

Geoquímica de Isótopos Estables: Fundamentos, Técnicas y Aplicaciones

E. Reyes

Estación Experimental del Zaidín,
CSIC, Ciencias de la Tierra y Química Ambiental
Lab. Biogeoquímica de Isótopos Estables, Granada

Introducción

La mayor parte de los elementos del sistema periódico son familias isotópicas, de hecho solo hay 21 elementos monoisotópicos (Tabla 1). Los distintos isótopos de un elemento tienen exactamente la misma configuración electrónica, pero hay variaciones

en su núcleo, todos tienen el mismo número de protones pero cambia el número de neutrones.

Por ejemplo, el carbono solo presenta dos isótopos estables ^{12}C y ^{13}C . El ^{12}C tiene 6 protones y 6 neutrones, mientras que el ^{13}C tiene 6 protones y 7 neutrones. Con los demás elementos ocurre lo mismo, la diferencia es siempre el número de neutrones y siempre

Tabla 1.- Peso atómico de los elementos Patrón

Elemento	U. M. A.	%	Elemento	U. M. A.	%
^9Be	9,012182	100,00	^{103}Rh	102,905503	100,00
^{19}F	18,998403	100,00	^{127}I	126,904477	100,00
^{23}Na	22,989770	100,00	^{133}Cs	132,905433	100,00
^{27}Al	26,981541	100,00	^{141}Pr	140,907657	100,00
^{31}P	30,973763	100,00	^{159}Tb	158,925350	100,00
^{45}Se	44,955914	100,00	^{165}Ho	164,930332	100,00
^{55}Mn	54,938046	100,00	^{169}Tm	168,934225	100,00
^{59}Co	58,933198	100,00	^{197}Au	196,966560	100,00
^{75}As	74,921595	100,00	^{209}Bi	208,980388	100,00
^{89}Y	88,905856	100,00	^{232}Th	232,038054	100,00
^{93}Nb	92,906378	100,00			

ocurre que uno de los isótopos es, con diferencia, el más abundante en la naturaleza (Tabla.2).

Dado que las propiedades químicas de un elemento dependen básicamente de la configuración electrónica todos los isótopos tendrán un comportamiento químico similar, sin embargo las propiedades físicas, que dependen de la estructura y masa del núcleo, si variarán, y por supuesto lo mismo ocurrirá con los compuestos en los que se encuentran dichos isótopos. El agua por ejemplo tendrá constantes físicas que serán diferentes dependiendo de los isótopos de que esté formada (Tabla 3).

Tabla 2.- Abundancia de los isótopos ligeros estables

Átomo	H		C		N		O			S			
Masa	1	2	12	13	14	15	16	17	18	32	33	34	36
%	99.9844	0.0156	98.89	1.11	99.64	0.36	99.763	0.0375	0.1995	95.02	0.75	4.21	0.02

Los enlaces formados por los isótopos ligeros son menos energéticos que los de los isótopos pesados y por tanto se rompen con más facilidad. Así durante una reacción química las moléculas que contienen el isótopo ligero reaccionaran con una velocidad ligeramente superior a la de las moléculas pesadas. También en las reacciones bioquímicas, por ejemplo: reacciones bacterianas, fotosíntesis, procesos microbiológicos, etc. el isótopo ligero es más abundante en los productos de reacción que en los de procedencia, dicho de otra manera: los productos resultantes se "enriquecen" y los iniciales se "empobrecen" en el isótopo ligero.

Tabla 3.- Algunas constantes físicas del agua según su composición isotópica

Constantes	H ₂ ¹⁶ O	² H ₂ ¹⁶ O	H ₂ ¹⁸ O
Densidad (20°C, g cm ⁻³)	0.9976	1.1051	1.1106
Temperatura de mayor densidad (°C)	3.98	11.24	4.30
Punto de congelación (760 Torr, °C)	0.00	3.81	0.28
Punto de ebullición (760 Torr, °C)	100.00	101.42	100.14
Presión de vapor (100°C, Torr)	760.00	721.60	
Viscosidad (20°C, centipoises)	1.002	1.247	1.056

Por otra parte, y a causa de la diferencia de masa, también los procesos físicos, como la difusión, evaporación, condensación, cristalización, etc. producen diferenciaciones isotópicas. Todas estas variaciones de la composición isotópica que se producen en compuestos o fases de un sistema a causa de fenómenos físicos o químicos se denominan fraccionamientos isotópicos.

Notaciones usuales

En una reacción del tipo: $\frac{1}{3} \text{CaC}^{16}\text{O}_3 + \text{H}_2^{18}\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{3} \text{CaC}^{18}\text{O}_3 + \text{H}_2^{16}\text{O}$

La **razón isotópica "R"** de un elemento, por ejemplo, del oxígeno del carbonato sería:

$$R = \left(\frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}} \right)_{\text{CaCO}_3}$$

Por supuesto ¹⁸O y ¹⁶O vienen expresados como número de átomos. El **factor de fraccionamiento "α"** (factor de separación o factor de enriquecimiento) de los isótopos de un elemento entre dos fases o compuestos químicos coexistentes (carbonato y agua en este caso) será la razón R del carbonato partido por la razón R del agua:

$$\alpha_{c-w} = \frac{R_c}{R_w} = \frac{(O^{18}/O^{16})_c}{(O^{18}/O^{16})_w} = 1.031 \quad (25^\circ C)$$

Siendo α una función de la temperatura.

En los estudios de variación de abundancia isotópica, la composición isotópica de los elementos se expresa comúnmente bien como "razón isotópica R" de la pareja de isótopos considerados ($^{13}C/^{12}C$) o bien como **valor "δ"**:

$$\delta = \frac{R_m - R_p}{R_p} * 1000 = \left(\frac{R_m}{R_p} - 1 \right) * 1000$$

donde R_m y R_p representan las razones isotópicas entre el isótopo pesado y el ligero de la pareja isotópica considerada en la muestra y en el patrón de referencia respectivamente. Por ejemplo para el carbono, hidrógeno y oxígeno las razones isotópicas consideradas serían: $^{13}C/^{12}C$, $^2H/^1H$, $^{18}O/^{16}O$ y $\delta^{13}C$, δ^2H , $\delta^{18}O$.

El valor δ de una muestra dada representa, por tanto, la diferencia, en partes por mil, entre su razón isotópica y la del patrón, referida a este último. Su valor depende por tanto del patrón de referencia adoptado. Un valor positivo o negativo indica que la muestra es, respectivamente, más rica o más pobre en el isótopo pesado que el patrón.

El factor de fraccionamiento α entre dos fases o compuestos (A y B) puede expresarse en función de los valores δ :

$$1000 \ln \alpha_{(A-B)} = \delta_A - \delta_B$$

Esta expresión es muy exacta siempre que $\delta \leq [10]$. El valor de $1000 \ln \alpha_{A-B}$ representa el fraccionamiento isotópico del elemento en cuestión entre los compuestos A y B.

Tipos de Fraccionamiento

Básicamente existen dos tipos de fraccionamiento:

- a) Fraccionamientos (o efectos) isotópicos en el equilibrio

b) Fraccionamientos (o efectos) isotópicos cinéticos

Discusiones más detalladas sobre fraccionamientos isotópicos se encuentran en O'Neil (1986), Gat y Gonfiantini (1981), Gat (1980), etc.

Fraccionamiento isotópico en el equilibrio

Las reacciones con este tipo de intercambio isotópico implican la redistribución de isótopos de un elemento entre varias especies o compuestos, en sentido estricto solo se produce en sistemas cerrados, uniformes y equilibrados químicamente. Un ejemplo clásico es el que se produce entre dos fases minerales, que es la base de la geotermometría isotópica.

Consideremos una reacción del tipo $^{13}\text{CO}_{2(g)} + \text{H}^{12}\text{CO}_3^-(l) \rightleftharpoons ^{12}\text{CO}_{2(g)} + \text{H}^{13}\text{CO}_3^-(l)$. Los isótopos pueden intercambiarse entre los distintos componentes, sin que se produzcan cambios químicos, hasta alcanzar el equilibrio. El fraccionamiento isotópico resultante se puede describir como una constante de equilibrio que es función de la temperatura y de la presión

$$K = \frac{[^{12}\text{CO}_{2(g)}][\text{H}^{13}\text{CO}_3^-(l)]}{[^{13}\text{CO}_{2(g)}][\text{H}^{12}\text{CO}_3^-(l)]}$$

T (°C)	K
0	1,0092
30	1,0068

En este caso (y en otros muchos) los isótopos pesados se concentran en el compuesto químico que tiene enlaces más fuertes (o más numerosos) entre sus átomos, en este caso el $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-(l)$

En general los efectos isotópicos en el equilibrio, e incluso los cinéticos, decrecen cuando aumenta la temperatura del sistema.

Fraccionamiento isotópico cinético

Se producen bajo condiciones de no equilibrio, a) por que moléculas del mismo compuesto, que contienen isótopos diferentes, se mueven a diferentes velocidades debido a sus distintas masas, por ejemplo $^{12}\text{CO}_2$ frente a $^{13}\text{CO}_2$; tanto las moléculas ligeras ($M=44$) como las pesadas ($M=45$) tienen la misma energía cinética a la misma temperatura, por tanto:

$$\frac{1}{2}M_{44}V_{44}^2 = \frac{1}{2}M_{45}V_{45}^2 \text{ de donde } V_{44}/V_{45} = 45^{1/2}/44^{1/2} = 6,708/6,633 = 1,012$$

De donde se concluye que el $^{12}\text{CO}_2$ se mueve un 1,2% más rápido que el $^{13}\text{CO}_2$.

- c) moléculas del mismo compuesto, pero con diferentes isótopos, reaccionan a diferentes velocidades debido a las desiguales energías de enlace interatómicas.
- d) En general dentro de un mismo compuesto las moléculas más ligeras se mueven y reaccionan con mayor rapidez.

Efectos isotópicos debidos a la destilación Rayleigh

A partir de la ecuación de Rayleigh se pueden ver los efectos del fraccionamiento isotópico en el caso de una destilación fraccionada de líquido. Se trata de una razón exponencial que describe el reparto isotópico entre dos reservorios cuando uno de ellos decrece en tamaño. Las condiciones que deben cumplirse para describir los procesos de fraccionamiento isotópico son: (1) un material es eliminado continuamente desde un sistema que contiene moléculas de dos o más especies isotópicas (por ejemplo, agua con ^{18}O y ^{16}O), (2) el fraccionamiento se describe como factor α y (3) α no cambia durante el proceso: Bajo estas condiciones la evolución de la composición isotópica del material residual sería:

$$(R / R_0) = (X_1 / X_{1^0})^{\alpha-1}$$

donde R = razón isotópica (Ej., $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) en el reactante, R_0 = razón inicial, X_1 = la concentración o cantidad del isótopo más abundante (el más ligero) (por ejemplo, ^{16}O), y X_{1^0} = concentración inicial. Puesto que la concentración de $X_1 \gg X_h$ (concentración del isótopo pesado), X_1 es aproximadamente igual a la cantidad original de material en la fase. Por lo tanto, si $f = X_1/X_{1^0}$ = fracción del material residual, entonces:

$$R = R_0 f^{(\alpha-1)}$$

O bien, expresado en unidades δ :

$$\delta \sim \delta_0 f^{(\alpha-1)}$$

que sería valido para valores α próximos a 1, δ_0 próximo 0, y valores menores de 10, aproximadamente.

En sentido estricto, el término “Fraccionamiento Rayleigh” debería usarse solo para sistemas químicamente abiertos donde las especies isotópicas removidas en cada instante estaban en equilibrio termodinámico e isotópico con las especies residuales del sistema en el momento de la eliminación. Además, esta destilación Rayleigh “tan ideal” solo se produce cuando el reactante en el reservorio es finito y bien mezclado y no vuelve a reaccionar con el producto (Clark y Fritz, 1997). Sin embargo el termino “fraccionamiento Rayleigh” se aplica por lo general a sistemas

cerrados en el equilibrio (por ejemplo: la condensación del vapor atmosférico en gotitas de una nube donde hay un intercambio continuo entre los isótopos del vapor y de las goteruelas de agua: Dansgaard, 1961, 1964; Friedman et al., 1964; Taylor, 1972) y a fraccionamientos cinéticos, porque las situaciones son prácticamente idénticas.

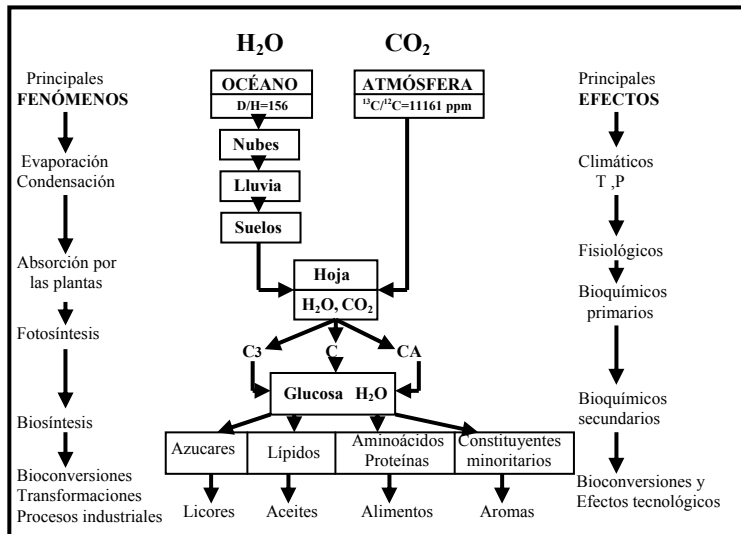


Figura 1.- Fuentes de fraccionamiento isotópico

Efectos isotópicos biológicos

Los procesos biológicos son generalmente unidireccionales y son ejemplos magníficos de reacciones isotópicas cinéticas. Los organismos usan preferentemente las especies isotópicas ligeras ya que les supone un menor costo energético. Esto provoca un importante fraccionamiento entre el sustrato (pesado) y los productos biológicos (más ligeros). La magnitud del fraccionamiento depende de las velocidades de reacción, de la concentración de los productos iniciales y finales, condiciones ambientales y de las especies de organismos (en el caso de transformaciones metabólicas).

Un buen ejemplo de la complejidad de este tipo de reacciones cinéticas se puede encontrar en el fraccionamiento entre CO₂ y el carbono orgánico fotosintético (Fogel y Cifuentes, 1993). El fraccionamiento respondería a la ecuación:

$$\Delta = A + (C_i/C_a)(B-A)$$

Siendo Δ el fraccionamiento isotópico, A el efecto isotópico causado por la difusión del CO₂ en su incorporación a la planta (4,4‰), B es el efecto isotópico causado por la fijación enzimática (fotosintética) del carbono (-27‰) y C_i/C_a es la razón entre CO₂ interno y atmosférico. La magnitud del fraccionamiento depende de los valores

de todos estos parámetros. Por ejemplo, cuando se dispone de una cantidad ilimitada de CO₂ (C_i/C_a = 1), el fraccionamiento está controlado solo por la acción enzimática y el δ¹³C de la planta puede alcanzar valores de hasta -36‰ (Fogel y Cifuentes, 1993). En cambio si el contenido en CO₂ es bajo (C_i/C_a << 1) los valores δ¹³C estarán fuertemente afectados por el efecto isotópico difusivo, aunque este sea bajo, ocasionando valores δ¹³C más positivos (-20 a -30‰)

Fuentes de fraccionamiento isotópico

Como ejemplo de la complejidad que conllevan los fraccionamientos isotópicos en la Figura 1 se han elegido dos de los compuestos más habituales y abundantes en la naturaleza, CO₂ y H₂O. Su pueden observar un conjunto de efectos que afectaran a estos dos compuestos: climáticos fisiológicos, bioquímicos, etc. Dichos efectos van acompañados de un conjunto de fenómenos tales como: evaporación condensación, fotosíntesis, biosíntesis, etc. que sistemáticamente conllevan procesos de fraccionamiento isotópico.

Patrones isotópicos

Por desgracia no todos los valores δ citados en la literatura internacional, para un mismo elemento, vienen expresados frente al mismo patrón. Para transformar los valores δ de un patrón a otro, Craig (1957) propuso la siguiente ecuación:

$$\delta_{(X-A)} = \delta_{(X-B)} + \delta_{(B-A)} + 10^{-3} \delta_{(X-B)} \delta_{(B-A)}$$

donde δ_(X-A) y δ_(X-B) son los valores δ de la muestra X frente a los patrones A y B respectivamente, mientras que δ_(B-A) es el valor δ de B frente a A. Por ejemplo, la conversión de valores δ¹⁸O entre V-PDB y V-SMOW se realiza mediante las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} &= \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} + \delta_{\text{VPDB-VSMOW}} + 10^{-3} \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} \delta_{\text{VPDB-VSMOW}} \\ \delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} &= \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} + 30,92 + 10^{-3} \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} 30,92 \\ \delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} &= 30,92 + 1,03092 \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} \end{aligned}$$

Cada laboratorio usa un conjunto de patrones de trabajo propios, pero los resultados se refieren siempre a un patrón aceptado universalmente.

Para muestras acuosas, y tanto para hidrógeno como para oxígeno, el patrón usado universalmente era el SMOW (Standard Mean Ocean Water) que representa la composición isotópica media del agua de los océanos. Este patrón se eligió por que los océanos representan el punto inicial y final de cualquier ciclo hidrogeológico importante. Por otra parte el océano representa, aproximadamente, el 97% del agua presente en la corteza de la Tierra y tiene, además, una composición isotópica

uniforme. En 1976 un simposium internacional que versó sobre patrones en isótopos estables se decidió usar el V-SMOW (Viena-SMOW) que es un patrón obtenido a partir de agua del Rin. (Fritz y Fontes, 1980).

Para oxígeno y carbono de muestras carbonatadas se usa el PDB (Craig, 1957) que es un carbonato procedente de un fósil, la Belemnite Americana, de la formación cretácica Pee Dee de Carolina del Sur (EE UU). Por desgracia este patrón, utilizado por los investigadores americanos para la elaboración de la primera escala de paleotemperaturas, está ya agotado, por lo que ha sido sustituido por otros patrones tales como el V-PDB que es prácticamente idéntico al PDB (Gonfiantini, 1995), con una razón $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de 0.0111797, el NBS-19 (se trata de un material calizo) con un valor de 1,95‰ frente al V-PDB, etc. Para valores de $\delta^{13}\text{C}$ muy bajos (aproximadamente -30‰) se usa el NBS-21 que es un grafito espectrométrico.

Para el nitrógeno se usa el NBS-14 que se trata de Nitrógeno atmosférico.

Para el azufre se usó el CDT, (Troilita del Cañón del Diablo) que es FeS meteorítico, también agotado.

Evidentemente en la actualidad se utilizan otros muchos patrones que además de estar disponibles, se adaptarán mejor a las necesidades concretas de cada caso, (apéndices 1 y 2).

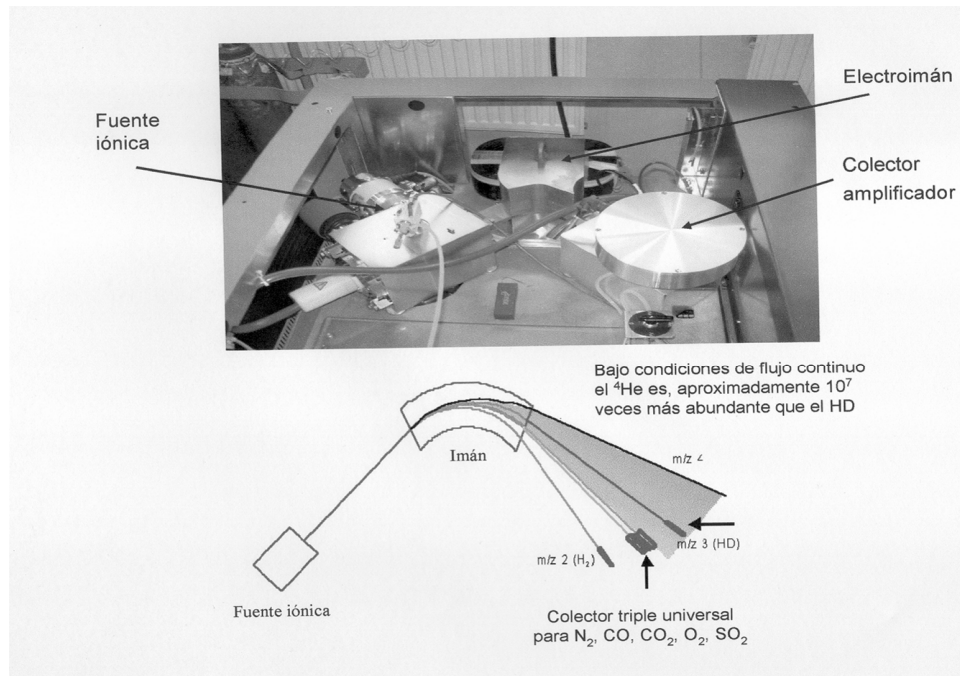


Figura 2.- Esquema de un IRMS

Técnicas

En la Figura 2 se muestra el esquema básico de cualquier espectrómetro de masas de isótopos ligeros estables. Un IRMS, como cualquier espectrómetro de masas, consta de una fuente de ionización, en este caso de Impacto Electrónico, donde la muestra gaseosa (CO₂, H₂, N₂, SO₂, O₂, etc.) se ioniza (dando la especie molecular monocatiónica) por interacción con un haz de electrones de alta energía. Este tipo de Fuente de Ionización se caracteriza por ser de alta eficiencia pudiéndose, en los modelos actuales, llegar a producir un ión por cada 3000 moléculas (un espectrómetro orgánico tipo cuadrupolo produce un ión por cada 100.000 moléculas) lo que permite medir cantidades ínfimas de muestra, en el intervalo de los picomoles.

Posteriormente el analizador de masas, en este caso magnético (electroimán), separa las diferentes moléculas mediante una aceleración del haz (de hasta 10Kv de voltaje de aceleración) y una posterior interacción por el campo magnético. Así, para valores constantes de voltaje de aceleración, intensidad de campo magnético y carga de las moléculas, la “deflexión” o cambio de dirección que va a sufrir el haz incidente solo va a depender de las masas de las moléculas y por tanto de los isótopos presentes en ellas. Para el caso de un haz inicial de CO₂, a la salida del electroimán habría 3 haces, de masas 44, 45 y 46.

Por último, el detector, tipo Copa de Faraday, “contabiliza” los iones que llegan a él por medio de la pequeña intensidad de corriente que se produce al captar el electrón que le falta. Estas copas están dispuestas en posiciones fijas predeterminadas, y es la intensidad del campo magnético la que se varía para poder medir diferentes gases y por tanto diferentes masas, 2 y 3, para el Hidrógeno, 28 y 29 para el Nitrógeno, 44, 45 y 46 para CO₂, 66 y 64 para SO₂, etc. ya que cada haz debe incidir en una de las copas sin que ni un solo ión pueda escapar a su detección por el espectrómetro. Un elevado vacío en todo el sistema (superior a 10⁻⁶ mbar) asegura un recorrido libre de los haces iónicos.

Como se ha indicado anteriormente, un IRMS necesita que la muestra llegue a la fuente de ionización en forma gaseosa. Existen una gran cantidad de sistemas de Preparación de Muestras cuya misión es la de convertir la muestra de interés (carbonatos, agua, materia orgánica, etc.) en los gases a analizar y disponerlos en la fuente de ionización del espectrómetro.

Los fabricantes actuales de espectrómetros permiten realizar una Configuración Modular del equipo, Figura 3, para que cada usuario pueda adquirir solo aquellos sistemas de preparación y aquellos componentes del espectrómetro que necesita para realizar el análisis de un determinado tipo de muestras, permitiendo a posteriori ampliar el equipo según sus nuevas necesidades. En geoquímica (la aplicación con la que nació la IRMS en los años 1930-40) la forma clásica de preparar la muestra, aún no desplazada totalmente como se verá mas adelante, es

mediante sistemas de vacío con trampas criogénicas donde el gas final se transfiere al espectrómetro en un porta muestras de vidrio.

Este tipo de preparación necesita de un sistema de entrada denominado de Doble Ingreso “DUAL INLET” que se caracteriza porque el gas llega a la Fuente de Ionización por una difusión pasiva (a través de capilar) entre el reservorio, que esta a elevada presión, y la fuente con alto vacío. Posteriormente se vio la posibilidad de unir la línea de preparación al Dual Inlet de forma que se automatizaba más el proceso.

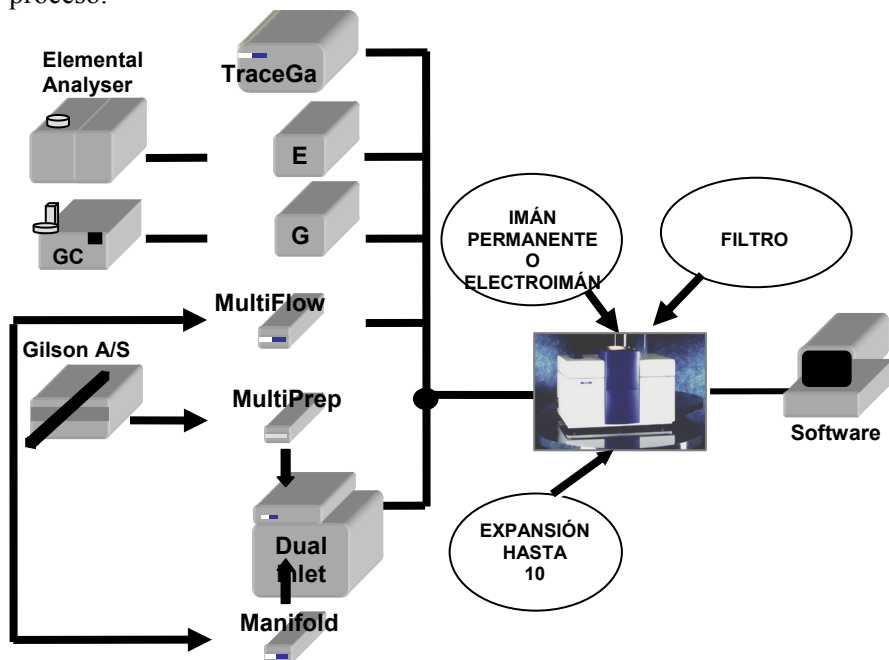


Figura 3.-Configuración modular

Si bien estos sistemas se siguen usando en muchos laboratorios geoquímicos, han sido casi totalmente sustituidos por los sistemas de FLUJO CONTINUO que aparecieron en los años 80 y que permiten, una gran productividad (cientos de muestras al día frente a unas pocas decenas en los sistemas clásicos) con una necesidad de muestra en torno a 10-100 veces menor. Serían los sistemas denominados Trace Gas, Elemental Analyser, GC y Multiflow. En los sistemas de preparación de muestra por Flujo Continuo, el gas a analizar llega inmerso en un flujo de He que actúa como gas de arrastre y que mantiene una presión constante en la fuente de ionización. Se pueden medir cantidades mucho menores de muestra porque esta llega en forma de pico gaussiano consumiéndose totalmente en cada análisis.

Sistema de combustión “off-line”

En la Figura 4 se muestra un ejemplo de sistema de preparación de muestras clásico “off-line” para el análisis de C, H y N en materia orgánica. Se parte de varias

decenas de miligramos de muestra (dependerá de la riqueza en estos elementos) que se alojan en un porta muestras de vidrio con Ag y CuO en cantidades suficientes. Se conecta a sistema de vacío y se cierra a la llama. Se introduce en un horno a 850°C durante 2-3 horas para que se produzca la oxidación total y posteriormente a 600°C durante 2-3 horas para que se reduzcan los óxidos de nitrógeno a N₂. Una vez finalizado dicho proceso se conecta cada porta muestras a una línea de vacío donde tras su rotura, se separarán mediante trampas criogénicas el CO₂, H₂O y N₂ que se transferirán a unos porta muestras adecuados donde permanecerán hasta el momento de ser medidos en el espectrómetro mediante el sistema de doble ingreso o Dual Inlet. Para el análisis del H₂ se necesitaría de un segundo proceso para reducir el H₂O a H₂ (mediante sistemas de reducción con uranio, con Zn, con Cr, etc.)

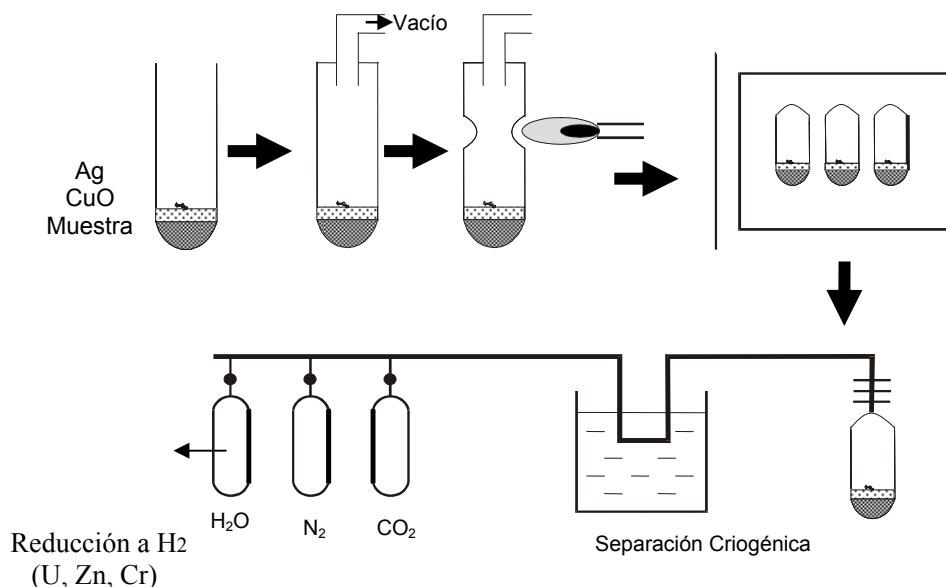


Figura 4.- Sistema de combustión “off-line” de Materia Orgánica

Carbonatos

En la Figura 5 se muestra un sistema off-line, semiautomático para carbonatos que permite su conexión directa al espectrómetro de doble ingreso. Este sistema ha sustituido a la clásica línea de preparación de carbonatos aunque su fundamento es el mismo. Básicamente consiste en el ataque del carbonato por PO₄H₃ ultra puro. El CO₂ formado se purifica con trampas criogénicas, para eliminar agua o cualquier otro componente y se inyecta directamente en el espectrómetro. Así se pueden procesar un mayor número de muestras y estas pueden ser de un peso muy inferior a las que se utilizan en la línea clásica (varios miligramos).

Técnicas de flujo continuo

En la Figura 7 se muestra un esquema de los procesos que tienen lugar en los sistemas de preparación de muestras más comunes en Flujo Continuo. En la mitad superior aparecen los destinados a preparar la muestra para el análisis de H y O mediante conversión cuantitativa a alta temperatura (también denominado sistema de pirólisis). Cuando lo que interesa es la composición isotópica de la muestra total (sin distinguir fracciones moleculares) se utiliza un sistema denominado TC/EA (nomenclatura de Thermo Electrón, no obstante Micromass posee un sistema

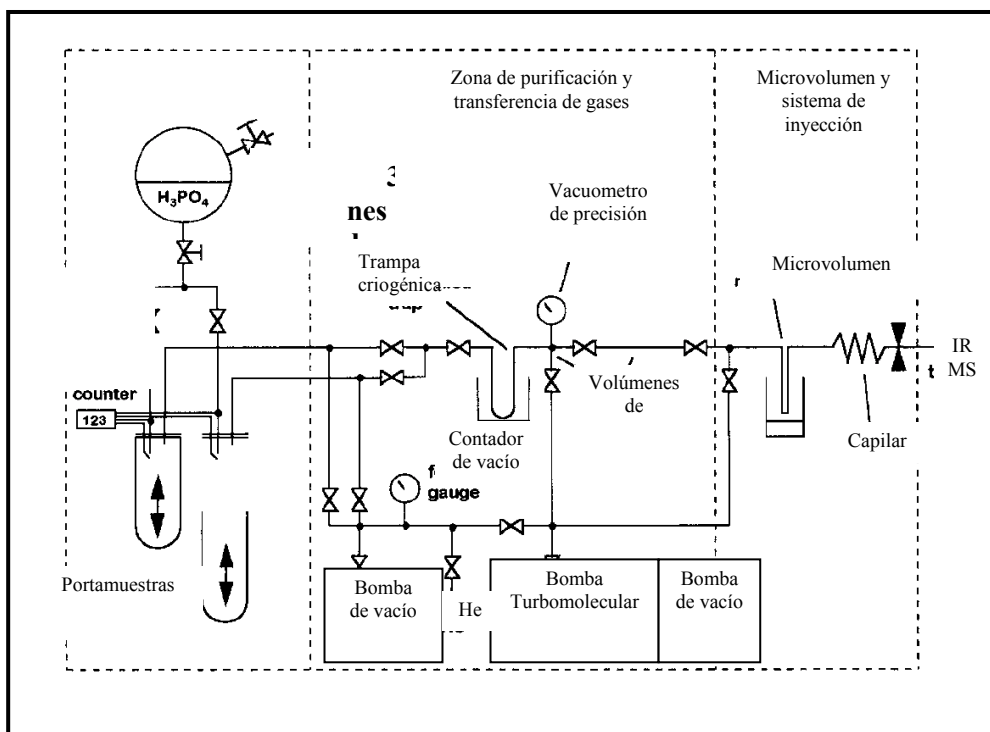


Figura 5.- Sistema semiautomático para carbonatos

equivalente) donde la muestra (micromoles) a 1450°C y en presencia de grafito en exceso se transforma en CO y H₂. Estos se separan mediante una columna cromatográfica y se analizan secuencialmente.

Para el caso de que interese estos mismos análisis isotópicos en fracciones moleculares (ácidos grasos, alcanos, alcoholes, aminoácidos, etc.) de un extracto, se someterá la muestra (nanomoles) a una separación inicial mediante cromatografía de gases, y posteriormente cada fracción separada será sometida al proceso TC/EA. Sin embargo ahora solo será posible medir o el H₂ o el oxígeno como CO, pero no ambos isótopos a la vez.

En la mitad inferior de la figura se muestran los sistemas de flujo continuo utilizados para el análisis de N y C. De forma similar a lo expuesto anteriormente se pueden hacer estos análisis bien en la muestra total o bien en las fracciones moleculares. La muestra total se quema, en presencia de oxígeno, a una temperatura comprendida entre 950 y 1000° C y los gases obtenidos, CO₂ y N₂ (el agua se elimina por una trampa química), tras una reducción a 650° C, se separan por una columna cromatográfica y se miden secuencialmente en el espectrómetro de masas. Este sistema denominado EA-IRMS fue el primero, en flujo continuo, en aparecer en el mercado a finales de los años 70, a continuación se explicará con más detalle. En caso de fracciones moleculares (mezclas de componentes) los componentes separados por un cromatógrafo de gases se queman, al igual que antes se hacía con la muestra total, el CO₂ o el N₂ obtenidos se analizan en el espectrómetro de masas. Este sistema se denomina GC-C-IRMS y también se explicará más adelante.

EA-IRMS

En la Figura 6 se muestra el esquema de un EA-IRMS. Consta de: un carrusel automuestreador (a) donde se colocan las muestras (normalmente unos pocos miligramos aunque esto depende de su riqueza en C y N) pulverulentas, previamente pesadas, secas y dentro de una pequeña cápsula de estaño, formando una pequeña bolita. Un carrusel dispone de 50 pocillos para contener otras tantas muestras pero se puede aumentar su capacidad hasta 150 muestras. La muestra cae en la columna de oxidación formada por un tubo de cuarzo relleno con óxidos de

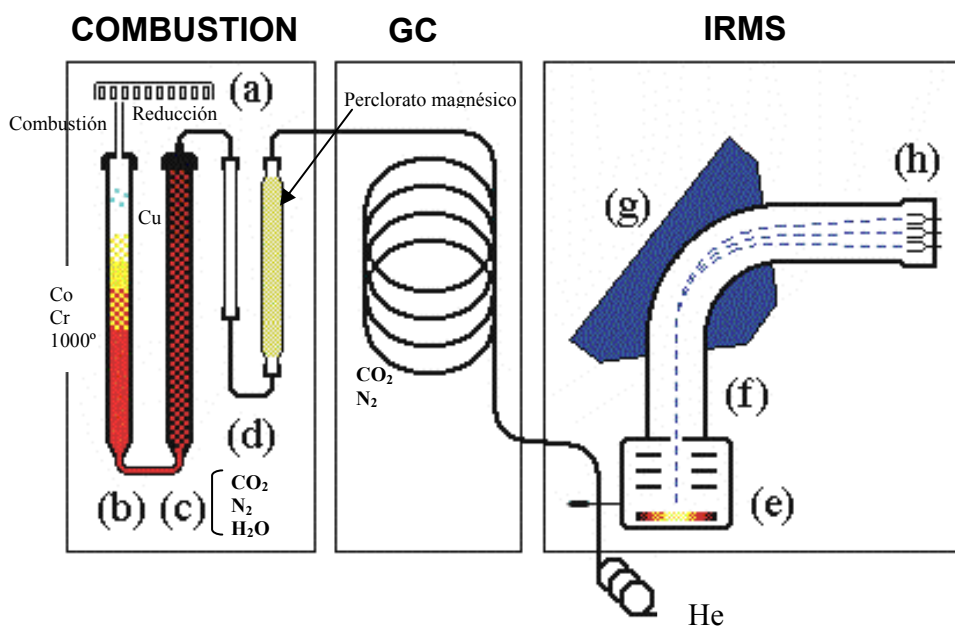


Figura 6.- Esquema del CG-IRMS

cobalto y cromo (b) donde a una temperatura de, aproximadamente, 1000° C (depende del modelo) y en presencia de atmósfera de oxígeno puro se produce una combustión instantánea y total (este proceso recibe el nombre de Flash Combustión) dando lugar a CO₂, N₂, N_xO_y, H₂O y O₂ en exceso. Una segunda columna de reducción (c) rellena de cobre reducido permite que a la salida de la misma solo existan CO₂, N₂ y H₂O. El agua se elimina en (d) por absorción sobre perclorato magnésico. Posteriormente, si solo se pretende analizar N₂, se puede eliminar el CO₂ mediante una trampa de Ca(OH)₂. Si interesan los dos componentes una columna cromatográfica separa el N₂ del CO₂ y se introducen, secuencialmente, en la fuente de ionización del espectrómetro mediante un sistema de Split denominado ConFlo III. Un flujo de He recorre todo el circuito desde la entrada de la cápsula hasta la llegada de los gases a la fuente de ionización.

Flujo Continuo para oxígeno e hidrógeno (TC/EA)

En este caso la muestra, normalmente materia orgánica, aunque también se pueden analizar sulfatos, nitratos y aguas, se aloja en una cápsula de plata, similar a las utilizadas en el EA (en este caso se usa plata y no estaño para evitar la contaminación por oxígeno procedente de la misma cápsula) y después se cierra y aloja en un carrusel (también similar al utilizado en el EA). Desde este carrusel cae en la columna de reacción, que está formada por un tubo de alúmina recubierto internamente por otro de “glassy carbon” y este a su vez relleno con grafito y virutas de glassy carbon. Todo ello contribuye a que exista un exceso de carbono, el cual, a temperaturas superiores a los 1300° C, ocasiona la producción de tantas moléculas de CO como átomos de oxígeno existan en la muestra.

El hidrógeno se transforma en H₂ y el carbono de la muestra que pueda haber en exceso se grafitiza. En las muestras que poseen nitrógeno, se produce también N₂. El CO y el H₂ (más el N₂ en su caso) formados se separan posteriormente por una columna cromatográfica y a la salida se envían al espectrómetro mediante un sistema de split tipo ConFlo III, exactamente igual al usado para el analizador elemental. Todo el circuito se purga con un flujo de He para evitar la existencia de oxígeno externo y para permitir que fluyan los gases hasta el espectrómetro.

Para el caso de los análisis de aguas el sistema de muestreo no es un carrusel sino un inyector de los utilizados en cromatografía (ver el GC) o el mismo brazo CombiPal usado en el GasBench, el cual usando una jeringa cromatográfica inyecta 1 microlitro de agua a través de un septum situado en la entrada de la columna de reacción.

Flujo continuo en mezclas de componentes

En todos los casos el primer componente es un cromatógrafo de gases que no difiere en nada de los utilizados en GC o GC-MS. Este cromatógrafo permite inyectar la muestra a estudiar y mediante la columna adecuada y la rampa de temperaturas seleccionada se separaran los distintos compuestos de interés según sus diferentes tiempos de retención.

A la salida de la columna existe un sistema para conversión de la muestra en $\text{CO}_2 + \text{N}_2$ (sistema GC/C) que consiste en un pequeño reactor de combustión, similar (pero de reducidas dimensiones) al usado en EA y que continua con un sistema de reducción (para el caso de análisis de N_2) y con una trampa criogénica para atrapar el agua. O bien el sistema para conversión de la muestra en $\text{CO} + \text{H}_2$ (sistema GC/TC) similar (pero de reducidas dimensiones) al usado en el EA/TC. La única variación con respecto a un GC convencional es que existe una válvula a la salida de la columna que envía inicialmente todo el disolvente hacia el detector del cromatógrafo (normalmente un detector de ionización de llama) y solo deja pasar a las columnas de reacción los gases seleccionados de la muestra, lo cual inhibe la posibilidad de que el disolvente llegue a estos reactores y consuma un exceso de reactivos.

Una versión muy reciente permite, además, mediante un sistema de split, realizar un análisis GC-MS en la muestra para poder conocer la composición cualitativa de los diferentes compuestos separados antes o independientemente de su análisis isotópico. Esto permite que, mediante un único cromatógrafo de gases, se puedan realizar tanto los análisis GC-MS como los GC-IRMS.

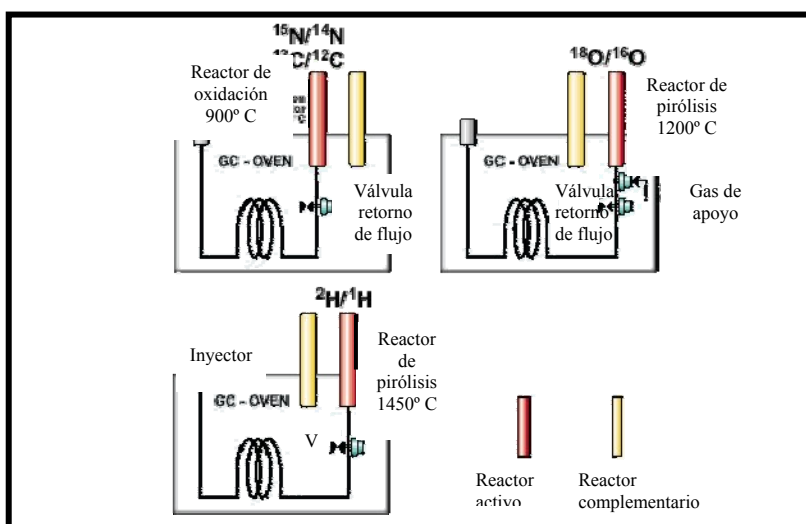


Figura 7.- Flujo continuo. Análisis de razones isotópicas en mezclas de componentes de C+N y O+H (GC/C y GC/TC)

Aplicaciones de la Biogeoquímica isotópica

Debido a que los fenómenos físicos, químicos y biológicos producen fraccionamientos isotópicos en los elementos, el estudio de sus razones isotópicas tiene innumerables aplicaciones en muy diversas ramas de la ciencia. Su discusión se haría interminable, por lo que a continuación solo se indican algunos de estos campos de aplicación. Para más información ver: Attendorn y Bowen (1997), IAEA (1983), Clauer y Chaudhuri (1992), Frenzel (1995), Lajtha y Michener, R.H. (1994), Fritz y Fontes (1980, 1986, 1989), Griffiths (1998).

Geotermometría en Petrología ígnea y metamórfica.
Estratigrafía y Sedimentología: indicadores ambientales.
Hidrología: Trazadores del agua, trazadores de solutos en el agua.
Edafología: Génesis, evolución.
Paleontología: Paleodietas, indicadores ambientales.
Paleoclimatología: Registros de paleotemperaturas, paleohumedad.
Ecología y fisiología, animal y vegetal.
Medicina: Diagnóstico clínico, gasto energético, procesos metabólicos.
Medioambiente. Estudios de contaminación
Alimentación: Control de calidad, denominación de origen.
Procesos industriales
Astrobiología
etc.

Bibliografía

- Attendorn, H.G. y Bowen, R.N.C. (1997) *Radioactive and stable isotope geology*. Chapman & Hall. London, 522 pp.
- Clark, I.D. y Fritz, P. (1997) *Environmental Isotopes in Hydrogeology*, CRC Press, 328 pp.
- Clauer, N. y Chaudhuri, S. (1992) *Isotopic signatures and Sedimentary Records.*, Springer-Verlag. Berlin, 529 pp
- Craig, H. (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 1(2),133–149.
- Dansgaard, W. (1961) The isotopic composition of natural waters. *Medd.GrønL.*, 165(2), 1-120.
- Dansgaard, W. (1964) Stable isotopes in precipitation. *Tellus*, 16, 436-438.
- Fogel, M.L. y Cifuentes, L.A. (1993) Isotope fractionation during primary production. In: M.H. Engel and S.A. Macko (Eds). *Organic Geochemistry*, Plenum Press, New York, 73-98.
- Frenzel, B. (1995) Problems of isotopes in tree-rings, lake sediments and peat-bogs as climatic evidence for the Holocene. European Science Foundation, Strasbourg, 189 pp.

- Friedman, I., Redfield, A.C., Schoen, B y Harris, J. (1964) The variation of the deuterium content of natural waters in the hydrologic cycle. *Rev. Geophys.*, 2, 177-224.
- Fritz, P. y Fontes, J.Ch. (1980) *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry*, Vol. 1, The Terrestrial Environment, A. Elsevier, Amsterdam, 504 pp.
- Fritz, P y Fontes, J.Ch. (1986) *Handbook of Environmental isotope geochemistry*. Vol. 2. The Terrestrial Environment, B. Elsevier. Amsterdam, 548 pp.
- Fritz, P y Fontes, J.Ch. (1989) *Handbook of Environmental isotope geochemistry*. Vol.3. The Marine Environment, A. (1989) Elsevier. Amsterdam, 392 pp.
- Gat, J.R. (1980) The isotopes of hydrogen and oxygen in precipitation. En: P. Fritz and J.-Ch. Fontes (Eds), *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry*, Vol. 1, The Terrestrial Environment., A. Elsevier, Amsterdam, 21-48.
- Gat, J.R. y Gonfiantini, R., (Eds) (1981) *Stable Isotope Hydrology: Deuterium and Oxygen-18 in the Water Cycle*. IAEA Technical Report Series #210, Vienna, 337 pp.
- Gonfiantini, R. (1995) Reference and Intercomparison Materials for Stable Isotopes of Light Elements, *IAEA-TECDOC-825*, IAEA, Vienna, 13-29.
- Griffiths, H. (1998) *Stable isotope, Integration of biological, ecological and geochemical processes*, Bios Scientific Publishers, Oxford, 438 pp.
- IAEA (1983) *Paleoclimates and palaeowaters: A collection of environmental isotope studies*, International Atomic Energy Agency, Vienna, 204 pp.
- Lajtha, K. y Michener, R.H. (1994) *Stable isotopes in Ecology and environmental Science*. Blackwell Scientific Publications. London, 316 pp.
- O'Neil, J.R., (1986) Theoretical and experimental aspects of isotopic fractionation. En: J.W. Valley, H.P. Taylor and J.R. O'Neil (Eds), *Stable Isotopes in High Temperature Geological Processes*. *Reviews in Mineralogy*, 16, 1-40.
- Taylor, C.B. (1972) The vertical variations of the isotopic concentration of tropospheric water vapour over continental Europe and their relationship to tropospheric structure, *N.Z. Dep. Sci. Ind. Nucl. Sci., Rep., INS-R-107*, 45 pp.

Referencia de este artículo:

- Reyes, E. (2004): *Geoquímica de Isótopos Estables: Fundamentos, Técnicas y Aplicaciones*. En: L. Barbero y M.P. Mata (Eds.). *Geoquímica Isotópica Aplicada al Medioambiente, Seminarios de la Sociedad Española de Mineralogía* (ISSN: 1698-5478), 1, 1-19.

Apéndice 1.- Patrones internacionales para oxígeno, hidrógeno, carbono y nitrógeno

REFERENCIA	MATERIAL	δD_{V-SMOW}	$\delta^{13}C_{V-PDB}$	$\delta^{15}N_{AIR}$	$\delta^{18}O_{V-SMOW}$
IAEA-VSMOW	Vienna Standard Mean Ocean Water	0,00			0,00
IAEA-SLAP	St Light Antarctic Precipitation	-428			-55,5
IAEA-GISP	Greenland Ice Sheet Precipitation	-189,5			-24,8
IAEA-302A	Deuterium labelled water	+508,4			
IAEA-303B	Deuterium labelled water	+996			
IAEA-OH-1	Water	-3,9			-0,1
IAEA-OH-2	Water	-30,8			-3,3
IAEA-OH-3	Water	-61,3			-8,7
IAEA-OH-4	Water	-109,4			-15,3
IAEA-304-A	O-18 Labelled Water				+251,7
IAEA-304-B	O-18 Labelled Water				+501,5
IAEA-NBS30(NIST-8538)	Biotite	-65,7			+5,1
IAEA-CH-7(NIST-8540)	Polyethylene	-100,3	-31,8		
IAEA-NBS22(NIST-8539)	Oil	-118,5	-29,7		
IAEA-NBS28(NIST-8546)	Quartz sand				+9,58
IAEA-NBS127	Barium Sulphate				+9,3
IAEA-NBS1(NIST-8544)	Carbonatite		-5,01		-23VPDB
IAEA-NBS19(NIST-8545)	Carbonatite		+1,95		-2,2VPDB
IAEA-CO-1	Marble		+2,48		- 2,44VPDB
IAEA-CO-8	Calcite		-5,75		- 22,7VPDB
IAEA-CO-9	Barium Carbonate		-47,1		- 15,3VPDB
IAEA-LSVEC(NIST-8545)	Lithium Carbonate		-46,5		- 26,5VPDB
IAEA-305A	N-15 Labelled ammonium sulphate			+39,8	
IAEA-305B	N-15 Ammonium sulphate			+375,5	
IAEA-310A	N-15 Labelled Urea			+47,2	
IAEA-310B	N-15 Labelled Urea			+244,6	

Apéndice 2.- Patrones internacionales para carbono, nitrógeno y azufre

REFERENCIA	MATERIAL	$\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$	$\delta^{34}\text{S}_{\text{CDT}}$
IAEA-USGS32	Potassium sulphate			+180
IAEA-USGS26(NIST8551)	Ammonium sulphate		+53,7	
IAEA-N1	Ammonium sulphate		+0,4	
IAEA-N2	Ammonium sulphate		+20,3	
IAEA-311	Ammonium sulphate		+2,05	
IAEA-USGS25	Ammonium sulphate		-30,4	
IAEA-NO-3	Potassium nitrate		+4,7	
IAEA-NSVEC	Air N2		-2,8	
IAEA-NBS127(NIST-8557)	Barium sulphate Water			+20,3
IAEA-NBS123(NIST-8556)	Sphalerite			+17,1
IAEA-S1	Silver sulphide			-0,3
NIST-8555	Silver sulphide			+21
NIST-8553	Elemental sulphur			+16
IAEA-309A	C-13Labelled UI-glucosa	+93,9		
IAEA-309B	C-13Labelled UI-glucosa	+535,3		
IAEA-303A	C-13 Labelled sodium bicarbonate	+93,3		
IAEA-303B	C-13 Labelled sodium bicarbonate	+466		
IAEA-C2	Travertine	-8,25PDB		
IAEA-C3	Cellulose	-24,91PDB		
IAEA-C4	Wood	-23,96PDB		
IAEA-C5	Wood	-25,49PDB		
IAEA-CH6(NIST-8542)	Sucrose	-10,4		
IAEA-C6	Sucrose	-10,8PDB		
IAEA-C7	Oxalix acid	-14,48		
IAEA-C8	Oxalic acid	-18,3		
IAEA-USGS24(NIST-8541)	Graphite	-16,1		