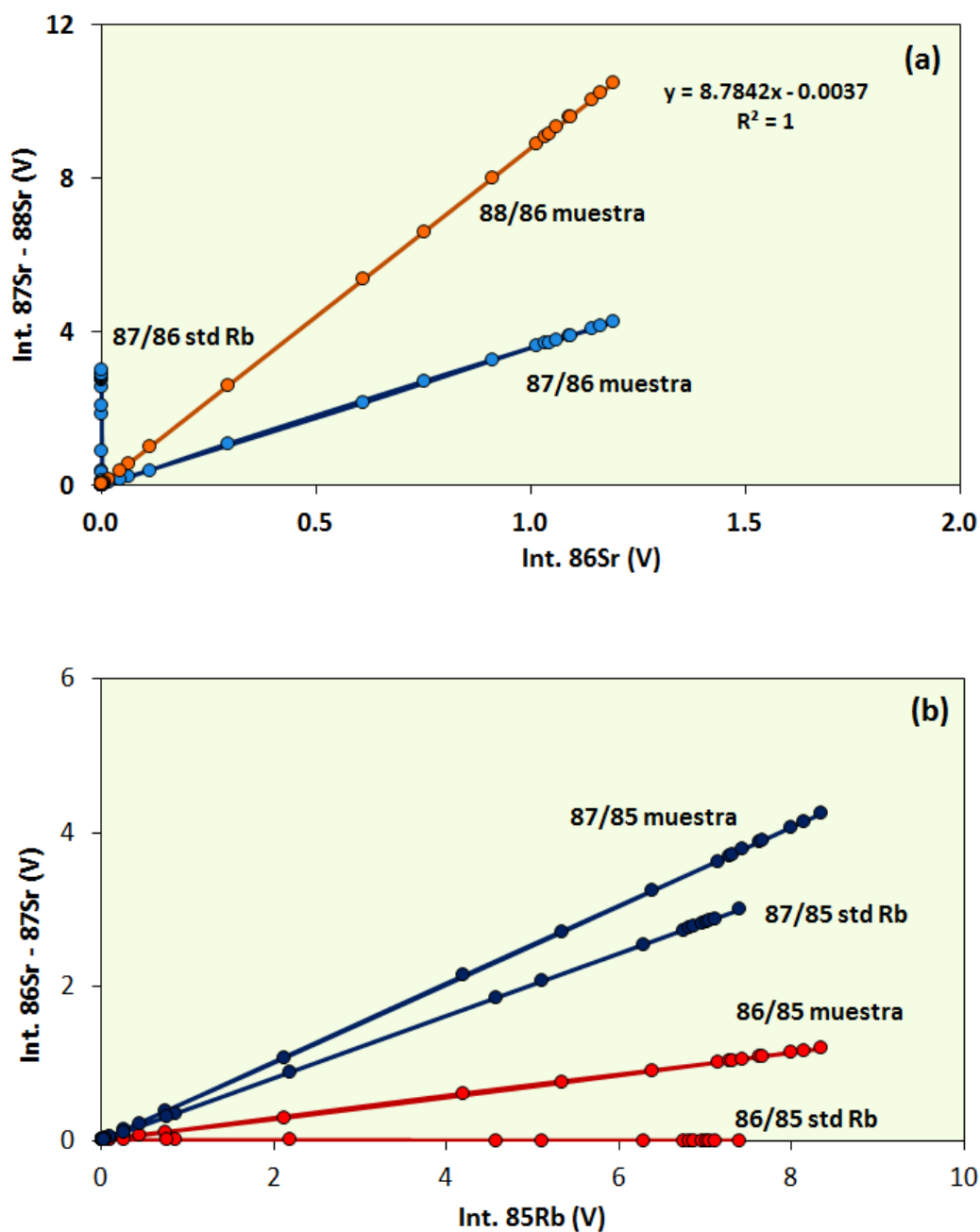


Figura D.97. Representación gráfica del cálculo de las relaciones isotópicas mediante regresión lineal múltiple.

En la gráfica (a) de la Figura D.97 se representa la correlación entre las señales de  $^{88}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Sr}$  de la muestra, que se distribuyen perfectamente a lo largo de una única recta de regresión. Por el contrario, la representación de la intensidad de señal a la  $m/z=87$  frente a la señal de  $^{86}\text{Sr}$  consta de dos rectas. Cada una de estas rectas se corresponde con un momento diferente durante la adquisición de datos: una de las rectas es la



correspondiente a la señal de la relación  $m/z=87$  en la muestra y la otra se corresponde con el valor de esta relación  $87/86$  en el patrón de rubidio, que como podemos comprobar se distribuye en torno al eje Y de ordenadas por carecer de contribución de la masa  $^{86}\text{Sr}$ . De manera análoga, en la gráfica inferior (b) la representación de la señal de  $m/z=87$  frente a  $^{85}\text{Rb}$  y de la señal  $^{86}\text{Sr}$  frente a  $^{85}\text{Rb}$  se distribuyen en torno a dos líneas como en el caso anterior.

Una vez calculadas las relaciones isotópicas de interés ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ,  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ ) se llevó a cabo la corrección interna de la discriminación de masas tomando como referencia la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  natural y la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  natural.

**Tabla D.43. Relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  obtenida tras corrección de la discriminación de masas por referencia a la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ .**

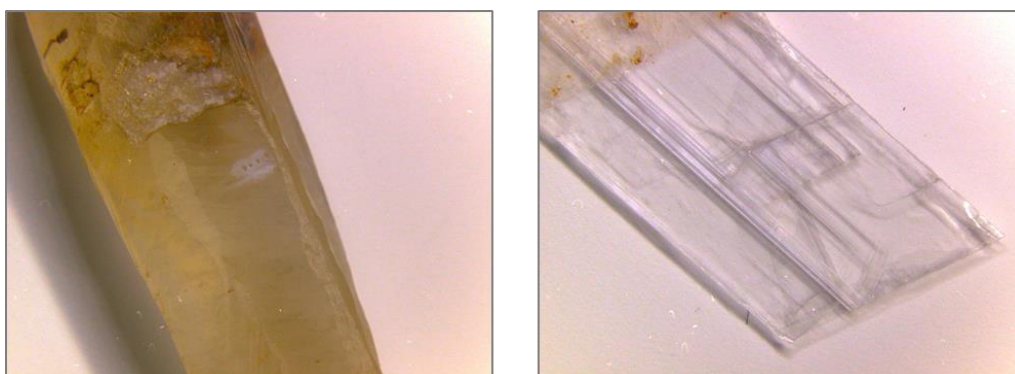
	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$		
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$
(1)	0.70884	0.00016	-2.05	0.70844	0.00022	-2.10
(2)	0.70830	0.00018	-2.05	0.70784	0.00023	-2.11
(3)	0.70860	0.00016	-2.05	0.70819	0.00022	-2.10
(4)	0.70828	0.00016	-2.05	0.70781	0.00022	-2.10
(5)	0.70856	0.00016	-2.05	0.70812	0.00022	-2.10
(6)	0.70843	0.00017	-2.04	0.70797	0.00022	-2.10

Como se recoge en la tabla, las relaciones isotópicas obtenidas por corrección en referencia a la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  son totalmente análogas, las incertidumbres asociadas a estas relaciones se encuentran en el mismo rango y la

discriminación de masas en ambos casos se coloca en torno a un valor equivalente al 2 %. A la vista de estos resultados, se decidió aplicar esta metodología a la ablación real de muestras minerales.

## Origen de las muestras

La aplicación de esta metodología de medida se llevó a cabo en una muestra de calcita y otra de yeso (*lapis specularis*) cuya apariencia se muestra en la Figura D.98. La muestra de calcita, forma más común del  $\text{CaCO}_3$ , fue recogida por el Profesor José Ignacio García Alonso en los alrededores de la ciudad de Oviedo. Por su parte, la muestra de *lapis specularis* es un tipo de yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) traslúcido ya empleado en la época de los romanos para fabricar ventanas, y que proviene de la Mina La Condenada en la provincia de Cuenca. Como se puede comprobar ambos minerales poseen calcio en su estructura, por lo que es de esperar que este calcio haya sido sustituido parcialmente por estroncio.



**Figura D.98. Muestras de calcita (izquierda) y *lapis specularis* (derecha) en estudio.**

## Procedimiento experimental

No es necesario ningún tipo de preparación previa de las muestras de calcita ni de *lapis specularis*, se colocan directamente en la cámara de ablación y se procede a su análisis bajo las condiciones que se presentan en la Tabla D.44. La nebulización de la disolución de rubidio tras el pulso de ablación láser se realiza a través de un montaje análogo al propuesto para la introducción de una disolución de talio para la corrección de la discriminación de masas de plomo en muestras sólidas (Figura D.51).

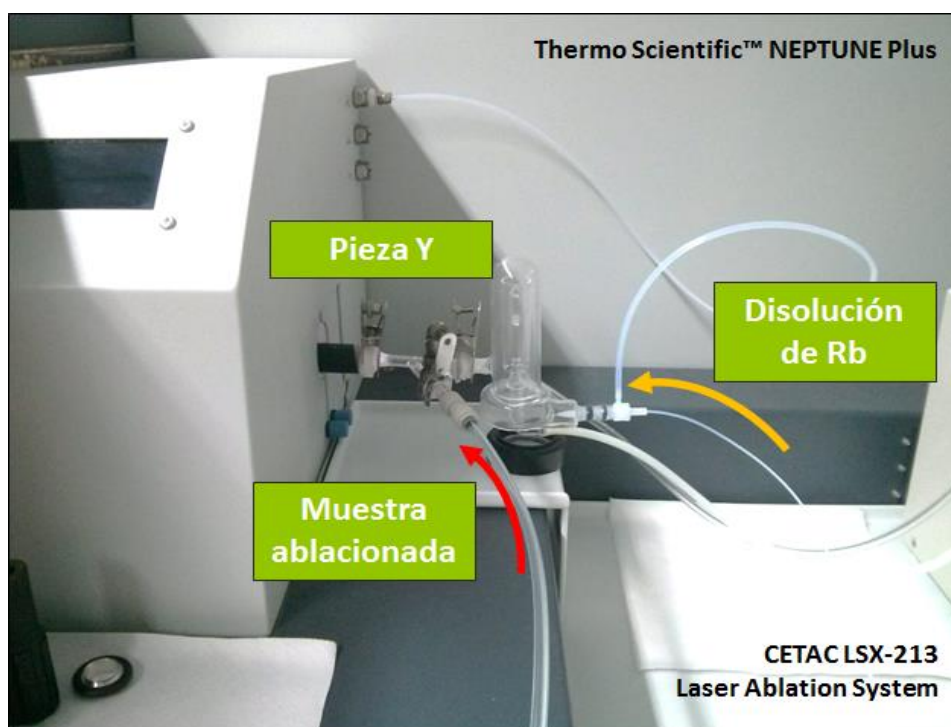


Figura D.99. Introducción de muestra sólida y disolución de rubidio mediante pieza en Y.

A diferencia de la metodología anteriormente propuesta para la introducción de talio, la disolución de rubidio no se nebuliza en continuo: durante el proceso de ablación de la muestra ( $\approx 50$  s) se hace pasar una disolución de  $\text{HNO}_3$  0.42 M y tras el pulso de ablación, una vez que la señal ha caído a nivel de línea de base, se incorpora el flujo de

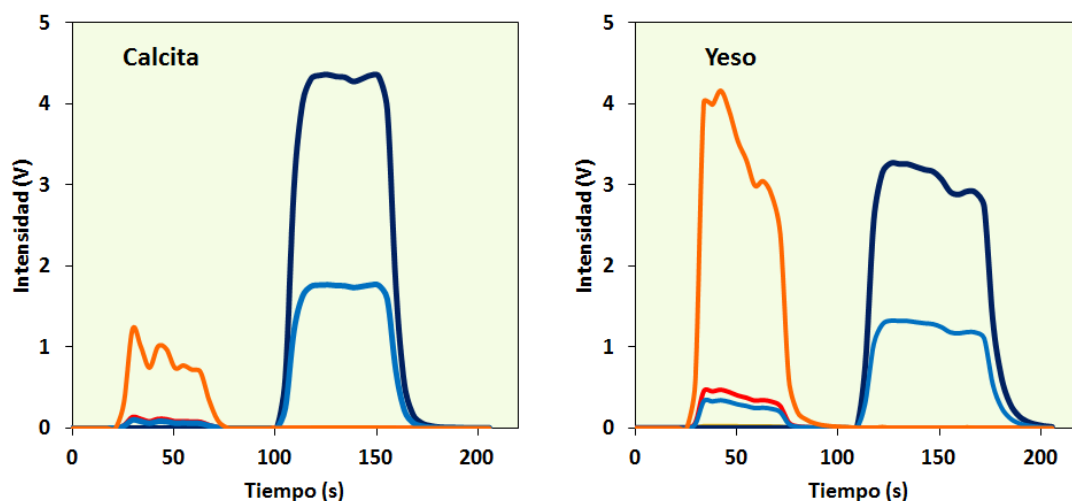
rubidio para generar un pulso de en torno a 60 s. Los parámetros experimentales de ablación y adquisición de datos se recogen en la siguiente tabla.

**Tabla D.44. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras minerales mediante LA-ICP-MS**

<b>Parámetros instrumentales MC- ICP-MS</b>						
Potencia RF aplicada	1200 W					
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas portador	0.70 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas auxiliar	0.50 L·min <sup>-1</sup>					
Tiempo de integración	0.131 s					
Número de ciclos	500 por bloque					
Número de bloques	1					
<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS</b>						
L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
<sup>82</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>83</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>84</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>85</sup> Rb <sup>+</sup>	<sup>86</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Sr <sup>+</sup>	<sup>88</sup> Sr <sup>+</sup>
		<sup>84</sup> Kr <sup>+</sup>		<sup>86</sup> Kr <sup>+</sup>	<sup>87</sup> Rb <sup>+</sup>	
<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS</b>						
Energía del láser (5.6 mJ máx.)	100 %					
Frecuencia de repetición	20 Hz					
Tamaño del haz láser	200 μm					
Disparos (“Bursts”)	800					
Flujo de Helio	0.40 L·min <sup>-1</sup>					

## Resultados-observaciones

Bajo las condiciones experimentales previamente expuestas, los perfiles típicamente obtenidos para ambos tipos de muestras se muestran en las siguientes figuras.



**Figura D.100. Perfiles de ablación de la calcita y del yeso junto con el pulso de Rb nebulizado.**

Como se puede observar en la Figura D.100 los perfiles de ablación de la calcita y el yeso siguen patrones análogos, presentando como única diferencia la mayor concentración de estroncio en la matriz de yeso que en la de calcita.

## Metodología post-LA frente a LA-ICP-MS convencional

Las relaciones isotópicas obtenidas mediante ablación láser ICP-MS convencional se comparan con las obtenidas a través de esta nueva metodología en la siguiente tabla.

Tabla D.45. Valores de la relación isotópica de estroncio  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en muestras de calcita y yeso tras LA-ICP-MS convencional y LA-ICP-MS con un pulso de Rb.

	LA-ICP-MS convencional			post-LA-ICP-MS Rb aprox		
<b>Calcita</b>	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$
	0.70912	0.00020	-2.09	0.70880	0.00042	-2.06
	0.70886	0.00023	-2.05	0.70894	0.00043	-2.05
<b>Yeso</b>	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$
	0.70781	0.00014	-2.16	0.70786	0.00016	-2.16
	0.70782	0.00015	-2.15	0.70790	0.00016	-2.18
	0.70776	0.00015	-2.17	0.70782	0.00015	-2.17
	0.70778	0.00015	-2.16	0.70795	0.00018	-2.18

La corrección interna de la discriminación de masas de estas relaciones isotópicas se llevó a cabo tomando según el método clásico tomando como referencia el valor de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.71034$  (NIST SRM 987).

Como se puede observar en la Tabla D.45 las relaciones isotópicas obtenidas mediante la metodología propuesta son totalmente análogas a las obtenidas mediante ablación láser ICP-MS convencional para los dos tipos de matrices, corroborando así el potencial de esta nueva metodología para la corrección de la interferencia de rubidio en muestras sólidas.

## Ecuación de Russell frente al ajuste exponencial

Existe un amplio debate en cuanto a qué ajuste es el más adecuado para llevar a cabo la corrección de la discriminación de masas (lineal, potencial, exponencial o ecuación de Russell). En el presente apartado se evaluó el potencial de la ecuación de Russell frente al ajuste exponencial para la corrección de las relaciones isotópicas obtenidas a través de la nueva metodología de Rb post-LA-ICP-MS. El cálculo del factor de discriminación de masas se llevó a cabo también tomando como referencia el valor de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.71034$  (NIST SRM 987).

**Tabla D.46. Valores de la relación isotópica de estroncio  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en muestras de calcita y yeso corregida mediante la ecuación de Russell y el ajuste exponencial y obtenida mediante LA-ICP-MS con un pulso de Rb.**

	Ecuación de Russell			Ajuste exponencial		
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$
<b>Calcita</b>	0.70880	0.00042	-2.06	0.70890	0.00042	-0.02
	0.70894	0.00043	-2.05	0.70903	0.00043	-0.02
<b>Yeso</b>	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$
	0.70786	0.00016	-2.16	0.70796	0.00016	-0.02
	0.70790	0.00016	-2.18	0.70800	0.00016	-0.02
	0.70782	0.00015	-2.17	0.70793	0.00015	-0.02
	0.70795	0.00018	-2.18	0.70805	0.00018	-0.02

A la vista de los resultados expuestos en la anterior tabla, las relaciones isotópicas obtenidas mediante ambos ajustes son totalmente análogas. Además, la discriminación de masas se coloca en torno a un 2 % en ambos casos.

Dado que los resultados obtenidos mediante ambos ajustes son semejantes y que la ecuación de Russell goza de mayor aceptación para la evaluación de la variabilidad isotópica natural, es este el ajuste elegido para llevar a cabo la corrección de la discriminación de masas de las relaciones isotópicas de estroncio en muestras naturales.

### Cálculo del factor de discriminación de masas

Uno de los principales objetivos de esta nueva metodología es valorar la posibilidad de calcular el factor de discriminación de masas tomando como referencia la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  en lugar de la típicamente aceptada  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . Esta idea se apoya en que la discriminación de masas es similar para el estroncio y para el rubidio. Bajo esta hipótesis, las relaciones isotópicas encontradas en muestras de calcita y de yeso se recogen en la Tabla D.47, tras la aplicación de la ecuación de Russell.



Tabla D.47. Valores de la relación isotópica de estroncio  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en muestras de calcita y yeso obtenida mediante LA-ICP-MS con un pulso de Rb y corregida mediante la ecuación de Russell a través de  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  como referencias.

		Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$		
Calcita	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
		0.70880	0.00042	-2.06	0.70793	0.00043	-2.16
		0.70894	0.00043	-2.05	0.70797	0.00044	-2.16
Yeso	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
		0.70786	0.00016	-2.16	0.70777	0.00020	-2.18
		0.70790	0.00016	-2.18	0.70797	0.00021	-2.17
		0.70782	0.00015	-2.17	0.70782	0.00021	-2.17
		0.70795	0.00018	-2.18	0.70800	0.00023	-2.17

La huella isotópica de estroncio encontrada en estas muestras resulta análoga mediante una y otra corrección. De esta manera, el uso de la huella isotópica de rubidio para la corrección de la discriminación de masas puede usarse como método para corroborar que la corrección interna de la discriminación de masas a través de  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  es correcta.

## Conclusiones

Aunque a priori sorprendente, la adición de un flujo post-láser de rubidio para corregir la contribución de este interferente en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras sólidas, ha generado resultados satisfactorios. Ya no sólo la propia metodología basada en la introducción de un flujo de rubidio tras el pulso de láser es consistente con los resultados obtenidos mediante LA-ICP-MS convencional, sino que el uso de la huella isotópica de rubidio para el cálculo del factor de discriminación de masas resulta muy útil como método de comprobación de que la corrección de la discriminación de masas a través de la relación constante  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  funciona correctamente.



**Figura D.101.** Escena figurada sobre los trabajos mineros de interior en la ejecución de una galería en las minas romanas de lapis specularis [291].

## II. Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio en Faba Asturiana mediante LA-MC-ICP-MS

“El que los domingos no come fabada asturiana no es persona entre semana”

Campaña publicitaria de la marca Litoral<sup>®</sup>.

Parece ser que el consumo de fabas en Asturias se remonta al siglo XVI, aunque no es hasta 1884 cuando aparece la primera referencia escrita sobre la fabada en el diario asturiano “El Comercio”. Algunos investigadores fechan el nacimiento de este plato en un periodo no determinado entre el siglo XIX y XX, otros sin embargo, relacionan su origen con las influencias de la gastronomía francesa llegada a través del Camino de Santiago. Sea como fuere, la fabada es a día de hoy un plato universalmente conocido gracias a los emigrantes asturianos repartidos por todo el mundo, además de ser sello de identidad de la región asturiana junto con la sidra, sus paisajes y sus gentes.

## El impacto de la venta ilícita de Faba Asturiana

En la actualidad, los consumidores están cada vez más concienciados e interesados en conocer el origen y la calidad de los productos que consumen. Para tal efecto, la Unión Europea ha instaurado ciertas normativas que permiten asegurar la procedencia de los alimentos, garantizar la calidad de los mismos y proteger a consumidores y productores. Este es el caso de los productos con Denominación de Origen Protegida (DOP) o Indicación Geográfica Protegida (IGP). Estas denominaciones reconocen la calidad de estos productos, otorgada debido al medio geográfico en el que sus materias primas son producidas con respecto a sus análogos sin denominación. Por ello, los controles a los que son sometidos este tipo de productos son más estrictos, haciendo que su precio final sea notablemente superior.

Ahora bien, la instauración de este tipo de reconocimientos ha generado grandes pérdidas económicas en el sector de la agricultura y ganadería, ya que se ha aprovechado la etiqueta de DOP o IGP para la venta ilícita de productos que no cumplen con dichas características. Este es el caso de la venta ilícita de alubias blancas como si fuesen fabas amparadas bajo la etiqueta de indicación geográfica protegida “Faba Asturiana” o “Fabes de Asturias”. Según indicaba Juan José Menéndez García, presidente del Consejo Regulador de la IGP Faba Asturiana, al periódico asturiano “La Nueva España” allá por 2013, gran cantidad de alubias originarias de América entran en España cada año y llegan al consumidor como procedentes de Asturias pero a un precio mucho menor. Este mercado ilícito mueve alrededor de un millón de toneladas de legumbres, mientras que la producción total amparada por la IGP es de unas cien toneladas, por lo que la diferencia es abismal. En la lucha contra esta práctica ilegal los productores de Faba Asturiana afirman que no se trata de una guerra de precios sino del engaño que está sufriendo el consumidor, por lo que no se pretende erradicar la venta de alubias procedentes de otros países, sino que cada producto esté debidamente identificado [292].

En este sentido Iván González de la Plata, miembro de la Academia de Críticos Gastronómicos de Asturias, se muestra contundente ante tal actividad: “El reto de la faba es saber que la que adquieres o consumes es asturiana”, como afirmaba en la conferencia sobre los retos de la producción y el consumo de fabes celebrada en el Restaurante Amandi en marzo de 2014 [293].

Ante tales afirmaciones es innegable la necesidad de terminar con el fraude de la faba extranjera debido a su alto impacto en la economía regional. Este tipo de actividades no sólo afecta a consumidores y fabricantes, sino que puede llegar incluso a generar rencillas entre los países productores y los afectados. Por ello, el Consejo Regulador de la Faba Asturiana trabaja para avalar la autenticidad de las judías grano de esta IGP frente a otras variantes. Sus labores no solamente se centran en fijar ciertas técnicas de cultivo, abonado o recolección que garanticen la calidad del producto, sino también en su envasado, etiquetaje y comercialización. De esta manera, todas las fabas comercializadas se presentan bajo formatos bien definidos y provistos de una etiqueta, contraetiqueta o precinta numerada expedida por el Consejo Regulador y que serán directamente colocadas en el almacén o planta envasadora [294].



**Figura D.102. Faba Asturiana con Indicación Geográfica Protegida lista para su comercialización bajo diferentes formatos.**

## Huella isotópica de estroncio como sello de origen

EL desarrollo de envases y etiquetas característicos para los productos amparados bajo cierta IGP es un mecanismo de indudable valor en la identificación y diferenciación de dichos productos frente a otros ejemplares. También el marcaje isotópico de alimentos, como el mostrado anteriormente para la planta de Faba Asturiana a base de una doble huella de molibdeno, resulta muy ventajoso a la hora de codificar este producto desde su origen. Esta etiqueta química certifica el origen y autenticidad del producto a lo largo de toda la cadena de suministro y facilita la detección de lotes falsos o adulterados.

Otra alternativa en el estudio del origen de alimentos y su identificación se basa en la evaluación de determinadas características intrínsecas de estos productos. En este sentido, una amplia variedad de metodologías analíticas se ponen a nuestro servicio para autenticar su calidad: análisis sensoriales a través de nariz electrónica para reconocimiento de patrones de olor y sabor [295], estudios del ADN de los diferentes cultivos [296], evaluación de determinados parámetros químicos a través de resonancia magnética nuclear (RMN) [297], identificación de componentes específicos en la matriz del alimento mediante HPLC como signo de adulteración [298]; e identificación de huellas elementales [299] e isotópicas [300] mediante espectrometría de masas, entre otras.

Las huellas elemental e isotópica de un producto son distintivos incuestionables no sólo de la propia calidad del producto, sino que también son registros fiables de las condiciones ambientales bajo las cuales han sido cultivados. Las variaciones isotópicas naturales de hidrógeno, oxígeno, carbono, nitrógeno, azufre, plomo o estroncio tienen un carácter antropogénico, ambiental y/o geográfico que permiten ligar los alimentos con su lugar de origen (Figura D.103).

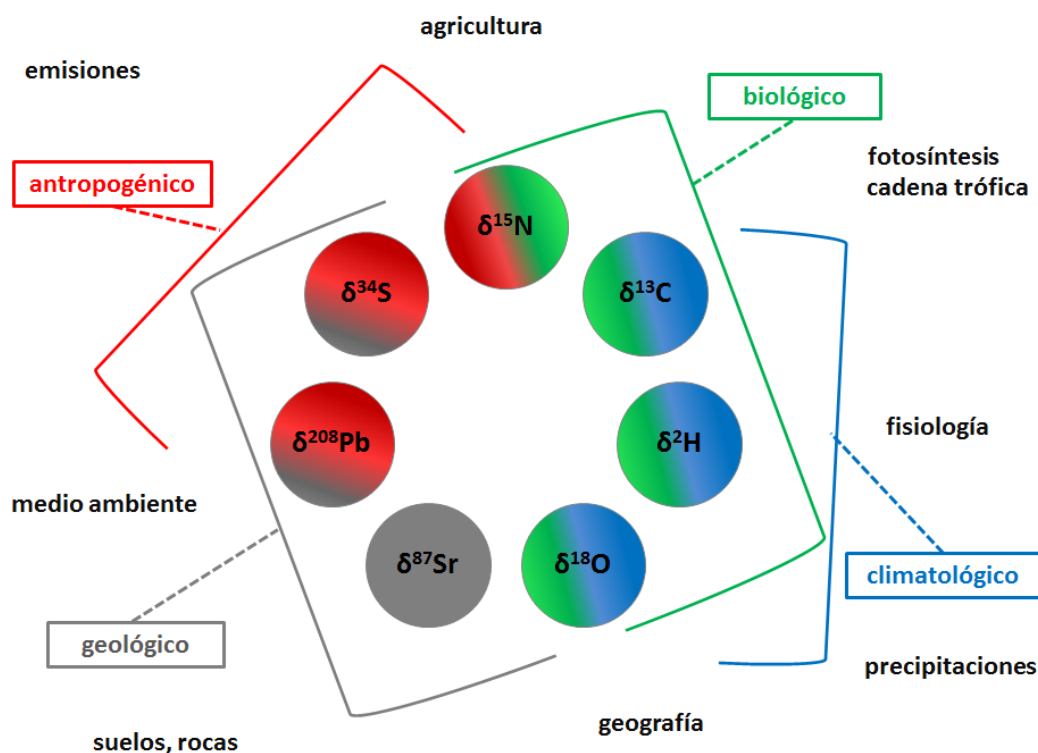


Figura D.103. Causas de la variabilidad isotópica natural de N, C, H, O, Sr, Pb y S [301].

El empleo de la huella elemental de magnesio, calcio, hierro o zinc, entre otros, sirve como indicativo de procedencia de productos tales como el vino [302], el aceite de calabaza [303] o la miel [304]; mientras que la huella isotópica de hidrógeno, oxígeno, carbono o nitrógeno es de utilidad para trazar el origen de bebidas alcohólicas como el whisky [305], la carne de ternera [306], el arroz [307] o frutas como las naranjas, fresas y melocotones [308]. Las variaciones isotópicas de estos elementos ligeros provienen de los incesantes cambios biológicos, ambientales y climatológicos. Sin embargo, la variabilidad isotópica del estroncio deriva principalmente de la composición del suelo y de las rocas que componen cada lecho geológico, por lo que el uso de la composición isotópica de estroncio en un alimento se posiciona como una de las más fiables herramientas para estudios de procedencia junto con la huella isotópica de plomo. Su potencial ya ha permitido confirmar el origen de aguas minerales [309], café [310], sidras [311] o incluso espárragos [312].

## Fundamentos de la metodología propuesta

Dado que la entrada de faba extranjera en los mercados españoles está dinamitando la comercialización de la Faba Asturiana y causando graves problemas económicos para el sector, la detección de las fabas foráneas a través de su huella isotópica de estroncio supondría un claro avance en el control de esta actividad ilegal. Así, una detección temprana de las alubias irregulares permitiría emprender acciones legales contra los encargados de tales actividades con su consecuente erradicación o debilitamiento.

Para una identificación rápida y precisa de las alubias foráneas frente a las fabas autóctonas, se requiere una técnica que permita la detección de la huella isotópica de estroncio de manera inequívoca mediante el análisis directo de estas semillas sin apenas preparación previa de las mismas, lo que es posible mediante ablación láser acoplada a espectrometría de masas. Por tanto, la metodología aquí propuesta se basa en el análisis directo de las fabas mediante LA-MC-ICP-MS aprovechando la buena resolución espacial que ofrece esta técnica.

El análisis directo de las fabas implica que la interferencia de rubidio siga presente en la matriz de muestra, por lo que su contribución debe ser corregida para una medida precisa de las relaciones isotópicas de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ). Para este caso particular no fue necesaria la aplicación de la metodología de corrección de rubidio expuesta en el apartado anterior, ya que durante el mapeo preliminar de las fabas se observó una situación inesperada: ablacionando en profundidad desde la cáscara de la faba hacia el interior, se observó una distribución preferencial del estroncio en la cáscara y de rubidio en el interior del cotiledón, como se muestra en la Figura D.104. Esta separación espacial conlleva una separación temporal del estroncio y del rubidio que permitirá aplicar la metodología de cálculo de relaciones isotópicas de estroncio previamente expuesta pero sin necesidad de un pulso extra de rubidio tras la ablación de la



muestra, ya que la propia faba incorpora esta señal de rubidio una vez que el haz láser penetra en el cotiledón, asemejándose así al perfil de ablación y flujo de rubidio post-láser considerado anteriormente.

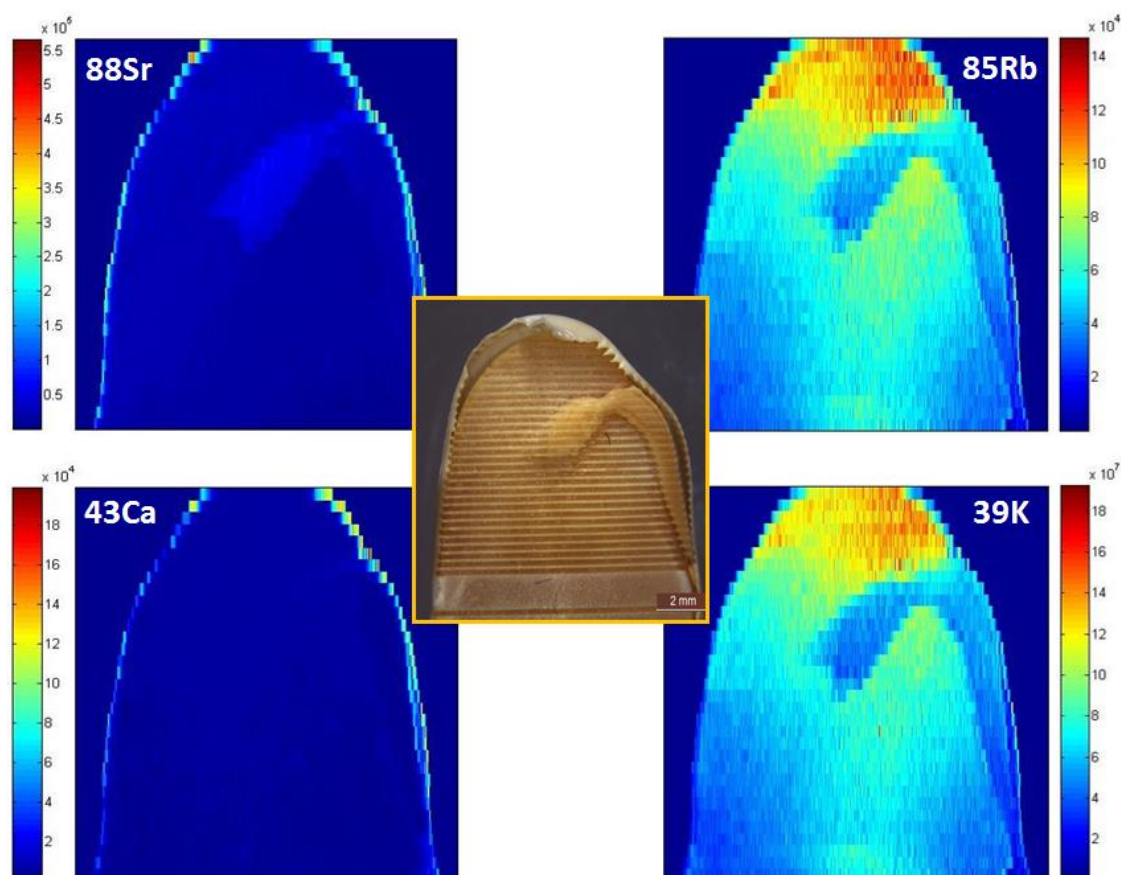


Figura D.104. Distribución espacial de estroncio y rubidio en las fabas.

Un comportamiento similar ya fue observado por Y. Zhu y colaboradores durante el mapeo multielemental de semillas de cacahuete (*Arachis hypogaea*) mediante LA-ICP-MS [313]: el corte horizontal de la radícula mostró un enriquecimiento preferencial de estroncio en los bordes y de rubidio en la parte central de la misma. Como era de esperar en la matriz de faba, la distribución del estroncio es análoga a la de calcio, mientras que rubidio y potasio siguen el mismo patrón de acumulación.

## Origen de las muestras

Muestras de Faba Asturiana de un total de 18 localizaciones diferentes, dos muestras de faba boliviana y una muestra de faba argentina fueron suministradas por la Consejería de Medio Ambiente del Principado de Asturias para llevar a cabo el presente trabajo, para el cual también se contó con alubias procedentes de Rumanía y de la República Checa cedidas por colabores del grupo de investigación.

Las fabas amparadas bajo la IGP Faba Asturiana son de la variedad que tradicionalmente se cultiva en la región: Granja Asturiana, de categoría primera o extra. Su grano es oblongo, largo y aplanado, con una longitud mínima de 18 milímetros, anchura máxima de 11.5 milímetros y grosor máximo de 8.5 milímetros, tal y como señalan las bases recogidas en el Boletín Oficial del Estado (BOE) para esta indicación geográfica protegida [166]. Las fabas amparadas bajo esta IGP están sometidas a un intenso sistema de control basado en el registro y evaluación de las parcelas de cada productor, superficie sembrada, producción, envasado y venta de las mismas. El código SIGPAC (Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas) permite asociar cada faba con su recinto de cultivo (parcela, polígono, municipio y provincia), para una identificar inequívoca de su origen. En la Tabla D.48 y Tabla D.49 se enumeran las muestras de Faba Asturiana analizadas junto con sus características de procedencia.

Catorce de las dieciocho muestras provienen de concejos del occidente asturiano (Valdés, Vegadeo, Coaña, Tineo, El Franco y Tapia de Casariego) ya que es en esta zona donde se acumula principalmente la producción de Faba Asturiana. Una muestra de Llanes, y tres de Gozón, Ribera de Arriba y Siero cierran este grupo de muestras (Figura D.105).

Tabla D.48. Listado de muestras de Faba Asturiana (IGP) analizadas en este estudio.

Muestra	Municipio	Localidad	Productor	Nombre parcela	Referencia SIGPAC	Cultivo
1	Ribera de Arriba	Ferreros	VE		33.57.0.0.4.56	
2	Llanes	Villahormes	589	La Piniella	33.36.18.300	Monocultivo-varilla
3	Valdés	Busto	263	Arbosa	33.34.4.34	Monocultivo
4	Vegadeo	Refoxos-Abres	412	Cortiña	33.74.1.34	Monocultivo-red
5	Vegadeo	La Coruja-Abres	466	Arrelu	33.74.3.205	Monocultivo-varilla
6	Siero	Argüelles	567	Biodinámica	33.66.84.65	Monocultivo
7	Coaña	Coaña	33	Porto	33.1.123	Monocultivo/varilla-cuerda
8	Valdés	San Cristóbal	44	La Vía	33.5.175	
9	Gozón	Lavara-Manzaneda	144	Vinada	33.22.20	Monocultivo-sin tutor
10	Vegadeo	Abres	319	Finca Puente	33.3.207	Monocultivo-postes-red
11	Valdés	Busto	342	Sienrruca	33.5.10029	Monocultivo-varilla

Tabla D.49. Listado de muestras de Faba Asturiana (IGP) analizadas en este estudio (continuación).

Muestra	Municipio	Localidad	Productor	Nombre parcela	Referencia SIGPAC	Cultivo
12	Valdés	Modreros	361	Bruneiro	33.125.194	
13	Vegadeo	Vegadeo	398	Villanova	33.1.48	
14	Tineo	Cornás	433	Pinteiro	33.2.107	
15	Valdés	Carboniella	456	Cantín	33.123.268	Monocultivo-varilla
16	Tapia	La Roda	521	Cortia	33.1.31	
17	El Franco	El Franco	33	Miudes	33.7.305	Monocultivo-cuerda
18	Valdés	Ore	575	Cuesta	33.1.213	



Figura D.105. Concejos de procedencia de las fabas asturianas analizadas.

Las características de las alubias sudamericanas se recogen en la Tabla D.50, mientras que no disponemos de información relevante de las muestras de alubias procedentes de Rumanía y de la República Checa.

Tabla D.50. Listado de muestras procedentes de Sudamérica suministradas por la Consejería de Medio Ambiente del Principado de Asturias.

	Bolivia		Argentina
Muestra	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>
Tipo	Blanca	Granja	Canellini
Categoría	1ª	1ª	1ª
Registro	(32/13)	(25/13)	(27/13)

## Metodología de medida

Las dieciocho muestras asturianas se corresponden con diez concejos de procedencia diferentes. Con el fin de evaluar la variabilidad de la huella de estroncio en función del origen, se analizaron tres fabas de cada una de las dieciocho parcelas de procedencia. A su vez, la superficie de cada una de las muestras se dividió en tres zonas diferentes (arriba, centro y abajo) para evaluar la variabilidad del estroncio en la superficie de cada semilla individualmente, como se muestra en la Figura D.106.



Figura D.106. Zonas de ablación de la superficie de la faba.

El análisis de las Fabas Asturianas se llevó a cabo en el modo de ablación en profundidad (spot analysis) bajo las condiciones recogidas en la Tabla D.51. Se realizaron tres puntos de ablación en cada una de las regiones de las fabas, por lo que cada ejemplar queda caracterizado por un total de 9 puntos, lo que hace un total de 27 puntos por triplicado de cada parcela. Sólo se realizaron 5 spots de cada alubia foránea ya que no era el objetivo de este trabajo estudiar la variabilidad en esas muestras.

El cálculo de las relaciones isotópicas se llevó a cabo mediante regresión lineal múltiple tras la corrección matemática de la contribución de  $^{86}\text{Kr}^+$  sobre la señal de  $^{86}\text{Sr}^+$ . La corrección interna de la discriminación de masas se estudió por referencia a la relación

$^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  y a la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ , como se expuso anteriormente. Además, se calculó la relación interelemental Sr/Rb por relación de áreas a través de las señales de  $^{88}\text{Sr}$  y  $^{85}\text{Rb}$ , con el fin de añadir otra variable más para facilitar la discriminación entre muestras.

**Tabla D.51. Parámetros experimentales empleados en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en Faba Asturiana mediante LA-MC-ICP-MS.**

<b>Parámetros instrumentales MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
Potencia RF aplicada	1200 W					
Flujo de gas plasmógeno	15 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas portador	1.050 L·min <sup>-1</sup>					
Flujo de gas auxiliar	1.000 L·min <sup>-1</sup>					
<b>Parámetros de adquisición MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
Tiempo de integración	0.131 s					
Número de ciclos	500 por bloque					
Número de bloques	1					
<b>Configuración de copas del MC-ICP-MS Neptune Plus</b>						
L3	L2	L1	C	H1	H2	H3
$^{82}\text{Kr}^+$	$^{83}\text{Kr}^+$	$^{84}\text{Sr}^+$	$^{85}\text{Rb}^+$	$^{86}\text{Sr}^+$	$^{87}\text{Sr}^+$	$^{88}\text{Sr}^+$
		$^{84}\text{Kr}^+$		$^{86}\text{Kr}^+$	$^{87}\text{Rb}^+$	
<b>Parámetros instrumentales LA-ICP-MS CETAC LSX-213</b>						
Energía del láser (5.6mJ máx.)	100 %					
Frecuencia de repetición	10 Hz					
Tamaño del haz	200 μm					
Disparos (“Bursts”)	300					
Flujo de Helio	0.45 L·min <sup>-1</sup>					

## Resultados

### Perfil de ablación de las muestras

Los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  encontrados en todas las muestras analizadas se recogen en el Anexo II. De manera general, los perfiles de ablación de estas muestras se engloban en los cuatro grupos que se muestran en la Figura D.107. Aplicar el mismo número de disparos (300) para cada punto de ablación permite la comparación directa de todos los resultados, reflejo del grosor de la cáscara y de la relación interelemental Sr/Rb en la región cáscara-cotiledón.

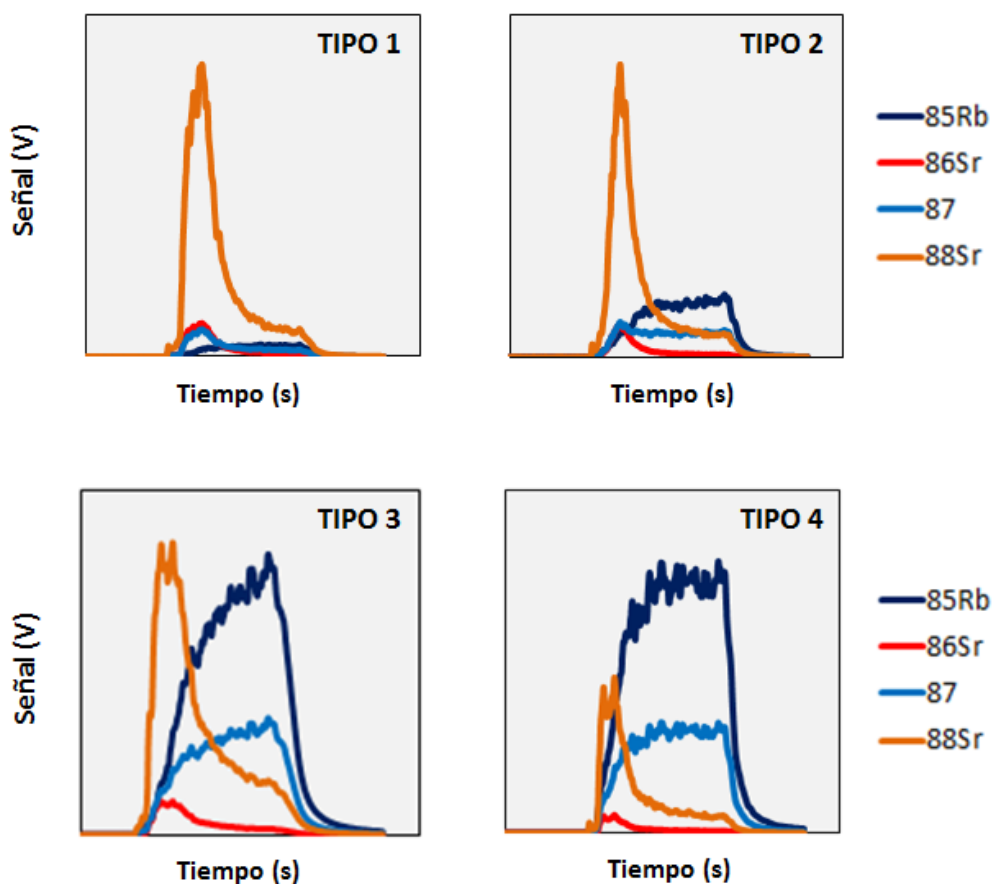


Figura D.107. Perfiles de ablación de las alubias analizadas.



El perfil de Tipo 1 se presenta en aquellas muestras con una alta contribución de estroncio en la cáscara pero bajo contenido de rubidio en el interior, como ocurre en las alubias de Argentina y Bolivia M1. El perfil Tipo 2 es prácticamente análogo al perfil Tipo 1, pero en este caso la huella de rubidio en el cotiledón aumenta, como es el caso de las alubias de Bolivia M2, República Checa, y algunas de las fabas asturianas como las de Llanes, Gozón y Abres (Vegadeo).

Las muestras con un perfil Tipo 3 son aquellas en las que la huella de estroncio en la cáscara disminuye en comparación con la acumulación de rubidio en el interior. La mayor parte de las fabas asturianas junto con las alubias de Rumanía presentan este tipo de perfil caracterizado por una baja relación Sr/Rb. Por último, el perfil Tipo 4 es característico de aquellas alubias que presentan una baja concentración de estroncio en la cáscara y una fuerte contribución de rubidio en el cotiledón. Cuanto más alta la relación Sr/Rb menor interferencia de rubidio a corregir, por lo que los perfiles Tipo 1, Tipo 2 e incluso Tipo 3 son preferibles frente al perfil Tipo 4.

## Corrección de la discriminación de masas y estudio de los residuales

Uno de los retos de esta nueva metodología de medida es confirmar que la corrección interna de la discriminación de masas tomando la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$  como valor de referencia para el cálculo del factor de discriminación de masas, es aplicable a este tipo de muestras como alternativa a la corrección interna por referencia a la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  (modo clásicamente aceptado). Para poder aplicar indistintamente cualquiera de las dos aproximaciones la discriminación de masas de estroncio y rubidio deben ser análogas. Por ello, ante la falta de un material de referencia con un enriquecimiento preferencial en estroncio de su parte externa, y de rubidio en su parte interna, el

método para controlar que la discriminación de masas es constante en toda la ablación, y por tanto análoga para estroncio y rubidio, se basa en el estudio de los errores residuales del ajuste lineal a lo largo de todo el análisis. Así, el valor de los residuales es totalmente aleatorio cuando la discriminación de masas de estroncio y rubidio es análoga, mientras que los residuales presentarían ciertas anomalías cuando la discriminación de masas no coincidiese, lo que se traduciría en una corrección diferente de las relaciones isotópicas experimentales en función del valor tomando como referencia.

La práctica totalidad de los análisis presentan una distribución aleatoria de los errores residuales como la que se presenta en la siguiente figura.

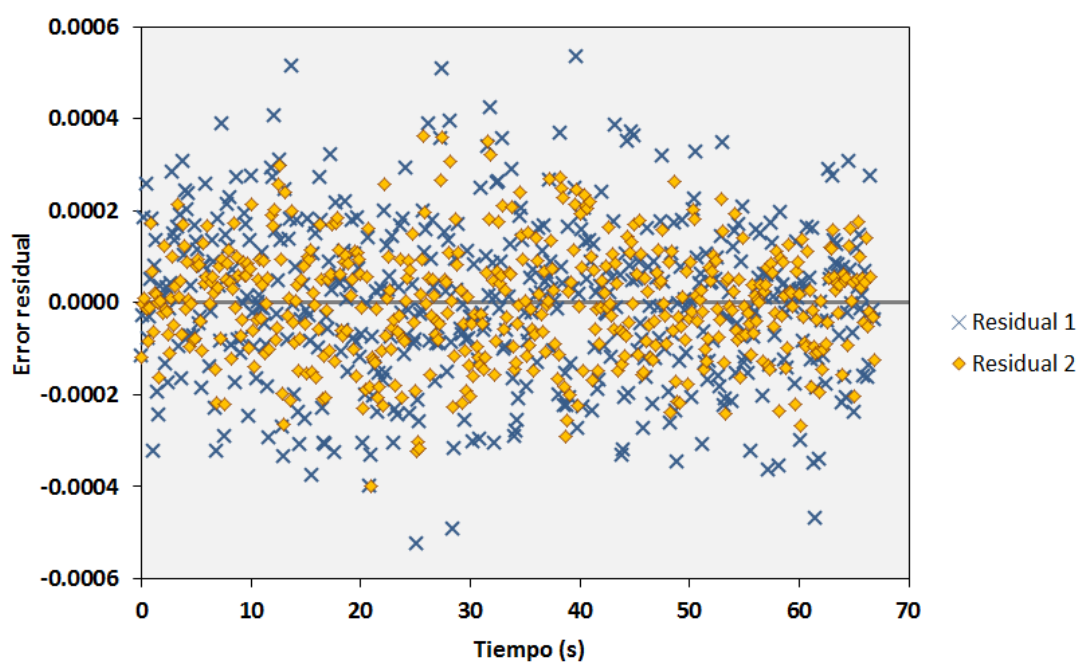
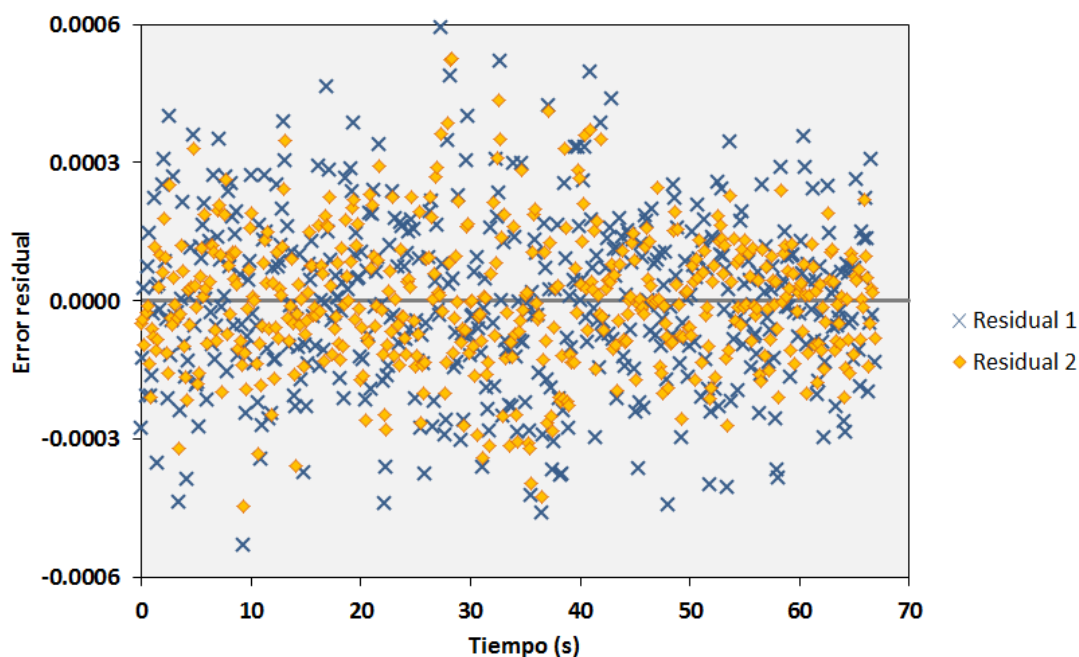


Figura D.108. Distribución aleatoria de los errores residuales durante una ablación.

Aun manteniendo una distribución de los errores residuales totalmente aleatoria, algunos puntos ablacionados presentan un valor diferente de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en función de la corrección de la discriminación de masas elegida, como es el caso de la ablación 7 de la primera réplica de Faba Asturiana procedente de La Coruja (Abres, Vegadeo 5.1.7).



**Figura D.109. Distribución aleatoria de los errores residuales durante el análisis del ejemplar 5.1.7 de Faba Asturiana (Vegadeo).**

A la vista de la distribución de los residuales cabría esperar un valor concordante de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  según ambas correcciones, sin embargo esto no se cumple. Aplicando la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  para el cálculo del factor de discriminación de masas, el valor de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  es de 0.71201 ( $U_{\text{Kragten}}=0.00146$ ), mientras que el valor es de 0.71310 ( $U_{\text{Kragten}}=0.00143$ ) cuando se toma como referencia la relación  $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$ . Esta diferencia en los resultados no parece deberse a variaciones en la discriminación de masas, sino que podría atribuirse a la baja relación Sr/Rb (0.1), consecuencia directa de una muy baja presencia de estroncio en la cáscara (perfil Tipo 4).

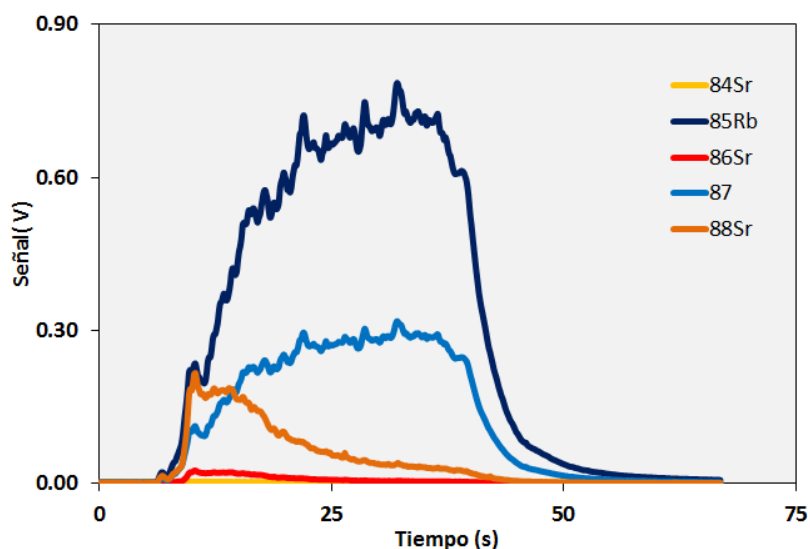


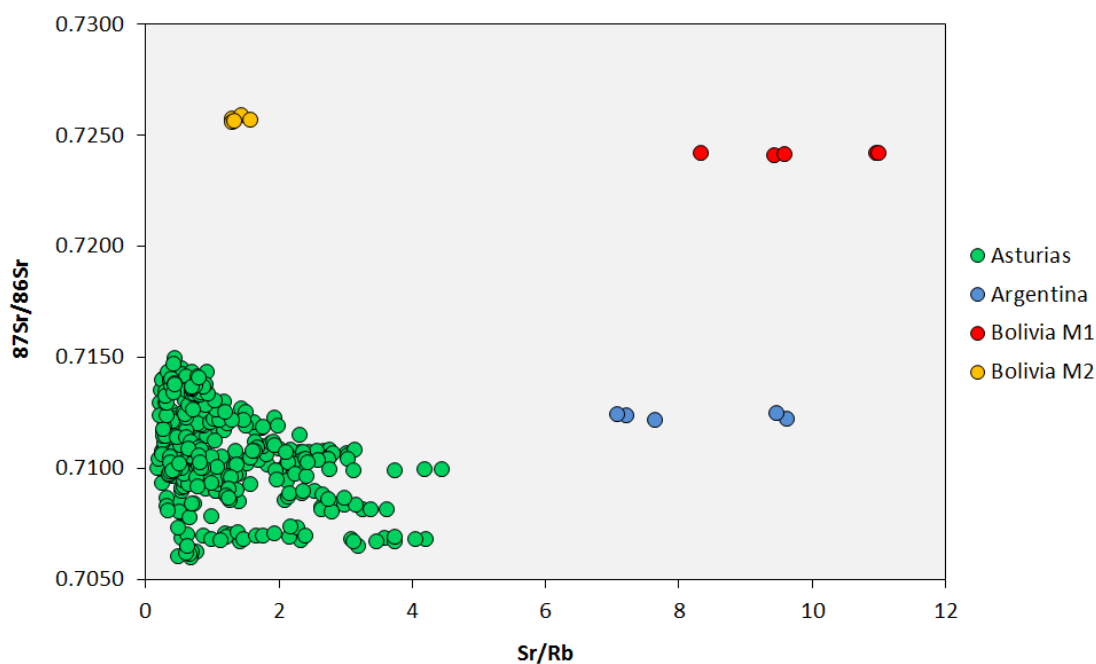
Figura D.110. Perfil de ablación de la muestra de Faba Asturiana 5.1.7.

La señal del estroncio superficial apenas tiene una intensidad de 0.20 V y la del rubidio interno se sitúa en torno a 0.8 V. La conjunción de un perfil de ablación Tipo 4, una presencia poco notoria del estroncio de la cáscara e intensidades de señal bajas para ambos elementos repercute en relaciones isotópicas con valores inexactos y muy variables, así como en incertidumbres muy altas. Este tipo de señales se obtuvieron para las réplicas uno y tres de la faba asturiana procedente de La Coruja (5-Abres, Vegadeo), para la primera réplica de la faba procedente de Modreros (12-Valdés) y para la réplica número tres de Carboniella (15-Valdés). Estos valores no se tuvieron en cuenta para la discriminación entre muestras.

Para el resto de los ejemplares los valores de las relaciones isotópicas son análogos bajo ambas correcciones, dentro de las incertidumbres de la medida (Anexo II). De esta manera, el uso de la huella constante de rubidio supone una herramienta de control de la discriminación de masas como método para confirmar que la corrección obtenida a través de la relación  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  es correcta.

## Discriminación de fabas asturianas y alubias extranjeras

Las cuantiosas pérdidas económicas en el sector de la Faba Asturiana debido a la venta ilícita de alubias procedentes de otras nacionalidades, hacen cada vez más necesario el control de los productos en los mercados. La aplicación de esta metodología analítica basada en el estudio de la huella isotópica de estroncio para la discriminación de alubias sudamericanas y fabas asturianas parece una buena opción según parecen indicar los resultados obtenidos en este estudio, y que se recogen en la siguiente figura.



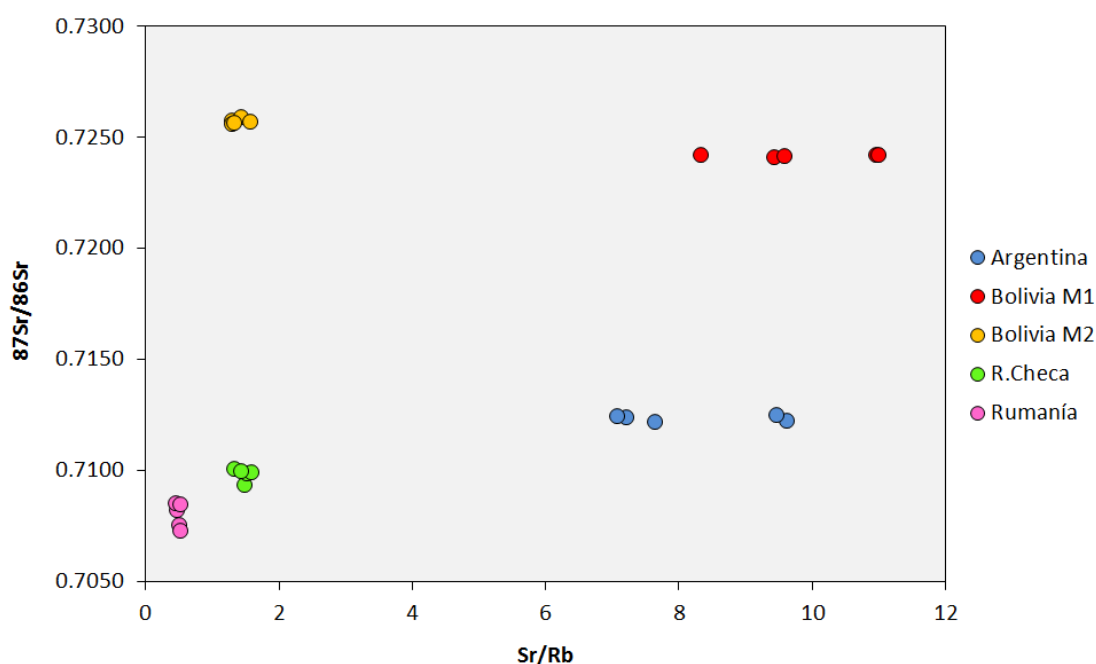
**Figura D.111. Discriminación de las alubias sudamericanas y de las fabas asturianas en función de la huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y la relación interelemental  $\text{Sr}/\text{Rb}$ .**

A la vista de la representación en dos dimensiones de la huella isotópica de estroncio frente a la relación interelemental  $\text{Sr}/\text{Rb}$ , la diferenciación entre muestras de diferente procedencia es clara.

Las fabas asturianas, aunque mostrando un amplio rango de valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , se sitúan en su conjunto en la zona inferior izquierda de la gráfica. Estas fabas, cuya huella isotópica varía entre 0.706 y 0.715, tienen un denominador común: la baja relación Sr/Rb con respecto de las fabas procedentes de Sudamérica. De esta manera, aunque las alubias argentinas presenten una huella de estroncio dentro del rango de variabilidad de las fabas asturianas, su mayor relación Sr/Rb hace posible la discriminación. Lo contrario ocurre con las alubias M2 bolivianas. Su relación Sr/Rb coincide con gran parte de las fabas asturianas, sin embargo, su relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  en torno a 0.725-0.726 es claramente superior, colocándolas de esta manera en la parte superior de la figura. Por su parte, las alubias bolivianas M1 parecen tener una naturaleza opuesta a las fabas asturianas: presentan un alto valor de su huella de estroncio (0.724) y una también alta relación Sr/Rb, lo que las sitúa en el extremo contrario a las muestras asturianas.

Estas diferencias en la huella de estroncio y en la relación Sr/Rb son fruto de las condiciones en las que crecieron estas plantas, reflejando fundamentalmente la naturaleza del lecho geológico en el que fueron plantadas. De esta manera, la diferente composición de los suelos asturianos y sudamericanos hará que semillas de Faba Asturiana cultivadas en Asturias y en Sudamérica conserven su identidad genética pero presenten una huella isotópica de estroncio distinta que permita su discriminación.

A diferencia de lo que ocurre con las alubias sudamericanas, las muestras procedentes de la República Checa y de Rumanía parecen situarse en la zona hasta ahora delimitada por las fabas asturianas, como se puede ver en la Figura D.112. Bien diferenciadas con respecto a los ejemplares sudamericanos, su diferenciación de las fabas asturianas en función de su huella de estroncio y de la relación Sr/Rb no es posible.

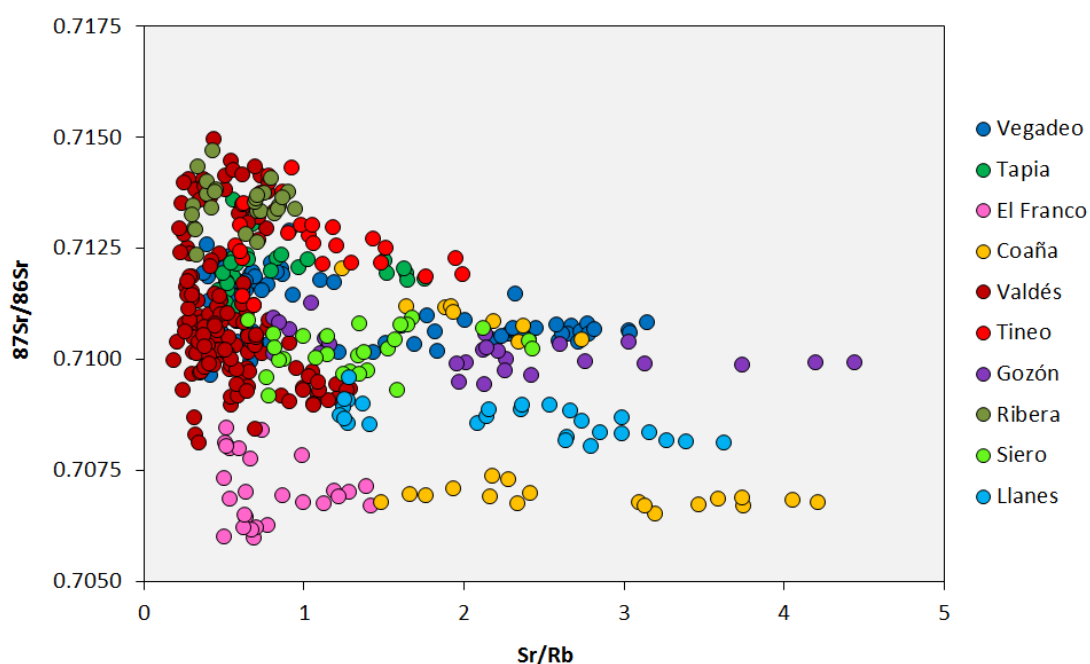


**Figura D.112. Discriminación de las alubias sudamericanas y centroeuropeas en función de la huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y la relación interelemental Sr/Rb.**

Parece evidente que el suelo en el que se cultivaron estas alubias es de características similares al de la región asturiana, con valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  variando entre 0.708-0.710, que podrían corresponderse con rocas calizas influenciadas a su vez por agua de mar.

### Variabilidad de las fabas asturianas

Todas las fabas asturianas se caracterizan por una baja relación Sr/Rb con respecto de las muestras sudamericanas. Sin embargo, presentan una amplia variabilidad de su huella isotópica de estroncio en función del lugar exacto de origen como se observa en la Figura D.113, en la que se muestran los resultados obtenidos para las muestras según su concejo de procedencia.



**Figura D.113. Representación de todas las fabas asturianas analizadas en función de su huella de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) y su relación interelemental Sr/Rb.**

Esta gráfica está claramente dominada por muestras procedentes de concejos del occidente asturiano como Vegadeo, Tapia de Casariego, El Franco, Coaña, Valdés y Tineo, ya que es en esta zona de la región donde se acumula principalmente la producción de Faba Asturiana.

Asturias es una región montañosa muy cercana al mar y que geográficamente se subdivide en tres regiones: occidental, central y oriental, de características geológicas bien diferenciadas. A grandes rasgos, los suelos de la comarca occidental están constituidos por cuarcitas y pizarras, la región oriental se cimienta sobre un macizo calizo y la zona central se caracteriza por la extraordinaria diversidad de la naturaleza del sustrato, con una amplia variedad de pizarras, areniscas, conglomerados, arcillas y calizas, variopinta combinación fruto de una compleja red de mantos de corrimiento.



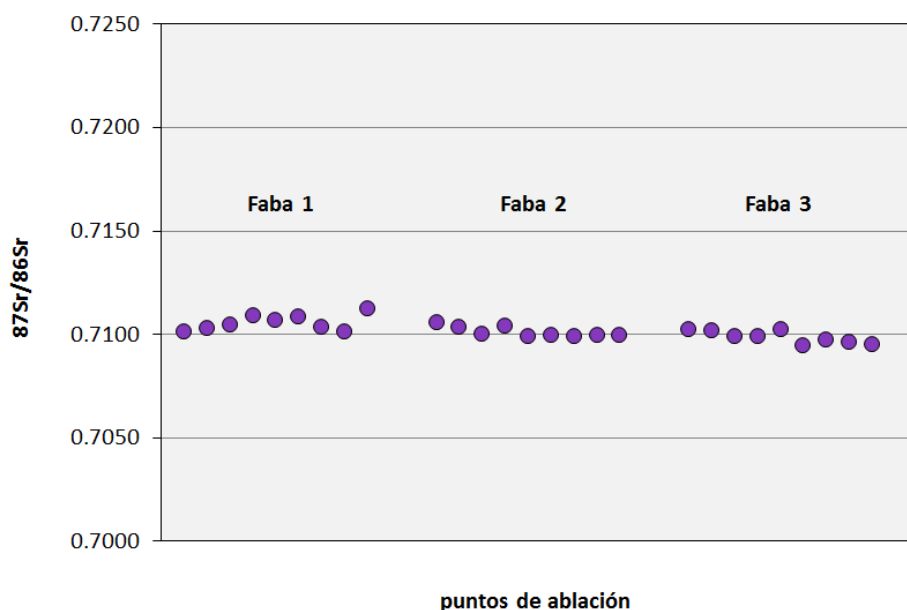
El rango de variación de la huella isotópica de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) va desde valores en torno a 0.706-0.707 en las muestras procedentes de El Franco (occidente) hasta 0.714 en muestras de Ribera de Arriba (centro) y Ore (Valdés). Por su parte, la menor relación Sr/Rb es la de fabas del concejo de Valdés (litoral occidental) con un valor de 0.2, mientras que valores entre 4 y 5 se observan en fabas de Coaña (litoral occidental) y Gozón (costa central).

De manera general, el **litoral occidental asturiano** queda caracterizado por valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  entre 0.710-0.711, con excepciones como la de las fabas procedentes de El Franco y Coaña con una huella de 0.707, algunas muestras de Busto (Valdés) con valores de 0.709 y los ejemplares de Ore (Valdés) con 0.713-0.714. Estas últimas muestras provenientes de Ore, un pueblo del interior del concejo de Valdés, presentan una huella isotópica más cercana a las procedentes de Cornás en Tineo (0.712-0.713), concejo de interior con el que limita al sur.

Las únicas muestras procedentes de la **costa central** provienen de Manzaneda en el concejo de Gozón, punta más septentrional de Asturias. Sus valores en torno a 0.709-0.710 dejan patente la marcada influencia del agua de mar que lo rodea. El **interior** de la comarca central está representado por las muestras procedentes de Ferreros (Ribera de Arriba) y de Argüelles (Siero), con valores de 0.713 y 0.710, respectivamente. El valor de 0.713 de las muestras de Ferreros se corresponde con suelos de pizarras y areniscas, mientras que las muestras de Argüelles presentan un valor de 0.710 más acorde con suelos calizos.

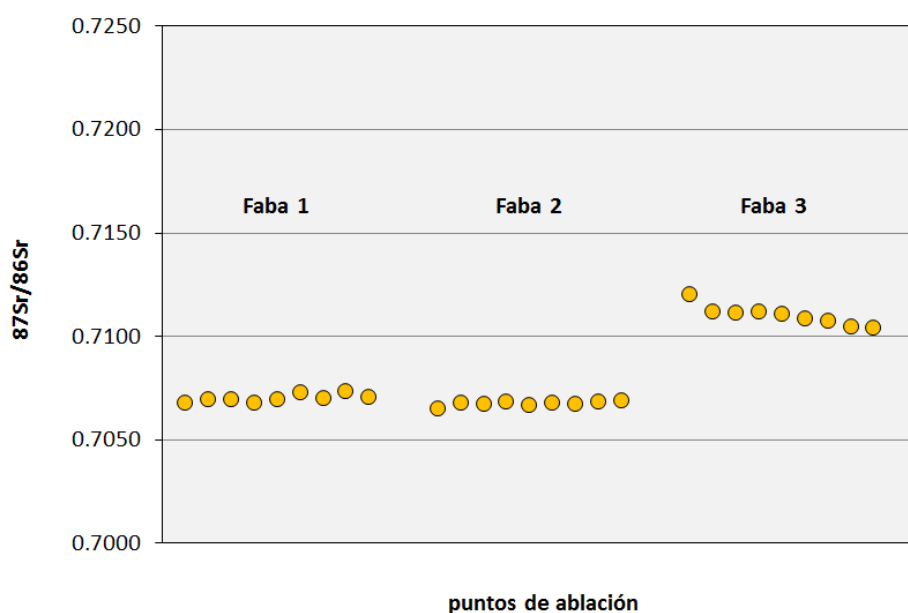
Lamentablemente sólo contamos con fabas de un único productor dentro del **litoral oriental**, las procedentes de Villahormes en Llanes. Su huella isotópica de estroncio entre 0.708-0.709 denota la conjunción de la influencia marítima y un suelo fundamentalmente calizo.

De manera general la variabilidad del estroncio en fabas cultivadas en una misma parcela no suele ser muy marcada. Como ejemplo a destacar se encuentran las fabas procedentes de Manzaneda (Gozón): los valores de la huella isotópica de estroncio en estas muestras son muy consistentes entre las tres réplicas y las tres zonas de ablación consideradas, como se muestra en la siguiente figura.



**Figura D.114. Huella isotópica de estroncio en las fabas de Manzaneda (Gozón).**

Hay ocasiones en las que una réplica presenta valores diferentes con respecto a las otras dos, como ocurre con las muestras de Coaña (Coaña) analizadas (Figura D.115): dos de estas réplicas presentan valores de  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  constantes en torno a 0.707, mientras que la huella de estroncio en la última réplica se coloca en 0.710-0.711. Este último valor parece concordante con la mayoría de las fabas de la costa occidental asturiana, mientras que las otras dos muestras presentan valores comparables a los obtenidos para las fabas del vecino concejo de El Franco.



**Figura D.115. Huella isotópica de estroncio en las fabas de Coaña (Coaña).**

Para poder sacar conclusiones aún más relevantes sobre la huella isotópica de cada comarca sería conveniente analizar un mayor número de réplicas de cada parcela de origen para evaluar así su tendencia. Además, sería interesante recoger muestras de agua y de tierra con el fin de estudiar en profundidad los factores más determinantes en la huella isotópica final presente en las fabas, como son el lecho geológico, la presencia de ríos cercanos, el agua de riego o la cercanía a la costa, entre otros.

Hay muestras como las de La Coruja (Abres, Vegadeo) que sí presentan cierta variabilidad en su huella isotópica de estroncio según la réplica y la zona de la cáscara elegida para el análisis. En la Figura D.116 apenas se observa una variabilidad muy marcada en los valores obtenidos para la faba 2, mientras que las réplicas 1 y 3 muestran valores totalmente anómalos. Recordemos que sobre cada muestra se realizaron nueve spots de ablación coincidiendo de tres en tres con las zonas superior, central e inferior de la superficie de la cáscara, y que se disponen en ese orden en la citada figura.

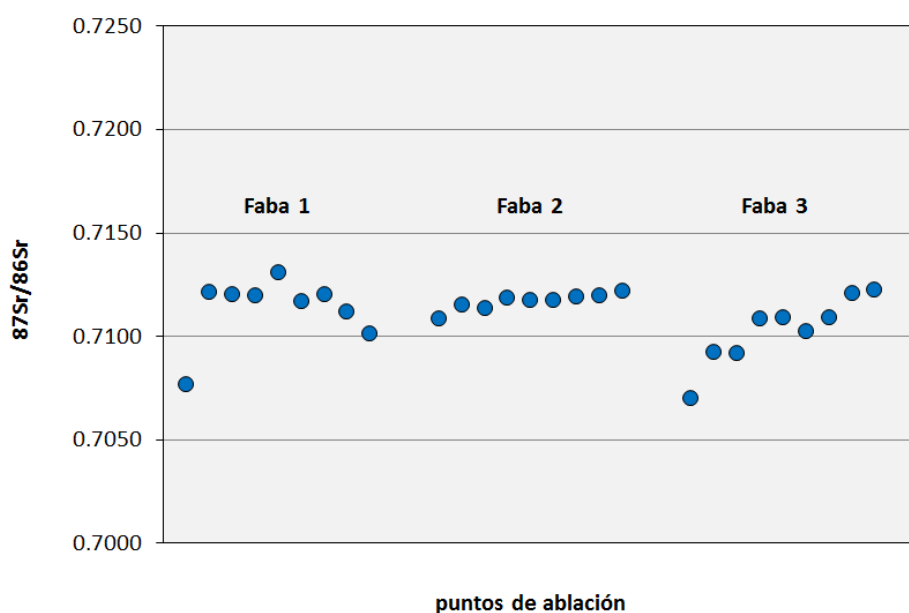


Figura D.116. Huella isotópica de estroncio en las fabas de La Coruja (Abres, Vegadeo).

Estos valores tan discordantes son atribuibles a fabas que presentan un perfil de ablación Tipo 4, caracterizado principalmente por una baja relación Sr/Rb y una muy leve presencia de estroncio en la cáscara. Creemos que esta anomalía en los valores está más relacionada con la cantidad de estroncio en la muestra y su distribución en la zona cáscara-cotiledón, que genera ciertos inconvenientes experimentales y a la hora de corregir las señales, más que con una variabilidad dependiente de la zona ablacionada. Como se comentó anteriormente estos valores no se consideraron para la discriminación de fabas.

## Posibles aplicaciones

A la vista de los satisfactorios resultados obtenidos para la discriminación de las Fabas Asturianas frente a alubias procedentes de Sudamérica, el potencial de esta metodología queda más que probado. Su aplicación gozaría de gran interés para el análisis de aquellas legumbres españolas amparadas bajo etiquetas de IGP o DOP (Figura D.117), ya que este tipo de cultivos es más susceptible a sufrir el ataque de la falsificación y venta ilícita.

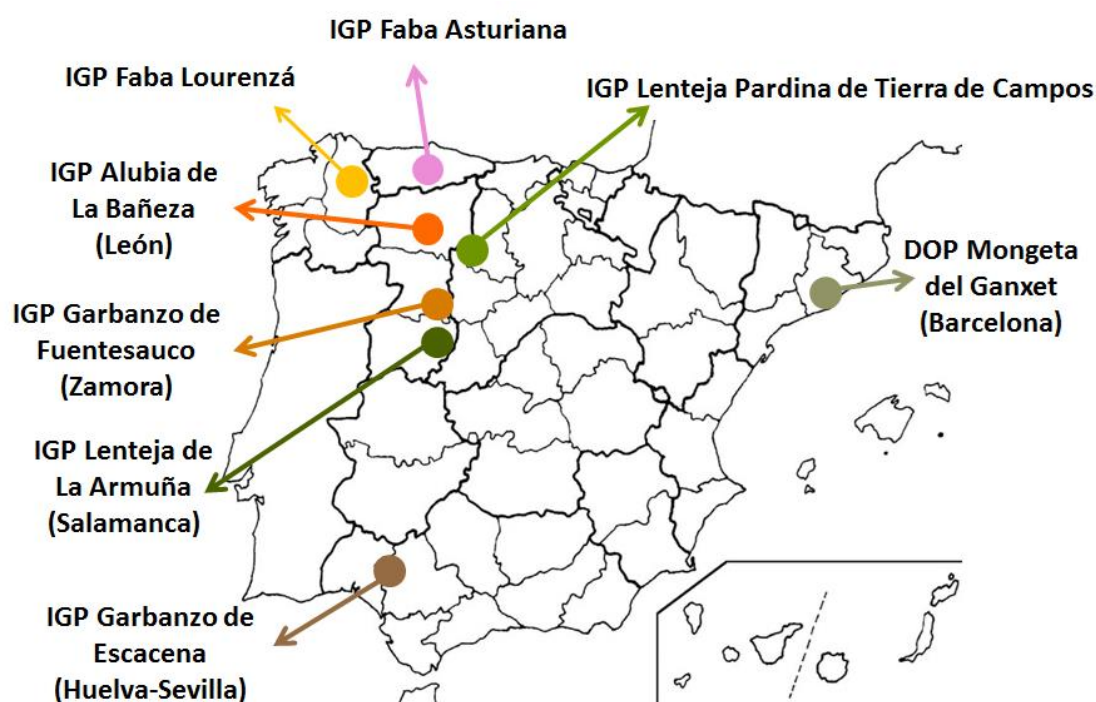
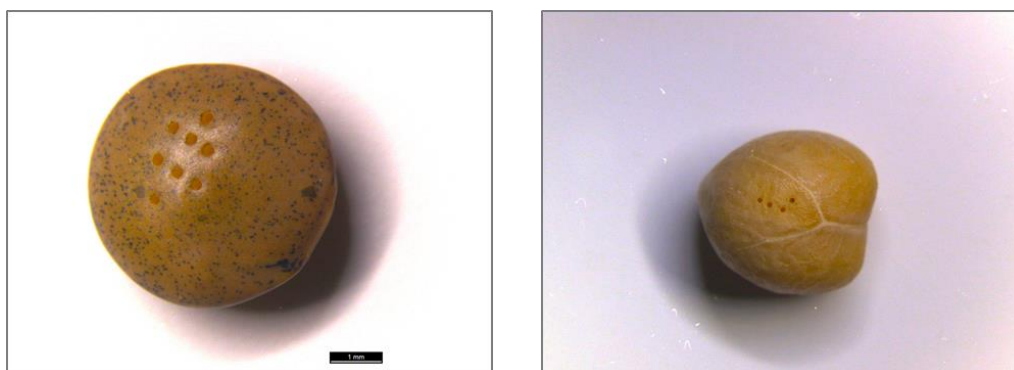


Figura D.117. Legumbres españolas con etiqueta de IGP y DOP.

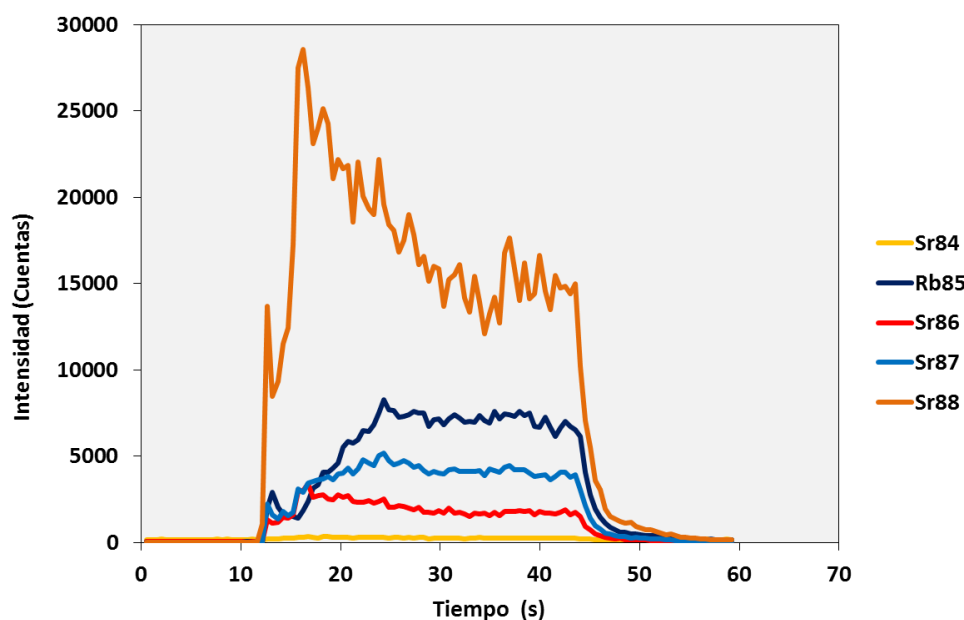
Para comprobar la viabilidad del empleo de esta metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio, se analizaron una muestra de lenteja y otra de garbanzo compradas en comercios locales. Los análisis cualitativos se llevaron a cabo mediante el acoplamiento del sistema láser al ICP-MS de cuadrupolo bajo las mismas condiciones

de ablación con las que se realizó el estudio de las fabas asturianas, y que se recogen en la Tabla D.44. El aspecto de estas muestras tras su análisis por LA-MC-ICP-MS se ilustra en la Figura D.118.



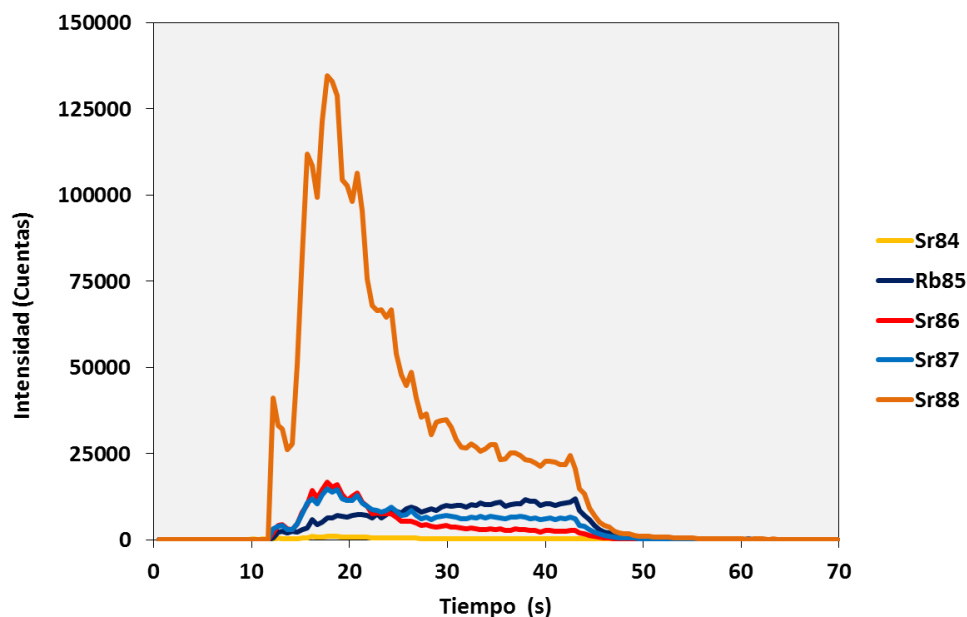
**Figura D.118. Muestras de lenteja (izquierda) y garbanzo (derecha) tras análisis mediante LA-MC-ICP-MS.**

El perfil de ablación de la muestra de lenteja se ilustra en la Figura D.119.



**Figura D.119. Perfil de ablación de una muestra de lenteja.**

Por su parte, el perfil de ablación del garbanzo se muestra en la Figura D.120.



**Figura D.120. Perfil de ablación de una muestra de garbanzo.**

Según se observa en ambas representaciones el contenido en estroncio es superior al de rubidio a lo largo de todo el proceso de ablación. Recordemos que la ablación en profundidad comienza desde la cara externa de la cáscara, atraviesa la interfase cáscara-interior y llega finalmente al interior de la legumbre. En ambos perfiles se observa un comportamiento diferente del estroncio y del rubidio: al igual que ocurre con las fabas, se denota una mayor presencia de estroncio en la cáscara que en el interior de las legumbres, mientras que el rubidio se hace presente en un estadio posterior de la ablación. La aparición de ambos elementos con un cierto tiempo de diferencia podría facilitar la aplicación de la metodología de análisis anteriormente propuesta. Para comprobar el potencial de esta metodología en el estudio de estos dos tipos de matrices sería necesario un estudio más profundo de las mismas haciendo uso del ICP-MS multicolector.

## Conclusiones

La elección de la ablación láser acoplada a espectrometría de masas ha resultado ser de gran utilidad en la discriminación de las fabas asturianas y de las alubias procedentes de Sudamérica, ya que estas pequeñas semillas son el vivo reflejo de las condiciones en las que las plantas fueron cultivadas. De esta manera, un análisis de apenas un minuto por muestra podría ayudar a dismantelar el fraude producido por la venta de alubias extranjeras bajo el nombre de Faba Asturiana.

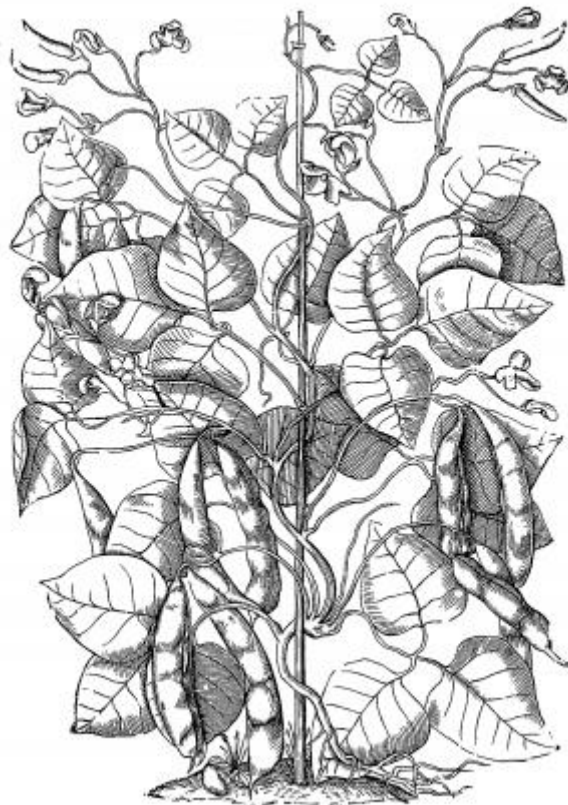


Figura D.121. Ilustración de *Phaseolus vulgaris* por Matthioli [314].



## E. Conclusiones



Como se ha ido mostrando a lo largo del presente trabajo, el estudio de las relaciones isotópicas es de gran utilidad ya no sólo en el mundo de la química sino también en diversas ramas del conocimiento científico como la botánica, ecología, arqueología, ciencia forense e incluso en la lucha antifraude. En este sentido, es de gran importancia el desarrollo y aplicación de nuevas metodologías experimentales para la medida de estas relaciones isotópicas en muestras de muy variada naturaleza con el fin último de explotar al máximo el potencial derivado de estas relaciones isotópicas y solucionar problemas surgidos en diversas disciplinas.

Bajo esta premisa, la presente Tesis Doctoral se ha fundamentado en el desarrollo y aplicación de metodologías de medida de relaciones isotópicas en muestras sólidas de muy variopinta naturaleza. Esta idea ha sido el nexo de unión entre los tres objetivos inicialmente propuestos al comienzo del presente trabajo y cuyas conclusiones procedemos a comentar.

### **1. Medida de relaciones isotópicas de molibdeno para el marcaje isotópico de productos y organismos vivos.**

El desarrollo de metodologías de medida de relaciones isotópicas de molibdeno en muestras sólidas viene ligado directamente al uso de este elemento como trazador en procesos de marcaje isotópico. El marcaje de productos con doble huella isotópica de molibdeno ha resultado beneficioso para la codificación de fabas, tintas y documentos.

- La detección de la huella isotópica de molibdeno en fabas marcadas fue realizada directamente sobre el embrión de las semillas ya que ésta es la zona de mayor acumulación de nutrientes del interior de la faba.

- La ablación en profundidad del embrión demostró que el molibdeno se distribuye en capas en el interior de la faba y que con un único punto de ablación en este tejido sería suficiente para la identificación inequívoca de fabas marcadas con diferentes etiquetas isotópicas.
- El estudio de la asimilación de este molibdeno se llevó a cabo a través de análisis en disolución y demostró que la acumulación preferencial de este micronutriente se produjo en las fabas y raíces.
- La codificación de tintas y documentos permitió expandir el campo de aplicación de esta metodología de marcaje isotópico a la lucha antifraude e incluso a la ciencia forense.
- Se comprobó que la marca de molibdeno es estable en la tinta durante un periodo de tiempo de 2-3 años y que la detección de esta marca en documentos permite la identificación de documentación original y falsificada.

## **2. Medida de relaciones isotópicas de plomo para el estudio de minerales y de procedencia de materiales arqueológicos**

Desde finales del siglo XX la evaluación de las relaciones isotópicas de plomo ha ido de la mano de estudios de procedencia de minerales o artefactos arqueológicos. El plomo, presente en concentraciones traza en este tipo de muestras, permite trazar una línea directa entre el objeto en estudio y el lugar de procedencia del mineral con el que está fabricado.

- El análisis de minerales procedentes de la mina La Profunda (León) mediante LA-MC-ICP-MS denotó la presencia de al menos dos tipos de plomo con huellas isotópicas diferentes en una misma muestra.
- La evaluación de las relaciones isotópicas de plomo en los 27 artefactos arqueológicos encontrados en forma de pequeños tesorillos en el oriente de la región asturiana permitió proponer como origen del mineral constituyente de estos artefactos las minas asturleonesas de El Aramo, El Milagro y La Profunda.
- La metodología propuesta para el análisis de estas muestras, basada en el cálculo de las relaciones isotópicas de plomo mediante regresión lineal y en la corrección de la discriminación de masas por medio de la nebulización en continuo de una disolución de talio, generó resultados análogos a los obtenidos mediante análisis en disolución pero con tiempos de análisis mucho menores.

### **3. Huella isotópica de estroncio como indicador de procedencia**

Cada lecho geológico se caracteriza por tener una huella isotópica de estroncio característica, por lo que la composición isotópica de estroncio presente en minerales, plantas, animales o alimentos permitiría ligar estas muestras con su lugar de origen.

- La presencia de rubidio, principal interferente en la medida de relaciones isotópicas de estroncio en muestras sólidas mediante ablación láser ICP-MS, fue corregida matemáticamente de manera satisfactoria a través de la adición de un pulso de disolución de rubidio tras el pulso de ablación de la muestra.

- La aparición escalonada de estroncio y rubidio en la interfase cáscara-cotiledón de las fabas permitió la determinación de las relaciones isotópicas de estroncio en estas muestras incluso en presencia de cantidades altas de rubidio.

En definitiva, las metodologías de medida de relaciones isotópicas en muestras sólidas mediante LA-ICP-MS propuestas en el presente trabajo supusieron una alternativa fiable a los análisis en disolución hasta ahora aceptados para la medida exacta y precisa de las relaciones isotópicas.

## F. Anexos





## F.1. Anexo I

En este Anexo I se recogen todos los valores de las relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  correspondientes a los Tipos A y B observadas en todos los puntos realizados sobre las muestras de malaquita, zeunerita y azurita pertenecientes al apartado “Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de plomo en minerales de cobre de la Mina La Profunda mediante LA-MC-ICP-MS”.

La incertidumbre de las relaciones isotópicas se presenta como la incertidumbre propagada mediante el método de Kragten.

## Malaquita 1 – Zona 1

Tabla F.1. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
	Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$
1	0.07633	0.00003	0.06577	0.00089	0.07524	0.00002	0.06286	0.00084
2	0.07392	0.00002	0.05917	0.00079	0.07321	0.00001	0.05726	0.00075
3	0.07516	0.00001	0.06266	0.00082	0.07411	0.00001	0.05975	0.00080
4	0.07330	0.00002	0.05738	0.00076	0.07274	0.00001	0.05593	0.00073
5	0.07731	0.00003	0.06810	0.00083	0.07632	0.00001	0.06576	0.00078
6	0.07549	0.00008	0.06338	0.00090	0.07397	0.00001	0.05925	0.00072
7	0.07504	0.00003	0.06214	0.00079	0.07395	0.00002	0.05924	0.00073
8	0.07339	0.00001	0.05768	0.00070	0.07313	0.00001	0.05702	0.00069
9	0.07681	0.00003	0.06715	0.00085	0.07533	0.00002	0.06307	0.00079
10	0.07867	0.00004	0.07181	0.00093	0.07734	0.00002	0.06819	0.00084
11	0.07595	0.00001	0.06481	0.00080	0.07552	0.00001	0.06363	0.00078
12	0.07528	0.00001	0.06290	0.00077	0.07498	0.00001	0.06206	0.00076
13	0.08196	0.00004	0.08140	0.00105	0.08093	0.00003	0.07849	0.00100

Tabla F.2. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
14	0.08686	0.00003	0.09492	0.00120	0.08422	0.00002	0.08774	0.00111
15	0.08224	0.00002	0.08198	0.00104	0.08114	0.00002	0.07891	0.00100
16	0.07733	0.00004	0.06855	0.00090	0.07552	0.00002	0.06352	0.00082
17	0.07496	0.00001	0.06208	0.00077	0.07474	0.00001	0.06141	0.00076
18	0.07458	0.00001	0.06102	0.00076	0.07392	0.00001	0.05919	0.00074
19	0.07457	0.00002	0.06113	0.00078	0.07382	0.00001	0.05876	0.00075
20	0.07810	0.00004	0.07080	0.00095	0.07611	0.00003	0.06523	0.00086
21	0.07395	0.00001	0.05925	0.00074	0.07372	0.00001	0.05866	0.00073
22	0.07493	0.00001	0.06200	0.00078	0.07438	0.00001	0.06042	0.00076
23	0.09657	0.00004	0.12150	0.00158	0.09328	0.00004	0.11251	0.00146
24	0.09123	0.00014	0.10654	0.00160	0.08291	0.00006	0.08362	0.00115
25	0.07391	0.00001	0.05919	0.00075	0.07339	0.00001	0.05771	0.00073
26	0.09733	0.00002	0.12384	0.00157	0.09626	0.00002	0.12089	0.00153
27	0.09604	0.00003	0.12037	0.00154	0.09461	0.00003	0.11649	0.00149
28	0.07635	0.00002	0.06594	0.00084	0.07438	0.00003	0.06045	0.00079

Tabla F.3. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
29	0.07418	0.00001	0.05997	0.00075	0.07392	0.00001	0.05915	0.00074
30	0.07528	0.00001	0.06281	0.00079	0.07485	0.00001	0.06169	0.00079
31	0.07394	0.00001	0.05916	0.00074	0.07375	0.00001	0.05856	0.00074
32	0.07386	0.00001	0.05895	0.00074	0.07363	0.00001	0.05839	0.00073
33	0.07981	0.00008	0.07519	0.00108	0.07752	0.00002	0.06898	0.00090
34	0.07602	0.00003	0.06500	0.00087	0.07418	0.00003	0.05978	0.00080
35	0.07417	0.00004	0.05993	0.00081	0.07322	0.00001	0.05727	0.00073
36	0.07435	0.00001	0.06037	0.00077	0.07416	0.00001	0.05985	0.00076
37	0.10203	0.00005	0.13661	0.00180	0.09879	0.00008	0.12782	0.00174
38	0.08576	0.00007	0.09125	0.00126	0.08358	0.00003	0.08530	0.00113
39	0.07421	0.00001	0.05994	0.00077	0.07392	0.00001	0.05921	0.00075
40	0.07761	0.00005	0.06941	0.00096	0.07531	0.00004	0.06304	0.00086
41	0.07463	0.00001	0.06117	0.00078	0.07427	0.00001	0.06016	0.00077
42	0.07425	0.00001	0.06005	0.00077	0.07392	0.00001	0.05917	0.00076
43	0.07424	0.00001	0.06003	0.00077	0.07393	0.00001	0.05921	0.00076

Tabla F.4. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
44	0.07519	0.00001	0.06269	0.00081	0.07463	0.00001	0.06116	0.00079
45	0.07337	0.00001	0.05758	0.00074	0.07311	0.00001	0.05694	0.00073
46	0.07377	0.00001	0.05851	0.00075	0.07340	0.00001	0.05767	0.00074
47	0.07706	0.00001	0.06796	0.00088	0.07655	0.00001	0.06648	0.00086
48	0.07958	0.00003	0.07478	0.00099	0.07703	0.00004	0.06759	0.00094
49	0.07441	0.00002	0.06039	0.00079	0.07377	0.00001	0.05875	0.00076
50	0.07433	0.00001	0.06028	0.00078	0.07404	0.00001	0.05959	0.00076
51	0.07393	0.00001	0.05919	0.00076	0.07369	0.00001	0.05855	0.00075
52	0.07383	0.00001	0.05894	0.00076	0.07367	0.00001	0.05851	0.00075
53	0.07389	0.00001	0.05893	0.00076	0.07349	0.00001	0.05795	0.00075
54	0.07414	0.00002	0.05855	0.00077	0.07355	0.00001	0.05765	0.00075
55	0.07447	0.00002	0.06069	0.00080	0.07386	0.00001	0.05901	0.00077
56	0.07439	0.00002	0.06047	0.00079	0.07388	0.00001	0.05905	0.00077
57	0.07427	0.00001	0.06013	0.00078	0.07403	0.00001	0.05948	0.00077
58	0.07921	0.00012	0.07282	0.00116	0.07400	0.00001	0.05941	0.00077

Tabla F.5. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
59	0.07386	0.00001	0.05899	0.00076	0.07365	0.00001	0.05848	0.00075
60	0.07375	0.00001	0.05865	0.00076	0.07361	0.00001	0.05832	0.00076
61	0.07415	0.00001	0.05984	0.00077	0.07390	0.00001	0.05913	0.00077
62	0.07404	0.00003	0.05913	0.00077	0.07368	0.00001	0.05851	0.00076
63	0.07408	0.00001	0.05959	0.00078	0.07372	0.00001	0.05864	0.00076
64	0.07700	0.00002	0.06773	0.00091	0.07609	0.00002	0.06524	0.00088
65	0.07471	0.00001	0.06129	0.00079	0.07441	0.00001	0.06054	0.00078
66	0.08296	0.00002	0.08419	0.00111	0.07906	0.00005	0.07327	0.00103
67	0.07433	0.00002	0.06030	0.00079	0.07391	0.00001	0.05909	0.00077
68	0.07422	0.00001	0.05998	0.00078	0.07379	0.00001	0.05874	0.00077
69	0.07391	0.00001	0.05915	0.00076	0.07370	0.00001	0.05857	0.00075
70	0.07402	0.00001	0.05941	0.00078	0.07359	0.00001	0.05826	0.00076
71	0.07355	0.00001	0.05810	0.00076	0.07334	0.00001	0.05757	0.00074
72	0.07612	0.00001	0.06522	0.00085	0.07579	0.00001	0.06439	0.00084
73	0.07375	0.00002	0.05859	0.00077	0.07341	0.00001	0.05774	0.00075

Tabla F.6. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
74	0.07407	0.00001	0.05954	0.00078	0.07368	0.00001	0.05851	0.00077
75	0.07921	0.00002	0.07382	0.00099	0.07808	0.00002	0.07061	0.00094
76	0.07501	0.00001	0.06213	0.00081	0.07418	0.00001	0.05992	0.00078
77	0.08836	0.00017	0.09897	0.00161	0.07947	0.00004	0.07459	0.00103
78	0.07383	0.00001	0.05891	0.00076	0.07360	0.00001	0.05829	0.00076
79	0.07491	0.00002	0.06186	0.00081	0.07407	0.00001	0.05961	0.00078
80	0.07538	0.00001	0.06325	0.00082	0.07503	0.00001	0.06223	0.00082
81	0.07636	0.00002	0.06595	0.00087	0.07517	0.00002	0.06269	0.00083
82	0.07449	0.00001	0.06078	0.00080	0.07404	0.00001	0.05932	0.00077
83	0.07839	0.00003	0.07153	0.00098	0.07493	0.00002	0.06182	0.00084
84	0.07267	0.00002	0.05574	0.00074	0.07247	0.00001	0.05524	0.00072
85	0.07594	0.00004	0.06449	0.00090	0.07473	0.00002	0.06119	0.00081
86	0.07755	0.00002	0.06888	0.00092	0.07678	0.00001	0.06665	0.00088
87	0.07341	0.00002	0.05782	0.00078	0.07211	0.00002	0.05434	0.00074
88	0.07470	0.00001	0.06135	0.00081	0.07382	0.00001	0.05886	0.00078

Tabla F.7. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 1).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
89	0.07418	0.00001	0.05987	0.00078	0.07385	0.00001	0.05892	0.00077
90	0.07375	0.00002	0.05827	0.00077	0.07331	0.00001	0.05748	0.00075
91	0.07486	0.00002	0.06157	0.00082	0.07460	0.00001	0.06083	0.00080
92	0.07575	0.00002	0.06427	0.00086	0.07472	0.00001	0.06140	0.00081
93	0.07328	0.00003	0.05706	0.00077	0.07258	0.00001	0.05552	0.00073
94	0.08100	0.00008	0.07796	0.00114	0.07788	0.00005	0.06986	0.00098
95	0.10249	0.00026	0.13441	0.00221	0.08617	0.00011	0.09169	0.00136
96	0.07650	0.00002	0.06645	0.00089	0.07531	0.00002	0.06312	0.00086
97	0.07737	0.00005	0.06873	0.00098	0.07600	0.00002	0.06481	0.00089
98	0.07478	0.00001	0.06158	0.00082	0.07407	0.00001	0.05971	0.00080
99	0.07465	0.00001	0.06119	0.00082	0.07433	0.00001	0.06035	0.00080
100	0.07406	0.00001	0.05956	0.00080	0.07381	0.00001	0.05889	0.00078



## Malaquita 1 – Zona 2

Tabla F.8. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
	Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$
1	0.07826	0.00002	0.06857	0.00144	0.07692	0.00002	0.06471	0.00135
2	0.09329	0.00033	0.10739	0.00273	0.07518	0.00004	0.06013	0.00127
3	0.08672	0.00006	0.09236	0.00184	0.08408	0.00004	0.08481	0.00165
4	0.10075	0.00018	0.12994	0.00289	0.08974	0.00017	0.09993	0.00229
5	0.07799	0.00004	0.06752	0.00142	0.07713	0.00001	0.06517	0.00132
6	0.07796	0.00005	0.06761	0.00145	0.07606	0.00002	0.06241	0.00130
7	0.07697	0.00003	0.06447	0.00135	0.07565	0.00002	0.06119	0.00127
8	0.09213	0.00002	0.10643	0.00222	0.09123	0.00002	0.10393	0.00216
9	0.09801	0.00008	0.12209	0.00275	0.08882	0.00005	0.09658	0.00215
10	0.08234	0.00003	0.07912	0.00169	0.07845	0.00005	0.06857	0.00151
11	0.08083	0.00006	0.07368	0.00166	0.07517	0.00002	0.05916	0.00128
12	0.07744	0.00005	0.06505	0.00145	0.07589	0.00001	0.06122	0.00130
13	0.07642	0.00002	0.06256	0.00135	0.07573	0.00001	0.06073	0.00130

Tabla F.9. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
14	0.07284	0.00004	0.05317	0.00119	0.07182	0.00002	0.05077	0.00110
15	0.08173	0.00002	0.07632	0.00166	0.08104	0.00001	0.07452	0.00160
16	0.08151	0.00004	0.07543	0.00168	0.08047	0.00001	0.07280	0.00158
17	0.08281	0.00006	0.07988	0.00180	0.08029	0.00002	0.07298	0.00159
18	0.10291	0.00024	0.13447	0.00330	0.09211	0.00013	0.10518	0.00249
19	0.11580	0.00009	0.16898	0.00373	0.10775	0.00021	0.14734	0.00350
20	0.07776	0.00002	0.06558	0.00149	0.07706	0.00001	0.06375	0.00144
21	0.07542	0.00009	0.05952	0.00149	0.07216	0.00003	0.05086	0.00118
22	0.09378	0.00004	0.10882	0.00252	0.08984	0.00009	0.09798	0.00235
23	0.09003	0.00007	0.09909	0.00236	0.08401	0.00012	0.08261	0.00209
24	0.07804	0.00002	0.06633	0.00152	0.07711	0.00002	0.06379	0.00147
25	0.07899	0.00004	0.06787	0.00161	0.07817	0.00002	0.06618	0.00154
26	0.07599	0.00009	0.06045	0.00152	0.07318	0.00003	0.05340	0.00126
27	0.07788	0.00002	0.06539	0.00153	0.07730	0.00001	0.06426	0.00148
28	0.07988	0.00003	0.07093	0.00167	0.07865	0.00002	0.06768	0.00157

Tabla F.10. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
29	0.07762	0.00003	0.06455	0.00151	0.07673	0.00001	0.06259	0.00145
30	0.07601	0.00001	0.06070	0.00141	0.07553	0.00001	0.05939	0.00138
31	0.08887	0.00014	0.09384	0.00236	0.07998	0.00014	0.07134	0.00187
32	0.10070	0.00012	0.09820	0.00243	0.08434	0.00017	0.08214	0.00212
33	0.07698	0.00003	0.06283	0.00149	0.07599	0.00001	0.06040	0.00142
34	0.08502	0.00004	0.08426	0.00202	0.08347	0.00002	0.08021	0.00189
35	0.07746	0.00004	0.06394	0.00153	0.07635	0.00002	0.06158	0.00146
36	0.07508	0.00002	0.05789	0.00137	0.07459	0.00002	0.05674	0.00132
37	0.08115	0.00012	0.07334	0.00185	0.07760	0.00010	0.06518	0.00163
38	0.07923	0.00002	0.06939	0.00155	0.07881	0.00001	0.06838	0.00152
39	0.07603	0.00002	0.06128	0.00138	0.07514	0.00001	0.05902	0.00131
40	0.07826	0.00003	0.06609	0.00158	0.07671	0.00002	0.06206	0.00146
41	0.07889	0.00002	0.06739	0.00159	0.07855	0.00001	0.06671	0.00157
42	0.07738	0.00002	0.06363	0.00150	0.07686	0.00001	0.06232	0.00147
43	0.07371	0.00006	0.05435	0.00136	0.07242	0.00003	0.05130	0.00122

Tabla F.11. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
44	0.07888	0.00002	0.06737	0.00160	0.07857	0.00001	0.06682	0.00157
45	0.07880	0.00004	0.06739	0.00163	0.07721	0.00003	0.06327	0.00152
46	0.07714	0.00003	0.06336	0.00153	0.07600	0.00001	0.06028	0.00143
47	0.07566	0.00001	0.05944	0.00140	0.07519	0.00001	0.05817	0.00137
48	0.07878	0.00002	0.06685	0.00158	0.07759	0.00002	0.06406	0.00152
49	0.08802	0.00014	0.09076	0.00225	0.08040	0.00008	0.07227	0.00176
50	0.07939	0.00021	0.06959	0.00194	0.07513	0.00001	0.05837	0.00133
51	0.07842	0.00004	0.06640	0.00157	0.07541	0.00002	0.05901	0.00136
52	0.07814	0.00009	0.06610	0.00165	0.07505	0.00003	0.05815	0.00136
53	0.07603	0.00003	0.06044	0.00138	0.07547	0.00001	0.05909	0.00134
54	0.07837	0.00008	0.06658	0.00164	0.07662	0.00002	0.06185	0.00142
55	0.07561	0.00002	0.05898	0.00140	0.07487	0.00001	0.05726	0.00135
56	0.08374	0.00006	0.08074	0.00198	0.07983	0.00004	0.07053	0.00171
57	0.08346	0.00007	0.08016	0.00198	0.07990	0.00003	0.07029	0.00169
58	0.07737	0.00002	0.06345	0.00150	0.07702	0.00001	0.06279	0.00148

Tabla F.12. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
59	0.07955	0.00002	0.06912	0.00164	0.07912	0.00001	0.06810	0.00160
60	0.08133	0.00002	0.07389	0.00176	0.08058	0.00001	0.07193	0.00170
61	0.07482	0.00001	0.05708	0.00135	0.07459	0.00001	0.05647	0.00133
62	0.08711	0.00003	0.08969	0.00216	0.08420	0.00005	0.08181	0.00201
63	0.08089	0.00002	0.07270	0.00173	0.08029	0.00001	0.07126	0.00168
64	0.07700	0.00001	0.06278	0.00149	0.07653	0.00001	0.06152	0.00146
65	0.07683	0.00001	0.06218	0.00148	0.07642	0.00001	0.06117	0.00145
66	0.07805	0.00011	0.06565	0.00173	0.07624	0.00002	0.06071	0.00146
67	0.09388	0.00024	0.10556	0.00288	0.08191	0.00011	0.07565	0.00196
68	0.07605	0.00002	0.05998	0.00144	0.07543	0.00001	0.05833	0.00139
69	0.08485	0.00005	0.08399	0.00207	0.08149	0.00005	0.07496	0.00185
70	0.07658	0.00004	0.06199	0.00151	0.07580	0.00002	0.05986	0.00142
71	0.07645	0.00002	0.06144	0.00147	0.07604	0.00001	0.06047	0.00143
72	0.07817	0.00003	0.06574	0.00159	0.07729	0.00002	0.06348	0.00152
73	0.07845	0.00002	0.06669	0.00162	0.07710	0.00004	0.06295	0.00157

Tabla F.13. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
74	0.07854	0.00004	0.06662	0.00165	0.07639	0.00002	0.06121	0.00148
75	0.09139	0.00013	0.10104	0.00263	0.08180	0.00018	0.07561	0.00211
76	0.07869	0.00002	0.06715	0.00162	0.07768	0.00002	0.06440	0.00156
77	0.07565	0.00001	0.05914	0.00141	0.07518	0.00001	0.05793	0.00138
78	0.07578	0.00001	0.05948	0.00142	0.07513	0.00001	0.05771	0.00137
79	0.07682	0.00002	0.06225	0.00149	0.07585	0.00001	0.05967	0.00142
80	0.07525	0.00001	0.05815	0.00137	0.07487	0.00001	0.05710	0.00135
81	0.08244	0.00010	0.07716	0.00197	0.07862	0.00003	0.06693	0.00162
82	0.07746	0.00002	0.06413	0.00153	0.07681	0.00001	0.06238	0.00147
83	0.07548	0.00001	0.05878	0.00138	0.07511	0.00001	0.05775	0.00136
84	0.07728	0.00002	0.06351	0.00150	0.07693	0.00001	0.06260	0.00148
85	0.07770	0.00002	0.06459	0.00154	0.07661	0.00002	0.06158	0.00147
86	0.08495	0.00005	0.08396	0.00206	0.08196	0.00005	0.07580	0.00187
87	0.08965	0.00003	0.09632	0.00232	0.08746	0.00004	0.09054	0.00220
88	0.07548	0.00004	0.05870	0.00143	0.07421	0.00002	0.05539	0.00133

Tabla F.14. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 1 (zona 2).

M1	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
89	0.07581	0.00003	0.05939	0.00143	0.07454	0.00001	0.05609	0.00133
90	0.07808	0.00002	0.06517	0.00156	0.07746	0.00001	0.06380	0.00152
91	0.08106	0.00003	0.07351	0.00177	0.07937	0.00003	0.06902	0.00166
92	0.07958	0.00007	0.06923	0.00175	0.07733	0.00004	0.06300	0.00154
93	0.07358	0.00001	0.05345	0.00127	0.07334	0.00001	0.05283	0.00125
94	0.07348	0.00001	0.05310	0.00126	0.07328	0.00001	0.05257	0.00125
95	0.07708	0.00001	0.06302	0.00150	0.07629	0.00001	0.06087	0.00145
96	0.07623	0.00005	0.06039	0.00150	0.07400	0.00003	0.05466	0.00134
97	0.09386	0.00003	0.10760	0.00258	0.09255	0.00002	0.10387	0.00247
98	0.10110	0.00015	0.12676	0.00324	0.09362	0.00007	0.10674	0.00263
99	0.07417	0.00001	0.05510	0.00131	0.07376	0.00001	0.05405	0.00127
100	0.07432	0.00002	0.05524	0.00133	0.07404	0.00001	0.05454	0.00129

## Malaquita 2

Tabla F.15. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
1	0.08832	0.00002	0.09864	0.00150	0.08775	0.00001	0.09727	0.00148
2	0.09018	0.00002	0.10370	0.00162	0.08967	0.00001	0.10236	0.00159
3	0.09061	0.00002	0.10485	0.00172	0.08997	0.00001	0.10318	0.00169
4	0.09076	0.00002	0.10489	0.00177	0.09016	0.00001	0.10344	0.00174
5	0.09237	0.00003	0.10939	0.00188	0.09107	0.00002	0.10589	0.00182
6	0.09258	0.00002	0.10996	0.00187	0.09219	0.00001	0.10889	0.00185
7	0.09292	0.00002	0.11062	0.00190	0.09250	0.00001	0.10971	0.00188
8	0.09538	0.00003	0.11735	0.00208	0.09425	0.00001	0.11436	0.00200
9	0.09549	0.00002	0.11725	0.00213	0.09474	0.00002	0.11534	0.00208
10	0.09380	0.00002	0.11247	0.00205	0.09347	0.00001	0.11172	0.00203
11	0.09387	0.00002	0.11249	0.00207	0.09350	0.00001	0.11153	0.00205
12	0.09259	0.00002	0.10879	0.00202	0.09152	0.00001	0.10618	0.00196
13	0.09269	0.00002	0.10912	0.00205	0.09220	0.00001	0.10781	0.00202



Tabla F.16. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
14	0.09088	0.00002	0.10398	0.00197	0.09044	0.00001	0.10289	0.00195
15	0.08968	0.00002	0.10043	0.00196	0.08889	0.00001	0.09849	0.00191
16	0.08839	0.00002	0.09696	0.00188	0.08780	0.00001	0.09556	0.00184
17	0.08986	0.00002	0.10077	0.00198	0.08886	0.00001	0.09811	0.00192
18	0.08951	0.00002	0.09984	0.00199	0.08902	0.00001	0.09862	0.00195
19	0.09281	0.00006	0.10839	0.00224	0.09100	0.00002	0.10383	0.00207
20	0.09693	0.00002	0.11980	0.00243	0.09511	0.00003	0.11500	0.00236
21	0.09409	0.00002	0.11191	0.10969	0.09326	0.00002	0.10967	0.00225
22	0.09587	0.00004	0.11670	0.00246	0.09439	0.00002	0.11273	0.00234
23	0.09546	0.00002	0.11552	0.00243	0.09439	0.00002	0.11261	0.00236
24	0.09639	0.00001	0.11787	0.00249	0.09610	0.00001	0.11707	0.00248
25	0.09860	0.00004	0.12169	0.00010	0.09752	0.00002	0.12081	0.00257
26	0.09770	0.00002	0.12122	0.00260	0.09667	0.00002	0.11832	0.00255
27	0.09551	0.00002	0.11531	0.00251	0.09454	0.00002	0.11277	0.00245
28	0.09441	0.00002	0.11209	0.00249	0.09324	0.00002	0.10889	0.00242

Tabla F.17. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
29	0.09306	0.00002	0.10846	0.00244	0.09252	0.00001	0.10697	0.00239
30	0.09242	0.00001	0.10657	0.00239	0.09208	0.00001	0.10563	0.00237
31	0.09008	0.00002	0.10030	0.00224	0.08948	0.00002	0.09872	0.00220
32	0.09156	0.00002	0.10401	0.00236	0.09088	0.00002	0.10230	0.00232
33	0.08985	0.00002	0.09957	0.00226	0.08927	0.00001	0.09792	0.00222
34	0.09167	0.00001	0.10436	0.00237	0.09079	0.00002	0.10197	0.00233
35	0.09263	0.00002	0.10685	0.00245	0.09176	0.00002	0.10467	0.00240
36	0.09323	0.00001	0.10834	0.00250	0.09278	0.00002	0.10723	0.00248
37	0.09558	0.00001	0.11494	0.00265	0.09520	0.00001	0.11385	0.00262
38	0.09905	0.00005	0.12363	0.00293	0.09756	0.00002	0.11994	0.00279
39	0.10010	0.00002	0.12665	0.00296	0.09954	0.00002	0.12513	0.00293
40	0.09989	0.00003	0.12593	0.00298	0.09868	0.00002	0.12280	0.00289
41	0.08385	0.00001	0.08325	0.00197	0.08365	0.00001	0.08282	0.00196
42	0.08442	0.00001	0.08472	0.00199	0.08423	0.00001	0.08435	0.00198
43	0.08519	0.00001	0.08669	0.00204	0.08498	0.00001	0.08621	0.00202

Tabla F.18. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
44	0.08621	0.00002	0.08934	0.00212	0.08587	0.00001	0.08857	0.00209
45	0.08727	0.00002	0.09225	0.00220	0.08690	0.00001	0.09138	0.00217
46	0.08804	0.00002	0.09423	0.00224	0.08775	0.00001	0.09358	0.00221
47	0.08696	0.00002	0.09140	0.00216	0.08657	0.00001	0.09045	0.00213
48	0.08523	0.00001	0.08688	0.00206	0.08503	0.00001	0.08645	0.00205
49	0.08438	0.00001	0.08454	0.00200	0.08419	0.00001	0.08413	0.00199
50	0.08365	0.00001	0.08251	0.00196	0.08341	0.00001	0.08204	0.00195
51	0.08351	0.00001	0.08216	0.00195	0.08333	0.00001	0.08178	0.00194
52	0.08485	0.00003	0.08537	0.00200	0.08437	0.00001	0.08446	0.00197
53	0.08572	0.00001	0.08796	0.00204	0.08552	0.00001	0.08746	0.00202
54	0.08796	0.00004	0.09354	0.00225	0.08682	0.00001	0.09081	0.00214
55	0.08871	0.00002	0.09583	0.00226	0.08827	0.00001	0.09478	0.00222
56	0.08859	0.00002	0.09557	0.00230	0.08812	0.00001	0.09450	0.00225
57	0.08746	0.00002	0.09260	0.00222	0.08698	0.00001	0.09139	0.00217
58	0.08613	0.00002	0.08908	0.00213	0.08578	0.00001	0.08826	0.00210

Tabla F.19. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
59	0.08457	0.00001	0.08492	0.00203	0.08429	0.00001	0.08428	0.00200
60	0.08368	0.00001	0.08236	0.00199	0.08341	0.00001	0.08183	0.00197
61	0.08547	0.00001	0.08738	0.00209	0.08515	0.00001	0.08662	0.00207
62	0.08613	0.00001	0.08909	0.00211	0.08588	0.00001	0.08858	0.00209
63	0.08692	0.00001	0.09115	0.00210	0.08664	0.00001	0.09045	0.00208
64	0.08759	0.00002	0.09295	0.00218	0.08718	0.00001	0.09209	0.00216
65	0.08790	0.00002	0.09389	0.00220	0.08758	0.00001	0.09317	0.00217
66	0.08696	0.00002	0.09146	0.00212	0.08658	0.00001	0.09052	0.00209
67	0.08628	0.00002	0.08917	0.00203	0.08588	0.00001	0.08829	0.00200
68	0.08602	0.00002	0.08852	0.00203	0.08569	0.00001	0.08777	0.00200
69	0.08520	0.00001	0.08659	0.00205	0.08500	0.00001	0.08617	0.00203
70	0.08530	0.00001	0.08692	0.00206	0.08500	0.00001	0.08616	0.00204
71	0.08198	0.00002	0.07781	0.00178	0.08166	0.00001	0.07710	0.00175
72	0.08219	0.00002	0.07823	0.00179	0.08182	0.00001	0.07736	0.00176
73	0.08167	0.00001	0.07708	0.00176	0.08142	0.00001	0.07640	0.00173

Tabla F.20. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
74	0.08092	0.00001	0.07518	0.00177	0.08068	0.00001	0.07468	0.00175
75	0.08053	0.00002	0.07408	0.00164	0.08032	0.00001	0.07357	0.00163
76	0.08359	0.00002	0.08207	0.00194	0.08308	0.00001	0.08094	0.00190
77	0.08385	0.00010	0.08134	0.00194	0.08255	0.00001	0.07958	0.00185
78	0.08293	0.00001	0.08053	0.00188	0.08251	0.00001	0.07962	0.00186
79	0.08190	0.00001	0.07770	0.00182	0.08167	0.00001	0.07719	0.00180
80	0.08195	0.00001	0.07776	0.00183	0.08173	0.00001	0.07732	0.00181
81	0.08977	0.00001	0.09857	0.00230	0.08955	0.00001	0.09813	0.00229
82	0.08912	0.00002	0.09680	0.00229	0.08892	0.00001	0.09634	0.00227
83	0.08836	0.00001	0.09468	0.00223	0.08821	0.00001	0.09438	0.00222
84	0.08924	0.00002	0.09712	0.00227	0.08881	0.00001	0.09608	0.00223
85	0.08979	0.00002	0.09863	0.00229	0.08923	0.00001	0.09710	0.00226
86	0.08845	0.00002	0.09498	0.00220	0.08789	0.00001	0.09353	0.00216
87	0.08858	0.00001	0.09536	0.00220	0.08820	0.00001	0.09446	0.00218
88	0.08805	0.00002	0.09397	0.00219	0.08732	0.00001	0.09208	0.00214

Tabla F.21. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
89	0.08706	0.00002	0.09129	0.00212	0.08658	0.00001	0.09003	0.00208
90	0.09403	0.00002	0.10973	0.00256	0.09230	0.00003	0.10515	0.00246
91	0.12255	0.00008	0.18463	0.00435	0.11709	0.00005	0.17050	0.00398
92	0.14222	0.00019	0.23352	0.00559	0.13119	0.00018	0.20595	0.00497
93	0.10290	0.00006	0.13237	0.00309	0.10021	0.00004	0.12528	0.00290
94	0.08468	0.00002	0.08491	0.00195	0.08388	0.00001	0.08280	0.00189
95	0.09419	0.00008	0.10994	0.00266	0.09056	0.00004	0.10039	0.00236
96	0.09045	0.00001	0.10010	0.00231	0.09001	0.00001	0.09884	0.00228
97	0.12534	0.00017	0.19174	0.00464	0.11590	0.00008	0.16675	0.00393
98	0.10765	0.00008	0.14552	0.00342	0.10226	0.00006	0.13141	0.00308
99	0.09700	0.00005	0.11785	0.00275	0.09474	0.00002	0.11186	0.00257
100	0.09253	0.00002	0.10601	0.00244	0.09159	0.00001	0.10344	0.00238
101	0.09042	0.00001	0.10025	0.00228	0.08998	0.00001	0.09923	0.00225
102	0.09082	0.00002	0.10121	0.00233	0.09004	0.00001	0.09913	0.00227
103	0.09024	0.00009	0.09927	0.00239	0.08753	0.00002	0.09262	0.00211

Tabla F.22. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
<b>104</b>	0.08895	0.00002	0.09636	0.00222	0.08733	0.00002	0.09205	0.00211
<b>105</b>	0.08744	0.00001	0.09229	0.00210	0.08701	0.00001	0.09127	0.00208
<b>106</b>	0.08727	0.00001	0.09190	0.00208	0.08638	0.00002	0.08939	0.00203
<b>107</b>	0.08600	0.00003	0.08848	0.00202	0.08437	0.00002	0.08411	0.00189
<b>108</b>	0.08833	0.00003	0.09453	0.00217	0.08632	0.00002	0.08922	0.00203
<b>109</b>	0.09034	0.00002	0.09982	0.00223	0.08937	0.00002	0.09733	0.00217
<b>110</b>	0.08592	0.00001	0.08790	0.00195	0.08543	0.00002	0.08675	0.00193
<b>111</b>	0.08600	0.00002	0.08813	0.00201	0.08501	0.00002	0.08576	0.00196
<b>112</b>	0.12798	0.00012	0.19755	0.00462	0.12185	0.00006	0.18257	0.00420
<b>113</b>	0.09099	0.00002	0.10171	0.00234	0.09049	0.00001	0.10044	0.00231
<b>114</b>	0.09689	0.00002	0.11686	0.00275	0.09626	0.00001	0.11519	0.00271
<b>115</b>	0.08968	0.00002	0.09833	0.00232	0.08916	0.00001	0.09711	0.00228
<b>116</b>	0.08900	0.00002	0.09635	0.00224	0.08853	0.00001	0.09522	0.00220
<b>117</b>	0.08946	0.00002	0.09761	0.00227	0.08920	0.00001	0.09701	0.00224
<b>118</b>	0.08904	0.00001	0.09656	0.00223	0.08865	0.00001	0.09529	0.00220

Tabla F.23. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de malaquita 2.

M2	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
119	0.08851	0.00002	0.09505	0.00217	0.08773	0.00003	0.09310	0.00215
120	0.08526	0.00002	0.08654	0.00199	0.08510	0.00001	0.08617	0.00197
121	0.08430	0.00001	0.08405	0.00190	0.08410	0.00001	0.08361	0.00189
122	0.08325	0.00001	0.08118	0.00185	0.08295	0.00001	0.08051	0.00183
123	0.08277	0.00002	0.08000	0.00184	0.08229	0.00001	0.07866	0.00180
124	0.08089	0.00002	0.07459	0.00170	0.08048	0.00001	0.07376	0.00168
125	0.08683	0.00002	0.09122	0.00209	0.08615	0.00001	0.08979	0.00204
126	0.08473	0.00001	0.08526	0.00192	0.08446	0.00001	0.08459	0.00190
127	0.08364	0.00001	0.08209	0.00185	0.08344	0.00001	0.08158	0.00183
128	0.08377	0.00001	0.08246	0.00186	0.08353	0.00001	0.08196	0.00184
129	0.08226	0.00001	0.07848	0.00176	0.08188	0.00001	0.07746	0.00174
130	0.08436	0.00002	0.08406	0.00191	0.08364	0.00001	0.08217	0.00185
131	0.08502	0.00002	0.08582	0.00193	0.08442	0.00001	0.08434	0.00189
132	0.08517	0.00001	0.08624	0.00192	0.08481	0.00001	0.08545	0.00191



## Zeunerita

Tabla F.24. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de zeunerita.

Zeu	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
1	0.08072	0.00006	0.08716	0.00147	0.07887	0.00004	0.08231	0.00135
2	0.09298	0.00003	0.11988	0.00210	0.08888	0.00009	0.10918	0.00200
3	0.09186	0.00003	0.11700	0.00204	0.08929	0.00004	0.11025	0.00195
4	0.10460	0.00009	0.14983	0.00275	0.09998	0.00005	0.13786	0.00247
5	0.08312	0.00006	0.09344	0.00167	0.07941	0.00006	0.08356	0.00150
6	0.12962	0.00215	0.17607	0.00461	0.10036	0.00006	0.13936	0.00241
7	0.09095	0.00005	0.11461	0.00209	0.08832	0.00003	0.10745	0.00191
8	0.07777	0.00005	0.07938	0.00144	0.07661	0.00002	0.07644	0.00134
9	0.07758	0.00009	0.07811	0.00117	0.07493	0.00003	0.07106	0.00098
10	0.07692	0.00007	0.07671	0.00142	0.07443	0.00003	0.07024	0.00124
11	0.08110	0.00006	0.08775	0.00165	0.07901	0.00002	0.08204	0.00147
12	0.19953	0.00428	0.23423	0.00735	0.09208	0.00013	0.11679	0.00223
13	0.22623	0.00219	0.40544	0.00942	0.12845	0.00064	0.21092	0.00486

Tabla F.25. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de zeunerita.

Zeu	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
14	0.15169	0.00157	0.25061	0.00615	0.09625	0.00039	0.12694	0.00288
15	0.12983	0.00062	0.21105	0.00413	0.09928	0.00039	0.13524	0.00306
16	0.16708	0.00043	0.31430	0.00627	0.14321	0.00036	0.25176	0.00505
17	0.12173	0.00065	0.19499	0.00469	0.10715	0.00017	0.15643	0.00305
18	0.15443	0.00145	0.28211	0.00789	0.10178	0.00045	0.14326	0.00338
19	0.22490	0.00076	0.46754	0.00970	0.17050	0.00058	0.32323	0.00683
20	0.28022	0.00068	0.61396	0.01202	0.21979	0.00104	0.45448	0.00994
21	0.08951	0.00088	0.10906	0.00385	0.07414	0.00008	0.06907	0.00135
22	0.13451	0.00370	0.17278	0.00667	0.07928	0.00012	0.08324	0.00167
23	0.18302	0.00207	0.33516	0.00845	0.13220	0.00043	0.22224	0.00467
24	0.39065	0.00122	0.89885	0.01829	0.33574	0.00084	0.75478	0.01500
25	0.39619	0.00383	0.91588	0.02407	0.32447	0.00090	0.72604	0.01455
26	0.36700	0.00115	0.80479	0.01552	0.33393	0.00014	0.75542	0.01377
27	0.37496	0.00177	0.82404	0.01628	0.33499	0.00017	0.75867	0.01388

## Azurita

Tabla F.26. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de azurita.

Azu	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
1	0.41248	0.00073	0.96274	0.01758	0.38442	0.00026	0.88876	0.01556
2	0.46839	0.00085	1.09825	0.02008	0.43075	0.00034	0.99898	0.01754
3	0.43406	0.00045	1.01029	0.01802	0.41972	0.00036	0.97521	0.01720
4	0.46715	0.00127	1.09437	0.02069	0.43207	0.00065	1.00564	0.01808
5	0.39758	0.00157	0.92894	0.01842	0.36733	0.00023	0.84734	0.01475
6	0.40595	0.00163	0.94280	0.01898	0.38162	0.00037	0.88101	0.01551
7	0.41221	0.00013	0.95504	0.01635	0.38294	0.00090	0.88792	0.01640
8	0.39113	0.00031	0.91032	0.01560	0.34895	0.00074	0.81125	0.01464
9	0.41215	0.00060	0.96217	0.01734	0.37670	0.00053	0.86977	0.01558
10	0.44980	0.00118	1.05553	0.01994	0.39456	0.00048	0.91557	0.01627
11	0.43547	0.00047	1.01653	0.01769	0.42085	0.00020	0.97745	0.01657
12	0.52514	0.00054	1.23969	0.02176	0.49161	0.00053	1.15497	0.02034
13	0.50455	0.00051	1.19217	0.02109	0.49024	0.00013	1.15143	0.01970

Tabla F.27. Relaciones isotópicas de plomo  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  y  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  (tipos A y B) en la muestra de azurita.

Azu	Tipo A				Tipo B			
Punto	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$U_{\text{Kragten}}$
14	0.47024	0.00067	1.10617	0.01989	0.44194	0.00040	1.03150	0.01811
15	0.47063	0.00012	1.10486	0.01887	0.46245	0.00017	1.08517	0.01858
16	0.45275	0.00041	1.06127	0.01865	0.43702	0.00010	1.01733	0.01739
17	0.45642	0.00049	1.06831	0.01901	0.43688	0.00023	1.02082	0.01772
18	0.46320	0.00014	1.08184	0.01853	0.45645	0.00013	1.06640	0.01825
19	0.55534	0.00074	1.31914	0.02380	0.53189	0.00054	1.26377	0.02226
20	0.52414	0.00021	1.23922	0.02177	0.52192	0.00008	1.22907	0.02134
21	0.50246	0.00066	1.18652	0.02139	0.47994	0.00029	1.12259	0.01965
22	0.51898	0.00008	1.22630	0.02133	0.51575	0.00008	1.21694	0.02117

## F.2. Anexo II

En este Anexo II se recogen todos los valores de la relación  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  encontrada en las muestras de Faba Asturiana y de alubias extranjeras pertenecientes al apartado “Desarrollo de una metodología de medida de relaciones isotópicas de estroncio en Faba Asturiana mediante LA-MC-ICP-MS”.

La nomenclatura de los puntos de ablación de cada ejemplar es la siguiente:

X.Y.Z

Donde X hace referencia al número de muestra y por tanto a la parcela de donde procede (1-18); Y indica la réplica en cuestión (1, 2 o 3); y Z indica el punto de ablación (1-9).

En color rojo se destacan los valores que debido a una baja relación Sr/Rb, una escasa presencia de estroncio en la cáscara y presentar un perfil de ablación Tipo 4 en la región cáscara-cotiledón, generaron resultados discordantes y por tanto no se consideraron para la discriminación entre fabas.

## Faba Asturiana: Ribera de Arriba (1)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>1.1.1</b>	0.71236	0.00025	-1.68	0.71184	0.00029	-1.74	0.328
<b>1.1.2</b>	0.71433	0.00027	-1.70	0.71424	0.00031	-1.70	0.334
<b>1.1.3</b>	0.71346	0.00028	-1.70	0.71346	0.00031	-1.70	0.306
<b>1.1.4</b>	0.71295	0.00038	-1.71	0.71295	0.00040	-1.71	0.313
<b>1.1.5</b>	0.71292	0.00035	-1.69	0.71273	0.00038	-1.72	0.324
<b>1.1.6</b>	0.71325	0.00037	-1.71	0.71318	0.00039	-1.71	0.305
<b>1.1.7</b>	0.71372	0.00027	-1.72	0.71381	0.00031	-1.71	0.398
<b>1.1.8</b>	0.71400	0.00029	-1.72	0.71405	0.00032	-1.72	0.396
<b>1.1.9</b>	0.71470	0.00028	-1.75	0.71500	0.00031	-1.71	0.428
<b>1.2.1</b>	0.71282	0.00017	-1.69	0.71255	0.00023	-1.72	0.642
<b>1.2.2</b>	0.71333	0.00018	-1.70	0.71327	0.00023	-1.71	0.709
<b>1.2.3</b>	0.71333	0.00017	-1.70	0.71330	0.00023	-1.71	0.734
<b>1.2.4</b>	0.71346	0.00018	-1.73	0.71362	0.00024	-1.71	0.848
<b>1.2.5</b>	0.71328	0.00019	-1.72	0.71332	0.00024	-1.71	0.814
<b>1.2.6</b>	0.71339	0.00018	-1.73	0.71341	0.00023	-1.72	0.838
<b>1.2.7</b>	0.71337	0.00016	-1.75	0.71357	0.00022	-1.72	0.950
<b>1.2.8</b>	0.71377	0.00018	-1.75	0.71398	0.00023	-1.72	0.906
<b>1.2.9</b>	0.71365	0.00017	-1.76	0.71391	0.00023	-1.73	0.869
<b>1.3.1</b>	0.71263	0.00018	-1.67	0.71229	0.00023	-1.71	0.710
<b>1.3.2</b>	0.71354	0.00017	-1.69	0.71349	0.00023	-1.70	0.699
<b>1.3.3</b>	0.71362	0.00018	-1.69	0.71361	0.00023	-1.69	0.702
<b>1.3.4</b>	0.71340	0.00024	-1.70	0.71333	0.00028	-1.70	0.425
<b>1.3.5</b>	0.71382	0.00021	-1.70	0.71383	0.00026	-1.70	0.451
<b>1.3.6</b>	0.71378	0.00020	-1.72	0.71391	0.00025	-1.70	0.446
<b>1.3.7</b>	0.71373	0.00017	-1.73	0.71390	0.00023	-1.71	0.756
<b>1.3.8</b>	0.71369	0.00019	-1.73	0.71382	0.00024	-1.72	0.708
<b>1.3.9</b>	0.71408	0.00017	-1.74	0.71429	0.00023	-1.72	0.799

## Faba Asturiana: Llanes (2)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>2.1.1</b>	0.70825	0.00018	-1.75	0.70815	0.00024	-1.76	2.647
<b>2.1.2</b>	0.70816	0.00019	-1.75	0.070794	0.00024	-1.77	2.640
<b>2.1.3</b>	0.70817	0.00016	-1.77	0.70812	0.00022	-1.77	3.265
<b>2.1.4</b>	0.70834	0.00018	-1.76	0.70833	0.00023	-1.76	2.851
<b>2.1.5</b>	0.70833	0.00017	-1.77	0.70843	0.00023	-1.75	2.987
<b>2.1.6</b>	0.70805	0.00018	-1.77	0.70801	0.00023	-1.77	2.795
<b>2.1.7</b>	0.70813	0.00015	-1.74	0.70806	0.00021	-1.76	3.627
<b>2.1.8</b>	0.70815	0.00015	-1.76	0.70813	0.00022	-1.76	3.388
<b>2.1.9</b>	0.70834	0.00015	-1.69	0.70805	0.00021	-1.73	3.158
<b>2.2.1</b>	0.70856	0.00018	-1.67	0.70798	0.00023	-1.74	2.087
<b>2.2.2</b>	0.70872	0.00016	-1.67	0.70840	0.00022	-1.71	2.142
<b>2.2.3</b>	0.70886	0.00017	-1.68	0.70874	0.00023	-1.70	2.358
<b>2.2.4</b>	0.70898	0.00018	-1.73	0.70908	0.00024	-1.72	2.535
<b>2.2.5</b>	0.70886	0.00019	-1.74	0.70885	0.00024	-1.74	2.157
<b>2.2.6</b>	0.70896	0.00018	-1.75	0.70909	0.00023	-1.73	2.367
<b>2.2.7</b>	0.70884	0.00018	-1.77	0.70902	0.00024	-1.74	2.668
<b>2.2.8</b>	0.70862	0.00017	-1.76	0.70877	0.00023	-1.75	2.739
<b>2.2.9</b>	0.70868	0.00016	-1.77	0.70880	0.00022	-1.75	2.987
<b>2.3.1</b>	0.70907	0.00036	-1.69	0.70862	0.00038	-1.75	1.277
<b>2.3.2</b>	0.70853	0.00030	-1.72	0.70816	0.00033	-1.76	1.409
<b>2.3.3</b>	0.70856	0.00030	-1.75	0.70845	0.00033	-1.76	1.277
<b>2.3.4</b>	0.70891	0.00027	-1.77	0.70898	0.00030	-1.76	1.245
<b>2.3.5</b>	0.70959	0.00033	-1.76	0.70965	0.00036	-1.75	1.282
<b>2.3.6</b>	0.70900	0.00031	-1.75	0.70905	0.00034	-1.74	1.369
<b>2.3.7</b>	0.70910	0.00033	-1.74	0.70887	0.00035	-1.76	1.255
<b>2.3.8</b>	0.70874	0.00028	-1.75	0.70867	0.00031	-1.76	1.223
<b>2.3.9</b>	0.70867	0.00026	-1.75	0.70861	0.00029	-1.75	1.258

## Faba Asturiana: Valdés (3)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>3.1.1</b>	0.70842	0.00018	-1.63	0.70821	0.00023	-1.66	0.696
<b>3.1.2</b>	0.70919	0.00024	-1.72	0.70940	0.00028	-1.69	0.864
<b>3.1.3</b>	0.70906	0.00022	-1.73	0.70932	0.00027	-1.70	0.914
<b>3.1.4</b>	0.70972	0.00019	-1.75	0.71017	0.00024	-1.70	1.053
<b>3.1.5</b>	0.70920	0.00019	-1.75	0.70958	0.00024	-1.71	1.093
<b>3.1.6</b>	0.70899	0.00019	-1.75	0.70931	0.00024	-1.71	1.062
<b>3.1.7</b>	0.70937	0.00018	-1.74	0.70966	0.00023	-1.71	0.995
<b>3.1.8</b>	0.70961	0.00017	-1.75	0.71001	0.00023	-1.70	1.033
<b>3.1.9</b>	0.70980	0.00019	-1.75	0.71025	0.00024	-1.70	0.956
<b>3.2.1</b>	0.70914	0.00026	-1.60	0.70873	0.00030	-1.66	0.544
<b>3.2.2</b>	0.70918	0.00023	-1.67	0.70927	0.00027	-1.65	0.588
<b>3.2.3</b>	0.70938	0.00025	-1.72	0.70968	0.00029	-1.68	0.654
<b>3.2.4</b>	0.70979	0.00031	-1.76	0.71028	0.00034	-1.70	0.647
<b>3.2.5</b>	0.70973	0.00027	-1.75	0.71018	0.00030	-1.70	0.661
<b>3.2.6</b>	0.70943	0.00029	-1.75	0.70990	0.00032	-1.69	0.580
<b>3.2.7</b>	0.70927	0.00032	-1.75	0.70974	0.00035	-1.70	0.647
<b>3.2.8</b>	0.70976	0.00037	-1.74	0.71019	0.00039	-1.69	0.581
<b>3.2.9</b>	0.71000	0.00038	-1.75	0.71053	0.00040	-1.69	0.547
<b>3.3.1</b>	0.70913	0.00018	-1.62	0.70916	0.00023	-1.62	1.208
<b>3.3.2</b>	0.70907	0.00017	-1.68	0.70921	0.00023	-1.66	1.152
<b>3.3.3</b>	0.70896	0.00017	-1.70	0.70919	0.00023	-1.67	1.058
<b>3.3.4</b>	0.70930	0.00017	-1.72	0.70970	0.00023	-1.67	1.099
<b>3.3.5</b>	0.70934	0.00016	-1.73	0.70975	0.00022	-1.68	1.291
<b>3.3.6</b>	0.70943	0.00017	-1.72	0.70989	0.00023	-1.67	1.203
<b>3.3.7</b>	0.70948	0.00018	-1.74	0.70993	0.00023	-1.68	1.088
<b>3.3.8</b>	0.70931	0.00020	-1.71	0.70963	0.00024	-1.68	0.996
<b>3.3.9</b>	0.70931	0.00017	-1.73	0.70977	0.00023	-1.67	1.266



## Faba Asturiana: Vegadeo (4)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>4.1.1</b>	0.70964	0.00026	-1.62	0.70931	0.00030	-1.66	0.414
<b>4.1.2</b>	0.71059	0.00021	-1.65	0.71068	0.00026	-1.64	0.489
<b>4.1.3</b>	0.71034	0.00022	-1.70	0.71061	0.00026	-1.66	0.525
<b>4.1.4</b>	0.71085	0.00027	1.73	0.71123	0.00030	-1.68	0.600
<b>4.1.5</b>	0.71103	0.00029	-1.73	0.71144	0.00032	-1.69	0.576
<b>4.1.6</b>	0.71087	0.00027	-1.74	0.71133	0.00030	-1.69	0.623
<b>4.1.7</b>	0.71062	0.00028	-1.73	0.71097	0.00031	-1.69	0.679
<b>4.1.8</b>	0.71121	0.00030	-1.73	0.71161	0.00033	-1.69	0.687
<b>4.1.9</b>	0.71165	0.00030	-1.74	0.71210	0.00033	-1.68	0.636
<b>4.2.1</b>	0.71131	0.00029	-1.70	0.71172	0.00032	-1.65	0.411
<b>4.2.2</b>	0.71150	0.00027	-1.65	0.71167	0.00030	-1.63	0.494
<b>4.2.3</b>	0.71176	0.00028	-1.67	0.71198	0.00031	-1.64	0.539
<b>4.2.4</b>	0.71105	0.00030	-1.72	0.71148	0.00033	-1.66	0.561
<b>4.2.5</b>	0.71121	0.00028	-1.72	0.71153	0.00031	-1.68	0.622
<b>4.2.6</b>	0.71094	0.00031	-1.71	0.71115	0.00034	-1.68	0.551
<b>4.2.7</b>	0.71118	0.00029	-1.74	0.71164	0.00032	-1.68	0.670
<b>4.2.8</b>	0.71177	0.00029	-1.72	0.71206	0.00032	-1.68	0.646
<b>4.2.9</b>	0.71156	0.00030	-1.72	0.71191	0.00033	-1.68	0.636
<b>4.3.1</b>	0.71113	0.00022	-1.63	0.71090	0.00026	-1.66	0.608
<b>4.3.2</b>	0.71176	0.00020	-1.64	0.71173	0.00025	-1.64	0.696
<b>4.3.3</b>	0.71167	0.00022	-1.63	0.71173	0.00026	-1.62	0.772
<b>4.3.4</b>	0.71191	0.00025	-1.69	0.71233	0.00029	-1.64	0.665
<b>4.3.5</b>	0.71196	0.00026	-1.71	0.71238	0.00030	-1.65	0.680
<b>4.3.6</b>	0.71130	0.00030	-1.71	0.71159	0.00033	-1.67	0.626
<b>4.3.7</b>	0.71205	0.00022	-1.71	0.71249	0.00026	-1.66	0.859
<b>4.3.8</b>	0.71155	0.00023	-1.73	0.71199	0.00027	-1.67	0.739
<b>4.3.9</b>	0.71145	0.00020	-1.72	0.71181	0.00025	-1.67	0.933

## Faba Asturiana: Vegadeo (5)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>5.1.1</b>	0.70769	0.00071	-1.58	0.70708	0.00070	-1.65	0.148
<b>5.1.2</b>	0.71213	0.00072	-1.62	0.71197	0.00071	-1.64	0.157
<b>5.1.3</b>	0.71202	0.00081	-1.56	0.71135	0.00080	-1.64	0.155
<b>5.1.4</b>	0.71196	0.00129	-1.71	0.71250	0.00126	-1.65	0.117
<b>5.1.5</b>	0.71310	0.00129	-1.69	0.71324	0.00126	-1.67	0.113
<b>5.1.6</b>	0.71166	0.00126	-1.75	0.71219	0.00124	-1.68	0.127
<b>5.1.7</b>	0.71201	0.00146	-1.81	0.71310	0.00143	-1.68	0.116
<b>5.1.8</b>	0.71116	0.00148	-1.65	0.71096	0.00144	-1.68	0.139
<b>5.1.9</b>	0.71015	0.00144	-1.72	0.71042	0.00141	-1.69	0.136
<b>5.2.1</b>	0.71085	0.00027	-1.60	0.71044	0.00030	-1.65	0.580
<b>5.2.2</b>	0.71154	0.00024	-1.67	0.71151	0.00028	-1.68	0.616
<b>5.2.3</b>	0.71136	0.00028	-1.68	0.71140	0.00031	-1.68	0.584
<b>5.2.4</b>	0.71186	0.00026	-1.71	0.71202	0.00029	-1.69	0.698
<b>5.2.5</b>	0.71174	0.00030	-1.71	0.71185	0.00033	-1.70	0.602
<b>5.2.6</b>	0.71176	0.00032	-1.74	0.71209	0.00035	-1.70	0.637
<b>5.2.7</b>	0.71192	0.00023	-1.73	0.71219	0.00028	-1.70	0.871
<b>5.2.8</b>	0.71195	0.00029	-1.72	0.71215	0.00032	-1.70	0.835
<b>5.2.9</b>	0.71217	0.00028	-1.73	0.71248	0.00031	-1.69	0.797
<b>5.3.1</b>	0.70702	0.00074	-1.47	0.70571	0.00072	-1.63	0.155
<b>5.3.2</b>	0.70921	0.00091	-1.62	0.70894	0.00089	-1.65	0.155
<b>5.3.3</b>	0.70915	0.00098	-1.66	0.70899	0.00096	-1.68	0.153
<b>5.3.4</b>	0.71086	0.00062	-1.72	0.71112	0.00062	-1.69	0.249
<b>5.3.5</b>	0.71090	0.00065	-1.75	0.71141	0.00065	-1.69	0.276
<b>5.3.6</b>	0.71023	0.00059	-1.75	0.71069	0.00059	-1.69	0.326
<b>5.3.7</b>	0.71091	0.00087	-1.74	0.71133	0.00086	-1.68	0.269
<b>5.3.8</b>	0.71205	0.00084	-1.77	0.71276	0.00083	-1.69	0.301
<b>5.3.9</b>	0.71222	0.00082	-1.78	0.71297	0.00081	-1.69	0.298

## Faba Asturiana: Siero (6)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>6.1.1</b>	0.71011	0.00038	-1.67	0.71036	0.00041	-1.65	1.146
<b>6.1.2</b>	0.70971	0.00027	-1.67	0.70979	0.00030	-1.65	1.289
<b>6.1.3</b>	0.71009	0.00031	-1.69	0.71017	0.00034	-1.65	1.338
<b>6.1.4</b>	0.71051	0.00051	-1.75	0.71128	0.00052	-1.65	1.147
<b>6.1.5</b>	0.70966	0.00047	-1.75	0.71012	0.00049	-1.70	1.247
<b>6.1.6</b>	0.70975	0.00044	-1.79	0.71069	0.00045	-1.67	1.398
<b>6.1.7</b>	0.71092	0.00041	-1.75	0.71163	0.00044	-1.66	1.675
<b>6.1.8</b>	0.70968	0.00050	-1.74	0.71029	0.00051	-1.67	1.349
<b>6.1.9</b>	0.71079	0.00047	-1.75	0.71158	0.00048	-1.66	1.348
<b>6.2.1</b>	0.70959	0.00031	-1.68	0.70937	0.00034	-1.70	0.768
<b>6.2.2</b>	0.71053	0.00030	-1.78	0.71094	0.00033	-1.72	1.000
<b>6.2.3</b>	0.71003	0.00031	-1.78	0.71038	0.00034	-1.73	1.075
<b>6.2.4</b>	0.71088	0.00066	-1.83	0.71175	0.00066	-1.72	0.653
<b>6.2.5</b>	0.71056	0.00055	-1.77	0.71087	0.00056	-1.73	0.809
<b>6.2.6</b>	0.70918	0.00056	-1.76	0.70937	0.00056	-1.73	0.783
<b>6.2.7</b>	0.71001	0.00043	-1.78	0.71053	0.00045	-1.72	0.878
<b>6.2.8</b>	0.70998	0.00043	-1.77	0.71038	0.00045	-1.72	0.846
<b>6.2.9</b>	0.71026	0.00044	-1.77	0.71067	0.00046	-1.71	0.816
<b>6.3.1</b>	0.71023	0.00024	-1.60	0.70968	0.00028	-1.67	1.526
<b>6.3.2</b>	0.71045	0.00028	-1.66	0.71022	0.00031	-1.68	1.571
<b>6.3.3</b>	0.71016	0.00035	-1.69	0.71017	0.00037	-1.69	1.373
<b>6.3.4</b>	0.71077	0.00039	-1.74	0.71114	0.00042	-1.70	1.647
<b>6.3.5</b>	0.70930	0.00046	-1.77	0.70951	0.00047	-1.74	1.581
<b>6.3.6</b>	0.71078	0.00045	-1.78	0.71142	0.00047	-1.70	1.605
<b>6.3.7</b>	0.71041	0.00025	-1.75	0.71077	0.00030	-1.70	2.410
<b>6.3.8</b>	0.71024	0.00033	-1.77	0.71065	0.00037	-1.71	2.430
<b>6.3.9</b>	0.7107	0.00028	-1.78	0.71059	0.00032	-1.72	2.118

## Faba Asturiana: Coaña (7)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>7.1.1</b>	0.70679	0.00020	-1.62	0.70682	0.00025	-1.62	1.483
<b>7.1.2</b>	0.70697	0.00020	-1.68	0.70733	0.00025	-1.64	1.660
<b>7.1.3</b>	0.70694	0.00021	-1.71	0.70736	0.00025	-1.66	1.764
<b>7.1.4</b>	0.70676	0.00023	-1.75	0.70727	0.00027	-1.69	2.336
<b>7.1.5</b>	0.70692	0.00023	-1.74	0.70743	0.00027	-1.67	2.162
<b>7.1.6</b>	0.70730	0.00023	-1.76	0.70804	0.00027	-1.67	2.276
<b>7.1.7</b>	0.70698	0.00020	-1.75	0.70757	0.00025	-1.68	2.412
<b>7.1.8</b>	0.70736	0.00021	-1.75	0.70807	0.00026	-1.66	2.180
<b>7.1.9</b>	0.70708	0.00021	-1.74	0.70764	0.00026	-1.67	1.932
<b>7.2.1</b>	0.70651	0.00015	-1.61	0.70644	0.00021	-1.62	3.198
<b>7.2.2</b>	0.70679	0.00016	-1.69	0.70721	0.00022	-1.63	3.098
<b>7.2.3</b>	0.70671	0.00017	-1.72	0.70717	0.00023	-1.67	3.129
<b>7.2.4</b>	0.70685	0.00018	-1.74	0.70747	0.00024	-1.66	3.587
<b>7.2.5</b>	0.70669	0.00017	-1.74	0.70717	0.00023	-1.68	3.749
<b>7.2.6</b>	0.70679	0.00017	-1.75	0.70749	0.00023	-1.66	4.210
<b>7.2.7</b>	0.70672	0.00018	-1.74	0.70727	0.00023	-1.67	3.471
<b>7.2.8</b>	0.70682	0.00016	-1.74	0.70737	0.00022	-1.67	4.053
<b>7.2.9</b>	0.70689	0.00017	-1.76	0.70768	0.00023	-1.66	3.742
<b>7.3.1</b>	0.71203	0.00032	-1.57	0.71087	0.00033	-1.71	1.240
<b>7.3.2</b>	0.71118	0.00021	-1.61	0.71085	0.00026	-1.65	1.640
<b>7.3.3</b>	0.71115	0.00024	-1.64	0.71108	0.00028	-1.65	1.885
<b>7.3.4</b>	0.71119	0.00024	-1.71	0.71160	0.00028	-1.66	1.921
<b>7.3.5</b>	0.71105	0.00024	-1.73	0.71141	0.00028	-1.69	1.938
<b>7.3.6</b>	0.71085	0.00023	-1.74	0.71136	0.00028	-1.68	2.188
<b>7.3.7</b>	0.71074	0.00023	-1.73	0.71121	0.00027	-1.67	2.372
<b>7.3.8</b>	0.71044	0.00020	-1.73	0.71100	0.00025	-1.67	2.739
<b>7.3.9</b>	0.71038	0.00025	-1.72	0.71080	0.00030	-1.67	2.347

## Faba Asturiana: Valdés (8)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>8.1.1</b>	0.70868	0.00036	-1.61	0.70841	0.00038	-1.64	0.315
<b>8.1.2</b>	0.71049	0.00035	-1.67	0.71061	0.00037	-1.66	0.309
<b>8.1.3</b>	0.71040	0.00038	-1.70	0.71061	0.00040	-1.68	0.347
<b>8.1.4</b>	0.71073	0.00046	-1.75	0.71129	0.00048	-1.69	0.384
<b>8.1.5</b>	0.71102	0.00032	-1.74	0.71143	0.00035	-1.69	0.481
<b>8.1.6</b>	0.70988	0.00029	-1.74	0.71020	0.00032	-1.70	0.441
<b>8.1.7</b>	0.71008	0.00038	-1.72	0.71025	0.00040	-1.70	0.410
<b>8.1.8</b>	0.71079	0.00036	-1.73	0.71105	0.00038	-1.70	0.445
<b>8.1.9</b>	0.71076	0.0033	-1.73	0.71104	0.00036	-1.70	0.448
<b>8.2.1</b>	0.70201	0.00068	-1.58	0.70124	0.00068	-1.68	0.165
<b>8.2.2</b>	0.70998	0.00069	-1.68	0.70991	0.00069	-1.69	0.188
<b>8.2.3</b>	0.71039	0.00061	-1.69	0.71035	0.00061	-1.70	0.207
<b>8.2.4</b>	0.70931	0.00065	-1.74	0.70959	0.00065	-1.71	0.246
<b>8.2.5</b>	0.71144	0.00050	-1.74	0.71179	0.00051	-1.69	0.304
<b>8.2.6</b>	0.71176	0.00058	-1.74	0.71218	0.00059	-1.68	0.273
<b>8.2.7</b>	0.71061	0.00065	-1.74	0.71098	0.00066	-1.70	0.257
<b>8.2.8</b>	0.70830	0.00063	-1.72	0.70854	0.00063	-1.69	0.326
<b>8.2.9</b>	0.70970	0.00050	-1.73	0.71001	0.00051	-1.69	0.352
<b>8.3.1</b>	0.70812	0.00040	-1.58	0.70749	0.00042	-1.66	0.348
<b>8.3.2</b>	0.70972	0.00035	-1.67	0.70958	0.00037	-1.69	0.356
<b>8.3.3</b>	0.70983	0.00040	-1.71	0.70986	0.00042	-1.70	0.377
<b>8.3.4</b>	0.71054	0.00047	-1.72	0.71063	0.00049	-1.71	0.374
<b>8.3.5</b>	0.71028	0.00049	-1.75	0.71060	0.00050	-1.71	0.379
<b>8.3.6</b>	0.70989	0.00040	-1.74	0.71011	0.00042	-1.71	0.408
<b>8.3.7</b>	0.71103	0.00041	-1.72	0.71120	0.0043	-1.70	0.521
<b>8.3.8</b>	0.71141	0.00044	-1.74	0.71178	0.00045	-1.70	0.477
<b>8.3.9</b>	0.71022	0.00045	-1.74	0.71052	0.00047	-1.70	0.509

## Faba Asturiana: Gozón (9)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>9.1.1</b>	0.71012	0.00035	-1.59	0.70962	0.00037	-1.65	0.808
<b>9.1.2</b>	0.71031	0.00034	-1.64	0.71015	0.00037	-1.66	1.154
<b>9.1.3</b>	0.71047	0.00035	-1.67	0.71048	0.00037	-1.67	1.136
<b>9.1.4</b>	0.71093	0.00044	-1.70	0.71099	0.00046	-1.69	0.807
<b>9.1.5</b>	0.71068	0.00042	-1.74	0.71103	0.00044	-1.70	0.914
<b>9.1.6</b>	0.71084	0.00053	-1.70	0.71101	0.00054	-1.68	0.844
<b>9.1.7</b>	0.71034	0.00044	-1.72	0.71057	0.00045	-1.70	1.163
<b>9.1.8</b>	0.71014	0.00041	-1.73	0.71037	0.00043	-1.70	1.101
<b>9.1.9</b>	0.71126	0.00051	-1.72	0.71158	0.00052	-1.68	1.046
<b>9.2.1</b>	0.71056	0.00021	-1.64	0.71020	0.00026	-1.69	2.139
<b>9.2.2</b>	0.71034	0.00019	-1.71	0.71039	0.00024	-1.70	2.600
<b>9.2.3</b>	0.71000	0.00021	-1.70	0.71005	0.00026	-1.69	2.262
<b>9.2.4</b>	0.71039	0.00024	-1.68	0.71047	0.00028	-1.67	3.034
<b>9.2.5</b>	0.70991	0.00022	-1.65	0.70967	0.00027	-1.68	3.133
<b>9.2.6</b>	0.70994	0.00027	-1.65	0.70988	0.00031	-1.65	2.762
<b>9.2.7</b>	0.70988	0.00021	-1.63	0.70957	0.00026	-1.67	3.740
<b>9.2.8</b>	0.70993	0.00019	-1.63	0.70971	0.00025	-1.66	4.442
<b>9.2.9</b>	0.70993	0.00021	-1.62	0.70955	0.00026	-1.66	4.199
<b>9.3.1</b>	0.71022	0.00017	-1.67	0.70996	0.00023	-1.70	2.120
<b>9.3.2</b>	0.71019	0.00018	-1.71	0.71037	0.00023	-1.69	2.212
<b>9.3.3</b>	0.70992	0.00021	-1.70	0.70990	0.00026	-1.70	2.012
<b>9.3.4</b>	0.70989	0.00025	-1.67	0.70979	0.00029	-1.68	1.960
<b>9.3.5</b>	0.71026	0.00024	-1.66	0.71020	0.00028	-1.66	2.142
<b>9.3.6</b>	0.70944	0.00024	-1.65	0.70935	0.00029	-1.66	2.126
<b>9.3.7</b>	0.70975	0.00023	-1.63	0.70945	0.00027	-1.68	2.257
<b>9.3.8</b>	0.70963	0.00023	-1.65	0.70956	0.00028	-1.66	2.422
<b>9.3.9</b>	0.70949	0.00026	-1.62	0.70925	0.00030	-1.65	1.970

## Faba Asturiana: Vegadeo (10)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>10.1.1</b>	0.71018	0.00017	-1.66	0.70991	0.00023	-1.69	1.838
<b>10.1.2</b>	0.71043	0.00017	-1.68	0.71035	0.00022	-1.69	2.181
<b>10.1.3</b>	0.71056	0.00017	-1.69	0.71065	0.00022	-1.67	2.277
<b>10.1.4</b>	0.71043	0.00017	-1.70	0.71053	0.00023	-1.68	2.410
<b>10.1.5</b>	0.71041	0.00017	-1.70	0.71056	0.00023	-1.68	2.595
<b>10.1.6</b>	0.71076	0.00017	-1.72	0.71091	0.00022	-1.70	2.671
<b>10.1.7</b>	0.71066	0.00019	-1.73	0.71099	0.00024	-1.70	3.028
<b>10.1.8</b>	0.71059	0.00018	-1.74	0.71092	0.00024	-1.70	3.035
<b>10.1.9</b>	0.71082	0.00019	-1.73	0.71115	0.00024	-1.69	3.146
<b>10.2.1</b>	0.71065	0.00019	-1.61	0.70978	0.00023	-1.72	2.311
<b>10.2.2</b>	0.71070	0.00018	-1.70	0.71059	0.00024	-1.72	2.451
<b>10.2.3</b>	0.71056	0.00018	-1.75	0.71063	0.00024	-1.74	2.654
<b>10.2.4</b>	0.71056	0.00018	-1.76	0.71069	0.00024	-1.75	2.618
<b>10.2.5</b>	0.71061	0.00018	-1.77	0.71091	0.00023	-1.73	2.731
<b>10.2.6</b>	0.71081	0.00018	-1.78	0.71097	0.00023	-1.75	2.772
<b>10.2.7</b>	0.71057	0.00017	-1.77	0.71070	0.00023	-1.75	2.780
<b>10.2.8</b>	0.71078	0.00019	-1.77	0.71097	0.00024	-1.75	2.577
<b>10.2.9</b>	0.71067	0.00018	-1.77	0.71083	0.00024	-1.75	2.815
<b>10.3.1</b>	0.71017	0.00018	-1.68	0.71011	0.00023	-1.68	1.221
<b>10.3.2</b>	0.71016	0.00017	-1.70	0.71018	0.00023	-1.70	1.436
<b>10.3.3</b>	0.71037	0.00017	-1.74	0.71064	0.00023	-1.71	1.516
<b>10.3.4</b>	0.71074	0.00020	-1.76	0.71111	0.00025	-1.71	1.612
<b>10.3.5</b>	0.71034	0.00021	-1.75	0.71053	0.00025	-1.73	1.695
<b>10.3.6</b>	0.71061	0.00020	-1.76	0.71093	0.00024	-1.72	1.822
<b>10.3.7</b>	0.71039	0.00017	-1.76	0.71067	0.00022	-1.72	2.714
<b>10.3.8</b>	0.71064	0.00018	-1.76	0.71090	0.00023	-1.73	2.325
<b>10.3.9</b>	0.71050	0.00018	-1.76	0.71080	0.00023	-1.72	2.381

## Faba Asturiana: Valdés (11)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>11.1.1</b>	0.71017	0.00023	-1.66	0.70981	0.00027	-1.71	0.308
<b>11.1.2</b>	0.71133	0.00023	-1.69	0.71131	0.00027	-1.69	0.336
<b>11.1.3</b>	0.71096	0.00023	-1.69	0.71101	0.00027	-1.68	0.352
<b>11.1.4</b>	0.71013	0.00031	-1.68	0.71003	0.00034	-1.70	0.332
<b>11.1.5</b>	0.71081	0.00025	-1.73	0.71096	0.00029	-1.71	0.335
<b>11.1.6</b>	0.71084	0.00024	-1.73	0.71094	0.00028	-1.72	0.358
<b>11.1.7</b>	0.71163	0.00040	-1.72	0.71159	0.00042	-1.72	0.265
<b>11.1.8</b>	0.71251	0.00031	-1.75	0.71271	0.00034	-1.72	0.274
<b>11.1.9</b>	0.71352	0.00046	-1.74	0.71365	0.00047	-1.72	0.238
<b>11.2.1</b>	0.71079	0.00025	-1.65	0.71029	0.00028	-1.71	0.262
<b>11.2.2</b>	0.71153	0.00022	-1.68	0.71137	0.00027	-1.70	0.302
<b>11.2.3</b>	0.71186	0.00023	-1.69	0.71178	0.00027	-1.70	0.304
<b>11.2.4</b>	0.71101	0.00022	-1.73	0.71108	0.00026	1.72	0.408
<b>11.2.5</b>	0.71147	0.00020	-1.73	0.71151	0.00025	-1.72	0.448
<b>11.2.6</b>	0.71120	0.00020	-1.74	0.71127	0.00024	-1.73	0.461
<b>11.2.7</b>	0.71237	0.00025	-1.74	0.71247	0.00028	-1.73	0.475
<b>11.2.8</b>	0.71223	0.00026	-1.73	0.71219	0.00030	-1.73	0.423
<b>11.2.9</b>	0.71210	0.00028	-1.73	0.71204	0.00031	-1.74	0.413
<b>11.3.1</b>	0.70966	0.00030	-1.61	0.70908	0.00033	-1.68	0.304
<b>11.3.2</b>	0.71136	0.00024	-1.67	0.71124	0.00028	-1.68	0.301
<b>11.3.3</b>	0.71087	0.00026	-1.70	0.71094	0.00030	-1.69	0.290
<b>11.3.4</b>	0.71113	0.00037	-1.70	0.71114	0.00039	-1.70	0.283
<b>11.3.5</b>	0.71145	0.00039	-1.72	0.71149	0.00041	-1.71	0.275
<b>11.3.6</b>	0.71238	0.00038	-1.75	0.71262	0.00040	-1.72	0.286
<b>11.3.7</b>	0.71185	0.00030	-1.72	0.71188	0.00033	-1.72	0.286
<b>11.3.8</b>	0.71282	0.00043	-1.72	0.71282	0.00045	-1.72	0.254
<b>11.3.9</b>	0.71294	0.00047	-1.69	0.71271	0.00048	-1.72	0.222



## Faba Asturiana: Valdés (12)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>12.1.1</b>	0.71107	0.00077	-1.48	0.70900	0.00075	-1.74	0.116
<b>12.1.2</b>	0.71467	0.00067	-1.55	0.71336	0.00067	-1.70	0.124
<b>12.1.3</b>	0.71430	0.00085	-1.52	0.71291	0.00084	-1.69	0.126
<b>12.1.4</b>	0.71376	0.00078	-1.58	0.71289	0.00077	-1.68	0.139
<b>12.1.5</b>	0.71292	0.00093	-1.58	0.71212	0.00092	-1.68	0.130
<b>12.1.6</b>	0.71347	0.00088	-1.59	0.71270	0.00087	-1.68	0.142
<b>12.1.7</b>	0.71318	0.00095	-1.59	0.71237	0.00094	-1.68	0.125
<b>12.1.8</b>	0.71230	0.00114	-1.58	0.71143	0.00111	-1.69	0.129
<b>12.1.9</b>	0.71393	0.00129	-1.59	0.71314	0.00127	-1.68	0.121
<b>12.2.1</b>	0.70991	0.00025	-1.64	0.70940	0.00028	-1.70	0.394
<b>12.2.2</b>	0.71042	0.00026	-1.65	0.71015	0.00029	-1.68	0.443
<b>12.2.3</b>	0.71077	0.00026	-1.69	0.71081	0.00030	-1.68	0.419
<b>12.2.4</b>	0.71052	0.00021	-1.71	0.71064	0.00026	-1.69	0.651
<b>12.2.5</b>	0.71050	0.00019	-1.73	0.71076	0.00024	-1.70	0.700
<b>12.2.6</b>	0.71054	0.00020	-1.74	0.71079	0.00024	-1.70	0.704
<b>12.2.7</b>	0.71105	0.00021	-1.73	0.71125	0.00025	-1.71	0.644
<b>12.2.8</b>	0.71123	0.00022	-1.74	0.71152	0.00026	-1.71	0.614
<b>12.2.9</b>	0.71082	0.00021	-1.74	0.71102	0.00026	-1.72	0.625
<b>12.3.1</b>	0.71016	0.00027	-1.63	0.70949	0.00030	-1.72	0.346
<b>12.3.2</b>	0.71022	0.00023	-1.66	0.71003	0.00027	-1.68	0.462
<b>12.3.3</b>	0.71020	0.00027	-1.70	0.71022	0.00030	-1.70	0.471
<b>12.3.4</b>	0.71084	0.00035	-1.72	0.71101	0.00037	-1.70	0.420
<b>12.3.5</b>	0.71031	0.00032	-1.72	0.71042	0.00035	-1.70	0.403
<b>12.3.6</b>	0.71101	0.00032	-1.73	0.71116	0.00035	-1.71	0.428
<b>12.3.7</b>	0.71050	0.00028	-1.72	0.71054	0.00031	-1.71	0.529
<b>12.3.8</b>	0.71065	0.00031	-1.72	0.71075	0.00034	-1.71	0.460
<b>12.3.9</b>	0.71132	0.00031	-1.74	0.71160	0.00034	-1.70	0.478

## Faba Asturiana: Vegadeo (13)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>13.1.1</b>	0.71185	0.00042	-1.88	0.71344	0.00043	-1.69	0.404
<b>13.1.2</b>	0.71194	0.00037	-1.81	0.71293	0.00039	-1.69	0.372
<b>13.1.3</b>	0.71204	0.00032	-1.78	0.71289	0.00035	-1.68	0.474
<b>13.1.4</b>	0.71257	0.00041	-1.78	0.71352	0.00043	-1.67	0.394
<b>13.1.5</b>	0.71226	0.00035	-1.78	0.71314	0.00037	-1.68	0.480
<b>13.1.6</b>	0.71207	0.00036	-1.78	0.71297	0.00038	-1.67	0.509
<b>13.1.7</b>	0.71156	0.00037	-1.80	0.71265	0.00039	-1.67	0.474
<b>13.1.8</b>	0.71159	0.00032	-1.73	0.71211	0.00034	-1.66	0.583
<b>13.1.9</b>	0.71175	0.00031	-1.73	0.71233	0.00034	-1.66	0.589
<b>13.2.1</b>	0.71290	0.00040	-1.94	0.71512	0.00042	-1.67	0.909
<b>13.2.2</b>	0.71177	0.00029	-1.79	0.71278	0.00032	-1.67	1.101
<b>13.2.3</b>	0.71173	0.00033	-1.80	0.71287	0.00035	-1.66	1.187
<b>13.2.4</b>	0.71099	0.00025	-1.73	0.71157	0.00029	-1.66	1.771
<b>13.2.5</b>	0.71087	0.00026	-1.73	0.71160	0.00030	-1.64	2.009
<b>13.2.6</b>	0.71064	0.00023	-1.70	0.71102	0.00028	-1.65	2.355
<b>13.2.7</b>	0.71051	0.00023	-1.72	0.71097	0.00028	-1.66	2.239
<b>13.2.8</b>	0.71070	0.00021	-1.71	0.71120	0.00026	-1.65	2.309
<b>13.2.9</b>	0.71148	0.00022	-1.70	0.71183	0.00027	-1.66	2.324
<b>13.3.1</b>	0.71232	0.00044	-2.02	0.71520	0.00045	-1.68	0.540
<b>13.3.2</b>	0.71142	0.00034	-1.84	0.71270	0.00036	-1.69	0.563
<b>13.3.3</b>	0.71091	0.00035	-1.77	0.71173	0.00037	-1.67	0.583
<b>13.3.4</b>	0.71056	0.00030	-1.81	0.71168	0.00032	-1.67	0.653
<b>13.3.5</b>	0.71058	0.00034	-1.74	0.71120	0.00036	-1.67	0.662
<b>13.3.6</b>	0.71036	0.00029	-1.74	0.71107	0.00032	-1.66	0.786
<b>13.3.7</b>	0.71039	0.00044	-1.73	0.71106	0.00046	-1.66	0.591
<b>13.3.8</b>	0.71079	0.00033	-1.73	0.71136	0.00035	-1.66	0.641
<b>13.3.9</b>	0.70994	0.00035	-1.81	0.71116	0.00037	-1.66	0.670

## Faba Asturiana: Tineo (14)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>14.1.1</b>	0.71271	0.00030	-1.76	0.71387	0.00033	-1.62	1.437
<b>14.1.2</b>	0.71251	0.00029	-1.75	0.71344	0.00033	-1.64	1.515
<b>14.1.3</b>	0.71218	0.00031	-1.74	0.71287	0.00034	-1.65	1.483
<b>14.1.4</b>	0.71226	0.00027	-1.72	0.71298	0.00031	-1.63	1.946
<b>14.1.5</b>	0.71191	0.00026	-1.71	0.71241	0.00030	-1.64	1.996
<b>14.1.6</b>	0.71187	0.00032	-1.71	0.71243	0.00035	-1.64	1.762
<b>14.1.7</b>	0.71215	0.00044	-1.72	0.71281	0.00046	-1.64	1.117
<b>14.1.8</b>	0.71279	0.00050	-1.76	0.71373	0.00051	-1.64	1.032
<b>14.1.9</b>	0.71302	0.00056	-1.74	0.71389	0.00057	-1.64	0.983
<b>14.2.1</b>	0.71255	0.00047	-1.90	0.71461	0.00048	-1.66	0.573
<b>14.2.2</b>	0.71349	0.00043	-1.85	0.71513	0.00045	-1.65	0.619
<b>14.2.3</b>	0.71228	0.0004	-1.80	0.71361	0.00045	-1.64	0.618
<b>14.2.4</b>	0.71268	0.00048	-1.82	0.71418	0.00049	-1.64	0.718
<b>14.2.5</b>	0.71141	0.00064	-1.81	0.71279	0.00064	-1.64	0.619
<b>14.2.6</b>	0.71121	0.00056	-1.77	0.71235	0.00057	-1.64	0.688
<b>14.2.7</b>	0.71302	0.00062	-1.77	0.71427	0.00062	-1.61	0.602
<b>14.2.8</b>	0.71352	0.00052	-1.77	0.71460	0.00052	-1.64	0.623
<b>14.2.9</b>	0.71243	0.00051	-1.74	0.71336	0.00052	-1.63	0.601
<b>14.3.1</b>	0.71412	0.00150	-1.78	0.71593	0.00147	-1.55	0.783
<b>14.3.2</b>	0.71431	0.00047	-1.87	0.71597	0.00048	-1.66	0.923
<b>14.3.3</b>	0.71297	0.00026	-1.79	0.71386	0.00030	-1.68	1.183
<b>14.3.4</b>	0.71217	0.00022	-1.74	0.71290	0.00026	-1.65	1.297
<b>14.3.5</b>	0.71261	0.00026	-1.73	0.71331	0.00029	-1.64	1.063
<b>14.3.6</b>	0.71255	0.00026	-1.72	0.71321	0.00029	-1.64	1.207
<b>14.3.7</b>	0.71284	0.00036	-1.73	0.71360	0.00039	-1.63	0.902
<b>14.3.8</b>	0.71376	0.00037	-1.73	0.71459	0.00040	-1.63	0.869
<b>14.3.9</b>	0.71303	0.00029	-1.71	0.71364	0.00032	-1.64	1.052

## Faba Asturiana: Valdés (15)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>15.1.1</b>	0.71007	0.00072	-1.86	0.71237	0.00071	-1.58	0.474
<b>15.1.2</b>	0.71085	0.00040	-1.88	0.71278	0.00042	-1.65	0.489
<b>15.1.3</b>	0.71089	0.00032	-1.82	0.71233	0.00035	-1.64	0.575
<b>15.1.4</b>	0.70896	0.00034	-1.91	0.71119	0.00036	-1.64	0.547
<b>15.1.5</b>	0.71032	0.00034	-1.79	0.71167	0.00036	-1.63	0.571
<b>15.1.6</b>	0.70976	0.00036	-1.77	0.71084	0.00038	-1.63	0.537
<b>15.1.7</b>	0.71012	0.0032	-1.76	0.71126	0.00035	-1.62	0.527
<b>15.1.8</b>	0.70988	0.00033	-1.73	0.71073	0.00036	-1.63	0.546
<b>15.1.9</b>	0.70956	0.00032	-1.72	0.71036	0.00035	-1.63	0.616
<b>15.2.1</b>	0.71170	0.00038	-1.93	0.71407	0.00039	-1.64	0.621
<b>15.2.2</b>	0.71017	0.00037	-1.81	0.71141	0.00039	-1.66	0.653
<b>15.2.3</b>	0.71030	0.00032	-1.78	0.71138	0.00035	-1.65	0.706
<b>15.2.4</b>	0.71013	0.00033	-1.73	0.71091	0.00036	-1.64	0.739
<b>15.2.5</b>	0.71039	0.00037	-1.72	0.71119	0.00039	-1.62	0.674
<b>15.2.6</b>	0.71069	0.00033	-1.73	0.71156	0.00036	-1.62	0.772
<b>15.2.7</b>	0.71087	0.00032	-1.74	0.71185	0.00035	-1.62	0.783
<b>15.2.8</b>	0.71031	0.00037	-1.70	0.71091	0.00039	-1.62	0.695
<b>15.2.9</b>	0.71037	0.00031	-1.69	0.71097	0.00034	-1.62	0.914
<b>15.3.1</b>	0.70629	0.00130	-2.01	0.70926	0.00126	-1.64	0.108
<b>15.3.2</b>	0.71271	0.00107	-1.90	0.71479	0.00104	-1.65	0.110
<b>15.3.3</b>	0.71167	0.00112	-1.85	0.71346	0.00110	-1.64	0.109
<b>15.3.4</b>	0.71604	0.00156	-1.90	0.71833	0.00153	-1.62	0.098
<b>15.3.5</b>	0.71273	0.00173	-1.87	0.71474	0.00170	-1.63	0.088
<b>15.3.6</b>	0.71426	0.00171	-1.78	0.71560	0.00167	-1.62	0.087
<b>15.3.7</b>	0.71280	0.00104	-1.78	0.71414	0.00103	-1.61	0.140
<b>15.3.8</b>	0.71387	0.00114	-1.80	0.71539	0.00113	-1.61	0.141
<b>15.3.9</b>	0.71388	0.00089	-1.77	0.71513	0.00089	-1.62	0.161

## Faba Asturiana: Tapia de Casariego (16)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>16.1.1</b>	0.71187	0.00040	-1.67	0.71259	0.00042	-1.58	0.557
<b>16.1.2</b>	0.71230	0.00024	-1.76	0.71300	0.00028	-1.67	0.570
<b>16.1.3</b>	0.71235	0.00020	-1.74	0.71291	0.00025	-1.67	0.648
<b>16.1.4</b>	0.71304	0.00021	-1.73	0.71364	0.00025	-1.65	0.683
<b>16.1.5</b>	0.71224	0.00021	-1.71	0.71272	0.00026	-1.65	0.650
<b>16.1.6</b>	0.71215	0.00021	-1.71	0.71267	0.00025	-1.64	0.584
<b>16.1.7</b>	0.71359	0.00022	-1.71	0.71425	0.00027	-1.63	0.562
<b>16.1.8</b>	0.71227	0.00017	-1.69	0.71265	0.00023	-1.64	0.835
<b>16.1.9</b>	0.71236	0.00018	-1.69	0.71281	0.00023	-1.64	0.863
<b>16.2.1</b>	0.71199	0.00021	-1.75	0.71288	0.00026	-1.64	0.794
<b>16.2.2</b>	0.71207	0.00018	-1.75	0.71270	0.00023	-1.67	0.968
<b>16.2.3</b>	0.71224	0.00017	-1.71	0.71267	0.00023	-1.66	1.025
<b>16.2.4</b>	0.71221	0.00016	-1.71	0.71273	0.00022	-1.65	1.503
<b>16.2.5</b>	0.71193	0.00016	-1.70	0.71241	0.00022	-1.64	1.639
<b>16.2.6</b>	0.71181	0.00015	-1.69	0.71213	0.00021	-1.65	1.754
<b>16.2.7</b>	0.71178	0.00016	-1.68	0.71211	0.00022	-1.64	1.652
<b>16.2.8</b>	0.71204	0.00016	-1.68	0.71241	0.00022	-1.64	1.630
<b>16.2.9</b>	0.71193	0.00016	-1.68	0.71232	0.00022	-1.64	1.517
<b>16.3.1</b>	0.71109	0.00025	-1.76	0.71201	0.00029	-1.65	0.543
<b>16.3.2</b>	0.71176	0.00024	-1.76	0.71252	0.00028	-1.67	0.517
<b>16.3.3</b>	0.71154	0.00025	-1.75	0.71231	0.00028	-1.66	0.523
<b>16.3.4</b>	0.71155	0.00034	-1.75	0.71228	0.00036	-1.66	0.469
<b>16.3.5</b>	0.71127	0.00028	-1.73	0.71190	0.00031	-1.65	0.515
<b>16.3.6</b>	0.71118	0.00026	-1.74	0.71187	0.00030	-1.66	0.593
<b>16.3.7</b>	0.71170	0.00026	-1.72	0.71233	0.00029	-1.65	0.526
<b>16.3.8</b>	0.71194	0.00025	-1.72	0.71261	0.00029	-1.64	0.496
<b>16.3.9</b>	0.71218	0.00022	-1.72	0.71283	0.00026	-1.64	0.542

## Faba Asturiana: El Franco (17)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>17.1.1</b>	0.70626	0.00025	-1.68	0.70689	0.00029	-1.61	0.775
<b>17.1.2</b>	0.70694	0.00021	-1.71	0.70743	0.00026	-1.65	0.869
<b>17.1.3</b>	0.70678	0.00018	-1.72	0.70724	0.00023	-1.67	1.000
<b>17.1.4</b>	0.70704	0.00016	-1.73	0.70748	0.00022	-1.68	1.193
<b>17.1.5</b>	0.70700	0.00016	-1.73	0.70745	0.00022	-1.67	1.286
<b>17.1.6</b>	0.70671	0.00016	-1.73	0.70714	0.00022	-1.68	1.420
<b>17.1.7</b>	0.70690	0.00016	-1.73	0.70727	0.00022	-1.68	1.217
<b>17.1.8</b>	0.70675	0.00016	-1.72	0.70705	0.00022	-1.68	1.126
<b>17.1.9</b>	0.70714	0.00016	-1.73	0.70759	0.00022	-1.67	1.392
<b>17.2.1</b>	0.70601	0.00024	-1.71	0.70637	0.00028	-1.67	0.500
<b>17.2.2</b>	0.70686	0.00021	-1.74	0.70722	0.00026	-1.70	0.541
<b>17.2.3</b>	0.70701	0.00020	-1.74	0.70739	0.00024	-1.70	0.640
<b>17.2.4</b>	0.70645	0.00021	-1.73	0.70665	0.00026	-1.70	0.635
<b>17.2.5</b>	0.70597	0.00019	-1.73	0.70613	0.00024	-1.71	0.686
<b>17.2.6</b>	0.70622	0.00019	-1.74	0.70648	0.00024	-1.70	0.703
<b>17.2.7</b>	0.70616	0.00019	-1.72	0.70629	0.00024	-1.70	0.673
<b>17.2.8</b>	0.70621	0.00021	-1.72	0.70635	0.00025	-1.70	0.621
<b>17.2.9</b>	0.70649	0.00020	-1.72	0.70666	0.00025	-1.69	0.634
<b>17.3.1</b>	0.70731	0.00026	-1.74	0.70791	0.00029	-1.67	0.503
<b>17.3.2</b>	0.70800	0.00023	-1.74	0.70838	0.00027	-1.69	0.539
<b>17.3.3</b>	0.70800	0.00019	-1.73	0.70834	0.00024	-1.69	0.599
<b>17.3.4</b>	0.70811	0.00022	-1.73	0.70737	0.00026	-1.69	0.508
<b>17.3.5</b>	0.70846	0.00023	-1.73	0.70877	0.00027	-1.69	0.520
<b>17.3.6</b>	0.70804	0.00022	-1.72	0.70824	0.00026	-1.69	0.520
<b>17.3.7</b>	0.70776	0.00018	-1.71	0.70799	0.00023	-1.68	0.669
<b>17.3.8</b>	0.70840	0.00018	-1.71	0.70870	0.00023	-1.67	0.740
<b>17.3.9</b>	0.70784	0.00016	-1.70	0.70806	0.00022	-1.68	0.988

## Faba Asturiana: Valdés (18)

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>18.1.1</b>	0.71239	0.00069	-1.90	0.71458	0.00068	-1.64	0.228
<b>18.1.2</b>	0.71405	0.00041	-1.82	0.71523	0.00043	-1.68	0.279
<b>18.1.3</b>	0.71382	0.00035	-1.78	0.71452	0.00037	-1.69	0.325
<b>18.1.4</b>	0.71397	0.00038	-1.78	0.71465	0.00039	-1.69	0.254
<b>18.1.5</b>	0.71358	0.00028	-1.77	0.71422	0.00031	-1.69	0.349
<b>18.1.6</b>	0.71373	0.00026	-1.75	0.71426	0.00030	-1.69	0.404
<b>18.1.7</b>	0.71404	0.00029	-1.74	0.71458	0.00032	-1.68	0.370
<b>18.1.8</b>	0.71364	0.00024	-1.73	0.71408	0.00028	-1.68	0.419
<b>18.1.9</b>	0.71390	0.00029	-1.72	0.71431	0.00032	-1.67	0.380
<b>18.2.1</b>	0.71447	0.00038	-1.87	0.71666	0.00039	-1.61	0.546
<b>18.2.2</b>	0.71333	0.00024	-1.76	0.71404	0.00028	-1.67	0.614
<b>18.2.3</b>	0.71294	0.00020	-1.73	0.71336	0.00025	-1.68	0.765
<b>18.2.4</b>	0.71383	0.00025	-1.74	0.71445	0.00029	-1.67	0.512
<b>18.2.5</b>	0.71321	0.00020	-1.74	0.71383	0.00025	-1.66	0.718
<b>18.2.6</b>	0.71340	0.00021	-1.74	0.71404	0.00026	-1.66	0.619
<b>18.2.7</b>	0.71329	0.00024	-1.72	0.71383	0.00028	-1.66	0.597
<b>18.2.8</b>	0.71307	0.00021	-1.71	0.71360	0.00026	-1.65	0.655
<b>18.2.9</b>	0.71375	0.00020	-1.71	0.71425	0.00025	-1.65	0.733
<b>18.3.1</b>	0.71496	0.00043	-1.92	0.71731	0.00045	-1.63	0.436
<b>18.3.2</b>	0.71413	0.00027	-1.78	0.71495	0.00030	-1.68	0.506
<b>18.3.3</b>	0.71425	0.00025	-1.77	0.71502	0.00029	-1.68	0.560
<b>18.3.4</b>	0.71414	0.00022	-1.74	0.71476	0.00026	-1.67	0.731
<b>18.3.5</b>	0.71332	0.00019	-1.75	0.71393	0.00024	-1.68	0.818
<b>18.3.6</b>	0.71376	0.00020	-1.72	0.71424	0.00024	-1.66	0.775
<b>18.3.7</b>	0.71397	0.00019	-1.74	0.71457	0.00024	-1.66	0.784
<b>18.3.8</b>	0.71434	0.00022	-1.72	0.71488	0.00027	-1.66	0.694
<b>18.3.9</b>	0.71415	0.00024	-1.71	0.71458	0.00028	-1.66	0.617

## Alubias foráneas: Bolivia M1

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
1	0.72421	0.00015	-1.73	0.72451	0.00023	-1.69	8.337
2	0.72407	0.00015	-1.73	0.72431	0.00023	-1.70	9.442
3	0.72413	0.00015	-1.73	0.72424	0.00023	-1.72	9.593
4	0.72416	0.00015	-1.73	0.72430	0.00022	-1.71	10.971
5	0.72417	0.00015	-1.73	0.72454	0.00023	-1.69	11.004

## Alubias foráneas: Bolivia M2

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
1	0.72575	0.00016	-1.72	0.72580	0.00022	-1.71	1.311
2	0.72591	0.00016	-1.73	0.72607	0.00022	-1.71	1.439
3	0.72567	0.00016	-1.73	0.72577	0.00022	-1.71	1.586
4	0.72558	0.00017	-1.71	0.72557	0.00022	-1.71	1.311
5	0.72562	0.00016	-1.73	0.72570	0.00022	-1.72	1.341

## Alubias foráneas: Argentina M3

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
1	0.71240	0.00018	-1.69	0.71255	0.00025	-1.67	7.222
2	0.71241	0.00017	-1.68	0.71268	0.00025	-1.65	7.089
3	0.71218	0.00017	-1.67	0.71230	0.00024	-1.66	7.651
4	0.71221	0.00016	-1.68	0.71246	0.00025	-1.65	9.620
5	0.71246	0.00016	-1.67	0.71284	0.00025	-1.63	9.464



## Alubias foráneas: República Checa

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>1</b>	0.70935	0.00023	-1.68	0.70898	0.00027	-1.72	1.493
<b>2</b>	0.70985	0.00021	-1.72	0.70982	0.00025	-1.72	1.525
<b>3</b>	0.70990	0.00023	-1.71	0.70978	0.00027	-1.72	1.603
<b>4</b>	0.71004	0.00025	-1.70	0.70990	0.00028	-1.71	1.329
<b>5</b>	0.70994	0.00024	-1.70	0.70973	0.00028	-1.72	1.434

## Alubias foráneas: Rumanía

	Corrección $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$			Corrección $^{87}\text{Rb}/^{85}\text{Rb}$			Sr/Rb
	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	$U_{\text{Kragten}}$	$f_{\text{Russell}}$	
<b>1</b>	0.70751	0.00047	-1.57	0.70666	0.00048	-1.67	0.519
<b>2</b>	0.70727	0.00046	-1.57	0.70652	0.00047	-1.66	0.531
<b>3</b>	0.70820	0.00051	-1.53	0.70701	0.00051	-1.67	0.478
<b>4</b>	0.70851	0.00056	-1.57	0.7077	0.00055	-1.66	0.459
<b>5</b>	0.70846	0.00046	-1.55	0.70755	0.00047	-1.66	0.526



## G. Referencias bibliográficas



- 
- [1] K. S. Sharma, "Mass spectrometry-The early years," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 349–350, no. 1, pp. 3–8, 2013.
- [2] H. Budzikiewicz and R. D. Grigsby, "Mass spectrometry and isotopes: A century of research and discussion," *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 25, no. 1, pp. 146–157, 2006.
- [3] F. Vanhaecke and K. Kyser, "The Isotopic Composition of the Elements," in *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS*, no. March, 2012, pp. 1–29.
- [4] M. Berglund and M. E. Wieser, "Isotopic compositions of the elements 2009 (IUPAC Technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 83, no. 2, pp. 397–410, 2011.
- [5] C. J. Allègre, *Isotope Geology*. 2008.
- [6] C. Fry and M. Thoennessen, "Discovery of isotopes of the transuranium elements with  $93 \leq Z \leq 98$ ," *At. Data Nucl. Data Tables*, vol. 99, no. 1, pp. 96–114, 2013.
- [7] G. Faure and T. M. Mensing, *Introduction to planetary science: The geological perspective*. 2007.
- [8] J. R. de Laeter, J. K. Böhlke, P. De Bièvre, H. Hidaka, H. S. Peiser, K. J. R. Rosman, and P. D. P. Taylor, "Atomic weights of the elements. Review 2000 (IUPAC Technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 75, no. 6, pp. 683–799, 2003.
- [9] M. T. J. van der Meer, A. Benthien, K. L. French, E. Epping, I. Zondervan, G.-J. Reichart, J. Bijma, J. S. Sinninghe Damsté, and S. Schouten, "Large effect of irradiance on hydrogen isotope fractionation of alkenones in *Emiliana huxleyi*," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 160, pp. 16–24, 2015.
- [10] A. F. Diefendorf, K. H. Freeman, S. L. Wing, E. D. Currano, and K. E. Mueller, "Paleogene plants fractionated carbon isotopes similar to modern plants," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 429, pp. 33–44, 2015.
- [11] B. a. Schubert and A. H. Jahren, "Seasonal temperature and precipitation recorded in the intra-annual oxygen isotope pattern of meteoric water and tree-ring cellulose," *Quat. Sci. Rev.*, vol. 125, pp. 1–14, 2015.
- [12] E. E. Stüeken, R. Buick, and a. J. Schauer, "Nitrogen isotope evidence for alkaline lakes on late Archean continents," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 411, no. 2, pp. 1–10, 2015.
- [13] M. L. Gomes and M. T. Hurtgen, "Sulfur isotope fractionation in modern euxinic systems: Implications for paleoenvironmental reconstructions of paired sulfate–sulfide isotope records," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 157, pp. 39–55, 2015.
-

- 
- [14] J. S. Pistiner and G. M. Henderson, "Lithium-isotope fractionation during continental weathering processes," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 214, no. 1–2, pp. 327–339, 2003.
- [15] O. Nir, A. Vengosh, J. S. Harkness, G. S. Dwyer, and O. Lahav, "Direct measurement of the boron isotope fractionation factor: Reducing the uncertainty in reconstructing ocean paleo-pH," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 414, pp. 1–5, 2015.
- [16] S. Weyer, a. D. Anbar, a. Gerdes, G. W. Gordon, T. J. Algeo, and E. a. Boyle, "Natural fractionation of  $^{238}\text{U}/^{235}\text{U}$ ," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 72, no. 2, pp. 345–359, 2008.
- [17] P. R. Renne, R. Mundil, G. Balco, K. Min, and K. R. Ludwig, "Joint determination of  $^{40}\text{K}$  decay constants and  $^{40}\text{Ar}^*/^{40}\text{K}$  for the Fish Canyon sanidine standard, and improved accuracy for  $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$  geochronology," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 74, no. 18, pp. 5349–5367, 2010.
- [18] L. Balcaen, L. Moens, and F. Vanhaecke, "Determination of isotope ratios of metals (and metalloids) by means of inductively coupled plasma-mass spectrometry for provenancing purposes - A review," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 65, pp. 769–786, 2010.
- [19] S. Durali-Mueller, G. P. Brey, D. Wigg-Wolf, and Y. Lahaye, "Roman lead mining in Germany: its origin and development through time deduced from lead isotope provenance studies," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 34, no. 10, pp. 1555–1567, 2007.
- [20] M. Vanhaeren, F. d'Errico, I. Billy, and F. Grousset, "Tracing the source of Upper Palaeolithic shell beads by strontium isotope dating," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 31, no. 10, pp. 1481–1488, 2004.
- [21] F. Henjes-Kunst, W. Prochaska, A. Niedermayr, N. Sullivan, and E. Baxter, "Sm–Nd dating of hydrothermal carbonate formation: An example from the Breitenau magnesite deposit (Styria, Austria)," *Chem. Geol.*, vol. 387, pp. 184–201, 2014.
- [22] T. J. Nagel, D. Herwartz, S. Rexroth, C. Münker, N. Froitzheim, and W. Kurz, "Lu–Hf dating, petrography, and tectonic implications of the youngest Alpine eclogites (Tauern Window, Austria)," *Lithos*, vol. 170–171, pp. 179–190, 2013.
- [23] V. M. Cumming, D. Selby, and P. G. Lillis, "Re–Os geochronology of the lacustrine Green River Formation: Insights into direct depositional dating of lacustrine successions, Re–Os systematics and paleocontinental weathering," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 359–360, pp. 194–205, 2012.
- [24] F. a. Settle, "Uranium to electricity: The chemistry of the nuclear fuel cycle," *J. Chem. Educ.*, vol. 86, no. 3, pp. 316–323, 2009.
-

- 
- [25] L. Guidotti, S. Queipo Abad, P. Rodríguez-González, J. I. García Alonso, and G. M. Beone, "Quantification of Cr(VI) in soil samples from a contaminated area in northern Italy by isotope dilution mass spectrometry," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2015.
- [26] G. Huelga-Suarez, B. Fernández, M. Moldovan, and J. I. García Alonso, "Detection of transgenerational barium dual-isotope marks in salmon otoliths by means of LA-ICP-MS," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 405, no. 9, pp. 2901–2909, 2013.
- [27] W. S. Aaron and J. Tracy, "Status of stable isotope enrichment and services at the Oak Ridge National Laboratory," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.*, vol. 362, pp. 194–197, 1995.
- [28] W. R. S. D. E. Wooldridge, "The separation of gaseous isotopes by diffusion," *Phys. Rev.*, vol. 50, p. 233, 1936.
- [29] H. G. Wood, A. Glaser, and R. S. Kemp, "The gas centrifuge and nuclear weapons proliferation," *Phys. Today*, vol. 61, no. 9, pp. 40–45, 2008.
- [30] R. E. Taylor, "Fifty Years of Radiocarbon Dating," *Am. Sci.*, vol. 88, pp. 1–5, 2000.
- [31] R. C. J. Steele, T. Elliott, C. D. Coath, and M. Regelous, "Confirmation of mass-independent Ni isotopic variability in iron meteorites," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 75, no. 24, pp. 7906–7925, 2011.
- [32] F. Cattin, B. Guénette-Beck, P. Curdy, N. Meisser, S. Ansermet, B. Hofmann, R. Kündig, V. Hubert, M. Wörle, K. Hametner, D. Günther, A. Wichser, A. Ulrich, I. M. Villa, and M. Besse, "Provenance of Early Bronze Age metal artefacts in Western Switzerland using elemental and lead isotopic compositions and their possible relation with copper minerals of the nearby Valais," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 38, no. 6, pp. 1221–1233, 2011.
- [33] K. J. Knudson, H. M. Williams, J. E. Buikstra, P. D. Tomczak, G. W. Gordon, and A. D. Anbar, "Introducing  $\delta^{88}/\delta^{86}\text{Sr}$  analysis in archaeology: A demonstration of the utility of strontium isotope fractionation in paleodietary studies," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 37, no. 9, pp. 2352–2364, 2010.
- [34] L. A. Chesson, D. W. Podlesak, A. H. Thompson, T. E. Cerling, and J. R. Ehleringer, "Variation of Hydrogen , Carbon , Nitrogen , and Oxygen Stable Isotope Ratios in an American Diet : Fast Food Meals Variation of Hydrogen , Carbon , Nitrogen , and Oxygen Stable Isotope Ratios in an American Diet : Fast Food Meals," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, pp. 4084–4091, 2008.
- [35] N. Estrade, J. Carignan, and O. F. X. Donard, "Tracing and quantifying anthropogenic mercury sources in soils of northern France using isotopic signatures," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, no. 4, pp. 1235–1242, 2011.
-

- 
- [36] N. Walraven, B. J. H. van Os, G. T. Klaver, J. J. Middelburg, and G. R. Davies, "The lead (Pb) isotope signature, behaviour and fate of traffic-related lead pollution in roadside soils in The Netherlands," *Sci. Total Environ.*, vol. 472, pp. 888–900, 2014.
- [37] J. Panfili, A. M. Darnaude, L. Vigliola, A. Jacquart, M. Labonne, and S. Gilles, "Experimental evidence of complex relationships between the ambient salinity and the strontium signature of fish otoliths," *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, vol. 467, pp. 65–70, 2015.
- [38] G. Huelga-Suarez, M. Moldovan, A. Garcia-Valiente, E. Garcia-Vazquez, and J. I. García Alonso, "Individual-specific transgenerational marking of fish populations based on a barium dual-isotope procedure," *Anal. Chem.*, vol. 84, no. 1, pp. 127–133, 2012.
- [39] T. A. Carlo, J. J. Tewksbury, and C. Martínez Del Río, "A new method to track seed dispersal and recruitment using  $^{15}\text{N}$  isotope enrichment," *Ecology*, vol. 90, no. 12, pp. 3516–3525, 2009.
- [40] I. Carames-Pasaron, J. Á. Rodríguez-Castrillón, M. Moldovan, and J. I. García Alonso, "Development of a Dual-Isotope Procedure for the Tagging and Identification of Manufactured Products: Application to Explosives," *Anal. Chem.*, vol. 84, pp. 121–126, 2012.
- [41] M. a. Grayson, "Professor Al Nier and his influence on mass spectrometry," *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, vol. 3, no. 7, pp. 685–694, 1992.
- [42] H. J. S. R.S. Houk, V.A. Fassel, G.D.Flesch, "Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion Source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements," *Anal. Chem.*, vol. 52, pp. 2283–2289, 1980.
- [43] G. Schudel, V. Lai, K. Gordon, and D. Weis, "Trace Element Characterization of USGS Reference Materials by HR-ICP-MS and Q-ICP-MS," *Chem. Geol.*, vol. 410, pp. 223–236, 2015.
- [44] J. Krajko, Z. Varga, E. Yalcintas, M. Wallenius, and K. Mayer, "Application of neodymium isotope ratio measurements for the origin assessment of uranium ore concentrates," *Talanta*, vol. 129, pp. 499–504, 2014.
- [45] M. Noël, J. R. Christensen, J. Spence, and C. T. Robbins, "Using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) to characterize copper, zinc and mercury along grizzly bear hair providing estimate of diet," *Sci. Total Environ.*, vol. 529, pp. 1–9, 2015.
- [46] A. Castillo, C. Boix, N. Fabregat, A. F. Roig-Navarro, and J. A. Rodríguez-Castrillón, "Rapid screening of arsenic species in urine from exposed human by inductively coupled plasma mass spectrometry with germanium as internal standard," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 27, no. 2, p. 354, 2012.
-



- 
- [47] V. N. Epov, S. Berail, V. Perrot, M. Jimenez-Moreno, C. Pecheyran, D. Amouroux, and O. F. X. Donard, "Approach to measure isotopic ratios in species using MC-ICP-MS coupled with chromatography," *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 7, pp. 5652–5662, 2010.
- [48] H. Pietilä, P. Perämäki, J. Piispanen, M. Starr, T. Nieminen, M. Kantola, and L. Ukonmaanaho, "Determination of low methylmercury concentrations in peat soil samples by isotope dilution GC-ICP-MS using distillation and solvent extraction methods," *Chemosphere*, vol. 124, pp. 47–53, 2015.
- [49] G. Caumette, C. P. Lienemann, I. Merdrignac, H. Paucot, B. Bouyssiere, and R. Lobinski, "Sensitivity improvement in ICP MS analysis of fuels and light petroleum matrices using a microflow nebulizer and heated spray chamber sample introduction," *Talanta*, vol. 80, no. 2, pp. 1039–1043, 2009.
- [50] S. Orecchio, D. Amorello, M. Raso, S. Barreca, C. Lino, and F. Di Gaudio, "Determination of trace elements in gluten-free food for celiac people by ICP-MS," *Microchem. J.*, vol. 116, pp. 163–172, 2014.
- [51] J. M. Gallo and J. R. Almirall, "Elemental analysis of white cotton fiber evidence using solution ICP-MS and laser ablation ICP-MS (LA-ICP-MS)," *Forensic Sci. Int.*, vol. 190, no. 1–3, pp. 52–57, 2009.
- [52] A. L. H. Muller, J. S. S. Oliveira, P. a. Mello, E. I. Muller, and E. M. M. Flores, "Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements," *Talanta*, vol. 136, pp. 161–169, 2015.
- [53] E. J. Llorent-Martínez, F. M. L. De Córdova, a. Ruiz-Medina, and P. Ortega-Barrales, "Analysis of 20 trace and minor elements in soy and dairy yogurts by ICP-MS," *Microchem. J.*, vol. 102, pp. 23–27, 2012.
- [54] M. Ohata, H. Sakurai, K. Nishiguchi, K. Utani, and D. Gunther, "Direct analysis of ultra-trace semiconductor gas by inductively coupled plasma mass spectrometry coupled with gas to particle conversion-gas exchange technique," *Anal. Chim. Acta*, 2015.
- [55] T. A. N. D.A. Skoog, F.J. Holler, *Principios de Análisis Instrumental*, 5<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill, 2001.
- [56] R. Thomas, "A beginner's guide to ICP-MS," *Spectroscopy*, vol. 16, 2001.
- [57] O. G. San Blas, J. M. Marchante Gayón, and J. I. García Alonso, "Evaluation of multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) for sulfur metabolic studies using <sup>34</sup>S-labelled yeast," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 8, pp. 1764–1773, 2015.
-

- 
- [58] T. T. T. N. Nguyen, J. Østergaard, S. Stürup, and B. Gammelgaard, "Determination of platinum drug release and liposome stability in human plasma by CE-ICP-MS," *Int. J. Pharm.*, vol. 449, no. 1–2, pp. 95–102, 2013.
- [59] A. González-Gago, D. Pröfrock, and A. Prange, "Optimizing GC-ICP-MS for ultra-trace quantification of PBDEs in natural water samples using species-specific isotope dilution," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 1, pp. 180–190, 2015.
- [60] Y. Takagai, M. Furukawa, Y. Kameo, and K. Suzuki, "Sequential inductively coupled plasma quadrupole mass-spectrometric quantification of radioactive strontium-90 incorporating cascade separation steps for radioactive contamination rapid survey," *Anal. Methods*, vol. 6, no. 2, p. 355, 2014.
- [61] M. Krachler, R. Alvarez-Sarandes, and S. Van Winckel, "Elemental and isotopic analysis of americium in non-separated spent fuels using high resolution ICP-OES and sector field ICP-MS," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 29, no. 5, p. 817, 2014.
- [62] O. Borovinskaya, B. Hattendorf, M. Tanner, S. Gschwind, and D. Günther, "A prototype of a new inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometer providing temporally resolved, multi-element detection of short signals generated by single particles and droplets," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 28, no. 2, pp. 226–233, 2013.
- [63] L. Millán, M. C. Sampedro, A. Sanchez, M. A. Goicolea, and R. J. Barrio, "Determination of phytosterols in oenological matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization and ion-trap mass spectrometry," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 42, pp. 171–178, 2015.
- [64] S. Si Ahmed Zennia, A. Mati, F. Saulnier, Y. Verdier, G. Chiappetta, G. Mulliert, L. Miclo, J. Vinh, and J.-M. Girardet, "Identification by FT-ICR-MS of Camelus dromedarius  $\alpha$ -lactalbumin variants as the result of nonenzymatic deamidation of Asn-16 and Asn-45," *Food Chem.*, vol. 187, pp. 305–313, 2015.
- [65] D. P. Bishop, D. J. Hare, F. Fryer, R. V. Taudte, B. R. Cardoso, N. Cole, and P. a. Doble, "Determination of selenium in serum in the presence of gadolinium with ICP-QQQ-MS," *Analyst*, vol. 140, no. 8, pp. 2842–2846, 2015.
- [66] B. Klaue and J. D. Blum, "Trace Analyses of Arsenic in Drinking Water by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry : High Resolution versus Hydride Generation," *Anal. Chem.*, vol. 71, no. 7, pp. 1408–1414, 1999.
- [67] A. Makishima, A. Yamakawa, K. Yamashita, and E. Nakamura, "Precise determination of Cr, Mn, Fe, Co and Ni concentration by an isotope dilution-internal standardization method employing high resolution MC-ICP-MS," *Chem. Geol.*, vol. 274, no. 1–2, pp. 82–86, 2010.
- [68] Y. Anoshkina, M. Costas-Rodríguez, and F. Vanhaecke, "High-precision Fe isotopic analysis of whole blood for biomedical purposes without prior isolation
-

- of the target element," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 8, pp. 1816–1821, 2015.
- [69] C. Latkoczy, T. Prohaska, G. Stingeder, and W. W. Wenzel, "Simultaneous multi-element analysis of trace elements in soil samples by means of high-resolution inductively coupled plasma sector field mass spectrometry (SF-ICP-MS)," *Fresenius J. Anal. Chem.*, vol. 368, no. 2–3, pp. 256–262, 2000.
- [70] J. Á. Rodríguez-Castrillón, M. Moldovan, J. I. García Alonso, J. J. Lucena, M. L. García-Tomé, and L. Hernández-Apaolaza, "Isotope pattern deconvolution as a tool to study iron metabolism in plants," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 390, no. 2, pp. 579–590, 2008.
- [71] I. U. of P. and A. Chemistry, *Compendium of Chemical Terminology- Gold Book*. 2012.
- [72] K. K. Murray, R. K. Boyd, M. N. Eberlin, G. J. Langley, L. Li, and Y. Naito, "Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013)," *Pure Appl. Chem.*, vol. 85, no. 7, pp. 1515–1609, 2013.
- [73] C. J. Park, K. H. Cho, J. K. Suh, and M. S. Han, "Determination of cadmium in sediment reference materials by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry with correction of tin isobaric interference using mass bias equations," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 15, no. 5, pp. 567–570, 2000.
- [74] S. García-Ruiz, M. Moldovan, and J. I. García Alonso, "Measurement of strontium isotope ratios by MC-ICP-MS after on-line Rb–Sr ion chromatography separation," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 23, no. 1, pp. 84–93, 2008.
- [75] D. De Muynck, G. Huelga-Suarez, L. Van Heghe, P. Degryse, and F. Vanhaecke, "Systematic evaluation of a strontium-specific extraction chromatographic resin for obtaining a purified Sr fraction with quantitative recovery from complex and Ca-rich matrices," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 24, no. 11, p. 1498, 2009.
- [76] L. J. Moens, F. F. Vanhaecke, D. R. Bandura, V. I. Baranov, and S. D. Tanner, "Elimination of isobaric interferences in ICP-MS, using ion-molecule reaction chemistry: Rb/Sr age determination of magmatic rocks, a case study," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 16, no. 9, pp. 991–994, 2001.
- [77] T. Ohno, Y. Muramatsu, Y. Shikamori, C. Toyama, N. Okabe, and H. Matsuzaki, "Determination of ultratrace  $^{129}\text{I}$  in soil samples by Triple Quadrupole ICP-MS and its application to Fukushima soil samples," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 28, no. 8, p. 1283, 2013.
- [78] H. Niu and R. S. Houk, "Fundamental aspects of ion extraction in inductively coupled plasma mass spectrometry," *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.*, vol. 51, no. 8, pp. 779–815, 1996.

- 
- [79] G. Grindlay, J. Mora, M. T. C. De Loos-Vollebregt, and F. Vanhaecke, "Evaluation of the multi-element capabilities of collision/reaction cell inductively coupled plasma-mass spectrometry in wine analysis," *Talanta*, vol. 128, pp. 379–385, 2014.
- [80] L. Balcaen, E. Bolea-Fernandez, M. Resano, and F. Vanhaecke, "Accurate determination of ultra-trace levels of Ti in blood serum using ICP-MS/MS," *Anal. Chim. Acta*, vol. 809, pp. 1–8, 2014.
- [81] S. Weyer and J. B. Schwieters, "High precision Fe isotope measurements with high mass resolution MC-ICPMS," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 226, no. 3, pp. 355–368, 2003.
- [82] F. Moynier, A. Bouvier, J. Blichert-Toft, P. Telouk, D. Gasperini, and F. Albarède, "Europium isotopic variations in Allende CAIs and the nature of mass-dependent fractionation in the solar nebula," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 70, no. 16, pp. 4287–4294, 2006.
- [83] T. W. May and R. H. Wiedmeyer, "A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS," *At. Spectrosc.*, vol. 19, no. 5, pp. 150–155, 1998.
- [84] C. Latkoczy, T. Prohaska, G. Stingeder, and M. Teschler-Nicola, "Strontium isotope ratio measurements in prehistoric human bone samples by means of high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HR-ICP-MS)," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 13, no. 6, pp. 561–566, 1998.
- [85] J. Baker, S. Stos, and T. Waight, "Lead isotope analysis of archaeological metals by multiple-collector inductively coupled plasma mass spectrometry," *Archaeometry*, vol. 48, pp. 45–56, 2006.
- [86] J. Á. Rodríguez-Castrillón, M. Moldovan, J. Ruiz Encinar, and J. I. García Alonso, "Isotope pattern deconvolution for internal mass bias correction in the characterisation of isotopically enriched spikes," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 23, no. 3, pp. 318–324, 2008.
- [87] S. M. Nelms, C. R. Quétel, T. Prohaska, J. Vogl, and P. D. P. Taylor, "Evaluation of detector dead time calculation models for ICP-MS," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 16, no. 4, pp. 333–338, 2001.
- [88] A. J. Gross and T. R. W. Herrmann, "History of lasers," *World J. Urol.*, vol. 25, no. 3, pp. 217–220, 2007.
- [89] M. a. Shampo, R. A. Kyle, and D. P. Steensma, "Charles Townes—Nobel Laureate for Maser-Laser Work," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 86, no. 9, p. e48, 2011.
- [90] M. Trainer, "The 50th anniversary of the laser," *World Pat. Inf.*, vol. 32, no. 4, pp. 326–330, 2010.
-

- 
- [91] J. Kar, M. A. Vaughan, Z. Liu, A. H. Omar, C. R. Trepte, J. Tackett, T. D. Fairlie, and R. Kowch, "Detection of pollution outflow from Mexico City using CALIPSO lidar measurements," *Remote Sens. Environ.*, vol. 169, pp. 205–211, 2015.
- [92] J. A. Barry, M. R. Groseclose, G. Robichaud, S. Castellino, and D. C. Muddiman, "Assessing drug and metabolite detection in liver tissue by UV-MALDI and IR-MALDESI mass spectrometry imaging coupled to FT-ICR MS," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 377, pp. 448–455, 2014.
- [93] M. Resano, E. García-Ruiz, R. Alloza, M. P. Marzo, P. Vandenabeele, and F. Vanhaecke, "Laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry for the characterization of pigments in prehistoric rock art," *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 23, pp. 8947–8955, 2007.
- [94] M. West, A. T. Ellis, P. J. Potts, C. Strelly, C. Vanhoof, D. Wegrzynek, and P. Wobrauschek, "2013 Atomic spectrometry update—A review of advances in X-ray fluorescence spectrometry and their applications," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, pp. 1839–1889, 2015.
- [95] B. Fernández, R. Pereiro, and A. Sanz-Medel, "Glow discharge analysis of nanostructured materials and nanolayers—A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 679, no. 1–2, pp. 7–16, 2010.
- [96] J. Pisonero, B. Fernández, and D. Günther, "Critical revision of GD-MS, LA-ICP-MS and SIMS as inorganic mass spectrometric techniques for direct solid analysis," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 24, no. 9, pp. 1145–1160, 2009.
- [97] A. L. Gray, "Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma source mass spectrometry," *Analyst*, vol. 110, pp. 551–556, 1985.
- [98] L. B. Brostoff, J. J. González, P. Jett, and R. E. Russo, "Trace element fingerprinting of ancient Chinese gold with femtosecond laser ablation-inductively coupled mass spectrometry," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 36, no. 2, pp. 461–466, 2009.
- [99] J. S. Becker, H. Sela, J. Dobrowolska, M. Zoriy, and J. S. Becker, "Recent applications on isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS on biological samples and single particles," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 270, no. 1–2, pp. 1–7, 2008.
- [100] T. Ubide, C. A. McKenna, D. M. Chew, and B. S. Kamber, "High-resolution LA-ICP-MS trace element mapping of igneous minerals: In search of magma histories," *Chem. Geol.*, vol. 409, pp. 157–168, 2015.
- [101] R. E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, and S. S. Mao, "Laser ablation in analytical chemistry—a review," *Talanta*, vol. 57, no. 3, pp. 425–451, 2002.
-

- 
- [102] I. Deconinck, C. Latkoczy, D. Günther, F. Govaert, and F. Vanhaecke, "Capabilities of laser ablation—inductively coupled plasma mass spectrometry for (trace) element analysis of car paints for forensic purposes," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 21, no. 3, pp. 279–287, 2006.
- [103] S. F. Durrant and N. I. Ward, "Recent biological and environmental applications of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 20, no. 9, pp. 821–829, 2005.
- [104] M. Resano, E. García-Ruiz, and F. Vanhaecke, "Laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry in archaeometric research," *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 29, pp. 55–78, 2010.
- [105] H. Wiltsche and D. Günther, "Capabilities of femtosecond laser ablation ICP-MS for the major, minor, and trace element analysis of high alloyed steels and super alloys," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 399, no. 6, pp. 2167–2174, 2011.
- [106] M. Guillong, P. Heimgartner, Z. Kopajtic, D. Günther, and I. Günther-Leopold, "A laser ablation system for the analysis of radioactive samples using inductively coupled plasma mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 22, no. 4, pp. 399–402, 2007.
- [107] J. S. Becker, M. Zoriy, J. S. Becker, J. Dobrowolska, and A. Matusch, "Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) in elemental imaging of biological tissues and in proteomics," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 22, no. 7, pp. 736–744, 2007.
- [108] D. Pozebon, G. L. Scheffler, V. L. Dressler, and M. A. G. Nunes, "Review of the applications of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) to the analysis of biological samples," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 29, no. 12, pp. 2204–2228, 2014.
- [109] V. Rudovica, A. Viksna, and A. Actins, "Application of LA-ICP-MS as a rapid tool for analysis of elemental impurities in active pharmaceutical ingredients," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 91, pp. 119–122, 2014.
- [110] D. Günther and B. Hattendorf, "Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 24, pp. 255–265, 2005.
- [111] M. R. Flórez, M. Aramendía, M. Resano, A. C. Lapeña, L. Balcaen, and F. Vanhaecke, "Isotope ratio mapping by means of laser ablation-single collector-ICP-mass spectrometry: Zn tracer studies in thin sections of *Daphnia magna*," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 28, no. 7, p. 1005, 2013.
- [112] D. L. Tollstrup, L. W. Xie, J. B. Wimpenny, E. Chin, C. T. Lee, and Q. Z. Yin, "A trio of laser ablation in concert with two ICP-MSs: Simultaneous, pulse-by-pulse determination of U-Pb discordant ages and a single spot Hf isotope ratio analysis
-

- in complex zircons from petrographic thin sections," *Geochemistry, Geophys. Geosystems*, vol. 13, no. 3, pp. 1–14, 2012.
- [113] J. S. Becker, "Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in materials science," vol. 57, no. April, pp. 1805–1820, 2002.
- [114] C. C. Garcia, H. Lindner, and K. Niemax, "Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry—current shortcomings, practical suggestions for improving performance, and experiments to guide future development," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 24, no. 1, pp. 14–26, 2009.
- [115] X. Bai, Q. Ma, M. Perrier, V. Motto-Ros, D. Sabourdy, L. Nguyen, A. Jalocha, and J. Yu, "Experimental study of laser-induced plasma: Influence of laser fluence and pulse duration," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 87, pp. 27–35, 2013.
- [116] J. M. Vadillo, J. M. Fernández Romero, C. Rodríguez, and J. J. Laserna, "Effect of plasma shielding on laser ablation rate of pure metals at reduced pressure," *Surf. Interface Anal.*, vol. 27, no. 11, pp. 1009–1015, 1999.
- [117] B. Rethfeld, K. Sokolowski-Tinten, D. von der Linde, and S. I. Anisimov, "Timescales in the response of materials to femtosecond laser excitation," *Appl. Phys. A*, vol. 79, no. 4–6, pp. 767–769, 2004.
- [118] B. Fernández, F. Claverie, C. Péchevran, and O. F. X. Donard, "Direct analysis of solid samples by fs-LA-ICP-MS," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 26, no. 10, pp. 951–966, 2007.
- [119] J. Feldmann, A. Kindness, and P. Ek, "Laser ablation of soft tissue using a cryogenically cooled ablation cell," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 17, no. 8, pp. 813–818, 2002.
- [120] D. Pozebon, V. L. Dressler, M. F. Mesko, A. Matusch, and J. S. Becker, "Bioimaging of metals in thin mouse brain section by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: novel online quantification strategy using aqueous standards," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 25, no. 11, pp. 1739–1744, 2010.
- [121] B. Fernández, P. Rodríguez-González, J. I. García Alonso, J. Malherbe, S. García-Fonseca, R. Pereiro, and A. Sanz-Medel, "On-line double isotope dilution laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for the quantitative analysis of solid materials," *Anal. Chim. Acta*, vol. 851, pp. 64–71, 2014.
- [122] M. Schönbacher, M. Rehkämper, A. N. Halliday, D.-C. Lee, M. Bourot-Denise, B. Zanda, B. Hattendorf, and D. Günther, "Niobium-zirconium chronometry and early solar system development," *Science (80-. )*, vol. 295, no. 5560, pp. 1705–1708, 2002.

- 
- [123] J. S. Becker, C. Pickhardt, and H.-J. Dietze, "Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for the trace, ultratrace and isotope analysis of long-lived radionuclides in solid samples," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 202, no. 1–3, pp. 283–297, 2000.
- [124] K. G. Heumann, S. M. Gallus, G. Rädlinger, and J. Vogl, "Precision and accuracy in isotope ratio measurements by plasma source mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 13, no. 9, pp. 1001–1008, 1998.
- [125] T. Walczyk, "TIMS versus multicollector-ICP-MS: Coexistence or struggle for survival?," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 378, no. 2, pp. 229–231, 2004.
- [126] L. Balcaen, L. Moens, and F. Vanhaecke, "Determination of isotope ratios of metals (and metalloids) by means of inductively coupled plasma-mass spectrometry for provenancing purposes - A review," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 65, no. 9–10, pp. 769–786, 2010.
- [127] J. S. Becker, "State-of-the-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 17, no. 9, pp. 1172–1185, 2002.
- [128] I. Günther-Leopold, B. Wernli, Z. Kopajtic, and D. Günther, "Measurement of isotope ratios on transient signals by MC-ICP-MS," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 378, no. 2, pp. 241–249, 2004.
- [129] H. P. Longerich, S. E. Jackson, and D. Günther, "Inter-laboratory note. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometric transient signal data acquisition and analyte concentration calculation," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 11, no. 9, pp. 899–904, 1996.
- [130] A. J. R. Kent, "In-situ analysis of Pb isotope ratios using laser ablation MC-ICP-MS: Controls on precision and accuracy and comparison between Faraday cup and ion counting systems," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 23, no. 7, pp. 968–975, 2008.
- [131] Z. Varga, "Application of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for the isotopic analysis of single uranium particles," *Anal. Chim. Acta*, vol. 625, no. 1, pp. 1–7, 2008.
- [132] S. Kappel, S. F. Boulyga, L. Dorta, D. Günther, B. Hattendorf, D. Koffler, G. Laaha, F. Leisch, and T. Prohaska, "Evaluation strategies for isotope ratio measurements of single particles by LA-MC-ICPMS," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 405, pp. 2943–2955, 2013.
- [133] J. Fietzke, V. Liebetrau, D. Günther, K. Gürs, K. Hametner, K. Zumholz, T. H. Hansteen, and A. Eisenhauer, "An alternative data acquisition and evaluation strategy for improved isotope ratio precision using LA-MC-ICP-MS applied to
-



- 
- stable and radiogenic strontium isotopes in carbonates," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 23, no. 7, pp. 955–961, 2008.
- [134] J. Woodhead, S. Swearer, J. Hergt, and R. Maas, "In situ Sr-isotope analysis of carbonates by LA-MC-ICP-MS: interference corrections, high spatial resolution and an example from otolith studies," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 20, no. 1, pp. 22–27, 2005.
- [135] I. Konz, "New analytical strategies for quantitative and spatially resolved direct solid analysis by LA-ICP-MS," Universidad de Oviedo, 2014.
- [136] S. H. Wise and J. R. Almirall, "Chemical taggant detection and analysis by laser-induced breakdown spectroscopy," *Appl. Opt.*, vol. 47, no. 31, pp. G15–G20, 2008.
- [137] L. Suselbeek, P. A. Jansen, H. H. T. Prins, and M. A. Steele, "Tracking rodent-dispersed large seeds with Passive Integrated Transponder (PIT) tags," *Methods Ecol. Evol.*, vol. 4, no. 6, pp. 513–519, 2013.
- [138] L. Li, "Technology designed to combat fakes in the global supply chain," *Bus. Horiz.*, vol. 56, no. 2, pp. 167–177, 2013.
- [139] S. Sinzinger, "Microoptically integrated correlators for security applications," *Opt. Commun.*, vol. 209, no. 1–3, pp. 69–74, 2002.
- [140] R. W. Phillips and A. F. Bleikolm, "Optical coatings for document security," *Appl. Opt.*, vol. 35, no. 28, pp. 5529–5534, 1996.
- [141] E. Imperio, E. Calò, L. Valli, and G. Giancane, "Spectral investigations on 1000€ banknotes throughout Italian Republic," *Vib. Spectrosc.*, vol. 79, pp. 52–58, 2015.
- [142] Z. Xiao, P. A. Jansen, and Z. Zhang, "Using seed-tagging methods for assessing post-dispersal seed fate in rodent-dispersed trees," *For. Ecol. Manage.*, vol. 223, no. 1–3, pp. 18–23, 2006.
- [143] J. E. Canner and M. Spence, "A new technique using metal tags to track small seeds over short distances," *Ecol. Res.*, vol. 26, no. 1, pp. 233–236, 2011.
- [144] A. Wróbel and R. Zwolak, "The choice of seed tracking method influenced fate of beech seeds dispersed by rodents," *Plant Ecol.*, vol. 214, no. 3, pp. 471–475, 2013.
- [145] S. D. Maind, N. Chattopadhyay, C. Gandhi, S. C. Kumar, and M. Sudersanan, "Quantitative evaluation of europium in blue ballpoint pen inks/offset printing inks tagged with europium thenoyltrifluoroacetate by spectrofluorometry and ICP-AES," *Sci. Justice*, vol. 48, no. 2, pp. 61–66, 2008.
-

- 
- [146] F. Lusson, K. Bailey, M. Leeney, and K. Curran, "A novel approach to digital watermarking, exploiting colour spaces," *Signal Processing*, vol. 93, no. 5, pp. 1268–1294, 2013.
- [147] A. E. Strand, J. Leebens-Mack, and B. . Milligan, "Nuclear DNA-based markers for plant evolutionary biology," *Mol. Ecol.*, vol. 6, no. 2, pp. 113–118, 1997.
- [148] M. A. H. M. Mohammad Shahjahan, "Radioactive tagging for estimating leaf feeding insect damage to jute plants," *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, vol. 25, no. 8, pp. 378–379, 1974.
- [149] S. R. Thorrold, G. P. Jones, M. E. Hellberg, R. S. Burton, S. E. Swearer, J. E. Neigel, S. G. Morgan, and R. R. Warner, "Quantifying larval retention and connectivity in marine populations with artificial and natural markers," *Bull. Mar. Sci.*, vol. 70, no. 1, pp. 291–308, 2002.
- [150] J.-P. Frideling, "Procédé de marquage isotopique de produits et ses applications notamment à la lutte contre la contrefaçon," 2005.
- [151] R. P. Welle, "Isotopic taggant method and composition," 1996.
- [152] M. G. W. Lufei Lin, John Helfrick, Sundar Vasudevan, LeAnn Bell, "Methods for tagging and authenticating inks using compositions," 2005.
- [153] R. J. Guy, "Method of marking an animal or plant and products derived therefrom," 1994.
- [154] I. C. P. J.I. García Alonso, M. Moldovan, J.A. Rodríguez Castrillón, "Método para el marcaje e identificación de objetos manufacturados, sustancias y organismos, y sus usos.," 2010.
- [155] D. Chaisemartin, "Traceability of domestic carnivores in France," *Rev. Sci. Tech.*, vol. 20, no. 2, pp. 556–563, 2001.
- [156] E. Paradis, S. R. Baillie, W. J. Sutherland, and R. D. Gregory, "Patterns of natal and breeding dispersal in birds," *J. Anim. Ecol.*, vol. 67, no. 4, pp. 518–536, 1998.
- [157] T. Håstein, B. J. Hill, F. Berthe, and D. V Lightner, "Traceability of aquatic animals.," *Rev. Sci. Tech.*, vol. 20, no. 2, pp. 564–583, 2001.
- [158] R. P. Neilson, L. F. Pitelka, A. M. Solomon, R. Nathan, G. F. Midgley, J. M. V. Fragoso, H. Lischke, and K. Thompson, "Forecasting Regional to Global Plant Migration in Response to Climate Change," *Bioscience*, vol. 55, no. 9, pp. 749–759, 2005.
- [159] M. L. Cain, B. . Milligan, and A. E. Strand, "Long-distance seed dispersal in plant populations," *Am. J. Bot.*, vol. 87, no. 9, pp. 1217–1227, 2000.
-

- 
- [160] N. J. Ouborg, Y. Piquot, and J. M. Van Groenendael, "Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants," *J. Ecol.*, vol. 87, no. 4, pp. 551–568, 1999.
- [161] C. E. Norris, S. a. Quideau, S. M. Landhäusser, G. M. Bernard, and R. E. Wasylshen, "Tracking Stable Isotope Enrichment in Tree Seedlings with Solid-State NMR Spectroscopy," *Sci. Rep.*, vol. 2, pp. 1–5, 2012.
- [162] R. Sanches Pacheco, L. Fernandes Brito, R. Stralioatto, D. Vidal Pérez, and A. P. Araújo, "Seeds enriched with phosphorus and molybdenum as a strategy for improving grain yield of common bean crop," *F. Crop. Res.*, vol. 136, pp. 97–106, 2012.
- [163] S. Stürup, H. R. Hansen, and B. Gammelgaard, "Application of enriched stable isotopes as tracers in biological systems: A critical review," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 390, no. 2, pp. 541–554, 2008.
- [164] I. Caramés Pasarón, "Desarrollo de una metodología de marcaje empleando isótopos estables enriquecidos: aplicación a productos manufacturados y seres vivos," 2013.
- [165] P. H. Graham and P. Ranalli, "Common bean ( *Phaseolus vulgaris* L .)," *F. Crop. Res.*, vol. 53, pp. 131–146, 1997.
- [166] "Boletín Oficial del Estado (BOE)," *Minist. Agric. Pesca y Aliment.*, vol. 170, pp. 20564–20568.
- [167] M. Santalla, M. A. Fueyo, A. P. Rodino, I. Montero, and A. M. de Ron, "Breeding for culinary and nutritional quality of common bean ( *Phaseolus vulgaris* L .) in intercropping systems with maize ( *Zea mays* L .)," *Biotechnol. , Agron. Soc. Environ. J.*, vol. 3, no. 4, pp. 225–229, 1999.
- [168] G. Venora, O. Grillo, C. Ravalli, and R. Cremonini, "Identification of Italian landraces of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using an image analysis system," *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, vol. 121, no. 4, pp. 410–418, 2009.
- [169] N. department of P. Industries, "Molybdenum deficiency in plants," *AGFACTS*, pp. 1–4, 2004.
- [170] S. Bambara and P. A. Ndakidemi, "The potential roles of lime and molybdenum on the growth , nitrogen fixation and assimilation of metabolites in nodulated legume : A special reference to *Phaseolus vulgaris* L .," *African J. Biotechnol.*, vol. 8, no. 17, pp. 2482–2489, 2010.
- [171] W. Zimmer and R. R. Mendel, "Molybdenum metabolism in plants," *Plant Biol.*, vol. 1, pp. 160–168, 1999.
-

- 
- [172] B. Berman, "Strategies to detect and reduce counterfeiting activity," *Bus. Horiz.*, vol. 51, no. 3, pp. 191–199, 2008.
- [173] A. E. Wilcock and K. a. Boys, "Reduce product counterfeiting: An integrated approach," *Bus. Horiz.*, vol. 57, no. 2, pp. 279–288, 2014.
- [174] T. Trejos, A. Flores, and J. R. Almirall, "Micro-spectrochemical analysis of document paper and gel inks by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and laser induced breakdown spectroscopy," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 65, no. 11, pp. 884–895, 2010.
- [175] T. A. Brettell, J. M. Butler, and J. R. Almirall, "Forensic Science," *Anal. Chem.*, vol. 83, pp. 4539–4556, 2011.
- [176] M. Colditz, E. Kunkel, and K.-H. Bohne, "Drawing and Writing Materials," *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.*, vol. 11, pp. 523–534, 2012.
- [177] H. T. Sahin and M. B. Arslan, "A study on physical and chemical properties of cellulose paper immersed in various solvent mixtures," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 9, no. 1, pp. 78–88, 2008.
- [178] W. M. Bundy and J. N. Ishley, "Kaolin in paper filling and coating," *Appl. Clay Sci.*, vol. 5, no. 5–6, pp. 397–420, Mar. 1991.
- [179] G. Chiavari, S. Montalbani, S. Prati, Y. Keheyan, and S. Baroni, "Application of analytical pyrolysis for the characterisation of old inks," *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 80, no. 2, pp. 400–405, 2007.
- [180] J. A. Zlotnick and F. P. Smith, "Chromatographic and electrophoretic approaches in ink analysis," *J. Chromatogr. B*, vol. 733, no. 1–2, pp. 265–272, 1999.
- [181] M. R. Williams, C. Moody, L.-A. Arceneaux, C. Rinke, K. White, and M. E. Sigman, "Analysis of black writing ink by electrospray ionization mass spectrometry," *Forensic Sci. Int.*, vol. 191, no. 1–3, pp. 97–103, 2009.
- [182] A. Raza and B. Saha, "Application of Raman spectroscopy in forensic investigation of questioned documents involving stamp inks," *Sci. Justice*, vol. 53, no. 3, pp. 332–338, 2013.
- [183] G. Zappa, P. Carconi, R. Gatti, a. D'Alessio, R. Di Bonito, L. Mosiello, and C. Zoani, "Feasibility study for the development of a toner-Reference Material," *Meas. J. Int. Meas. Confed.*, vol. 42, no. 10, pp. 1491–1496, 2009.
- [184] A. van Es, J. de Koeijer, and G. van der Peijl, "Discrimination of document paper by XRF, LA-ICP-MS and IRMS using multivariate statistical techniques," *Sci. Justice*, vol. 49, no. 2, pp. 120–126, 2009.
-

- 
- [185] L. D. Spence, R. B. Francis, and U. Tinggi, "Comparison of the elemental composition of office document paper: evidence in a homicide case.," *J. Forensic Sci.*, vol. 47, no. 3, pp. 648–651, 2002.
- [186] M. a. Lessler, "Lead and Lead Poisoning from Antiquity to Modern Times," *Ohio J. Sci.*, vol. 88, no. 3, pp. 78–84, 1988.
- [187] H. Delile, J. Blichert-Toft, J.-P. Goiran, S. Keay, and F. Albarède, "Lead in ancient Rome's city waters.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 111, no. 18, pp. 1–6, 2014.
- [188] T. M. Mighall, P. W. Abrahams, J. P. Grattan, D. Hayes, S. Timberlake, and S. Forsyth, "Geochemical evidence for atmospheric pollution derived from prehistoric copper mining at Copa Hill, Cwmystwyth, mid-Wales, UK," *Sci. Total Environ.*, vol. 292, no. 1–2, pp. 69–80, 2002.
- [189] M. A. Riva, A. Lafranconi, M. I. D'Orso, and G. Cesana, "Lead Poisoning: Historical Aspects of a Paradigmatic 'Occupational and Environmental Disease,'" *Saf. Health Work*, vol. 3, no. 1, pp. 11–16, 2012.
- [190] P. a Meyer, M. J. Brown, and H. Falk, "Global approach to reducing lead exposure and poisoning.," *Mutat. Res.*, vol. 659, no. 1–2, pp. 166–175, 2008.
- [191] E. J. Catanzaro, T. J. Murphy, W. R. Shields, and E. L. Garner, "Absolute isotopic abundance ratios of common, equal-atom, and radiogenic lead isotopic standards," *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sect. A Phys. Chem.*, vol. 72A, no. 3, p. 261, 1968.
- [192] J. De Laeter, "The rosetta stone of isotope science and the uranium/lead system," *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 30, pp. 757–771, 2010.
- [193] E. I. Hamilton, *Applied Geochronology*. London: Academic Press, 1965.
- [194] M. Tatsumoto, R. Knight, and C. J. Allègre, "Time differences in the formation of meteorites as determined from the ratio of lead-207 to lead-206," *Science*, vol. 180, pp. 1279–1283, 1973.
- [195] C. J. Allègre, G. Manhès, and C. Göpel, "The age of the Earth," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 59, no. 8, pp. 1445–1456, 1995.
- [196] V. Renson, J. Coenaerts, K. Nys, N. Mattielli, F. Vanhaecke, N. Fagel, and P. Claeys, "Lead isotopic analysis for the identification of late bronze age pottery from hala sultan tekke (cyprus)," *Archaeometry*, vol. 53, no. 1, pp. 37–57, 2011.
- [197] J. M. Webb, D. Frankel, Z. A. Stos, and N. Gale, "Early bronze age metal trade in the eastern Mediterranean. New compositional and lead isotope evidence from Cyprus," *Oxford J. Archaeol.*, vol. 25, no. 3, pp. 261–288, 2006.
-

- 
- [198] R. H. Hill and J. M. Wampler, "Isotope Studies of Ancient Lead," *Am. J. Archaeol.*, vol. 71, no. 1, pp. 63–77, 1967.
- [199] Z. A. Stos-Gale and N. H. Gale, "Metal provenancing using isotopes and the Oxford archaeological lead isotope database (OXALID)," *Archaeol. Anthropol. Sci.*, vol. 1, no. 3, pp. 195–213, 2009.
- [200] Z. A. STOS-GALE, N. H. GALE, N. ANNETTS, T. TODOROV, P. LILOV, A. RADUNCHEVA, and I. PANAYOTOV, "LEAD ISOTOPE DATA FROM THE ISOTRACE LABORATORY, OXFORD: ARCHAEOLOGY DATA BASE 5, ORES FROM BULGARIA," *Archaeometry*, vol. 40, no. 1, pp. 217–226, Feb. 1998.
- [201] K. A. Yener, E. V. Sayre, E. C. Joel, H. Özbal, I. L. Barnes, and R. H. Brill, "Stable lead isotope studies of central taurus ore sources and related artifacts from eastern mediterranean chalcolithic and bronze age sites," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 18, no. 5, pp. 541–577, 1991.
- [202] B. M. ROHL, "LEAD ISOTOPE DATA FROM THE ISOTRACE LABORATORY, OXFORD: ARCHAEOLOGY DATA BASE 2, GALENA FROM BRITAIN AND IRELAND," *Archaeometry*, vol. 38, no. 1, pp. 165–180, Feb. 1996.
- [203] Z. A. STOS-GALE, N. H. GALE, and N. ANNETTS, "LEAD ISOTOPE DATA FROM THE ISOTRACE LABORATORY, OXFORD: ARCHAEOLOGY DATA BASE 3, ORES FROM THE AEGEAN, PART 1," *Archaeometry*, vol. 38, no. 2, pp. 381–390, Aug. 1996.
- [204] S. Akiska, G. Demirela, and S. I. Sayili, "Geology, mineralogy and the Pb, S isotope study of the Kalkim Pb-Zn ± Cu deposits, Biga Peninsula, NW Turkey," *J. Geosci.*, vol. 58, no. 4, pp. 379–396, 2013.
- [205] S. Klein, C. Domergue, Y. Lahaye, G. P. Brey, and H. M. von Kaenel, "The lead and copper isotopic composition of copper ores from the Sierra Morena (Spain)," *J. Iber. Geol.*, vol. 35, no. 1, pp. 59–68, 2009.
- [206] G. Huelga-Suarez, M. Moldovan, M. Suárez Fernández, M. Ángel De Blas Cortina, and J. Ignacio García Alonso, "Defining the lead isotopic fingerprint of copper ores from north-west Spain: The El Milagro Mine (Asturias)," *Archaeometry*, vol. 56, no. 1, pp. 88–101, 2014.
- [207] G. Huelga-Suarez, M. Moldovan, M. Suárez Fernández, M. Á. De Blas Cortina, F. Vanhaecke, and J. I. García Alonso, "Lead isotopic analysis of copper ores from the sierra El Aramo (Asturias, Spain)," *Archaeometry*, vol. 54, no. 4, pp. 685–697, 2012.
- [208] J. A. Ibáñez, F. Velasco, and A. Pesquera, "Geoquímica de los isótopos de azufre, carbono, oxígeno y plomo de las mineralizaciones del paleozoico del Macizo de la Demanda (Burgos-La Rioja, España)," *Geogaceta*, vol. 20, no. 7, pp. 1601–1604, 1996.
-

- 
- [209] A. Canals and E. Cardellach, "Ore lead and sulphur isotope pattern from the low-temperature veins of the Catalonian Coastal Ranges (NE Spain)," *Miner. Depos.*, vol. 32, no. 3, pp. 243–249, 1997.
- [210] J. F. Santos Zalduegui, S. García de Madinabeitia, J. I. Gil Iburguchi, and F. Palero, "A lead isotope database: The Los Pedroches - Alcudia area (Spain); Implications for archaeometallurgical connections across southwestern and southeastern Iberia," *Archaeometry*, vol. 46, no. 4, pp. 625–634, 2004.
- [211] E. V. SAYRE, K. A. YENER, E. C. JOEL, and I. L. BARNES, "Statistical evaluation of the presently accumulated lead isotope data from Anatolia and surrounding regions," *Archaeometry*, vol. 34, no. 1, pp. 73–105, Feb. 1992.
- [212] I. L. Barnes, J. W. Gramlich, M. G. Diaz, and R. H. Brill, "The possible change of lead isotope ratios in the manufacture of pigments: A fractionation experiment The Possible Change of Lead Isotope Ratios in the Manufacture of Pigments: A Fractionation Experiment - Archaeological Chemistry—II - Advances in Chemist," in *Archaeological Chemistry II. Advances in Chemistry*, American C., G. F. Carter, Ed. Washington D.C., 1978, pp. 273–279.
- [213] E. PERNICKA, "Evaluating lead isotope data:further observations-comments III," *Archaeometry*, vol. 35, no. 2, pp. 259–263, Aug. 1993.
- [214] M. Boni, G. Di Maio, R. Frei, and I. M. Villa, "Lead isotopic evidence for a mixed provenance for Roman water pipes from Pompeii," *Archaeometry*, vol. 42, no. 1, pp. 201–208, 2000.
- [215] J. Ling, Z. Stos-Gale, L. Grandin, K. Billström, E. Hjärthner-Holdar, and P. O. Persson, "Moving metals II: Provenancing Scandinavian Bronze Age artefacts by lead isotope and elemental analyses," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 41, pp. 106–132, 2014.
- [216] J. Ling, E. Hjärthner-Holdar, L. Grandin, K. Billström, and P. O. Persson, "Moving metals or indigenous mining? Provenancing Scandinavian Bronze Age artefacts by lead isotopes and trace elements," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 40, no. 1, pp. 291–304, 2013.
- [217] J. Ussher, *The annals of the world*. London, 1658.
- [218] J. M. Hansen, "Famous Geologists-Steno," *Encycl. Geol.*, pp. 226–233, 2005.
- [219] M. D. Blaufox, "Becquerel and the discovery of radioactivity: early concepts.," *Semin. Nucl. Med.*, vol. 26, no. 3, pp. 145–154, 1996.
- [220] M. L. F. Nascimento, "Brief history of X-ray tube patents," *World Pat. Inf.*, vol. 37, pp. 48–53, 2014.
-

- 
- [221] C. Détraz, "The discovery of radioactivity: A one-hundred year heritage," *Nucl. Phys. A*, vol. 654, p. 12C–18C, 1999.
- [222] F. Weinert, "Radioactive Decay Law (Rutherford-Soddy)," in *Compendium of Quantum Physics*, 2009, pp. 630–632.
- [223] J. Griffiths, "A Brief History of Mass Spectrometry," vol. 80, pp. 5678–5683, 2008.
- [224] J. Hughes, "Making isotopes matter: Francis Aston and the mass-spectrograph," *Dynamis*, vol. 29, pp. 131–165, 2009.
- [225] J. De Laeter and M. D. Kurz, "Alfred Nier and the sector field mass spectrometer," *J. Mass Spectrom.*, vol. 41, pp. 847–854, 2006.
- [226] A. O. Nier, "The Development of a High Resolution Mass Spectrometer: A Reminiscence," *Am. Soc. Mass Spectrom.*, vol. 2, pp. 447–452, 1991.
- [227] C. C. Patterson, "Age of meteorites and the earth," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 10, pp. 230–237, 1956.
- [228] F. Vanhaecke and P. Degryse, *Isotopic Analysis: Fundamentals and Applications Using ICP-MS - Wiley Online Library*, Wiley-VCH . Weinheim, 2012.
- [229] F. Vanhaecke, G. De Wannemacker, L. Moens, and J. Hertogen, "The determination of strontium isotope ratios by means of quadrupole-based ICP-mass spectrometry: a geochronological case study," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 14, no. 11, pp. 1691–1696, 1999.
- [230] M. Cathelineau, M. C. Boiron, S. Fourcade, G. Ruffet, N. Clauer, O. Belcourt, Y. Coulibaly, D. A. Banks, and F. Guillocheau, "A major Late Jurassic fluid event at the basin/basement unconformity in western France:  $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$  and K-Ar dating, fluid chemistry, and related geodynamic context," *Chem. Geol.*, vol. 322–323, pp. 99–120, 2012.
- [231] R. W. Carlson and G. W. Lugmair, "Sm-Nd constraints on early lunar differentiation and the evolution of KREEP," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 45, no. 1, pp. 123–132, Oct. 1979.
- [232] N. J. Rawlence, G. L. W. Perry, I. W. G. Smith, R. P. Scofield, A. J. D. Tennyson, E. A. Matisoo-Smith, S. Boessenkool, J. J. Austin, and J. M. Waters, "Radiocarbon-dating and ancient DNA reveal rapid replacement of extinct prehistoric penguins," *Quat. Sci. Rev.*, vol. 112, pp. 59–65, 2015.
- [233] J. Hellstrom and R. Pickering, "Recent advances and future prospects of the U–Th and U–Pb chronometers applicable to archaeology," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 56, pp. 32–40, 2015.
-



- 
- [234] A. El Korh, "Ablation behavior and constraints on the U-Pb and Th-Pb geochronometers in titanite analyzed by quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry coupled to a 193 nm excimer laser," *Spectrochim. Acta - Part B*, vol. 86, pp. 75–87, 2013.
- [235] F. Vanhaecke, L. Balcaen, and D. Malinovsky, "Use of single-collector and multi-collector ICP-mass spectrometry for isotopic analysis," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 24, no. 7, pp. 863–886, 2009.
- [236] B. J. A. Willigers, J. A. Baker, E. J. Krogstad, and D. W. Peate, "Precise and accurate in situ Pb-Pb dating of apatite, monazite, and sphene by laser ablation multiple-collector ICP-MS," *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 66, no. 6, pp. 1051–1066, 2002.
- [237] K. Gopalan, a. Kumar, S. Kumar, and B. Vijayagopal, "Depositional history of the Upper Vindhyan succession, central India: Time constraints from Pb-Pb isochron ages of its carbonate components," *Precambrian Res.*, vol. 233, pp. 108–117, 2013.
- [238] R. Vidal, "La minería metálica prehistórica en la península ibérica," *Lurralde invest. Espac.*, vol. 35, pp. 67–78, 2012.
- [239] A. Carbonell Trillo-Figueroa, "Noticias sobre antecedentes romanos y otros de las minas de Cerro Muriano," *Boletín la Real Acad. Córdoba*, vol. 70, pp. 106–108, 1954.
- [240] X. L. Armada, D. Garcia i Rubert, I. Montero, I. Moreno, N. Rafel, and M. C. Rovira, "Minería y metalurgia durante la I Edad del Hierro . Procesos de cambio en el sur de Catalunya," *Rev. d'Arqueologia Ponent*, vol. 15, pp. 133–150, 2005.
- [241] M. Fuste, "Restos humanos de la cueva de los Hombres Verdes en Urbiola (Navarra)," *Trab. Arqueol. Navarra*, vol. 2, pp. 3–41, 1982.
- [242] M. Á. De Blas Cortina, "La minería prehistórica y el caso particular de las explotaciones cupríferas de la Sierra del Aramo," *Gallaecia*, vol. 14–15, pp. 167–195, 1996.
- [243] M. Á. De Blas Cortina, "Minería prehistórica del cobre en el reborde septentrional de los Picos de Europa: las olvidadas labores de 'El Milagro' (Onís, Asturias)," *Veleia*, vol. 24–25, pp. 723–753.
- [244] R. Matías Rodríguez, A. Neira Campos, and E. Alonso Herrero, "Explotación Prehistórica Del Yacimiento De Cobre De La Mina ' La Profunda' (Cármenes, León-España)," *Prim. Simp. sobre la Minería y la Metal. Antig. en el SW Eur. Serós.*, vol. 2.1, pp. 117–130, 2000.
-

- 
- [245] R. Matías Rodríguez, A. Neira Campos, and E. Alonso Herrero, "Un lugar en el olvido: Los restos de la explotación prehistórica del yacimiento de cobre de la mina 'La Profunda' (Cármenes, León)," *Promonumenta*, vol. V, pp. 14–24, 2001.
- [246] G. Huelga-Suarez, M. Moldovan, M. Suárez Fernández, M. Á. de Blas Cortina, and J. I. García Alonso, "Isotopic composition of lead in copper ores and a copper artefact from the La profunda mine (León, Spain)," *Archaeometry*, vol. 56, no. 4, pp. 651–664, 2014.
- [247] M. A. Blas Cortina and M. Suárez Fernández, "Utillaje faunístico inédito de las labores de cobre prehistóricas de La Profunda (León) y su datación C14 (AMS)," *Zephyrus*, vol. 64, pp. 5–18, 2009.
- [248] M. Á. De Blas Cortina, "La primera minería metálica del N Peninsular: Las indicaciones del C-14 y la cronología prehistórica de las explotaciones cupríferas del Aramo y El Milagro," *Complutun Extra*, vol. 6, no. I, pp. 217–226, 1996.
- [249] A. Paniagua, L. S. Rodríguez-Pevida, L. Garzón, J. M. Pérez, and A. Quintana, "Presencia de una paragénesis Cu-Ni-Co-U-As-S en la zona cantábrica: la Mina Profunda (Cármenes, León)," *Geogaceta*, vol. 2, pp. 22–24, 1987.
- [250] A. Paniagua, L. S. Rodríguez-Pevida, J. Loredó, L. Fontboté, and P. Fenoll Hach-Alí, "Un yacimiento de Au en carbonatos del Orógeno Hercínico: el área de Salamón (N León)," *Geogaceta*, vol. 20, no. 7, pp. 1605–1608, 1996.
- [251] A. Paniagua Condado and L. S. Rodríguez-Pevida, "Génesis y evolución de las mineralizaciones de Cu-Co-Ni-U-Pb-Zn-Au-Ag ligadas a las estructuras tardihercínicas en el área de Pajares-Villamanín-Boñar (Norte de León)," *Boletín la Soc. Española Mineral.*, vol. 11, no. 2, pp. 118–119, 1988.
- [252] G. Huelga-Suarez, "El uso de isótopos estables en arqueometría y trazabilidad de peces: de las variaciones naturales a los isótopos enriquecidos," Universidad de Oviedo, 2013.
- [253] R. Oriol, "La mina Profunda y los cobaltos en la provincia de León," *Rev. Minera*, vol. 1322, pp. 381–383, 1890.
- [254] G. Huelga-Suarez, "El uso de isótopos estables en arqueometría y trazabilidad de peces: de las variaciones naturales a los isótopos enriquecidos," Universidad de Oviedo, 2013.
- [255] M. Á. De Blas Cortina, "El depósito de materiales de la edad del Bronce de Gamonedo (Asturias)," *Zephyrus*, vol. 30, 1979.
- [256] M. Á. De Blas Cortina, "De la caverna al lugar fortificado: una mirada a la edad del bronce en el territorio Astur-Cántabro," *Quad. Prehistòria i Arqueol. Castellò*, vol. 29, pp. 105–134, 2011.
-

- 
- [257] M. A. de Blas Cortina and J. Fernández-Tresguerres, *Historia primitiva en Asturias*. Gijón, 1989.
- [258] Museo Arqueológico de Asturias, “Relación de piezas de la exposición permanente: II. El Neolítico y la Edad de los metales.” 2011.
- [259] D. De Muynck, C. Cloquet, and F. Vanhaecke, “Development of a new method for Pb isotopic analysis of archaeological artefacts using single-collector ICP-dynamic reaction cell-MS,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 23, no. 1, pp. 62–71, 2008.
- [260] P. Gómez Ramos, “Tipología de lingotes de metal y su hallazgo en los depósitos del Bronce Final de la Península Ibérica,” *Cuad. Arqueol. la Univ. Autónoma Madrid*, vol. 20, pp. 73–105, 1993.
- [261] “www.la-bastida.com.” .
- [262] H. Davy, “Electro-chemical researches, on the decomposition of the earths; with observations on the metals obtained from the alkaline earths, and on the amalgam procured from ammomia,” *Philos. Trans. R. Soc. London*, vol. 98, pp. 333–370, 1808.
- [263] World Health Organization, “Strontium and strontium compounds,” 2010.
- [264] “<http://www.rsc.org/periodic-table/element/38/strontrium>.” .
- [265] A. M. Parker and M. Thoennessen, “Discovery of rubidium, strontium, molybdenum, and rhodium isotopes,” *At. Data Nucl. Data Tables*, vol. 98, no. 4, pp. 812–831, 2012.
- [266] G. W. Wetherill, R. Mark, and C. Lee-Hu, “Chondrites : Initial Strontium-87 / Strontium-86 Ratios and the Early History of the Solar System,” *Science (80-. )*, vol. 182, pp. 281–283, 1973.
- [267] O. A. Capo, Rosemary C; Stewart, Brian W.; Chadwick, “Strontium isotopes as traces of ecosystem processes: theory and methods,” *Geoderma*, vol. 82, pp. 197–225, 1998.
- [268] L. J. Moore, T. J. Murphy, I. L. Barnes, and P. J. Paulsen, “Absolute isotopic abundance ratios and atomic weight of a reference sample of strontium,” *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, vol. 87, no. 1, pp. 1–8, 1982.
- [269] J. M. McArthur, R. J. Howarth, and G. A. Shields, “Strontium Isotope Stratigraphy,” in *The Geologic Time Scale*, Felix M. Gradstein, James G. Ogg, Mark Schmitz and Gabi Ogg, 2012, pp. 127–144.
- [270] J. A. Wolff, B. S. Ellis, and F. C. Ramos, “Strontium isotopes and magma dynamics: Insights from high-temperature rhyolites,” *Geology*, vol. 39, no. 10, pp. 931–934, 2011.
-

- 
- [271] C. E. Jones and H. C. Jenkyns, "Seawater strontium isotopes, oceanic anoxic events, and seafloor hydrothermal activity in the Jurassic and Cretaceous," *Am. J. Sci.*, vol. 301, no. 2, pp. 112–149, 2001.
- [272] B. W. Stewart, R. C. Capo, and O. A. Chadwick, "Quantitative strontium isotope models for weathering, pedogenesis and biogeochemical cycling," *Geoderma*, vol. 82, no. 1–3, pp. 173–195, 1998.
- [273] J. E. Ericson, "Strontium isotope characterization in the study of prehistoric human ecology," *J. Hum. Evol.*, vol. 14, no. 5, pp. 503–514, Jul. 1985.
- [274] D. A. Hodell, R. L. Quinn, M. Brenner, and G. Kamenov, "Spatial variation of strontium isotopes ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) in the Maya region: A tool for tracking ancient human migration," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 31, no. 8, pp. 585–601, 2004.
- [275] S. Hillson, *Dental Anthropology*, Cambridge . Cambridge, 1996.
- [276] T. Prohaska, C. Latkoczy, G. Schultheis, M. Teschler-Nicola, and G. Stingeder, "Investigation of Sr isotope ratios in prehistoric human bones and teeth using laser ablation ICP-MS and ICP-MS after Rb/Sr separation," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 17, no. 8, pp. 887–891, 2002.
- [277] G. Vautour, A. Poirier, and D. Widory, "Tracking mobility using human hair: What can we learn from lead and strontium isotopes?," *Sci. Justice*, vol. 55, no. 1, pp. 63–71, 2015.
- [278] P. Degryse, D. De Muynck, S. Delporte, S. Boyen, L. Jadoul, J. De Winne, T. Ivaneanu, and F. Vanhaecke, "Strontium isotopic analysis as an experimental auxiliary technique in forensic identification of human remains," *Anal. Methods*, vol. 4, no. 9, pp. 2674–2679, 2012.
- [279] L. Wilson and A. M. Pollard, "Here today, gone tomorrow? Integrated experimentation and geochemical modeling in studies of archaeological diagenetic change," *Acc. Chem. Res.*, vol. 35, no. 8, pp. 644–651, 2002.
- [280] J. Raddatz, V. Liebetrau, a. Rüggeberg, E. Hathorne, a. Krabbenhöft, a. Eisenhauer, F. Böhm, H. Vollstaedt, J. Fietzke, M. López Correa, a. Freiwald, and W. C. Dullo, "Stable Sr-isotope, Sr/Ca, Mg/Ca, Li/Ca and Mg/Li ratios in the scleractinian cold-water coral *Lophelia pertusa*," *Chem. Geol.*, vol. 352, pp. 143–152, 2013.
- [281] B. J. Tipple, T. Chau, L. A. Chesson, D. P. Fernandez, and J. R. Ehleringer, "Isolation of strontium pools and isotope ratios in modern human hair," *Anal. Chim. Acta*, vol. 798, pp. 64–73, 2013.
- [282] M. Barbaste, K. Robinson, S. Guilfoyle, B. Medina, and R. Lobinski, "Precise determination of the strontium isotope ratios in wine by inductively coupled
-

- 
- plasma sector field multicollector mass spectrometry (ICP-SF-MC-MS)," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 17, no. 2, pp. 135–137, 2002.
- [283] J. Á. Rodríguez-Castrillón, S. García-Ruiz, M. Moldovan, and J. I. García Alonso, "Multiple linear regression and on-line ion exchange chromatography for alternative Rb–Sr and Nd–Sm MC-ICP-MS isotopic measurements," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 27, no. 4, pp. 611–618, 2012.
- [284] J. Irrgeher, T. Prohaska, R. E. Sturgeon, Z. Mester, and L. Yang, "Determination of strontium isotope amount ratios in biological tissues using MC-ICPMS," *Anal. Methods*, vol. 5, no. 7, pp. 1687–1694, 2013.
- [285] E. Bolea-Fernandez, L. Balcaen, M. Resano, and F. Vanhaecke, "Tandem ICP-mass spectrometry for Sr isotopic analysis without prior Rb/Sr separation," *J. Anal. At. Spectrom.*, pp. 25–27, 2015.
- [286] F. C. Ramos, J. A. Wolff, and D. L. Tollstrup, "Measuring  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  variations in minerals and groundmass from basalts using LA-MC-ICPMS," *Chem. Geol.*, vol. 211, no. 1–2, pp. 135–158, 2004.
- [287] M. G. Jackson and S. R. Hart, "Strontium isotopes in melt inclusions from Samoan basalts: Implications for heterogeneity in the Samoan plume," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 245, no. 1–2, pp. 260–277, 2006.
- [288] J. Davidson, F. Tepley III, Z. Palacz, and S. Meffan-Main, "Magma recharge, contamination and residence times revealed by in situ laser ablation isotopic analysis of feldspar in volcanic rocks," *Earth Planet. Sci. Lett.*, vol. 184, no. 2, pp. 427–442, 2001.
- [289] K. P. Jochum, B. Stoll, U. Weis, D. V. Kuzmin, and A. V. Sobolev, "In situ Sr isotopic analysis of low Sr silicates using LA-ICP-MS," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 24, no. 9, pp. 1237–1243, 2009.
- [290] P. Z. Vroon, B. van der Wagt, J. M. Koornneef, and G. R. Davies, "Problems in obtaining precise and accurate Sr isotope analysis from geological materials using laser ablation MC-ICPMS," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 390, no. 2, pp. 465–476, 2008.
- [291] M. J. Bernárdez Gómez, J. C. Guisado di Monti, and A. Pérez Pérez, "La minería romana del lapis specularis de Sorbas," *Revista EL AFA*, pp. 4–15, 2011.
- [292] "<http://www.lne.es/asturias/2013/12/13/ano-vende-millon-toneladas-faba/1514077.html>."
- [293] "<http://www.elcomercio.es/v/20140322/villaviciosa/reto-faba-saber-adquieres-20140322.html>."
-

- 
- [294] C. de Agricultura, "Boletín Oficial del Principado de Asturias (BOPA)," p. 4690, 1996.
- [295] Z. Haddi, N. El Barbri, K. Tahri, M. Bougrini, N. El Bari, E. Llobet, and B. Bouchikhi, "Instrumental assessment of red meat origins and their storage time using electronic sensing systems," *Anal. Methods*, vol. 7, no. 12, pp. 5193–5203, 2015.
- [296] S. Ramos-Gómez, M. D. Busto, S. M. Albillos, and N. Ortega, "Novel qPCR systems for olive (*Olea europaea* L.) authentication in oils and food," *Food Chem.*, vol. 194, pp. 447–454, 2016.
- [297] R. Consonni, L. R. Cagliani, and C. Cogliati, "Geographical discrimination of honeys by saccharides analysis," *Food Control*, vol. 32, no. 2, pp. 543–548, 2013.
- [298] R. Salghi, W. Armbruster, and W. Schwack, "Detection of argan oil adulteration with vegetable oils by high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection," *Food Chem.*, vol. 153, pp. 387–392, 2014.
- [299] P. P. Coetzee, F. P. Van Jaarsveld, and F. Vanhaecke, "Intraregional classification of wine via ICP-MS elemental fingerprinting," *FOOD Chem.*, vol. 164, pp. 485–492, 2014.
- [300] H.-C. Liu, C.-F. You, C. Chen, Y.-C. Liu, and M.-T. Chung, "Geographic determination of coffee beans using multi-element analysis and isotope ratios of boron and strontium," *Food Chem.*, vol. 142, pp. 439–445, 2014.
- [301] T. Prohaska, J. Irrgeher, A. Zitek, T. Opper, S. Bonnet, and A. Tchaikovsky, "Food provenance by elemental and isotopic fingerprint methods," in *International Symposium on Food Safety and Quality: Applications of Nuclear and Related Techniques. Viena*.
- [302] A. González, A. Llorens, M. L. Cervera, S. Armenta, and M. de la Guardia, "Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia," *Food Chem.*, vol. 112, no. 1, pp. 26–34, 2009.
- [303] D. Bandoniene, D. Zettl, T. Meisel, and M. Maneiko, "Suitability of elemental fingerprinting for assessing the geographic origin of pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) seed oil," *Food Chem.*, vol. 136, no. 3–4, pp. 1533–1542, 2013.
- [304] G. Di Bella, V. Lo Turco, A. G. Potortì, G. D. Bua, M. R. Fede, and G. Dugo, "Geographical discrimination of Italian honey by multi-element analysis with a chemometric approach," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 44, pp. 25–35, 2015.
- [305] W. Meier-Augenstein, H. F. Kemp, and S. M. L. Hardie, "Detection of counterfeit scotch whisky by <sup>2</sup>H and <sup>18</sup>O stable isotope analysis," *Food Chem.*, vol. 133, no. 3, pp. 1070–1074, 2012.
-

- [306] K. Heaton, S. D. Kelly, J. Hoogewerff, and M. Woolfe, "Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis," *Food Chem.*, vol. 107, no. 1, pp. 506–515, 2008.
- [307] Y. Suzuki, Y. Chikaraishi, N. O. Ogawa, N. Ohkouchi, and T. Korenaga, "Geographical origin of polished rice based on multiple element and stable isotope analyses," *Food Chem.*, vol. 109, no. 2, pp. 470–475, 2008.
- [308] F. Camin, M. Perini, L. Bontempo, S. Fabroni, W. Faedi, S. Magnani, G. Baruzzi, M. Bonoli, M. R. Tabilio, S. Musmeci, a. Rossmann, S. D. Kelly, and P. Rapisarda, "Potential isotopic and chemical markers for characterising organic fruits," *Food Chem.*, vol. 125, no. 3, pp. 1072–1082, 2011.
- [309] S. Voerkelius, G. D. Lorenz, S. Rummel, C. R. Quétel, G. Heiss, M. Baxter, C. Brach-Papa, P. Deters-Itzelsberger, S. Hoelzl, J. Hoogewerff, E. Ponzevera, M. Van Bockstaele, and H. Ueckermann, "Strontium isotopic signatures of natural mineral waters, the reference to a simple geological map and its potential for authentication of food," *Food Chem.*, vol. 118, no. 4, pp. 933–940, 2010.
- [310] C. Rodrigues, C. Máguas, and T. Prohaska, "Strontium and oxygen isotope fingerprinting of green coffee beans and its potential to proof authenticity of coffee," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 232, no. 2, pp. 361–373, 2011.
- [311] S. García-Ruiz, M. Moldovan, G. Fortunato, S. Wunderli, and J. I. García Alonso, "Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders," *Anal. Chim. Acta*, vol. 590, no. 1, pp. 55–66, 2007.
- [312] S. Swoboda, M. Brunner, S. F. Boulyga, P. Galler, M. Horacek, and T. Prohaska, "Identification of Marchfeld asparagus using Sr isotope ratio measurements by MC-ICP-MS," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 390, no. 2, pp. 487–494, 2008.
- [313] Y. Zhu, a Hioki, a Itoh, T. Umemura, H. Haraguchi, and K. Chiba, "Relative enrichment of Mo in the radicle of peanut seed (*Arachis hypogaea*), Observed by multi-elemental imaging with LA-ICP-MS," *Anal. Sci.*, vol. 28, no. 12, pp. 1121–1124, 2012.
- [314] P. A. Matthioli, *I discorsi di M. Pietro Andrea Matthioli sanese, Medico Cesareo, et del Serenissimo Principe Ferdinando Archiduca d Austria & c. nelli sei libri di Pedacio Dioscoride Anazarbeo della materia medicinale*, Stabilimen. Roma, 1970.

