

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**Desarrollo de un programa para la
determinación de la estación de captura de
lapas arqueológicas mediante
espectroscopía inducida por láser**

**(Development of a program for the
determination of the capture station of
archaeological limpets by means of laser
induced spectroscopy)**

Para acceder al Título de

***Graduado en
Ingeniería de Tecnologías de Telecomunicación***

Autor: Sergio Malpica Ureña
Julio - 2022

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

CALIFICACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO

Realizado por: Sergio Malpica Ureña
Director del TFG: Jesús Mirapeix Serrano

Título: “Desarrollo de un programa para la determinación de la estación de captura de lapas arqueológicas mediante espectroscopía inducida por láser”

Title: “Development of a program for the determination of the capture station of archaeological limpets by means of laser induced spectroscopy”

Presentado a examen el día:

para acceder al Título de

GRADUADO EN INGENIERÍA DE TECNOLOGÍAS DE TELECOMUNICACIÓN

Composición del Tribunal:

Presidente (Apellidos, Nombre): Adolfo Cobo García

Secretario (Apellidos, Nombre): Jesús M. Mirapeix Serrano

Vocal (Apellidos, Nombre): Jose Angel García García

Este Tribunal ha resuelto otorgar la calificación de:

Fdo.: El Presidente

Fdo.: El Secretario

Fdo.: El Vocal

Fdo.: El Director del TFG
(sólo si es distinto del Secretario)

Vº Bº del Subdirector

Trabajo Fin de Grado N°
(a asignar por Secretaría)

Resumen

Hoy en día, se han realizado diversos estudios en la formación de concheros y la utilización de los moluscos por parte de las poblaciones del Mesolítico en la costa Cantábrica, para así, poder determinar el comportamiento de nuestros antepasados en relación con sus estrategias de supervivencia. Pero todavía hay algunos campos en los que la información es más limitada, como en el caso de la estación en la que se extrajeron los moluscos.

Varias investigaciones desarrolladas en los últimos años sostienen que la relación de diferentes isótopos y elementos que forman parte de la composición atómica y elemental de las conchas de los moluscos pueden ser útiles como indicadores paleoclimáticos y así, poder extraer la información necesaria acerca de la temperatura del mar en el momento de la captura del molusco.

Mediante la técnica LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) es posible medir las muestras elementales de la composición de la concha de los moluscos. El principal objetivo de este trabajo es el desarrollo de un programa que nos ayude en el tratamiento de los datos medidos para poder contribuir en una correcta estimación de la estación de captura de los moluscos.

Palabras clave – Mesolítico, Lapas, Espectroscopía, LIBS, Matlab, Algoritmo DDA, Temperatura superficial del mar, estación de captura.

Abstract

Nowadays, several studies have been carried out in the formation of accumulations of archaeological shells and the use of molluscs by the populations of the Mesolithic in the Cantabrian coast, to determine the behaviour of our ancestors in relation to their survival strategies. But there are still some fields where the information is more limited, as in the case of the station in which the molluscs were captured.

Various investigations developed in the last years maintain that the relation between different isotopes and elements that are part of the atomic and elemental composition of shellfish shells can be useful as paleoclimatic indicators and thus, be able to obtain information about sea temperature at the time of capture.

Using LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) technique it is possible to measure the elementary samples of the shellfish composition. The main objective of this work is the development of a program that helps us in the treatment of measured data to contribute to a correct estimation of the shellfish capture station.

Keywords – Mesolithic, Limpets, Spectroscopy, LIBS, Matlab, DDA Algorithm, Sea surface temperature, capture station.

Índice general

1. Introducción.....	- 5 -
1.1 Contexto.....	- 5 -
1.2 Objetivos.....	- 6 -
2. Estudios de la composición atómica y elemental de moluscos	- 7 -
2.1 La problemática de las lapas.....	- 7 -
2.2 Análisis de isótopos estables de oxígeno.....	- 8 -
2.3 Análisis concentración Mg/Ca.....	- 10 -
2.4 Conclusiones acerca de los análisis isotópicos y elementales.....	- 11 -
2.5 Otros estudios más recientes.....	- 12 -
3. Espectroscopía Láser de Ruptura (LIBS)	- 14 -
3.1 Espectroscopía y principales técnicas espectroscópicas.....	- 14 -
3.2 LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy)	- 16 -
3.2.1 Ventajas de la técnica LIBS.....	- 17 -
3.2.2 Toma de muestras y montaje experimental de LIBS para el presente trabajo	- 17 -
-	-
4. Método de análisis propuesto	- 19 -
4.1 Preparación de las muestras.....	- 19 -
4.2 Realización de las medidas.....	- 21 -
4.3 Desarrollo de un programa para la estimación de la estación de captura	- 23 -
4.3.1 Algoritmo DDA.....	- 23 -
4.3.2 Desarrollo del programa en Matlab.....	- 24 -
4.4 Resultados obtenidos.....	- 32 -
5. Conclusiones y líneas futuras.....	- 46 -
Referencias	- 48 -
Anexo: Código completo en Matlab documentado	- 50 -

Lista de figuras

Figura 1.- *Yacimientos de concheros asturianos.*

Figura 2.- *Metodología aplicada para la toma de muestras de CaCO_3 en A) gasterópodos sin espiras y B) gasterópodos espirados.*

Figura 3.- *Ejemplar de *Phorcus Lineatus*(A), sección de la concha(B), metodología en la toma de muestras(C).*

Figura 4.- *TSM (C°) observada en la recogida del molusco y ^{18}O del último crecimiento de la concha.*

Figura 5.- *TSM(C°) observada en su recogida y ratio Mg/Ca en la capa aragonito.*

Figura 6.- *TSM (C°) observada en su recogida y la relación Mg/Ca en la capa de calcita.*

Figura 7.- *Localización del área de estudio por parte de Asier García-Escárzaga et al.*

Figura 8.- *Concentración Mg/Ca vs TSM (C°).*

Figura 9.- *Ejemplo de espectros de emisión tomados mediante la técnica de espectroscopía LIBS.*

Figura 10.- *Ejemplo estructura básica espectrómetro.*

Figura 11.- *Ejemplo espectrómetro comercial (AvaSpec-ULS2048CL-EVO).*

Figura 12.- *Esquema sistema experimental típico LIBS.*

Figura 13.- *Ejemplo de líneas de medida para la toma de muestras en la especie *Patella depressa*.*

Figura 14.- *Montaje experimental LIBS para la toma de muestras.*

Figura 15.- *Muestra del corte de un ejemplar de *Patella vulgata* con resina.*

Figura 16.- *Muestra de *Patella vulgata* con la resina quitada en la zona de interés.*

Figura 17.- *Otra vista del ejemplar utilizado con la resina retirada.*

Figura 18.- *Sistema LIBS del laboratorio de ingeniería fotónica de la Universidad de Cantabria.*

Figura 19.- *Muestra con material negro preparada para la toma de medidas con LIBS.*

Figura 20.- *Ejemplo resultados obtenidos con el programa desarrollado.*

Figura 21.- *Resina en la muestra analizada con LIBS.*

Figura 22.- *Espectro tomado con LIBS con resina.*

Figura 23.- *Espectro tomado con LIBS sin resina.*

Figura 24.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Mayo 2006.*

Figura 25.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Mayo 2006.*

Figura 26.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Octubre 2006.*

Figura 27.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Octubre 2006.*

Figura 28.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Agosto 2012.*

Figura 29.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Agosto 2012.*

Figura 30.- *Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero.*

Figura 31.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero.*

Figura 32.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-178).*

Figura 33.- *Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero (Borde largo izquierdo).*

Figura 34.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero (LAN-177).*

Figura 35.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-177).*

Figura 36.- *Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero (Borde largo derecho).*

Figura 37.- *Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero (LAN-177).*

Figura 38.- *Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-177).*

Figura 39.- *Promedio de las cuatro gráficas resultantes tras el trazado de trayectorias individuales.*

1. Introducción

1.1 Contexto

Si bien el Mesolítico (10.000 – 6000 a.C) en la región Cantábrica no ha sido objeto de profundo estudio a lo largo de los años, ya que la principal motivación por parte de arqueólogos e historiadores en esta zona era la localización de cavidades con arte rupestre y yacimientos paleolíticos correspondientes a esa época [1], a partir de finales del siglo XIX y como consecuencia de la aparición de las primeras acumulaciones de moluscos en yacimientos arqueológicos, se abren varias líneas de investigación para el estudio de estas formaciones. En los últimos 40 años los datos han ido aumentando en calidad y cantidad, resultando en que varios estudios señalan la gran abundancia y tamaño de estos concheros como una de las características principales de este periodo en el área septentrional de la península Ibérica [2]. Es habitual encontrar yacimientos concheros mesolíticos en el área Atlántica, pero estos hallazgos en el Cantábrico suponen un cambio en la utilización de estos recursos malacológicos, ya que se descubre que no son consumidos con tanta frecuencia hasta ese momento [3].

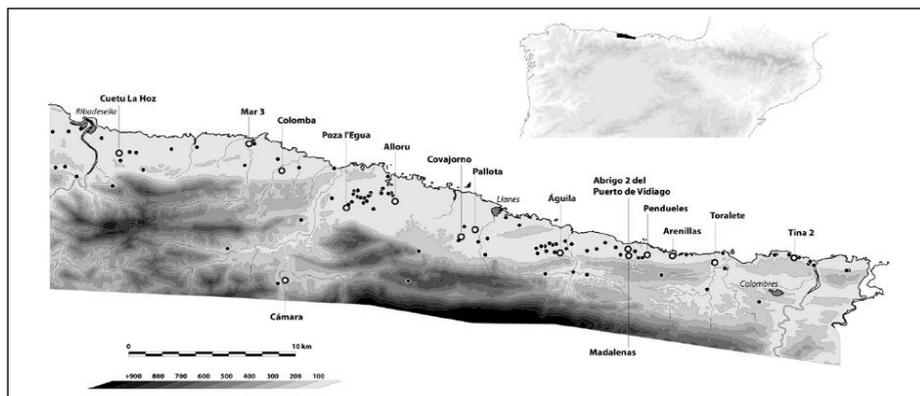


Figura 1. – Yacimientos de concheros asturienses [4]

Estos estudios de la formación de concheros nos permiten poder deducir y determinar el comportamiento de nuestros antepasados en relación con sus estrategias de supervivencia y/o costumbres en áreas costeras, además de proporcionarnos conocimientos adicionales acerca de estas poblaciones humanas de aquella época. Sin embargo, todavía hay varios campos en los que la información es más limitada, como es el caso de la estación de captura de esos moluscos.

Varias investigaciones desarrolladas durante los últimos años sostienen que la relación entre diferentes isótopos y elementos que forman parte de la composición atómica y elemental de las conchas de estos moluscos ($^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$ y Mg/Ca) pueden ser útiles como indicadores paleoclimáticos [5] para, así, obtener información y estimar la temperatura del agua del mar en el momento de la captura del molusco. Analizando esta TSM (temperatura superficial del mar) es posible deducir la estación del año en la que se recogieron los moluscos y obtener información acerca de la disponibilidad de los recursos alimenticios o los patrones de asentamiento y/o desplazamiento de estos grupos prehistóricos.

1.2 Objetivos

Para la extracción de los datos a partir de los restos de lapas, son necesarias técnicas de análisis químico precisas y rápidas. Las técnicas más populares actualmente, como la espectroscopia de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) o la espectrometría de masas de relación isotópica (IRMS) ofrecen resultados bastante precisos, pero requieren de un muestreo y extracción del material en numerosos puntos, lo que lo hace un proceso largo y laborioso. Por esta razón, para el desarrollo de este trabajo, se hará uso de la técnica de espectroscopia de ruptura inducida por láser (LIBS), la cual, es mucho más rápida a la hora de realizar las medidas, además de reducir costes.

Los principales objetivos de este proyecto son, mediante una serie de medidas del ratio de concentración de Mg/Ca en diferentes puntos de la lapa obtenidas a partir de la utilización de la técnica LIBS y haciendo uso del software matemático Matlab, desarrollar un programa que permita representar mapas 2D de intensidad de esta concentración de Mg/Ca para poder visualizar correctamente en que zonas de la concha existe una mayor acumulación de estos elementos. Sobre estos mapas, el siguiente paso es que el programa nos permita realizar el trazado de diferentes trayectorias a lo largo de la concha para poder observar cómo varía la estimación de la estación de captura y tratar, de esta manera, de ayudar en una correcta estimación de este parámetro clave.

2. Estudios de la composición atómica y elemental de moluscos

2.1 La problemática de las lapas

Hoy en día, a pesar del aumento en estudios arqueomalacológicos y de la concesión de una mayor importancia a estos moluscos dentro de las estrategias de supervivencia y subsistencia de los grupos humanos prehistóricos, sigue habiendo varias interrogantes en lo que al consumo de estos recursos se refiere, siendo su estación de captura uno de los aspectos más complejos [6].

Los estudios dedicados a deducir la estación de captura de estos recursos marinos han sido reducidos, siendo la mayor parte de las investigaciones dedicadas al análisis de isótopos estables de oxígeno ($^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$). Es en los últimos años, cuando ha ido cobrando más importancia el estudio de las relaciones elementales. Estos estudios determinan la cantidad de elementos minoritarios (como el Magnesio: Mg) que se incorporan al carbonato cálcico (CaCO_3) de las conchas marinas [7].

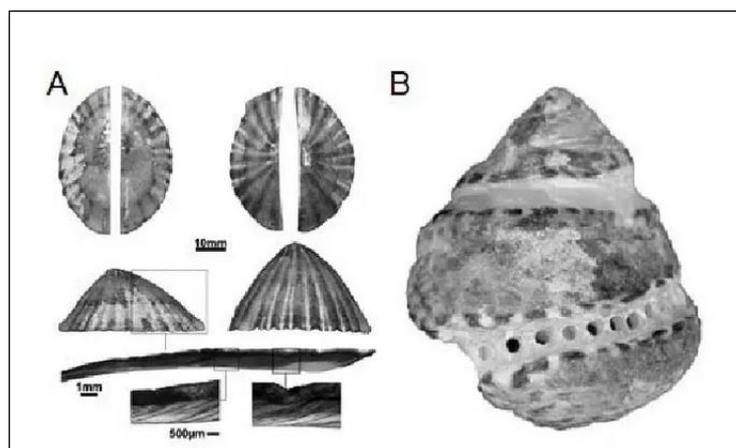


Figura 2. - Metodología aplicada para la toma de muestras de CaCO_3 en A) gasterópodos sin espiras [8] y B) gasterópodos espirados [9]

Los resultados obtenidos mediante el estudio de las conchas nos aportan que el análisis de isótopos estables de oxígeno tiene bastante potencial como indicador paleoclimático y para poder reconstruir la temperatura del mar de la época, ya que existe una alta correlación entre el isótopo ^{18}O de las conchas y la TSM en la que crece el molusco [7]. Además, se ha confirmado de que se trata de un buen indicador de estacionalidad con el fin de averiguar el momento del año en los que estos recursos fueron capturados y poder plantear hipótesis acerca de la actitud socioeconómica de los grupos humanos en la antigüedad [2].

Sin embargo, en el análisis de la relación elemental Mg/Ca se obtienen unos resultados menos concluyentes. Estos resultados presentan una gran variabilidad y heterogeneidad entre individuos recogidos el mismo día e incluso de la misma especie [7]. Estas diferencias encontradas podrían ser debidas a la influencia de diversos factores externos en la incorporación del magnesio al carbonato del molusco, y que todavía se desconocen [2].

2.2 Análisis de isótopos estables de oxígeno

Los isótopos son átomos que pertenecen al mismo elemento químico y que presentan el mismo número de protones, pero diferente número de neutrones, lo cual hace que tengan distinta masa atómica. El estudio de estas relaciones isotópicas de oxígeno en la concha de las lapas marinas ha sido uno de los indicadores con mayor asiduidad tanto en la región cantábrica [10] como en la zona atlántica europea [11] y en el Mediterráneo, entre otras zonas litorales.

El crecimiento de la concha del molusco se debe a la precipitación de carbonato cálcico (CaCO_3). La incorporación de dos de los isótopos estables del oxígeno (^{16}O y ^{18}O) al carbonato cálcico se produce en equilibrio con el medio en el que se encuentre, es por esta razón que mediante la relación entre ambos isótopos ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) es posible determinar la temperatura del mar en la que se produjo su precipitación [12], aunque también hay que tener en cuenta que el ^{18}O no es independiente, sino que depende de la composición isotópica del mar [2].

Los estudios y experimentos recientes realizados para distintas especies de moluscos marinos están en sintonía con otros realizados previamente, mostrando una relación inversa entre los valores isotópicos y la TSM en la que tiene lugar la precipitación, además de presentar una correlación muy elevada entre estos dos parámetros.

En un estudio de 2013 por parte de Asier García-Escárczaga et al. para el Congreso Ibérico de arqueometría, se empleó un ejemplar de *Phorcus lineatus* (una de las especies más representadas en los contextos arqueológicos mesolíticos de la costa cantábrica [2]) para realizar el análisis isotópico. Este molusco ya fue previamente sometido a estudios años atrás. Para el trabajo a realizar contaban con estos recursos malacológicos recogidos en la playa de Langre (Ribamontán al Mar, Cantabria) entre octubre de 2011 y octubre de 2012 y con la TSM diaria cedida por la Planta de Acuicultura del Centro Oceanográfico de Santander [2].

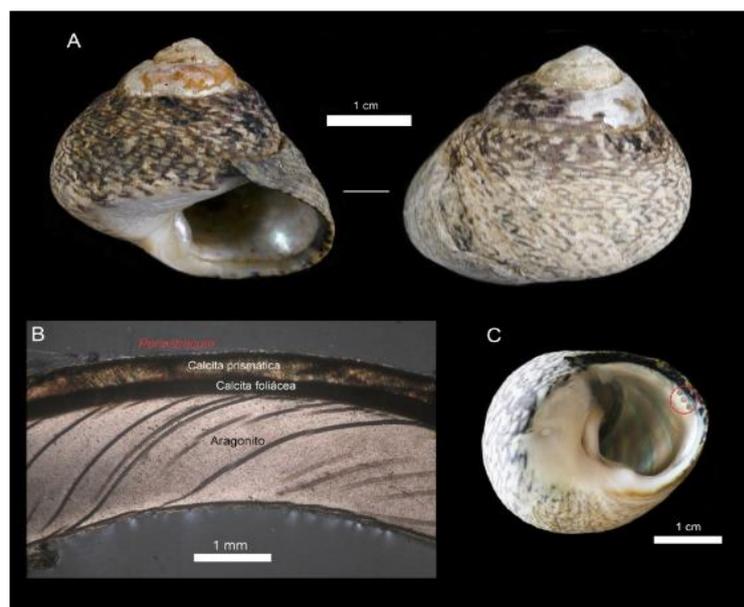


Figura 3.- Ejemplar de *Phorcus Lineatus*(A), sección de la concha(B), metodología en la toma de muestras(C) [2]

Las conchas de los moluscos se forman mediante el proceso de biomineralización, depositando alternamente diferentes tipos de cristales que darán lugar a la coraza del organismo. En el caso del ejemplar en estudio, en su concha podemos diferenciar cuatro capas de diferente mineral cada una, la capa de aragonito, la capa de calcita prismática, la de calcita prismática y la de periostracum.

El estudio se realizó en la capa de aragonito, descartándose la capa más externa del molusco por ser de naturaleza orgánica. Tras una preparación del ejemplar (basada en pautas establecidas por otros autores) para eliminar cualquier tipo de elemento residuo que no beneficie el estudio, realizaron la toma de muestras. Los datos se analizaron mediante la técnica de espectroscopía de masas de relación isotópica (IRMS), la cual ofrece gran precisión y sensibilidad, pero requiere de un largo proceso de muestreo y extracción del material.

Los resultados obtenidos de los análisis de las muestras se pueden observar en la *figura 4*, donde se puede apreciar con claridad esta relación inversa entre la TSM y el isótopo de oxígeno. Los valores más elevados del ^{18}O corresponden a los meses de invierno y los más bajos a los meses de verano.

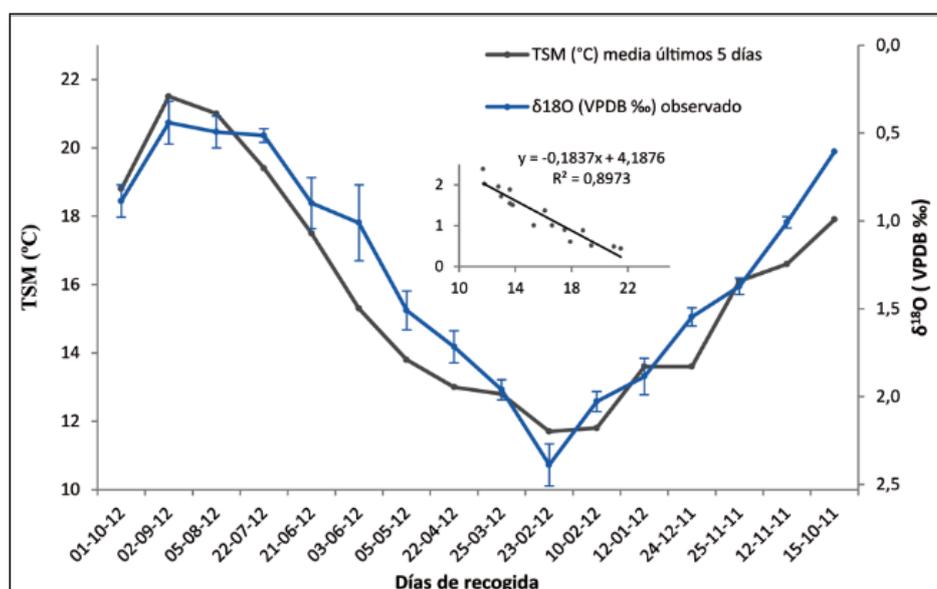


Figura 4.- TSM (C°) observada en la recogida del molusco y ^{18}O del último crecimiento de la concha [2]

Como se puede ver, la correlación entre la TSM y el ^{18}O es muy elevada ($R^2=0.9$). Los resultados obtenidos por parte de estos autores nos sitúan a la especie *Phorcus Lineatus* como un gran indicador estacional y también paleoclimático, además de haber aportado solidez a las investigaciones realizadas años atrás. No obstante, un importante factor a tener en cuenta es la latitud de la región donde fue recogido el molusco, ya que la variación latitudinal afecta a la TSM lo que a su vez afecta a la correlación entre ambos parámetros. Al superarse ciertos valores de temperatura es posible que se supere el límite de tolerancia del molusco, haciendo que deje de crecer y, debido a esto, dejándose de registrar valores.

2.3 Análisis concentración Mg/Ca

El análisis de la relación Mg/Ca es una técnica reciente en comparación a la de isótopos estables, las investigaciones llevadas a cabo durante las últimas décadas plantean que la proporción de los elementos traza incorporados al carbonato cálcico de las conchas de los moluscos pueden estar en dependencia con la TSM [7].

Una gran ventaja de realizar el estudio basándose en la relación Mg/Ca, es que nos puede servir como indicador climático independientemente del valor isotópico del agua, a diferencia de los isótopos estables de oxígeno. Esto quiere decir que no se encuentran influidos por la composición isotópica del agua de mar donde se recogió el molusco [7].

En el estudio mencionado en el anterior apartado, también se realizó un análisis elemental al ejemplar de *Phorcus Lineatus*. En este caso, las muestras se recogieron en la capa de aragonito y en la de calcita. En este caso se empleó la técnica de espectroscopia láser de ruptura (LIBS), debido a que es un método que permite obtener resultados precisos y fiables de manera más rápida, además de una reducción de costes y menor ablación de la muestra, siendo así una técnica menos invasiva que IRMS.

Los resultados obtenidos en la capa de aragonito se pueden ver en la *figura 5*, lo que nos sugiere que la proporción del elemento minoritario en el carbonato cálcico es inversamente proporcional a la TSM, es decir, a mayor valor térmico menor es la cantidad de magnesio.

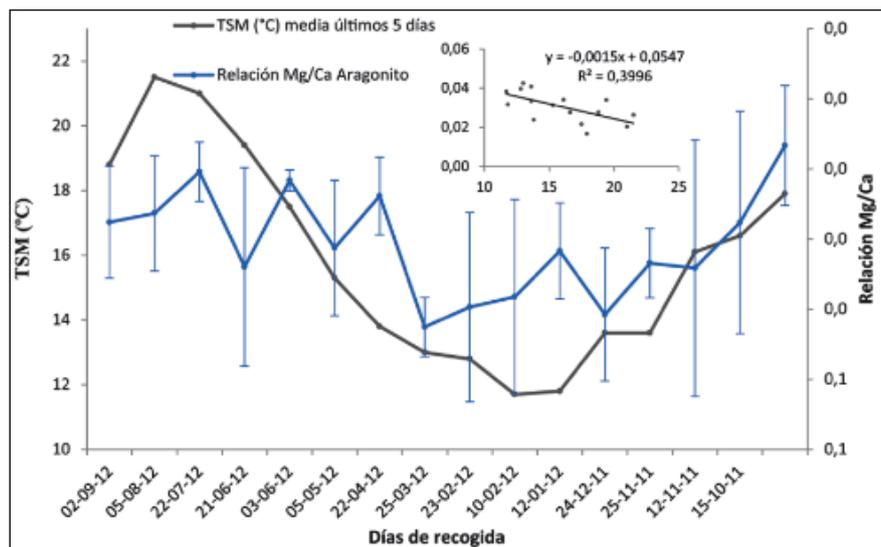


Figura 5.- TSM(°C) observada en su recogida y ratio Mg/Ca en la capa aragonito [2]

Los dos parámetros muestran una correlación baja ($R^2 = 0,4$), además, las barras de error reflejan una alta desviación entre los individuos recogidos el mismo día.

La gráfica a sacada a partir de las muestras obtenidas en el borde de la capa de calcita se puede ver en la *figura 6*, en la que, a diferencia del caso anterior, se nos muestra que la relación entre la TSM y el elemento traza incorporado al carbonato cálcico es directamente proporcional.

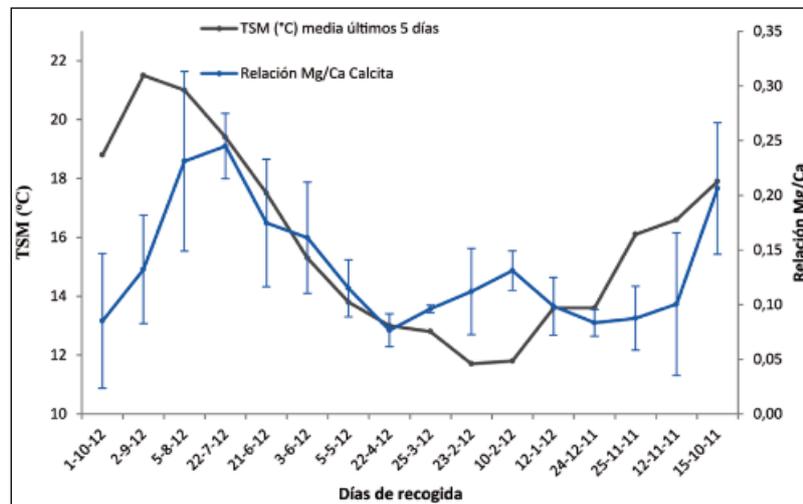


Figura 6.- TSM (Cº) observada en su recogida y la relación Mg/Ca en la capa de calcita [2]

En este caso, se obtienen valores más elevados en lo que a la proporción de este elemento en el carbonato de la concha se refiere. Sin embargo, la correlación entre ambos parámetros es bastante baja ($R^2= 0.34$). En el estudio, se señala que esta baja correlación puede deberse a factores externos que provoquen una disminución en el coeficiente de determinación.

2.4 Conclusiones acerca de los análisis isotópicos y elementales

Como hemos podido comprobar con la revisión del estudio por parte de los autores mencionados, el análisis de los isótopos estables de oxígeno sobre la especie *Phorcus Lineatus* nos confirma el potencial de este método como paleotermómetro para poder reconstruir la temperatura en tiempos pasados. La alta correlación entre la información de la TSM y el nivel isotópico de las muestras nos sitúan estos estudios como buenos indicadores paleoclimáticos además de un gran indicador para poder deducir la estación del año de captura de estos recursos malacológicos, teniendo en cuenta la variabilidad latitudinal que puede afectar al resultado final.

Por otra parte, el análisis de los elementos que se incorporan al carbonato cálcico en las conchas de los moluscos nos plantea una serie de dudas respecto a su aplicación. El método también tiene potencial, sobre todo debido al uso de LIBS para la toma de muestras, lo que lo hace un proceso más rápido y sencillo que el uso de otras técnicas de extracción de datos y obteniendo igualmente resultados fiables y con reducción de costes y despliegue. Sin embargo, es indudable la necesidad de ahondar más en este tipo de técnicas e investigar acerca de ello, ya que los resultados que se obtienen exhiben una baja correlación y es necesario minimizar en la medida de lo posible todos estos factores externos influyentes en nuestro diagnóstico.

2.5 Otros estudios más recientes

Se han realizado varios estudios en relación con el análisis elemental de las conchas de moluscos, ya que su no dependencia con la salinidad del mar en el momento de la extracción hace que se puedan obtener resultados, a priori, más exactos.

En un reciente estudio de 2021 por parte de Asier García-Escárzaga et al. se analiza la especie *Patella depressa*. En este caso, se vuelve a estudiar la relación Mg/Ca a lo largo de las líneas de crecimiento de los moluscos y se compara con los isótopos estables de oxígeno ^{18}O obtenidos del mismo ejemplar y la TSM de la zona donde el creció el molusco para determinar si las secuencias obtenidas se ajustan correctamente a las condiciones ambientales durante la esperanza de vida del individuo. La toma de datos también se realizó mediante la técnica LIBS mencionada anteriormente.

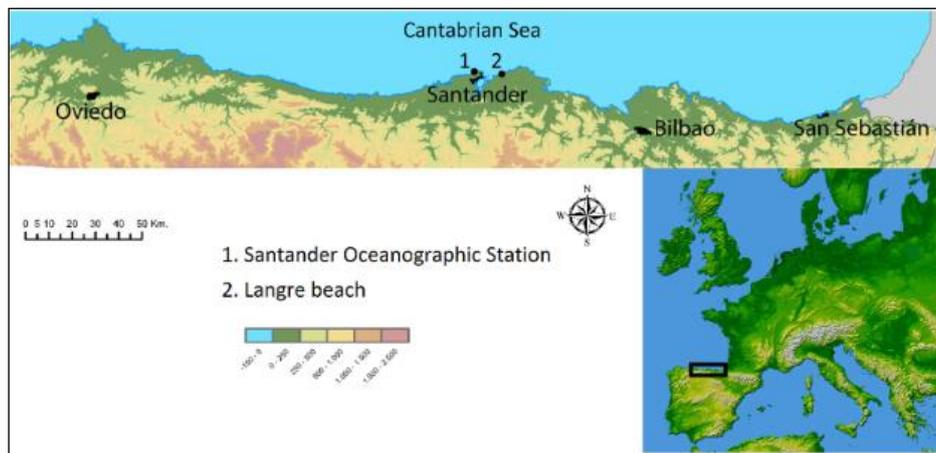


Figura 7.- Localización del área de estudio por parte de Asier García-Escárzaga et al. [13].

Los resultados obtenidos en varios ejemplares de esta especie fueron concluyentes. A pesar de que se reportaron pequeñas variaciones en la concentración molar de los datos, debido a diferentes efectos que incrementan en exceso la presencia de elementos minoritarios en la concha del molusco, las secuencias de Mg/Ca obtenidas reflejaron correctamente las variaciones anuales en la TSM, demostrando que la especie *Patella depressa* incorpora magnesio al carbonato cálcico en dependencia con la TSM en el norte de España [13].

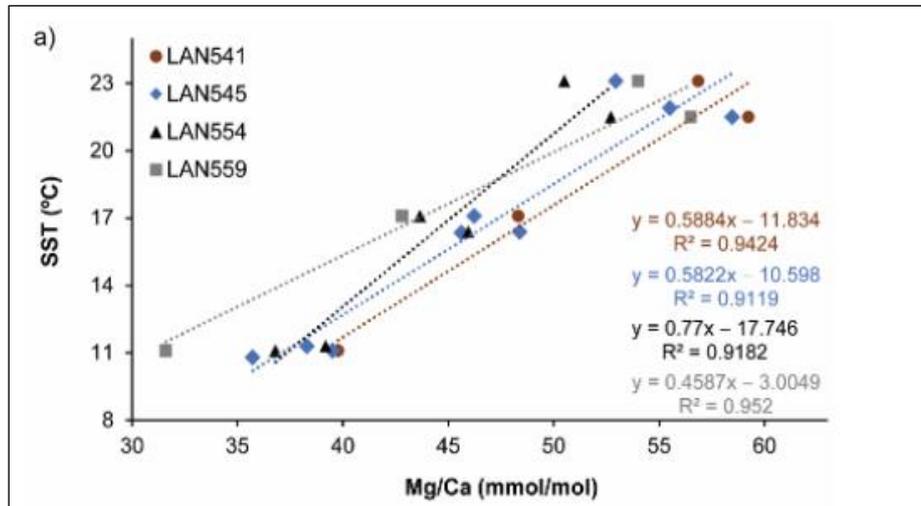


Figura 8.- Concentración Mg/Ca vs TSM (Cº) [13]

En estos análisis, los resultados nos proporcionan una alta correlación entre los ratios de Mg/Ca y la TSM donde crecieron los moluscos, lo que nos permitiría obtener una buena estimación de la temperatura del mar a partir de estos datos. En este caso, el análisis de la concentración de Mg/Ca, en esta especie, sí que nos serviría como un muy buen indicador paleoclimático como en el caso del estudio de los isótopos estables de oxígeno.

En otras publicaciones destacadas, se monitorizaron en un laboratorio las condiciones ambientales en las que crecieron los especímenes (temperatura, salinidad, pH, etc.). Esto permitió obtener más información acerca de los factores externos que controlaban la incorporación de los elementos traza en la concha del molusco y obteniéndose así una alta correlación con la TSM en la que creció el organismo [7]. Por otra parte, también se realizaron estudios empleando la diferencia entre los valores del ratio Mg/Ca y el ¹⁸O para determinar la variación anual del valor isotópico del agua en épocas pretéritas (valor del que dependen los isótopos estables de oxígeno que se incorporan al carbonato cálcico). Este procedimiento permitió reconstruir la TSM a lo largo del Pleistoceno Superior [7].

Como se ha podido comprobar, los estudios realizados en este ámbito son variados y nos aportan distintas conclusiones en función del lugar de recogida, especie de organismo, técnicas usadas para la recogida de datos, etc. En este trabajo se analizarán los ratios de Mg/Ca en diferentes puntos de las conchas de varias lapas capturadas hace unos años mediante el uso de la técnica de espectroscopía LIBS. En particular se analizarán mapas 2D LIBS con información sobre el ratio Mg/Ca sobre la superficie de la concha a lo largo de su eje de crecimiento, tratando de mejorar la estimación de la estación de captura mediante el uso de diferentes técnicas de procesado.

3. Espectroscopía Láser de Ruptura (LIBS)

3.1 Espectroscopía y principales técnicas espectroscópicas

La espectroscopía, en términos generales, es considerada la disciplina de la ciencia que estudia la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. Los fenómenos de interés de esta técnica son la absorción, transmisión, reflexión o dispersión de la radiación que incide en el material de estudio. Los datos tomados por un espectrómetro suelen representarse por un espectro, es decir, una gráfica de la respuesta de interés en función de la longitud de onda o la frecuencia [14].

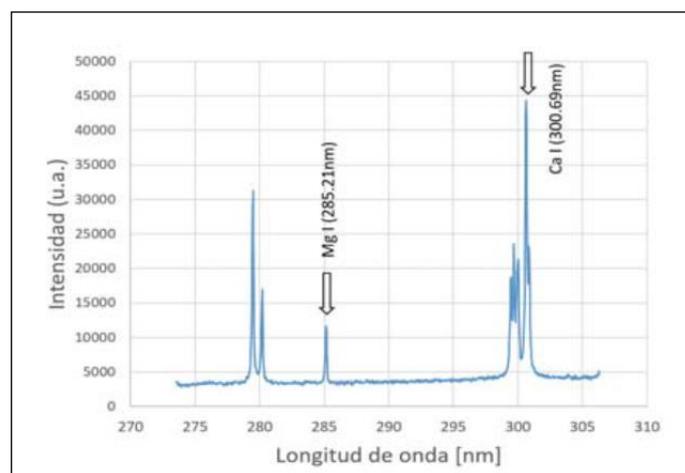


Figura 9.- Ejemplo de espectros de emisión tomados mediante la técnica de espectroscopía LIBS [15]

Las principales técnicas espectroscópicas son:

- Espectroscopia de emisión atómica: Este procedimiento consiste en llevar a los electrones que forman parte de la composición atómica de un material a estado de energético superior (estado de excitación), mediante la exposición a una llama, un plasma o chispa eléctrica. En el retorno del electrón de ese estado de excitación a su estado electrónico fundamental se produce la emisión de un fotón a una determinada longitud de onda característica del átomo. Esta emisión energética es la que se recoge mediante el instrumento de medida adecuado (espectrómetro) generando un espectro de líneas en el que se encuentra la información buscada (ver espectro de ejemplo de la Figura 9) [14].
- Espectroscopía de absorción atómica: En este caso, se trata de tener una muestra con sus átomos en estado gaseoso para hacer pasar luz (fuente de radiación conocida) a través de ella. Esta luz será absorbida por los átomos excitados de la muestra, provocando una disminución de la intensidad para las longitudes de onda características de dicho átomo [14]. Se suele utilizar para determinar la concentración de un elemento metálico en una muestra.

- Espectroscopía infrarroja: Esta técnica estudia la interacción de la luz con moléculas que absorben dicha radiación. En este tipo de espectroscopía se utiliza radiación IR. La información que se obtiene es de tipo estructural ya que la frecuencia de vibraciones de los enlaces de la muestra corresponde con la frecuencia de la radiación emitida. Los enlaces susceptibles de absorber la radiación IR son aquellos en los que se produce un cambio en el dipolo de la molécula [14].
- Espectroscopía Raman: Esta técnica también nos proporciona información estructural de la muestra. Cuando se expone el material a estudiar a una fuente de luz potente (láser), el 0.001% de la radiación es dispersada por moléculas a longitudes de ondas diferentes a la radiación incidente [14]. En este tipo de espectroscopía la radiación provocada se puede observar en la región visible y en la infrarroja del espectro electromagnético.

En general, el instrumento que para producir líneas espectrales y poder medir sus longitudes de onda e intensidades se llama espectrómetro. En la *figura 10* podemos ver un ejemplo de la estructura más básica de este instrumento. Un espectrómetro básico consta de tres componentes esenciales, los cuales son: Colimador, un elemento de difracción y un telescopio.

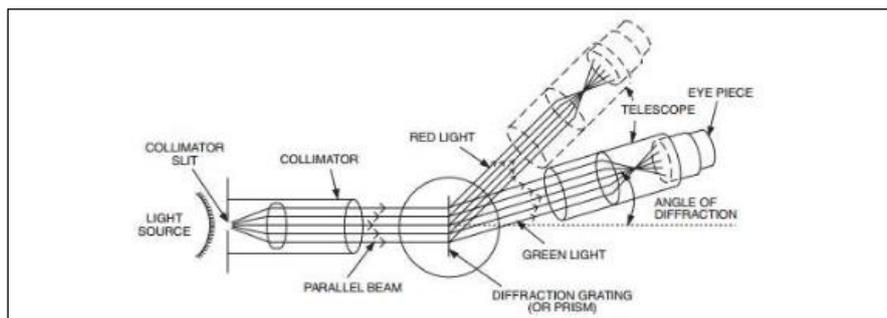


Figura 10.- Ejemplo estructura básica espectrómetro [16]

El colimador es un dispositivo colocado entre la fuente de radiación y el objeto a iluminar para delimitar correctamente la superficie iluminada, el rayo de luz proveniente de este componente incide sobre la rejilla, la cual provoca su difracción y los máximos de interferencia llegan a la lente o telescopio formando un patrón de interferencia simétrico, del cual, variando la posición angular del telescopio se puede obtener el espectro completo [16].



Figura 11.- Ejemplo espectrómetro comercial (AvaSpec-ULS2048CL-EVO)

3.2 LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy)

La espectroscopia de ruptura inducida por láser (LIBS) es un tipo de espectroscopia de emisión atómica en la que la fuente de excitación empleada son láseres pulsados de gran intensidad. El funcionamiento básico consiste en incidir con el láser en la muestra, hasta que se supere su umbral de ruptura y se produzca la emisión de plasma. Tras esto, un sistema de captura recoge la luz emitida por el plasma generado y lo transmite al espectrómetro donde se representa la señal espectral.

En la *figura 12* podemos ver un ejemplo de sistema experimental típico para LIBS. Se precisa de un láser de alta energía que emita pulsos de corta duración (típicamente de femtosegundos a microsegundos), una lente de enfoque, la óptica necesaria para la recolección de la radiación emitida, un espectrómetro. Los láseres más utilizados son los que trabajan en la escala de nanosegundos, por ejemplo, el tipo Nd:YAG con Q-switching, que presentan su frecuencia fundamental correspondiente a 1064 nm, aunque también se usan láseres en la escala de microsegundos, como el láser CO₂ a 10.6 μm [17]. Los pulsos láser se enfocan sobre la muestra para la formación del plasma. Esto se suele hacer a través de una lente convergente con una determinada distancia focal apropiada para que se realice el enfoque correctamente. La recolección de la luz generada por plasma se realiza mediante un cable de fibra óptica colocado cerca del este y pudiéndose usar otra lente o sistema de lentes para optimizar la recogida de datos (situándolas con un cierto ángulo respecto al haz de radiación) [18]. La luz viaja a través de la fibra óptica hacia un espectrómetro para la medición de sus longitudes de onda e intensidades. La señal espectral, compuesta por los picos de emisión de los elementos atómicos presentes en la muestra en estudio, suele ser bastante ruidosa y puede presentar gran variabilidad entre muestras consecutivas. Para reducir este problema, se utilizan diversas técnicas de tratamiento de señal propuestas [19] y también, es usual, realizar un muestreo de múltiples pulsos laser en cada punto espacial de la muestra, además de utilizar detectores CDD (carga acoplada de dos dimensiones) o ICDD (carga acoplada de dos dimensiones intensificada), los cuales permiten obtener imágenes ultrarrápidas dados sus cortos tiempos de obturación y una mayor amplificación de la imagen para bajos niveles de luz [20].

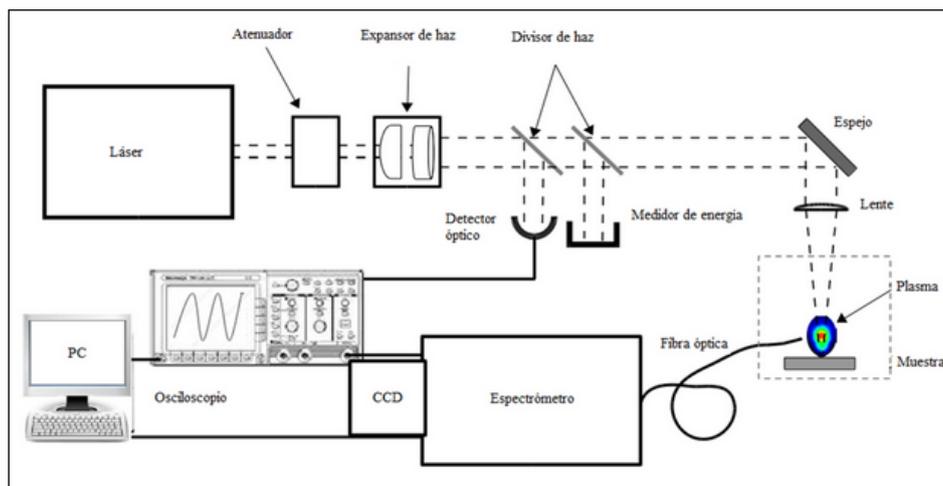


Figura 12.- Esquema sistema experimental típico LIBS [17]

3.2.1 Ventajas de la técnica LIBS

La técnica LIBS se caracteriza principalmente por su simplicidad, ya que, en términos generales, los componentes instrumentales necesarios son un láser pulsado con la suficiente energía, la lente de focalización y un sistema de colección y análisis de la emisión óptica. Además, es posible analizar o caracterizar químicamente cualquier sustancia sin importar el estado del material a estudiar, es decir, se puede aplicar a elementos sólidos, líquidos o gaseosos [17]. Esto le otorga al método un carácter universal a la hora de realizar medidas y lo sitúa por delante de otras técnicas en cuanto a facilidad de uso, portabilidad y preparación previa de las muestras.

En cuanto a las técnicas de análisis químico alternativas a LIBS, las técnicas más utilizadas actualmente como la espectroscopía de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) o la espectrometría de masas de relación isotópica (IRMS) ofrecen buenos resultados en cuanto a precisión y estabilidad, pero requieren de procesos largos y laboriosos para la toma y preparación de las muestras [15]. En este sentido, LIBS supone una gran ventaja respecto a estas técnicas, debido a que requiere poca o nula preparación de la muestra, permite realizar las medidas in-situ y, pese a poder considerarse una técnica destructiva, el método LIBS es mínimamente invasivo, ya que la ablación se produce en la estrecha zona de interacción del pulso láser con la superficie de la muestra generando típicamente cráteres del orden de micras [17].

3.2.2 Toma de muestras y montaje experimental de LIBS para el presente trabajo

Debido a las grandes ventajas que aporta la técnica LIBS a la hora de analizar químicamente una muestra o sustancia, el conjunto de datos usados para la elaboración de este trabajo ha sido tomado mediante el uso de este método.

Las muestras escogidas para los análisis son secciones de cinco capas distintas de la especie *Patella vulgata*, de la cual, los ratios de Mg/Ca se han extraído a lo largo de las líneas de crecimiento del molusco. La *figura 13* muestra un ejemplo de las líneas de medida en otra especie de molusco.

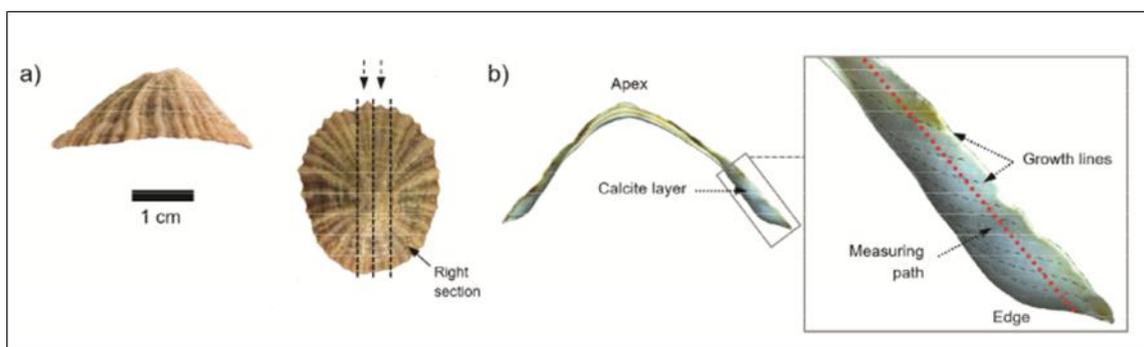


Figura 13.- Ejemplo de líneas de medida para la toma de muestras en la especie *Patella depressa* [13].

La configuración de LIBS escogida para la realización de las medidas la podemos observar en la *figura 14*.

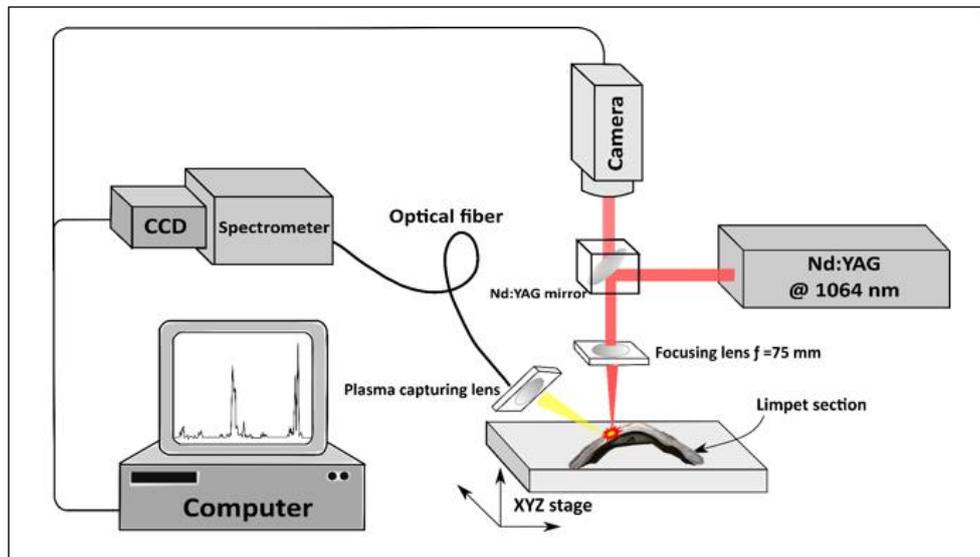


Figura 14.- Montaje experimental LIBS para la toma de muestras [21].

El montaje experimental consta de un láser comercial de tipo pulsado Nd:YAG (Lotis LS-2134D) a 1064 nm, con un ritmo de repetición de 10 Hz y con una energía de 35 mJ por pulso. El retardo de captura y el intervalo entre pulsos se situó en 5000 ns y 500 ns respectivamente. El instrumento de medida es un espectrómetro con 8 canales para fibra óptica (Avantes ULS2048-USB2-RM) [21].

Las medidas obtenidas mediante esta instrumentación son distintos valores de la proporción de Mg/Ca en el carbonato cálcico de la concha del molusco. Estos valores son los que se introducirán en el software Matlab para poder implementar un programa que nos permita realizar el estudio y análisis de la estimación de estación de captura de las lapas.

4. Método de análisis propuesto

4.1 Preparación de las muestras

Como se ha mencionado anteriormente, se van a analizar cinco ejemplares distintos de la especie *Patella vulgata*. Pese a que la técnica con la que se van a realizar las medidas (LIBS) no requiere prácticamente de preparación de la muestra, sí que son necesarios unos pequeños pasos a seguir antes de la medición, con el fin de obtener los resultados más fiables y precisos posibles.

Es necesario recubrir de resina la zona de la lapa por donde se va a realizar el corte para evitar que la concha se despedace y quede inservible para la toma de medidas.

En la *figura 15* vemos una fotografía de la muestra con la resina y seccionada, puesta al microscopio para retirar la resina correctamente sin dañar la estructura de la lapa.

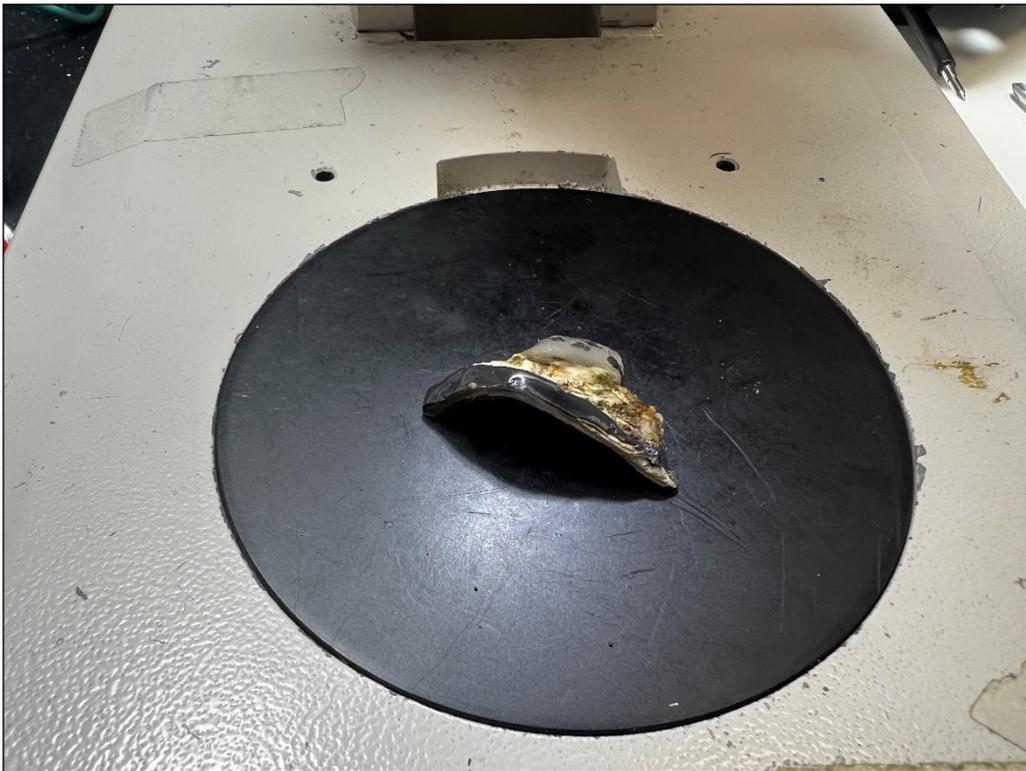


Figura 15.- Muestra del corte de un ejemplar de Patella vulgata con resina

Una vez realizado el corte, es necesario retirar la resina colocada anteriormente para que no interfiera en los datos que se van a obtener (quitamos más o menos resina en función de la zona de interés). En las *figuras 16 y 17* podemos ver la muestra con la resina retirada mediante un cúter convencional.



Figura 16.- Muestra de Patella vulgata con la resina quitada en la zona de interés



Figura 17.- Otra vista del ejemplar utilizado con la resina retirada

4.2 Realización de las medidas

Ya retirada la resina de la zona de interés de la muestra, se procede a la concha de la lapa a analizar en el sistema LIBS para la toma de medidas. Toda la instrumentación necesaria se encuentra en el laboratorio de I+D del Grupo de Ingeniería Fotónica de la Universidad de Cantabria. En la *figura 18* vemos una fotografía de la configuración de LIBS para este trabajo.

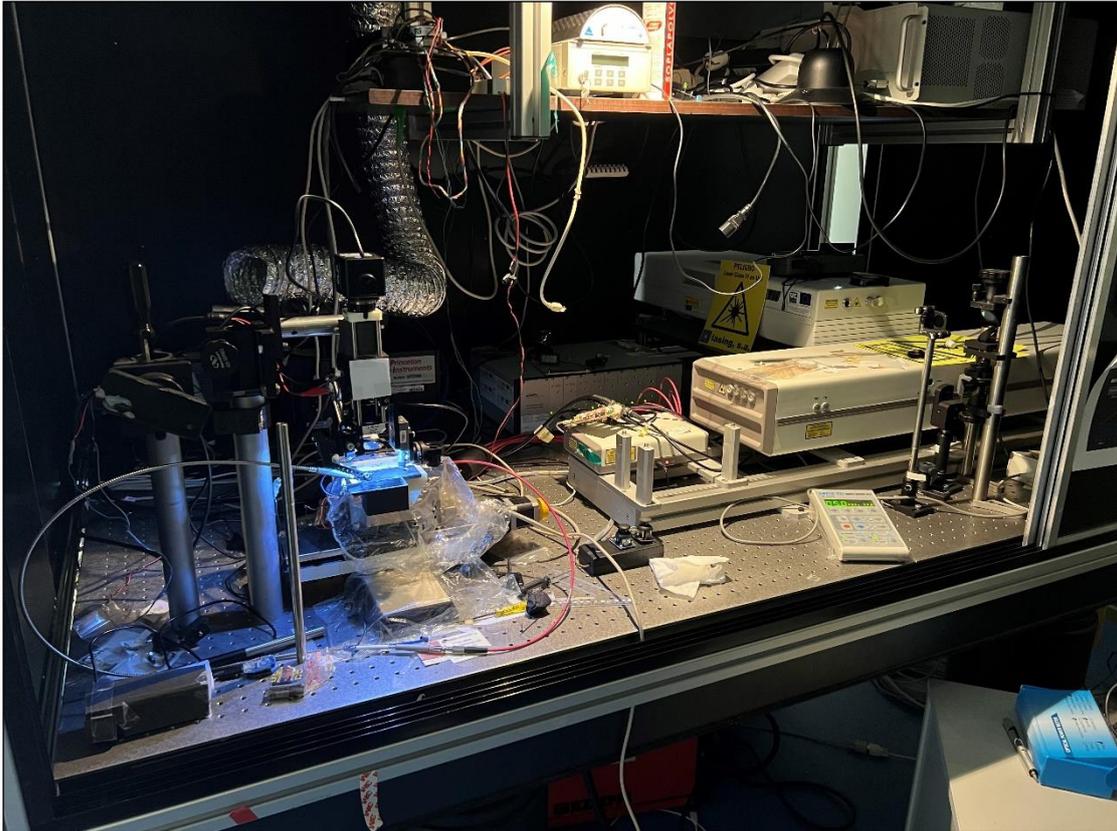


Figura 18.- Sistema LIBS del laboratorio de ingeniería fotónica de la Universidad de Cantabria

Un último detalle antes de colocar la muestra y poner a funcionar el sistema, es cubrir con un material negro las zonas de la lapa que no interesan para el estudio. De esta manera, el software encargado de controlar todo el proceso detecta esa zona más oscura y no toma la medida, ya que recoger datos de capas o zonas del molusco distintas del área en el que estamos realizando el estudio podrían derivar en problemas de más variabilidad y obtención resultados menos precisos, al margen de alargar innecesariamente el proceso de medida, ya largo de por sí. La *figura 19* muestra el material utilizado, en este caso plastilina negra.

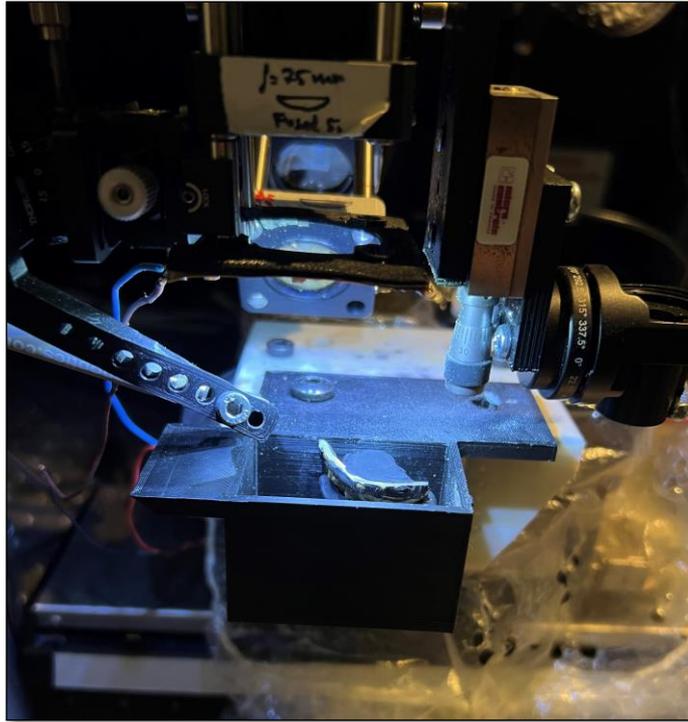


Figura 19.- Muestra con material negro preparada para la toma de medidas con LIBS

Tras esto, se comienza con el proceso de medida, el láser del sistema LIBS incide en la muestra y los datos son recogidos por el ordenador del laboratorio. El posterior uso de estas medidas en el presente trabajo será utilizar estos datos almacenados, en forma de matrices numéricas, para introducir los ficheros correspondientes al programa desarrollado.

A partir de las medidas, en próximos apartados podremos ver como se generarán mapas 2D de la superficie de interés de la muestra y se trazarán trayectorias que permitan ver la evolución de los ratios Mg/Ca a lo largo de la superficie de la concha para poder confirmar la correcta estimación de la estación de captura de los moluscos.

4.3 Desarrollo de un programa para la estimación de la estación de captura

Una vez realizadas las medidas de todos los ejemplares de interés, es necesario realizar un programa que nos permita interpretar estas medidas y que nos permita poder realizar una correcta estimación de la estación de captura de estos moluscos.

El entorno elegido para realizar el programa es el software Matlab, entorno muy utilizado en universidades y centros de investigación y desarrollo debido a su alto número de prestaciones a la hora de analizar datos, desarrollar algoritmos, crear modelos matemáticos, entre otras muchas funciones.

La idea principal del programa es generar mapas 2D, a partir de los datos obtenidos mediante las medidas del sistema LIBS, del ratio de concentración de Mg/Ca de la sección de lapa correspondiente en cada caso. Una vez dibujados estos mapas, se representarán distintas trayectorias a lo largo de las líneas de crecimiento de la concha para ver la variación temporal de los datos medidos, es decir, lo que ha cambiado la concentración de Mg/Ca a lo largo del periodo de vida del molusco hasta el momento de su recogida. Estas trayectorias las seleccionará el usuario de varias formas posibles en función de las medidas que quiera realizar.

4.3.1 Algoritmo DDA

El programa desarrollado para el trazado de distintas trayectorias a lo largo de los mapas 2D de las lapas, se basa en distintas formas de aplicar el llamado algoritmo DDA (Digital Differential Analyzer). Este es uno de los varios algoritmos de generaciones de líneas, existentes para el trazado de trayectorias en medios digitales.

Se basa en el cálculo de los incrementos de las coordenadas X o Y según corresponda. Determina los valores enteros correspondientes más próximos a la trayectoria de la línea para la otra coordenada [22].

Aunque su eficiencia puede ser peor o más lenta que otros algoritmos, su desempeño para este trabajo es más que suficiente para el objetivo propuesto. El pseudo código del algoritmo DDA sería el siguiente:

```
Leer Coordenadas P1(Xinicial, Yinicial)
Leer Coordenadas P2(Xfinal, Yfinal)
Asignar a DeltaX la diferencia de Xfinal - Xinicial
Asignar a DeltaY la diferencia de Yfinal - Yinicial

Si ABS( DeltaX ) > ABS(DeltaY)
Asignar a Pasos el ABS(DeltaX)
De lo contrario
Asignar a Pasos el ABS(DeltaY)

Asignar a Xincremento el resultado de DeltaX / Pasos
Asignar a Yincremento el resultado de DeltaY / Pasos
Asignar a X el valor de Xinicial
Asignar a Y el valor de Yinicial
Pintar pixel en coordenada X,Y

Desde k=1 hasta Pasos
Asignar a X la suma de X + Xincremento

Asignar a Y la suma de Y + Yincremento
Pintar pixel en Coodenada X,Y
Fin de Algoritmo(DDA)
```

4.3.2 Desarrollo del programa en Matlab

El programa comienza cargando la matriz de datos obtenida a partir de las medidas en el laboratorio para cada ejemplar. A partir de ahí se pregunta al usuario que método de medida desea emplear. El método 1 consiste en el trazado de una sola trayectoria, la cual, puede ser definida mediante coordenadas espaciales o mediante el uso del propio ratón sobre el mapa 2D de la muestra. El método 2 permite el trazado simultáneo de varias trayectorias y la visualización de los resultados para cada una de ellas en una misma figura.

```
%% Representación mapa 2D ratio de Mg/Ca - Octubre 2006

close all
clear all

%Cargo matriz de datos
load('output.mat');

%Selección de método de toma de puntos de la trayectoria
Metodo = input('¿Qué método de medida quieres usar, una trayectoria [1] o varias simultáneas [2]? ');

if (Metodo == 1)

    %Datos
    R = ratio_to_export;
    % ejex = ejeParam1;
    % ejej = ejeParam2;
    Npuntos = input('Introduce el número de puntos de la trayectoria: '); %Por defecto 10 puntos
    modo = input('¿Cómo quieres definir los puntos de la trayectoria, por teclado [T] o ratón [R]? ', 's');
```

Centrándonos en el primer método de toma de medidas, el programa preguntará al usuario el número de puntos por los que pasará la trayectoria y cómo quiere definir estos mismos. Si se selecciona entrada por teclado, se deberán especificar las coordenadas de los puntos por los que se quiere que pase el trazado.

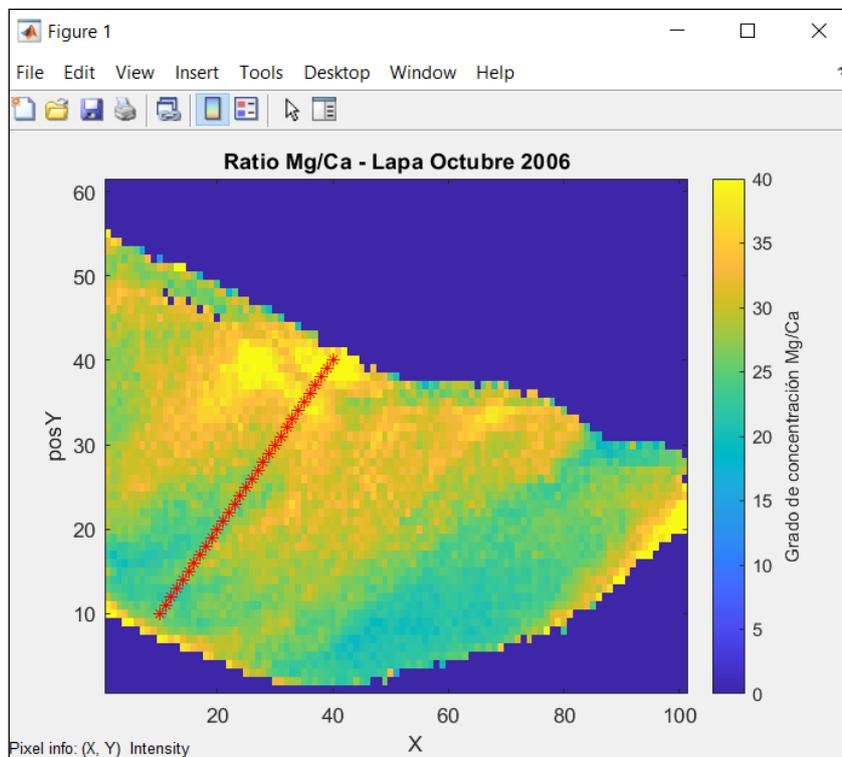
```
Command Window
¿Qué método de medida quieres usar, una trayectoria [1] o varias simultáneas [2]? 1
Introduce el número de puntos de la trayectoria: 4
¿Cómo quieres definir los puntos de la trayectoria, por teclado [T] o ratón [R]? T
Introduce la coordenada x(n): 10
Introduce la coordenada y(n): 10
Introduce la coordenada x(n): 20
Introduce la coordenada y(n): 20
Introduce la coordenada x(n): 30
Introduce la coordenada y(n): 30
Introduce la coordenada x(n): 40
Introduce la coordenada y(n): 40
```

Tras esto, se procede a la representación de los datos, para la cual, se ha empleado la instrucción *image*, que se encarga de transformar los datos numéricos en una imagen. Estos datos, provenientes de un vector o de una matriz, especifican el color de cada pixel de la imagen que se dibuja.

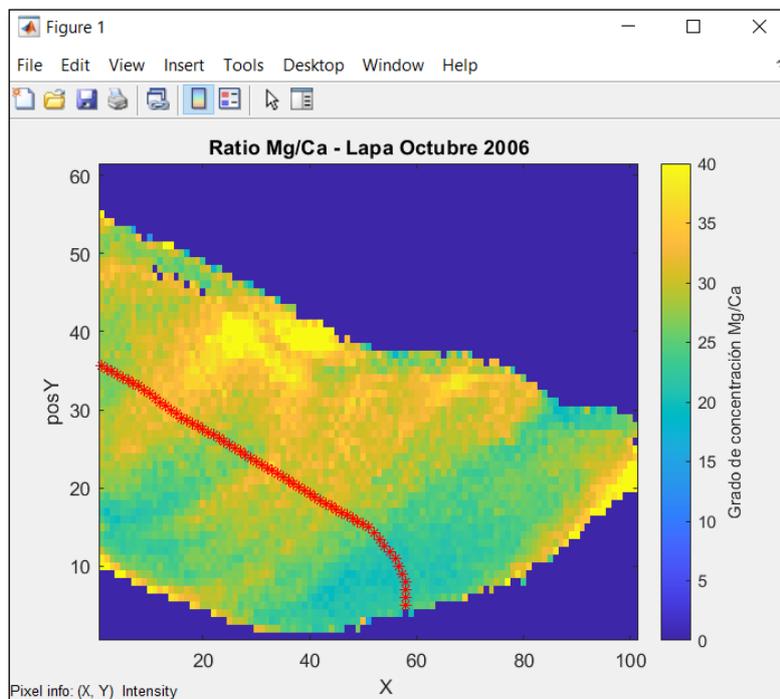
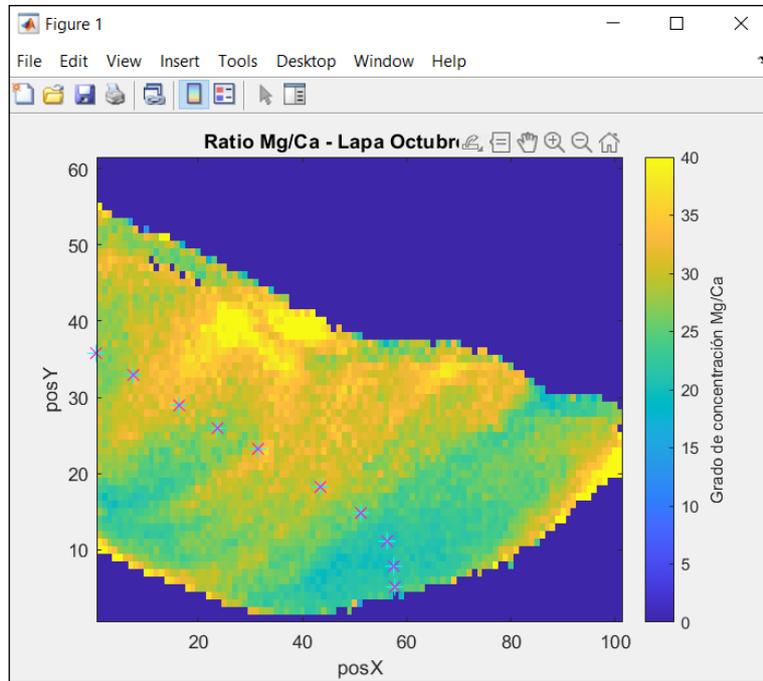
```
%% Representación matriz de datos en un mapa de calor

figure(1)
image(R,'CDataMapping','scaled');
set(gca,'YDir','normal');
caxis([0 40]);
title('Ratio Mg/Ca - Lapa Octubre 2006');
xlabel('posX');
ylabel('posY');
c = colorbar;
c.Label.String = 'Grado de concentración Mg/Ca';
hold on
```

Utilizando el procedimiento anterior, con las coordenadas especificadas se obtendría la siguiente trayectoria:



En el caso de que el usuario prefiriese especificar las coordenadas mediante el uso del ratón el programa mostraría directamente el mapa 2D para, sobre este, seleccionar la trayectoria deseada:



Como se ha detallado anteriormente, este trazado de trayectorias se realiza mediante la aplicación del algoritmo DDA, su implementación en Matlab para este trabajo se ha realizado de la siguiente forma:

```
% Implementación Algoritmo DDA para trazado de trayectorias

for k = 1:Npuntos-1

    dx(k) = x(k+1)-x(k);
    dy(k) = y(k+1)-y(k);

    if(abs(dx(k))>abs(dy(k)))
        paso(k) = abs(dx(k));
    else
        paso(k) = abs(dy(k));
    end

    incx(k) = dx(k)/paso(k); %Dividir paso entre numero mayor si se requieren más puntos
    incy(k) = dy(k)/paso(k);
    fin(k) = paso(k);

    u = zeros(1,fin(k));
    v = zeros(1,fin(k));
    u(1) = x(k); v(1) = y(k);

    for i=1:fin(k)

        u(i+1) = u(i)+incx(k);
        v(i+1) = v(i)+incy(k);

    end

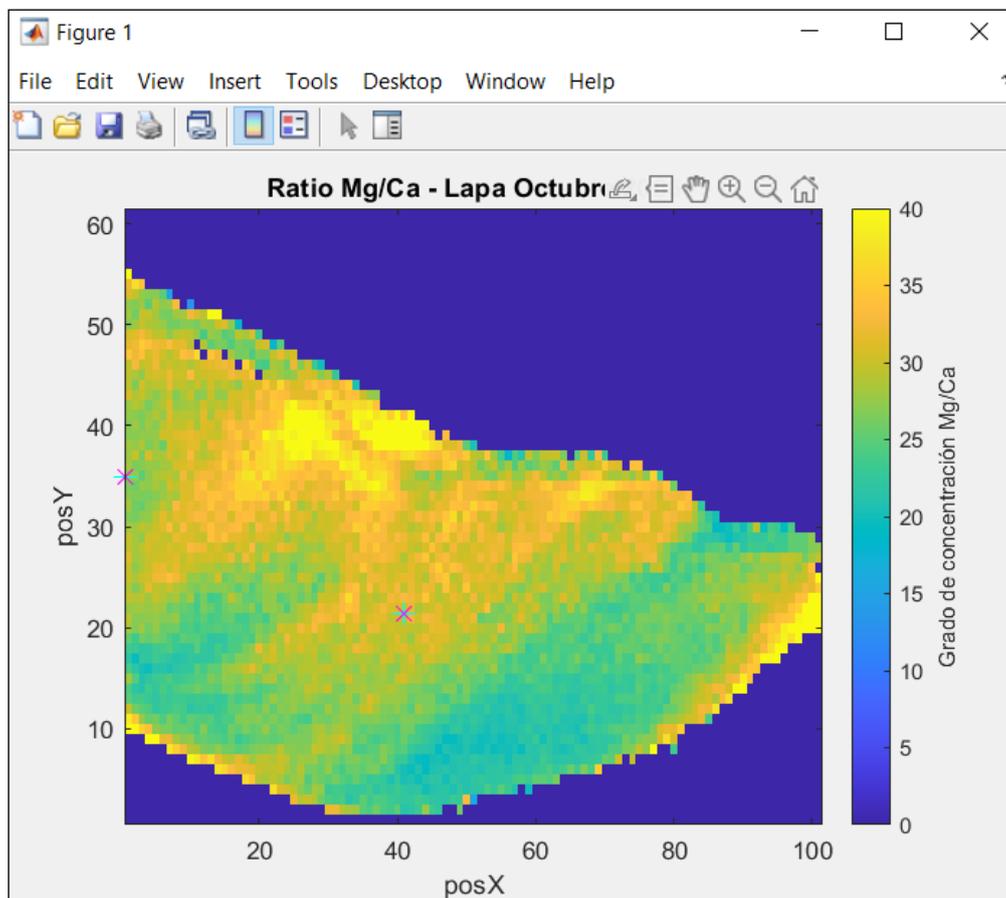
    %Represento la trayectoria en el mapa
    plot(u,v,'r*');
    impixelinfo;

    %Obtengo los valores numéricos de cada punto en el mapa
    Valores = impixel(R',u,v);
    c=genvarname(['V',num2str(k)]);
    eval([c, '=Valores']);
end
```

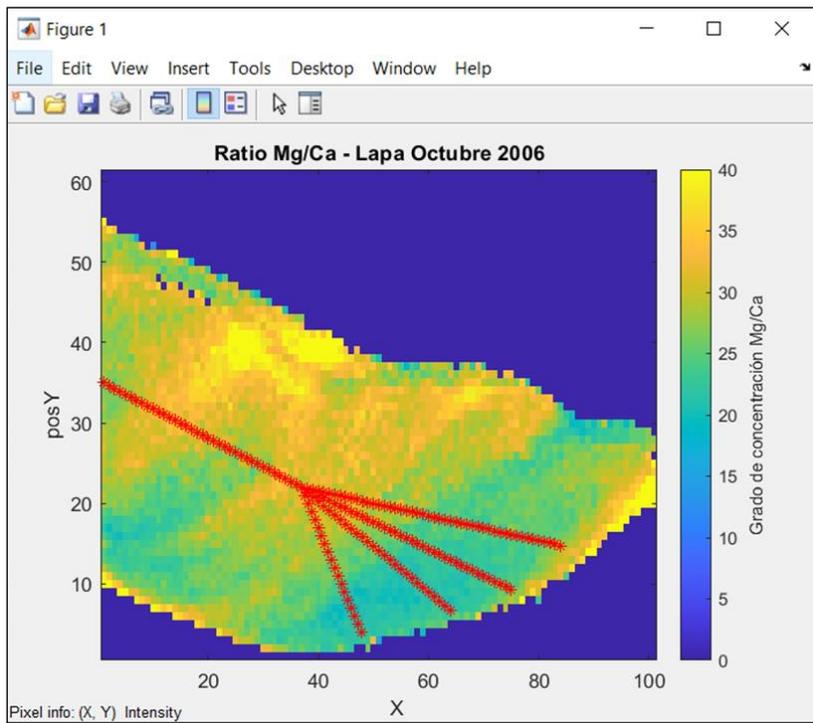
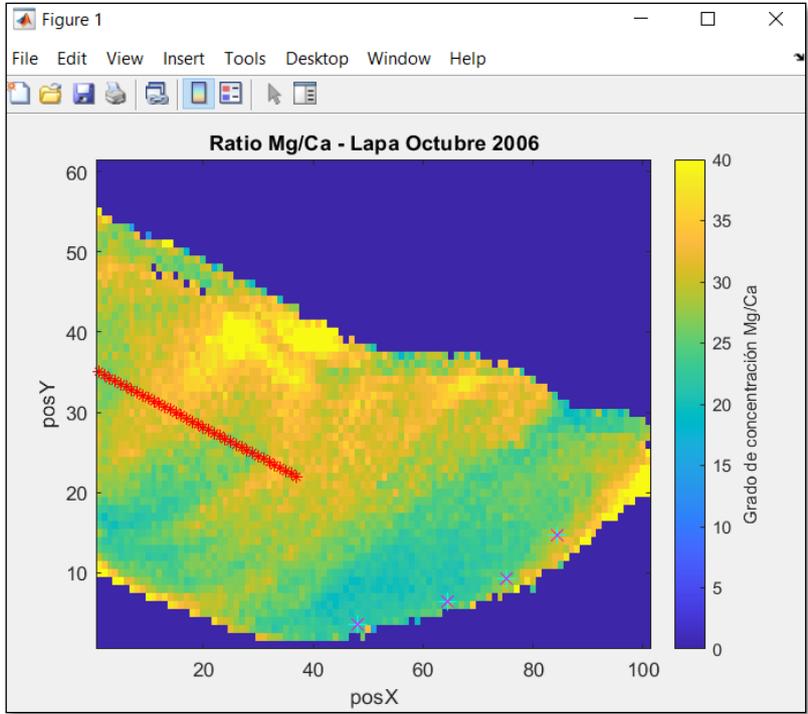
Los valores espaciales “x” e “y” que se introducen dentro del bucle *for*, son los pedidos anteriormente al usuario. Para recoger la información de cada pixel por el que pasa la trayectoria se ha empleado la instrucción *impixel*, la cual, devuelve los valores numéricos de los píxeles, especificados por unas coordenadas determinadas.

El segundo método que se propone en el programa es distinto al anterior. En este caso, el programa pide especificar al usuario dos puntos por los que quiere que pase su trayectoria y, tras esto, se le pide especificar varios puntos de fin. A partir de estos datos introducidos el programa trazará varias trayectorias simultáneas para sacar la evolución del ratio Mg/Ca de todas ellas. Este segundo método es más práctico que los anteriores si se quiere observar la variabilidad entre resultados en función del recorrido que siga cada trazado. En el caso de este trabajo este será el método utilizado para la obtención de conclusiones acerca de la estimación de captura de las muestras:

```
Command Window
¿Qué método de medida quieres usar, una trayectoria [1] o varias simultáneas [2]? 2
Selecciona 2 puntos por los que quieres que pase la trayectoria
```



Command Window
Selecciona 4 puntos de fin



Para el trazado de las trayectorias en este segundo método propuesto, también se ha aplicado el algoritmo DDA, pero con ligeras modificaciones para adaptarlo a la función requerida en cada caso:

```

%Implementación Algoritmo DDA para trazado de trayectorias entre 2 puntos
dx = x(2)-x(1);
dy = y(2)-y(1);

if(abs(dx)>abs(dy))
    paso = abs(dx);
else
    paso = abs(dy);
end

incx = dx/paso;
incy = dy/paso;

u(1) = x(1); v(1) = y(1);
for i=1:paso

    u(i+1) = u(i)+incx;
    v(i+1) = v(i)+incy;

end

figure(1)
plot(u,v,'r*');
hold on;
V = impixel(R',u,v);

l = size(u);
l = l(2);
xi = u(1); yi = v(1); %puntos iniciales segunda trayectoria

```

```

%Implementación algoritmo DDA para el trazado de trayectorias simultáneas
for k = 1:Ntrayect

    dx(k) = xf(k)-xi;
    dy(k) = yf(k)-yi;

    if(abs(dx(k))>abs(dy(k)))
        paso(k) = abs(dx(k));
    else
        paso(k) = abs(dy(k));
    end

    incx(k) = dx(k)/paso(k);
    incy(k) = dy(k)/paso(k);

    up(1) = xi; vp(1) = yi;
    for i=1:paso(k)

        up(i+1) = up(i)+incx(k);
        vp(i+1) = vp(i)+incy(k);

    end

    plot(up,vp,'r*');

    %Obtengo los valores numéricos de cada punto en el mapa
    Valores = impixel(R',up,vp);
    c=genvarname(['V',num2str(k)]);
    eval([c, '=Valores']);

end

```

Una vez realizadas las trayectorias por el método deseado, el programa muestra en pantalla las gráficas correspondientes para, posteriormente, realizar la interpretación de los resultados obtenidos. En la siguiente imagen se puede observar un ejemplo de los resultados que se obtendrían para el caso de utilizar el segundo método propuesto en el programa.

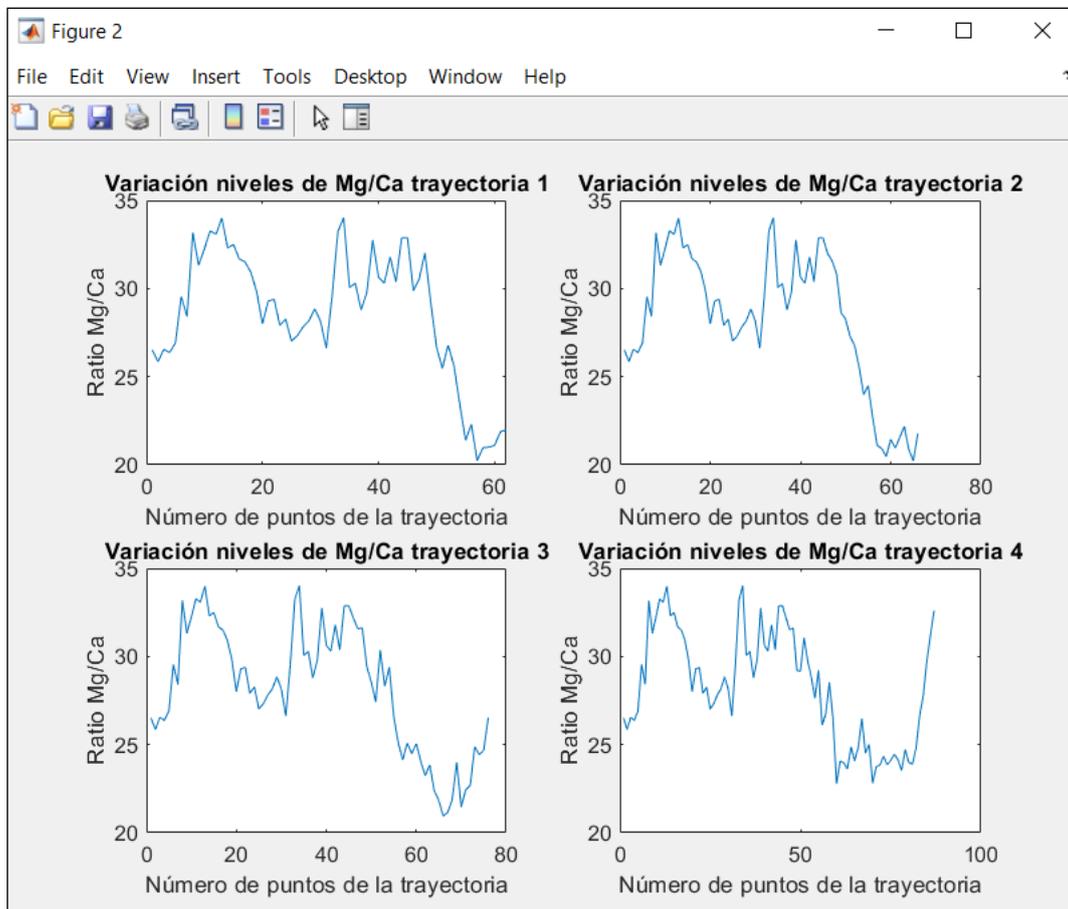


Figura 20.- Ejemplo resultados obtenidos con el programa desarrollado

A partir de estos resultados y, en función de la estación de captura de las muestras que se van a analizar, en los siguientes apartados del trabajo se estudiará si tiene sentido o no la estimación de la estación de captura en función de la relación Mg/Ca en la concha del molusco para poder acercarnos a encontrar una solución a la problemática de estas relaciones elementales como buenos indicadores paleoclimáticos.

4.4 Resultados obtenidos

Para la obtención de resultados y su posterior análisis, se van a estudiar cinco ejemplares distintos de la especie *Patella vulgata*. El procedimiento para esta obtención de conclusiones es el mencionado anteriormente, cada muestra de lapa se introduce en el sistema LIBS para la obtención de los ratios elementales Mg/Ca a lo largo de la superficie de interés. Estas medidas se almacenan en forma de ficheros los cuales se introducen en el programa desarrollado para poder observar los cambios en la variación de estos valores a lo largo de la muestra.

A la hora de realizar el estudio sobre los mapas 2D hay que tener cuidado cuando se escogen los puntos para el trazado de trayectorias. La resina usada para no dañar la muestra al realizarla el corte no siempre es removida totalmente, por lo que en la representación de los datos se observan zonas de color amarillo que indican que se trata de una zona con un nivel muy alto de Mg/Ca y en la que participan más elementos. Estas zonas no sirven para realizar los análisis ya que estropean los resultados al introducir medidas que no son representativas del verdadero nivel de los ratios elementales en las muestras.

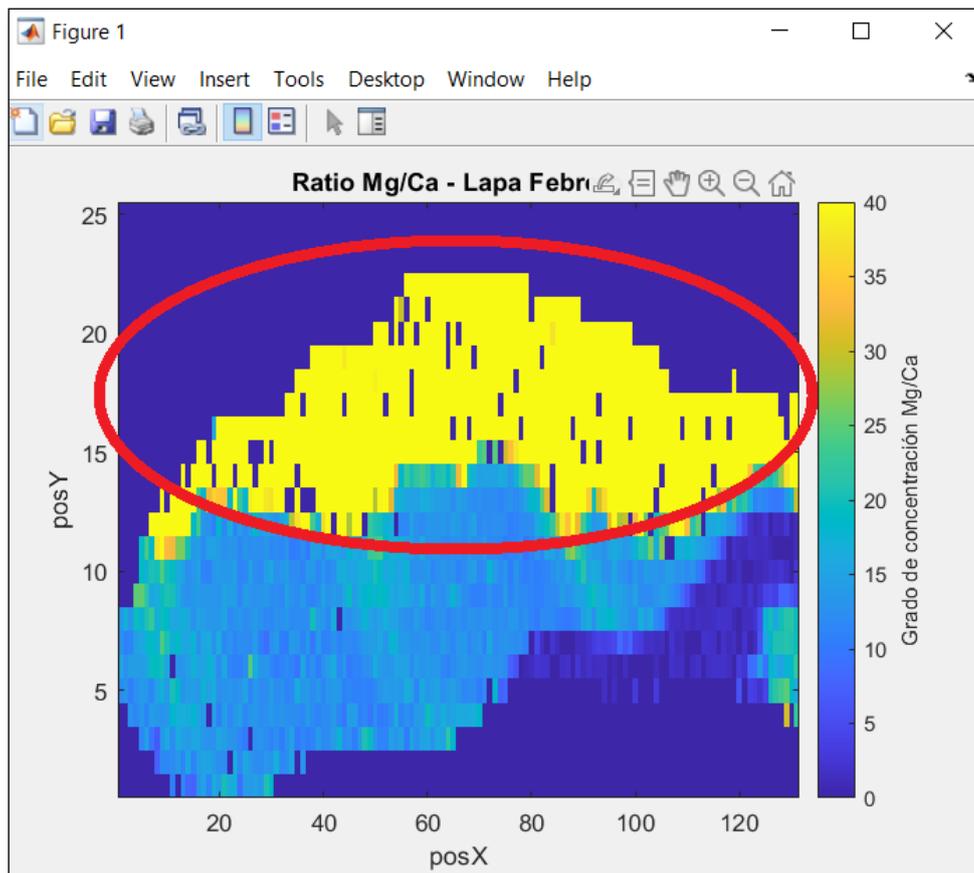


Figura 21.- Resina en la muestra analizada con LIBS

Esta resina usada contiene Silicio además de poder contener Magnesio y Calcio entre otros elementos de su composición, por lo que, al realizar las medidas con LIBS, el espectrómetro recoge más líneas de emisión de lo que debería y, además, de distintos elementos. En las *figuras 22 y 23* podemos ver los distintos espectros en función de si se recogen datos con la resina retirada correctamente o con la resina interfiriendo en la correcta toma de medidas.

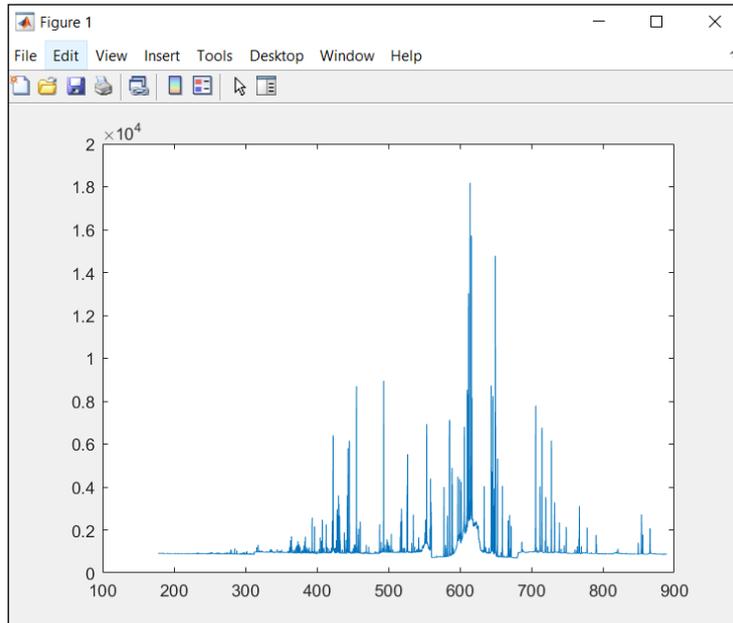


Figura 22.- Espectro tomado con LIBS con resina

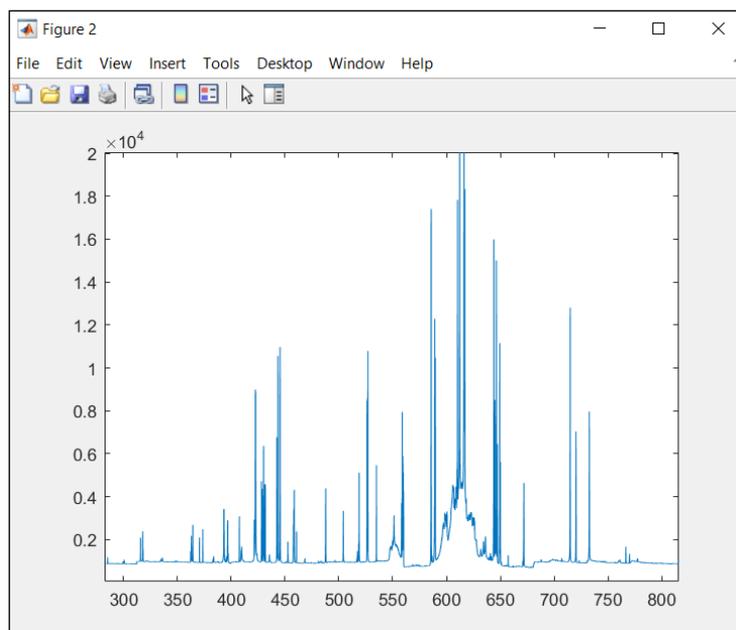


Figura 23.- Espectro tomado con LIBS sin resina

Teniendo en cuenta estos factores que pueden empobrecer los resultados obtenidos a partir de las medidas de LIBS, el método que se ha usado para analizar la evolución en los elementos de las lapas es el segundo, mediante el cual se pueden trazar varias trayectorias simultáneamente. Para el tema de estudio de este trabajo es el método más rápido y eficiente ya que nos permite realizar la comparación visual de cada una de las distintas trayectorias que se seleccionen, en lugar de ir una a una como se realizaría en los demás procedimientos que el programa permite elegir al usuario.

Para cada muestra se realizaron más de una medida con LIBS con el fin de poder obtener los datos más precisos posibles antes de introducirlos en el programa de trazado de trayectorias. El procedimiento a la hora de marcar los puntos que van a seguir las trayectorias es intentar comenzar desde el punto más cercano al ápice de la concha e ir avanzando hacia distintas zonas del borde. En el borde es donde más heterogeneidad podríamos encontrar en los resultados ya que puede contener trazas de otros elementos que no interesan al estudio.

La primera muestra que se va a analizar es una lapa cuya estación de captura fue en Mayo de 2006. La *figura 24* muestra las distintas trayectorias escogidas para la interpretación de resultados:

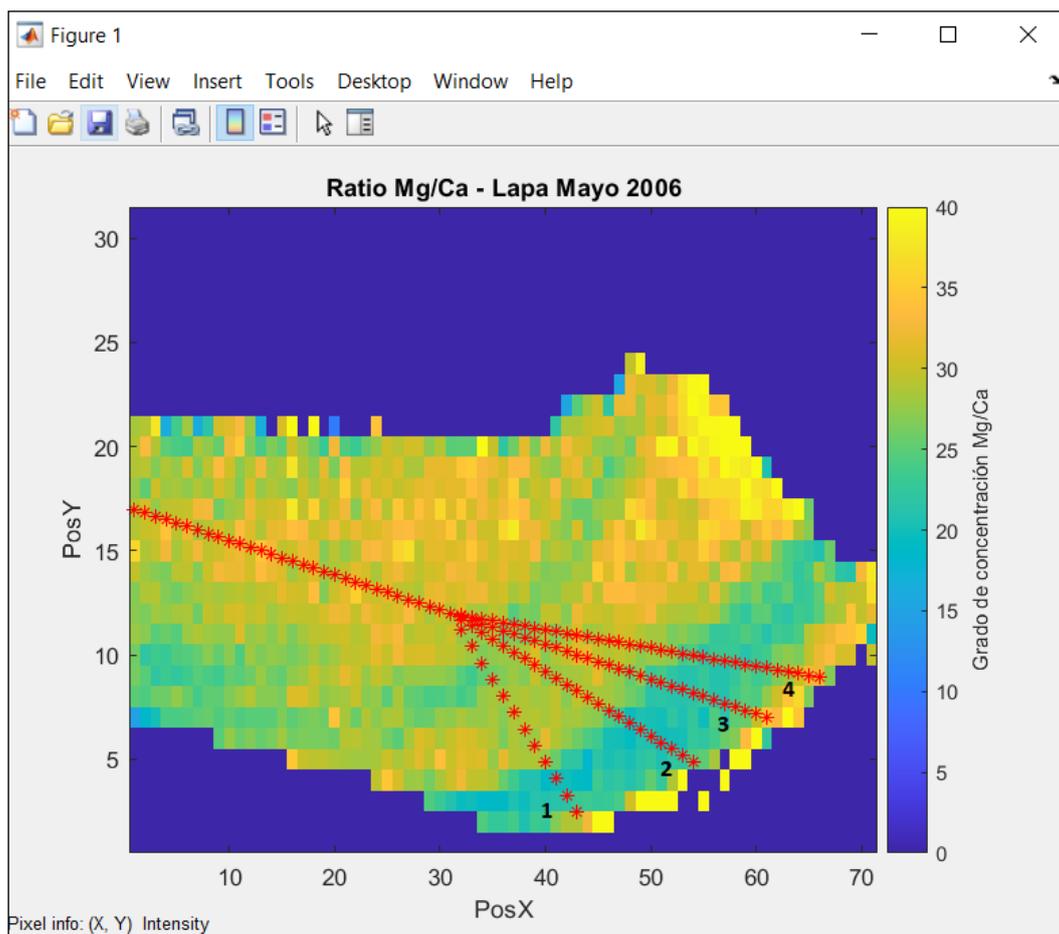


Figura 24.- Trayectorias escogidas en la muestra de Mayo 2006

Los resultados obtenidos para las trayectorias elegidas son los siguientes:

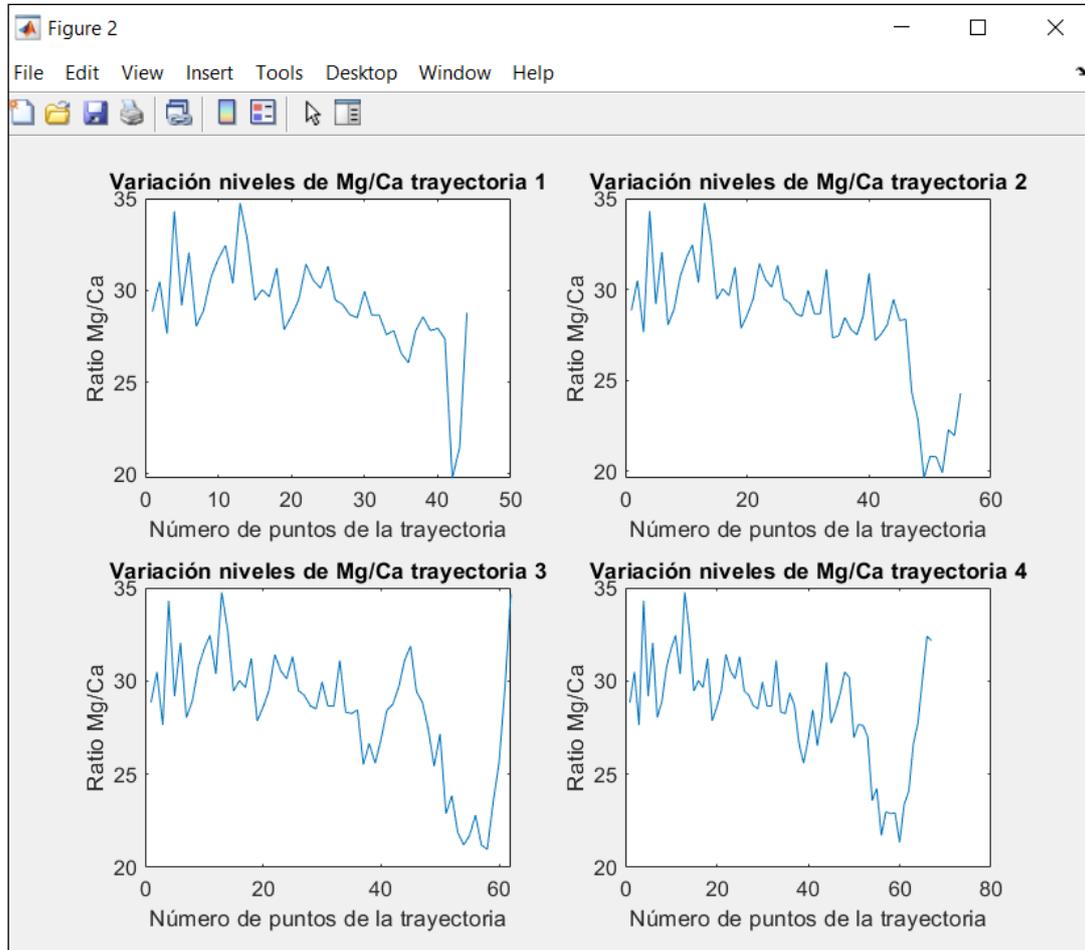


Figura 25.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Mayo 2006

A partir de estos resultados, podemos observar como las cuatro trayectorias elegidas nos indican un descenso de los niveles de Mg/Ca a medida que nos acercamos al borde de la lapa. Este descenso puede corresponder con los meses de invierno y, por lo tanto, la bajada de la TSM en el lugar en el que se desarrolló la vida del molusco. Se debería de apreciar un ligero aumento del ratio Mg/Ca a medida que avanzamos hacia el borde como consecuencia del aumento de temperaturas propio de las estaciones posteriores a invierno. Este aumento lo podemos observar en los últimos tramos de las gráficas, sin embargo, es un aumento demasiado brusco y es más probable que se deba a la participación de otros elementos en las medidas, como puede ser el caso de resina mal retirada de la muestra. En este ejemplar en concreto, considero que, si quisiéramos emplear este método como un indicador climático o como estimador de la estación de captura del animal, podríamos afirmar que el molusco fue capturado tras los meses de invierno, en una época de ascenso de temperaturas, por lo que se podría valorar correctamente que la concha fue recogida en los meses de primavera.

La siguiente muestra que se va a estudiar es otra lapa del año 2006, pero en este caso con estación de captura en Octubre. Los resultados que podríamos esperar de este ejemplar sería una bajada de niveles de Mg/Ca a medida que nos acercamos al borde de la concha ya que la TSM debería de descender respecto a los meses de verano.

En la *figuras 26 y 27* se nos muestra las trayectorias realizadas y los resultados obtenidos respectivamente.

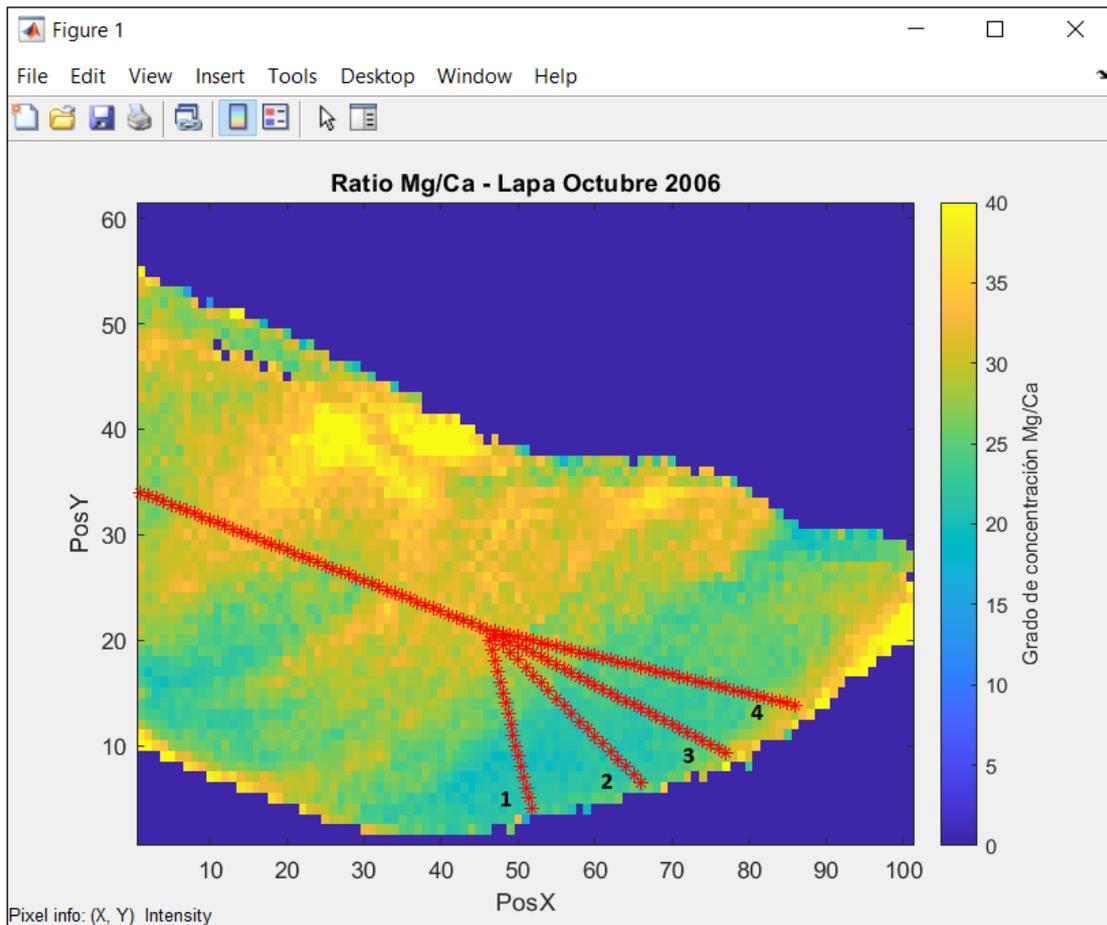


Figura 26.- Trayectorias escogidas en la muestra de Octubre 2006

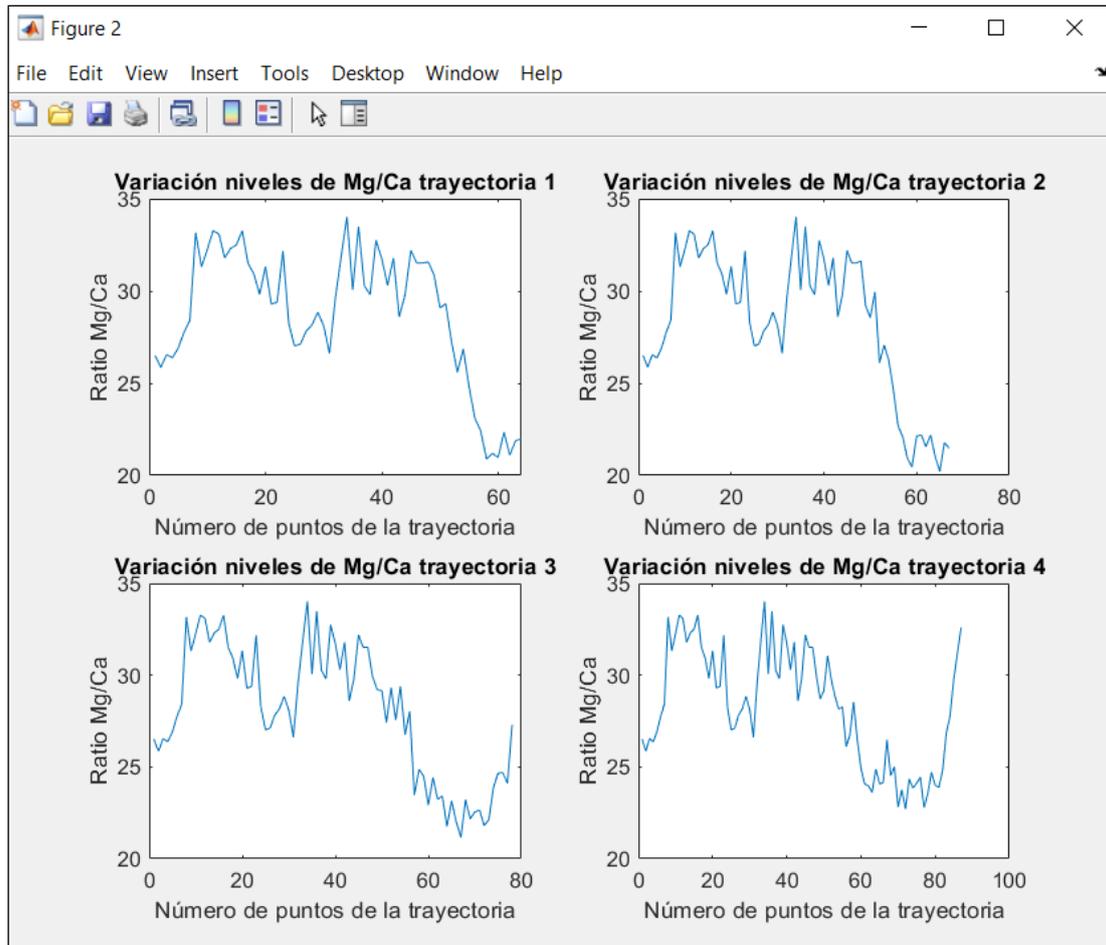


Figura 27.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Octubre 2006

A partir de las gráficas obtenidas podemos sacar varias conclusiones. Efectivamente se aprecia un descenso de Mg/Ca a medida que nos acercamos al borde, esto estaría en concordancia con lo que deberíamos de esperar viniendo de los meses de verano. Por otra parte, también vemos un ligero aumento de los niveles elementales al final de las gráficas, esto en principio nos indicaría un ascenso de temperaturas, esto podría ser causado, efectivamente, por un ascenso en la TSM por razones puramente meteorológicas o quizás, como se ha explicado anteriormente, se pueda deber a la incorporación de otros elementos en el borde de la muestra que hacen que las medidas sean algo más erráticas. En cualquier caso, nos podría servir para realizar una estimación de la estación de captura, asociándola a los meses de otoño/invierno debido a ese descenso del ratio Mg/Ca. En este caso, las gráficas que nos podrían aportar una solución más precisa a la hora de intentar deducir la estación en la que se recogió el molusco serían la 1 y la 2, ya que son en las que observamos de manera más evidente ese descenso de temperaturas tras un ascenso previo correspondiente a meses más calurosos.

La siguiente muestra se trata de un ejemplar capturado en Agosto de 2012. En este caso podemos apreciar que no existe resina en los bordes de la concha, por lo que el efecto de los bordes amarillos ha desaparecido casi totalmente.

En las *figuras 28 y 29* tenemos nuevamente las trayectorias elegidas y las gráficas resultantes.

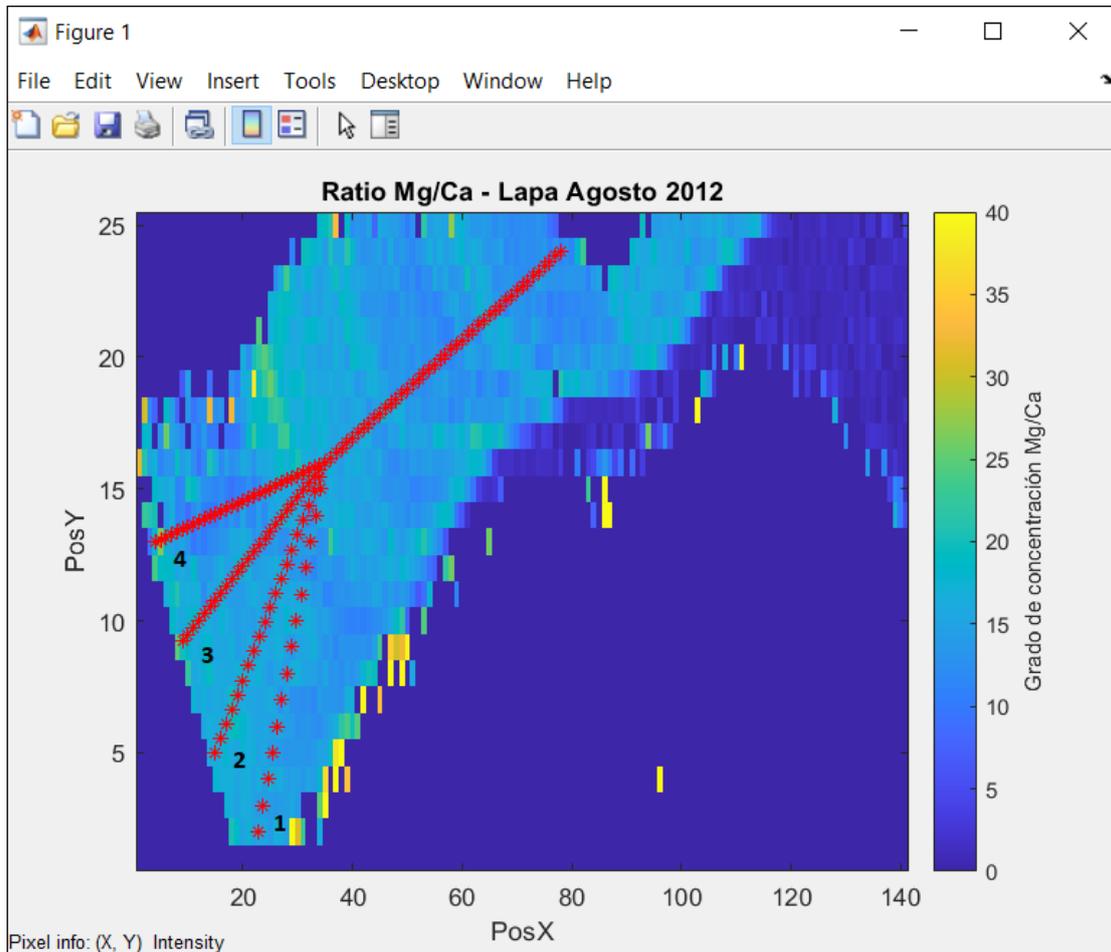


Figura 28.- Trayectorias escogidas en la muestra de Agosto 2012

En este caso el mapa no nos muestra con tanta nitidez la forma del borde de la concha que se está midiendo, la superficie es más irregular y esto nos puede perjudicar, en cierto modo, a la hora de interpretar las medidas. Al ser una muestra recogida en Agosto, las gráficas resultantes deberían de indicarnos un ascenso de temperaturas que demuestren la llegada del verano y, por lo tanto, el incremento de la TSM.

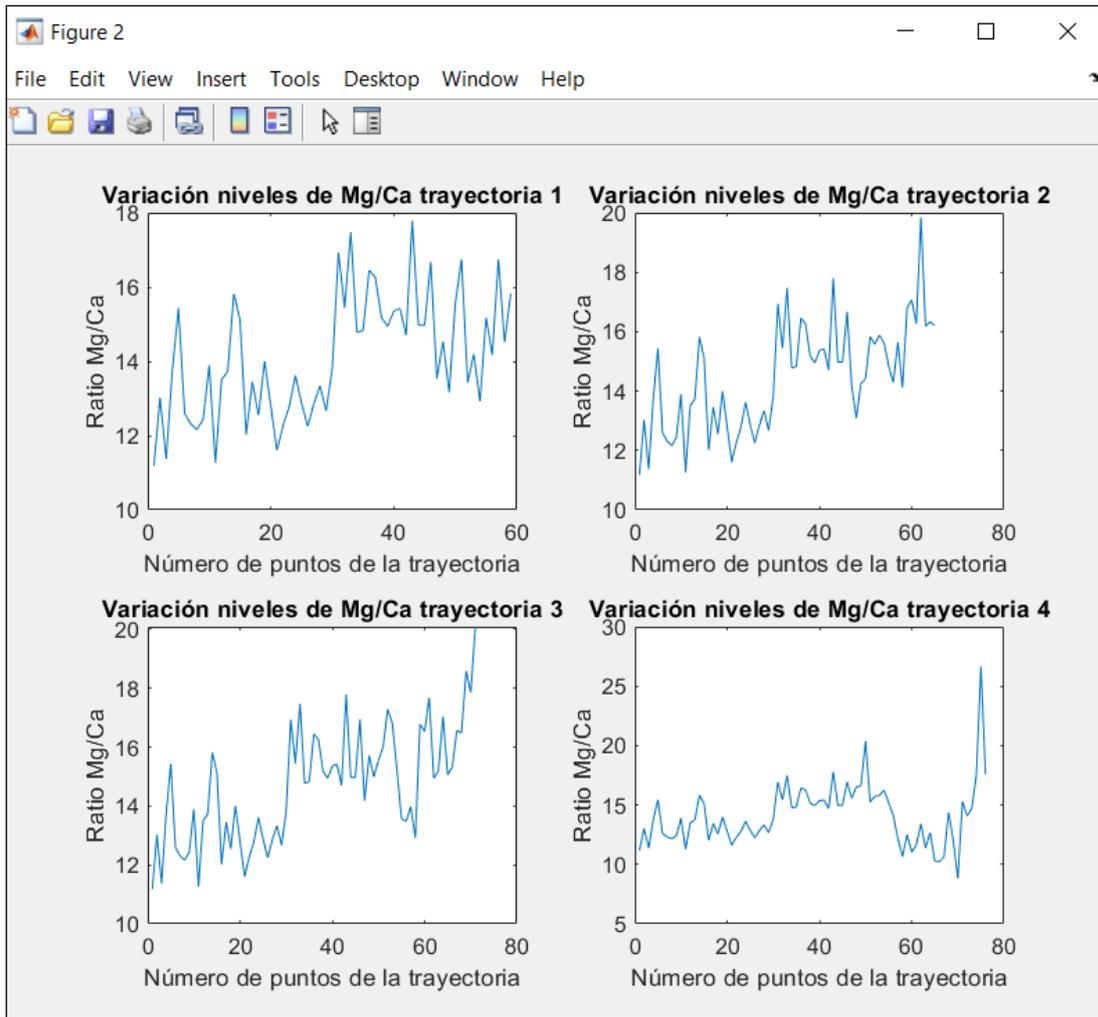


Figura 29.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Agosto 2012

En principio, los resultados sí que nos indicarían un ascenso de los valores a medida que nos acercamos al borde de la muestra. Las gráficas 1 y 3 nos podrían servir para estimar la estación de captura del molusco, ya que, a pesar de ser las más ruidosas hasta ahora, nos muestran el ascenso correspondiente a los meses de verano. No obstante, las trayectorias 2 y 4 nos ofrecen resultados contradictorios. En estas gráficas vemos que los ratios Mg/Ca sufren un ligero ascenso para terminar con un descenso en la parte final lo que nos daría a entender que el ejemplar se recogió en un periodo de descenso de temperaturas. Al igual que el caso anterior, estas diferencias se pueden deber tanto a un cambio real en la temperatura del mar debido a las condiciones climáticas del momento o a elementos que pueden estropear nuestras medidas dentro de la composición de la concha del molusco. En cualquier caso, también considero que se podría hacer una correcta valoración de la estación en la que se recogió la muestra, ya que, el ascenso de los valores nos indica que se recogió en meses de temperaturas altas.

Continuamos con la siguiente medida, los datos que se van a introducir al programa provienen de una muestra cuya estación de captura fue en Febrero. En las siguientes figuras podemos observar el ejemplar utilizado, las trayectorias escogidas y las gráficas que se han obtenido.



Figura 30.- Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero

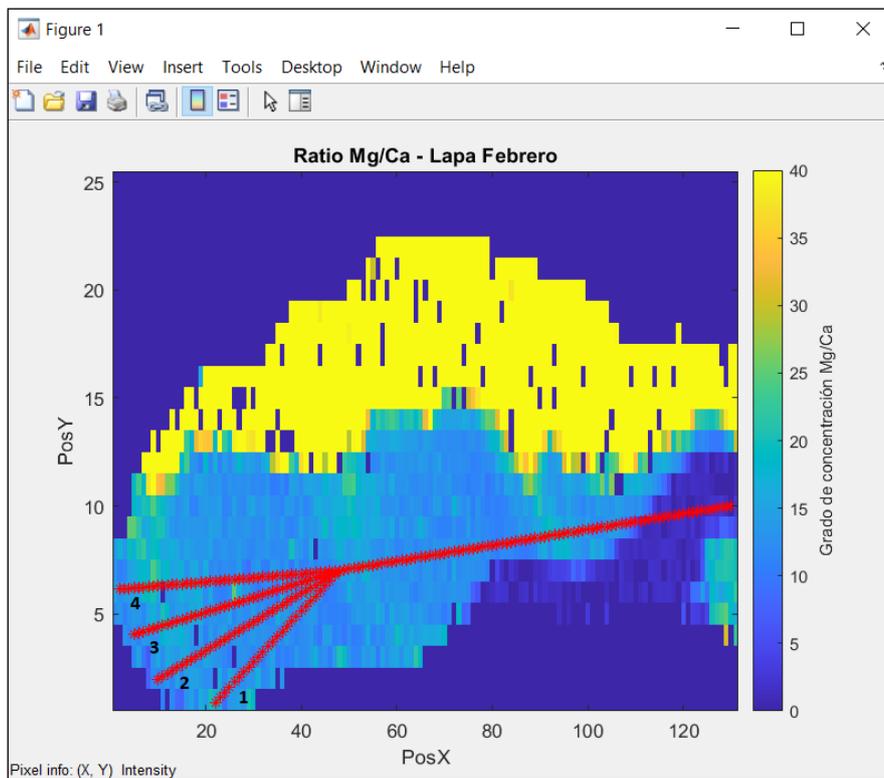


Figura 31.- Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero

Como se puede ver en la *figura 31*, en esta muestra volvemos a encontrarnos el problema de las zonas amarillas debido al mal retiro de la resina. Además, hay varios pixeles en la imagen que nos pueden dar lugar a saltos en las gráficas debido a que no hay datos de medidas en ellos, esto lo debemos de tener en cuenta a la hora de analizar los resultados.

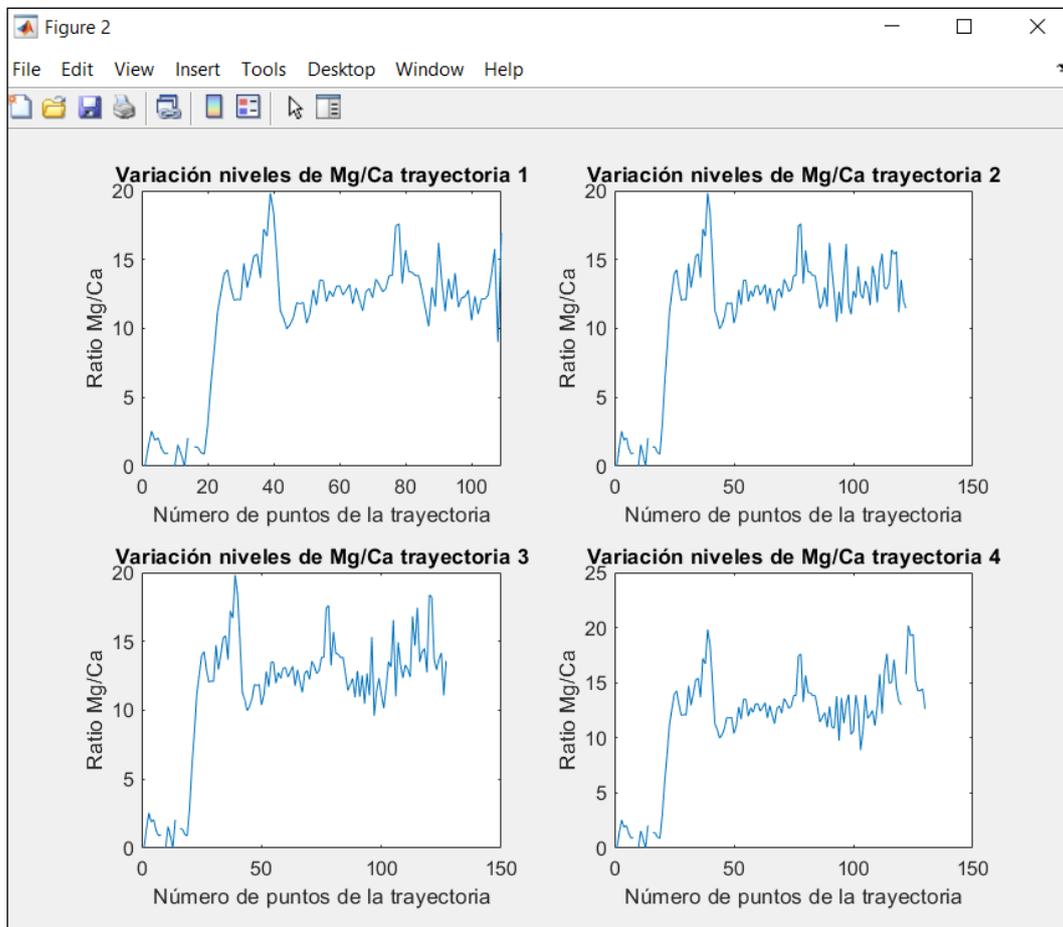


Figura 32.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-178)

Tratando de interpretar los resultados para poder afirmar una correcta estimación de la estación de captura, nos encontramos con la muestra más dispar a las conclusiones que podríamos esperar de un ejemplar con fecha de captura en Febrero. Podemos ver un aumento brusco de los niveles de Mg/Ca al comienzo de las gráficas lo que nos indicaría un ascenso de la TSM, sin embargo, este ascenso puede que sea debido a que la primera parte de la trayectoria está recogiendo datos prácticamente fuera de la lapa o en una zona no relevante para las medidas. Además, siguiendo la evolución de los ratios elementales, vemos medidas bastante ruidosas y sin una tendencia clara. A partir del análisis de las gráficas podemos sacar como conclusión que este ejemplar fue capturado tras meses de ascenso de temperaturas, lo que podría indicar que se capturó en otoño. Pero no podemos confirmar que nos proporciona una buena estimación de la estación de captura ya que no vemos claramente ese descenso de temperaturas que caracterizan a los meses de invierno. Estos resultados puede que no sean los esperados debido a la resina restante en la muestra y a las zonas que se han quedado sin datos numéricos en la representación 2D de las medidas.

El último ejemplar que se va a analizar se trata de una lapa con estación de captura en Febrero, como era el caso del anterior ejemplar analizado. En esta muestra vamos a analizar tanto la mitad derecha como la mitad izquierda para comparar mejor los resultados que se van a obtener.

En las siguientes figuras observamos nuevamente imágenes de los ejemplares utilizados, así como las trayectorias escogidas y los resultados sacados a partir del programa.

Comenzamos con el borde largo de la mitad izquierda de la muestra:



Figura 33.- Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero (Borde largo izquierdo)

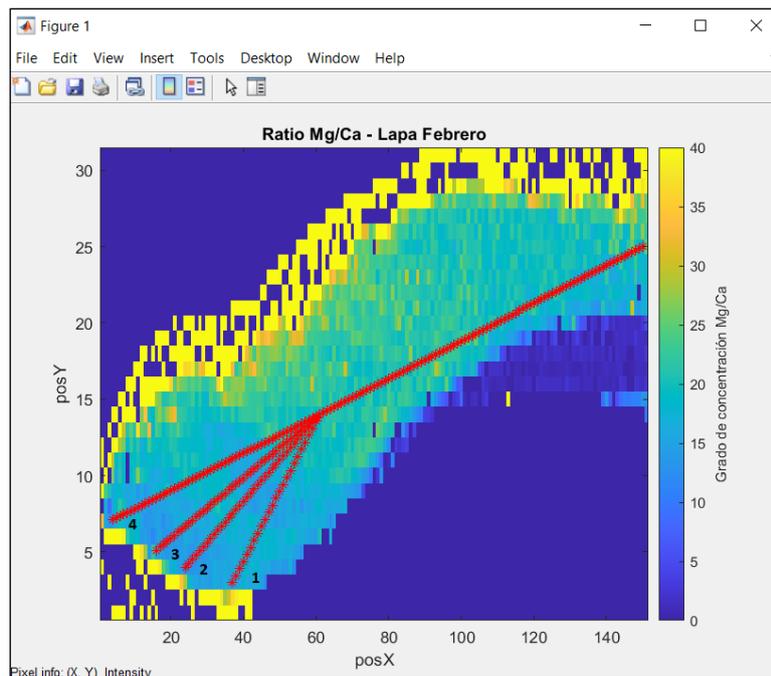


Figura 34.- Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero (LAN-177)

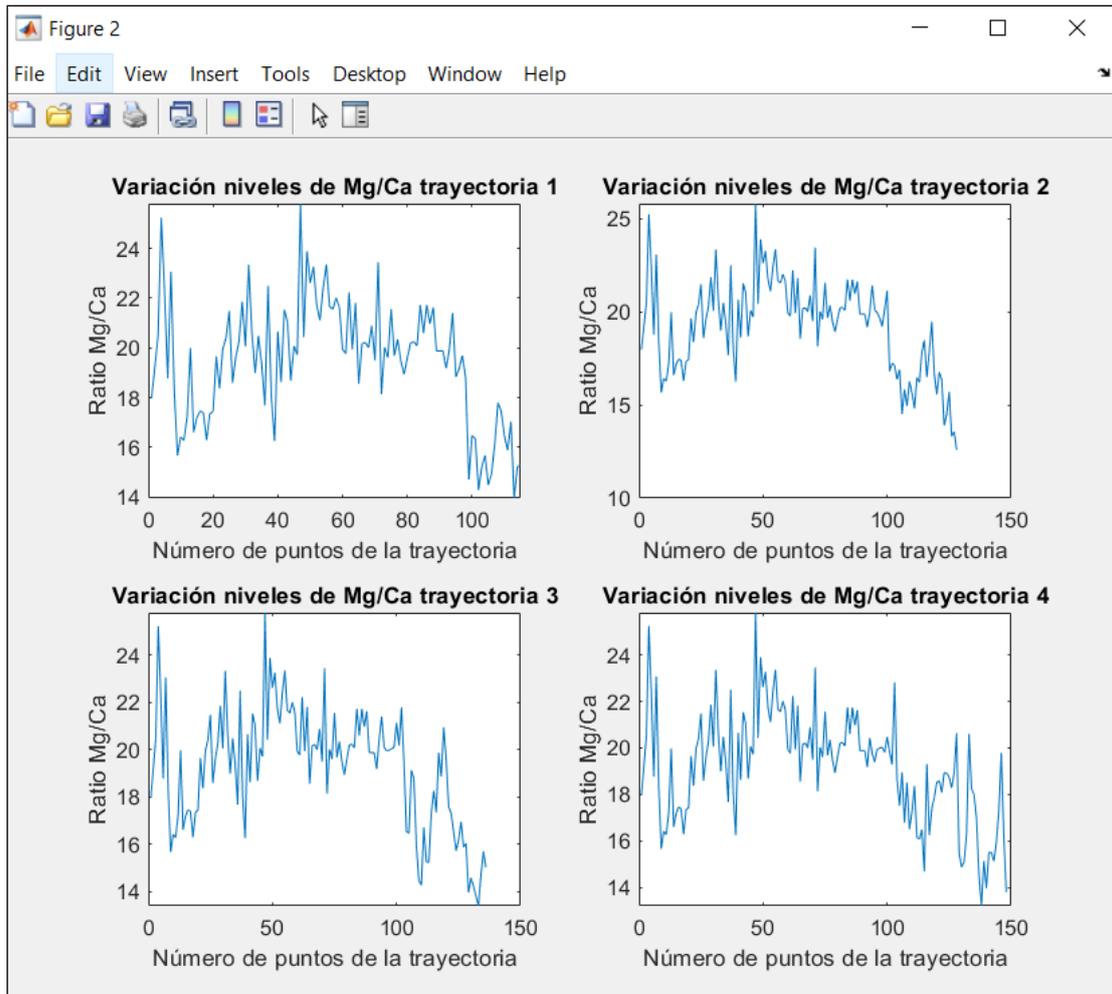


Figura 35.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-177)

Del análisis de estas gráficas obtenidas, se puede apreciar un descenso de los valores a medida que nos acercamos al borde de la muestra. Este descenso nos podría confirmar que la lapa fue recogida en unos meses en los que se produjo una bajada de temperaturas, lo que nos permitiría confirmar una buena estimación de la estación de captura del molusco. Si miramos las gráficas desde el primer punto de medida, observamos que los valores suben, lo que se podría corresponder con los meses previos a otoño/invierno. En este caso los resultados sí que nos podrían servir como un buen indicador de la TSM, pese a que seguimos obteniendo algo de variabilidad entre los distintos puntos de medida, es clara la tendencia de las cuatro trayectorias escogidas a descender cuando se acercan al borde de la concha. Como se puede ver en la representación 2D de la muestra, también tenemos zonas amarillas cerca del borde, debido a la resina utilizada, lo que podría indicarnos un incremento en los ratios y estropear las medidas y posteriores conclusiones. Afortunadamente, en este caso, apenas interfiere en la interpretación de las gráficas, ya que, si bien es cierto que se puede apreciar un ligero aumento al final de las gráficas, considero que no afecta demasiado a las conclusiones.

Continuamos con el borde largo de la mitad derecha de la muestra de Febrero:



Figura 36.- Ejemplar de Patella vulgata utilizado, con estación de captura en Febrero (Borde largo derecho)

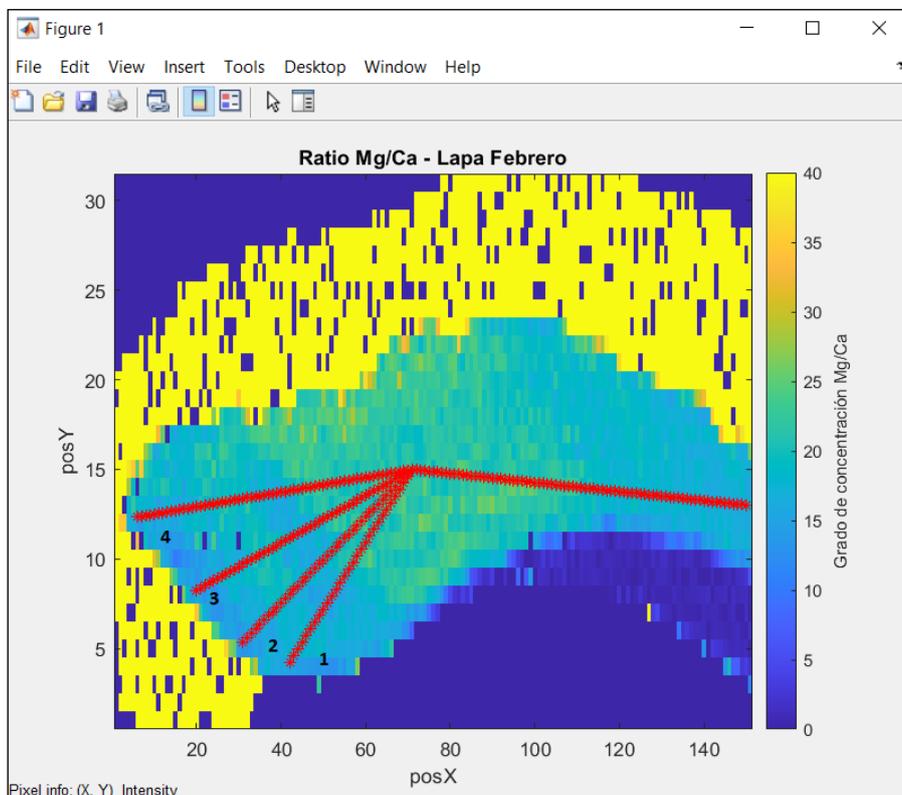


Figura 37.- Trayectorias escogidas en la muestra de Febrero (LAN-177)

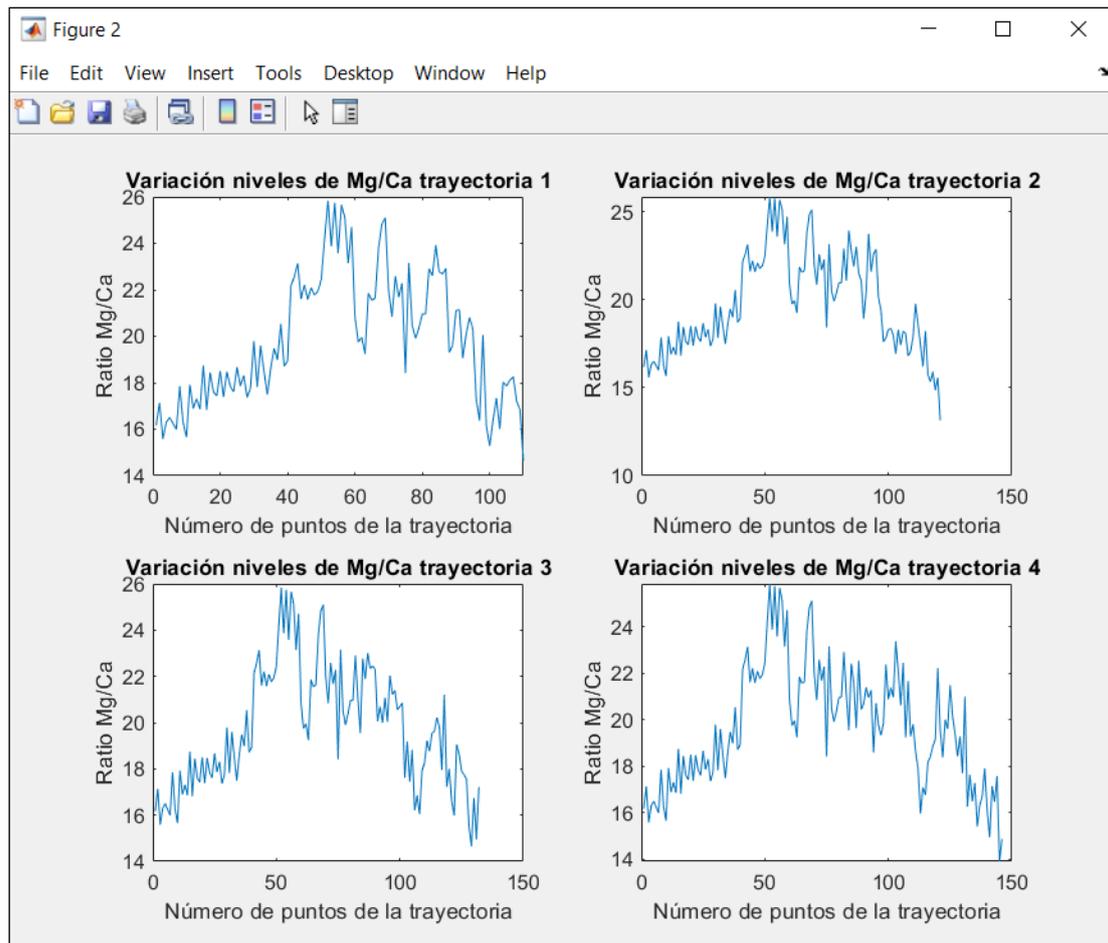


Figura 38.- Resultados obtenidos a partir de la muestra de Febrero (LAN-177)

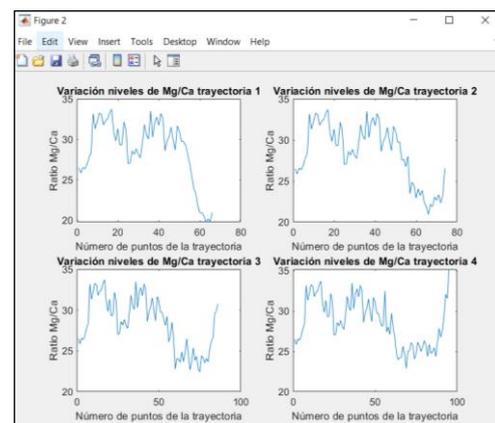
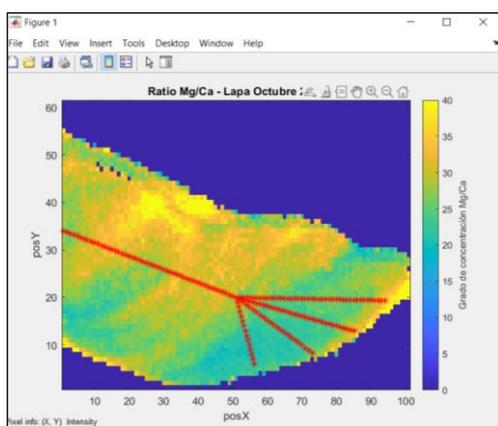
Las conclusiones acerca de estos resultados son bastante similares al caso anterior. Volvemos a ver ese descenso de los ratios Mg/Ca a medida que nos acercamos al borde de la muestra, aunque, en este caso, el descenso de los niveles elementales en la concha es más acusado. Analizando las gráficas, vemos un ascenso de temperaturas que podemos asociar a los meses calurosos de verano y a partir de ahí comienzan a bajar. Nuevamente podríamos definir estos resultados como buenas estimaciones de la estación de captura, ya que podemos sacar, a modo de conclusión, que el molusco fue extraído en el momento en que los ratios son prácticamente mínimos y lo que nos da una correcta indicación de que la muestra fue recogida en meses de invierno.

5. Conclusiones y líneas futuras

Como se ha podido ver en los resultados obtenidos, con la mayoría de las muestras analizadas se han obtenido resultados relativamente optimistas en cuanto a la utilización de las lapas como instrumento indicativo de la temperatura. En las conchas analizadas, pese a que las gráficas nos mostraban una variabilidad a considerar entre los distintos puntos de medida, la mayoría de los análisis se han podido concluir en concordancia con lo que se podría esperar, con un descenso de los niveles de Mg/Ca, incorporados al carbonato cálcico del que están compuestas las conchas de los moluscos, cuando la muestra se recogió en meses en los que la TSM es esperable que sea baja y con su respectivo aumento cuando la muestra fue recogida en meses en los que las temperaturas eran mayores. Además, si tenemos en cuenta el método empleado para el estudio de estas relaciones elementales, nos encontramos con un sistema el cual permite realizar las medidas con una serie de mejoras respecto a otros sistema de medida. El uso de LIBS nos permite obtener muchos más resultados de una precisión considerable y empleando bastante menos tiempo que si empleásemos otras técnicas de espectroscopia actuales.

Con el presente trabajo creo que se ha podido evidenciar el potencial que tiene el estudio de las relaciones elementales incorporadas a las conchas en su crecimiento y, pese a seguir obteniendo resultados con medidas erráticas en relación a lo que se pretende o se espera observar, sabemos que muchos de estos análisis están influenciados por factores externos que empobrecen las medidas y que, seguramente, a medida que avancen los estudios en este campo se conseguirán ir mitigando hasta lograr obtener conclusiones más fiables y con una mayor precisión de resultados.

El efecto de la variabilidad entre las gráficas obtenidas se podría tratar de atenuar mediante el promediado de los resultados obtenidos para cada trayectoria definida. Por ejemplo, tomando como base la muestra de Octubre 2006 se obtendrían los siguientes resultados:



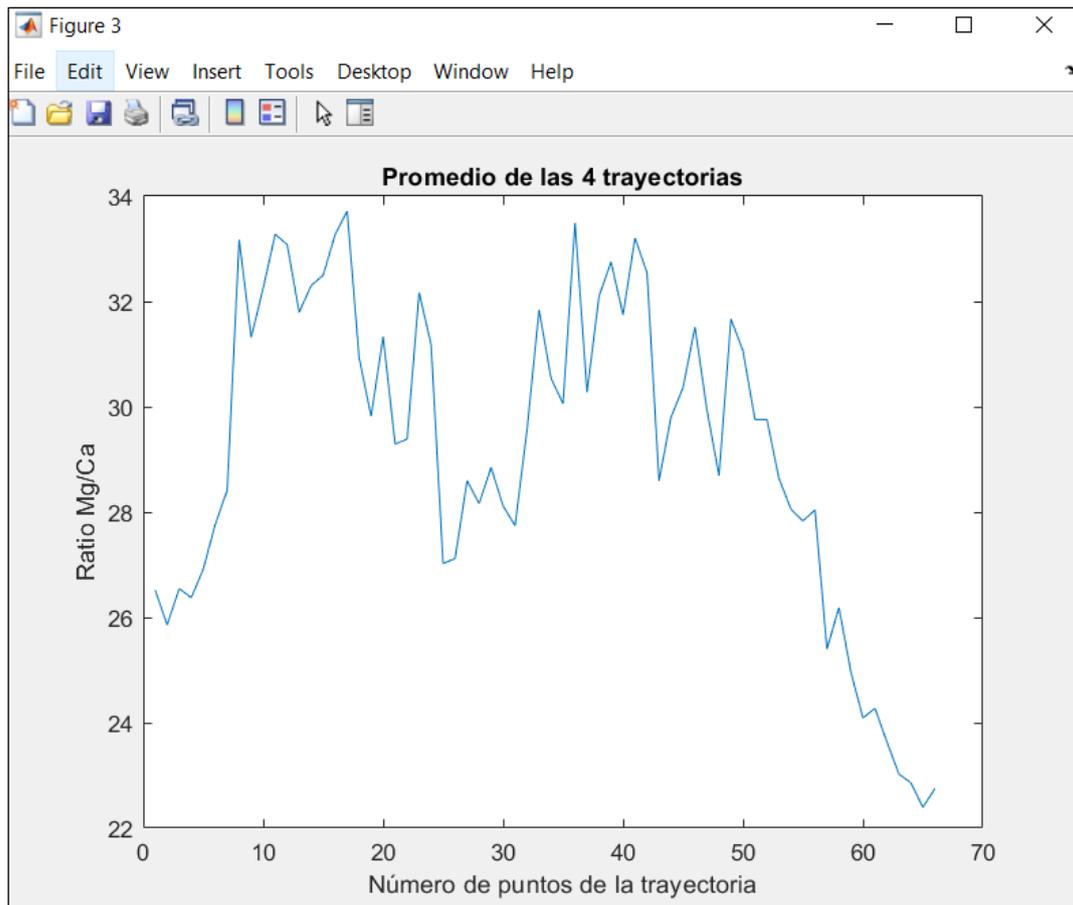


Figura 39.- Promedio de las cuatro gráficas resultantes tras el trazado de trayectorias individuales

Haciendo este promedio de las cuatro gráficas podemos obtener un resultado estadísticamente más relevante de lo que podríamos esperar conseguir con cada trayectoria individual. La única desventaja de trabajar con la media de las cuatro gráficas es que, al ser trayectorias de longitud variable, hay datos que se perderían. Aunque el propósito de realizar un programa que permita trazar varias trayectorias simultáneamente es poder ver visualmente las diferencias entre cada trayectoria y comparar cada resultado para sacar las conclusiones apropiadas, esto nos podría resultar útil para tener una visión general de la variación de Mg/Ca a lo largo de la muestra.

En cuanto a las posibles mejoras que se podrían realizar al programa, lo ideal a la hora de realizar las medidas sería que las trayectorias hacia el borde de la muestra fueran curvas para tratar de seguir de manera más natural las líneas de crecimiento de la concha del molusco. Estas curvas se podrían implementar a modo de "splines" definiendo, mediante polinomios, la trayectoria deseada. Por otra parte, el programa está desarrollado de tal manera que, en el segundo método propuesto, es necesario definir los puntos finales de las trayectorias desde la parte inferior de la concha en dirección a la parte superior, si se hace de otra forma puede derivar en gráficas con resultados erráticos. No es un gran problema, pero sí que mejoraría la experiencia del usuario al utilizar el programa.

Referencias

- [1] M. P. Bartolomé, *El Mesolítico en Cantabria Centro-Oriental*, 2019.
- [2] Asier García-Escárzaga, et al. «Implicaciones de los isótopos estables de oxígeno y de la relación elemental Mg/Ca en la determinación de la estación de captura de los recursos malacológicos durante el Mesolítico Cantábrico,» *Congreso Ibérico de arqueometría*, 2013.
- [3] I. G. Zugasti, *La explotación de moluscos y otros recursos litorales en la región cantábrica durante el Pleistoceno final y el Holoceno inicial*, Santander: Universidad de Cantabria, 2010.
- [4] C. Arias, et al. «Programa de sondeos en concheros holocenos del oriente de Asturias,» *Excavaciones Arqueológicas, en prensa*, nº 5, 1999-2005.
- [5] R. a. Sommer, «Reconstructing paleotemperature and paleosalinity regimes with oxygen isotopes,» *Skeletal grow of acuatic organism*, vol. 1, nº 169-202, 1980.
- [6] «Coastal resource intensification across the Pleistocene-Holocene transition in Northern Spain: Evidence from shell size and age distributions of marine gastropods,» *Quaternary International*, vol. 244, 2011.
- [7] Asier García-Escárzaga, et al. « EL ANÁLISIS DE LOS RECURSOS MALACOLÓGICOS DESDE UNA PERSPECTIVA ARQUEOMÉTRICA,» *Arqueologías sociales Arqueología en Sociedad*, nº 1, pp. 299-309, 2015.
- [8] A. COLONESE, E. VERDÚN-CASTELLÓ, M. ÁLVAREZ, I. BRIZ I GODINO y D. y. S. L. ZURRO, «Oxygen isotopic composition of limpet shells from the Beagle Channel: implications for seasonal studies in shell middens of Tierra del Fuego,» *Archaeological Science*, vol. 39, nº 6, pp. 1738-1748, 2012.
- [9] A. COLONESE, S. TROELSTRA, P. ZIVERI, F. MARTINI y D. y. T. S. LO VETRO, «Mesolithic shellfish exploitation in SW Italy: seasonal evidence from the oxygen isotopic composition of *Osilinus turbinatus* shells,» *Archeological Science*, vol. 36, nº 9, pp. 1935-1944, 2009.
- [10] M. Deith, *Seasonality of shell collecting, determined by oxygen isotope analysis of marine shells from Asturian sites in Cantabria*, Oxford: Clutton-Brock, 1983.
- [11] M. S. B. T. K. Mannino, «Sampling shells for seasonality: oxygen isotope analysis on shell carbonates of the inter-tidal gastropod *Monodonta lineata* (da Costa) from populations across its modern range and from a Mesolithic site in southern Britain,» *Archeological Science*, vol. 30, nº 6, pp. 667-679, 2003.
- [12] S. Epstein y H. Lowenstam, «Temperature-shell-growth relation of recent and interglacial Pleistocene shoal-water biota from Bermuda,» *The Journal of Geology*, vol. 61, nº 5, pp. 424-438, 1953.

- [13] Asier García-Escárzaga, et al. «Using Mg/Ca Ratios from the Limpet *Patella depressa* Pennant, 1777 Measured by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) to Reconstruct Paleoclimate,» *Applied sciences*, nº 11, p. 17, 2021.
- [14] «Antares Instrumentación,» Antares, 22 Abril 2020. [En línea]. Available: <https://www.antaresinstrumentacion.com/que-es-espectroscopia-instrumentacion-tecnicas/>.
- [15] Adolfo COBO, et al. «Análisis automatizado de la composición elemental de conchas de moluscos mediante Espectroscopía Láser de Ruptura (LIBS),» *9a reunión Española de Optoelectrónica, OPTOEL*, pp. 167-172, 2015.
- [16] Gabriela Del Valle, et al. «Funcionamiento de los espectrómetros,» México, D.F..
- [17] Jorge Mauricio Paulin Fuentes, et al. «Reseña sobre espectroscopia de rompimiento inducida por láser,» *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, vol. 25, nº 2, 2018.
- [18] M. A. S. Marquardt, et al. «In situ determination of lead in paint by laser-induced breakdown spectroscopy using a fiber-optic probe,» *Analytical Chemistry*, vol. 6, nº 68, pp. 977-981, 1996.
- [19] N. O. D. W. Hahn, «Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) Part II: Review of Instrumental and Methodological Approaches to Material Analysis and Applications to Different Fields,» *Applied Spectroscopy*, vol. 66, nº 14, 2012.
- [20] E. Baudelet, et al. «Time-resolved ultraviolet laser-induced breakdown spectroscopy for organic material analysis.,» *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, vol. 28, nº 5, pp. 624-629, 2013.
- [21] J. Martínez-Mincheró, et al. Artist, *Comparison of Mg/Ca ratio series from Patella depressa limpet shells using CF-LIBS and LA-ICP-MS*. [Art]. Universidad de Cantabria, 2021.
- [22] R. Arévalo, et al. «Algoritmos para dibujo de líneas,» Universidad Simón Bolívar, Diciembre 2011. [En línea]. Available: <https://drive.google.com/file/d/0B1fpkNH-kQhDITDITczd4SzZPdJA/view?resourcekey=0-BRfubqfymj10JcSHNgv5TA>. [Último acceso: 15 06 2022].
- [23] G. Fernández, «www.quimicaorganica.net,» 18 Mayo 2015. [En línea]. Available: <https://www.quimicaorganica.net/esquema-espectrofot%C3%B3metro.html>.

Anexo: Código completo en Matlab documentado

Representación mapa 2D ratio de Mg/Ca

```
close all
clear all

%Cargo matriz de datos
load('output.mat');

%Selección de método de toma de puntos de la trayectoria
Metodo = input('¿Qué método de medida quieres usar, una trayectoria [1] o varias simultáneas [2]? ');

if (Metodo == 1)

%Datos
R = ratio_to_export;
% ejex = ejeParam1;
% ejej = ejeParam2;
Npuntos = input('Introduce el número de puntos de la trayectoria: '); %Por defecto 10 puntos
modo = input('¿Cómo quieres definir los puntos de la trayectoria, por teclado [T] o ratón [R]? ', 's');

%Entrada por teclado de las coordenadas
if (modo == 'T')

    for n = 1:Npuntos

        x(n) = input('Introduce la coordenada x(n): ');
        y(n) = input('Introduce la coordenada y(n): ');

    end

end

end
```

Representación matriz de datos en un mapa de calor

```
figure(1)
image(R, 'CDataMapping', 'scaled');
set(gca, 'YDir', 'normal');
caxis([0 40]);
title('Ratio Mg/Ca - Lapa Octubre 2006');
xlabel('posX');
ylabel('posY');
c = colorbar;
c.Label.String = 'Grado de concentración Mg/Ca';
hold on

%Entrada por ratón de las coordenadas
if (modo == 'R')

    [x, y] = getpts
    Npuntos = length(x);
    x = round(x);
    y = round(y);

end
```

Implementación Algoritmo DDA para trazado de trayectorias

```
for k = 1:Npuntos-1

    dx(k) = x(k+1)-x(k);
    dy(k) = y(k+1)-y(k);

    if(abs(dx(k))>abs(dy(k)))
        paso(k) = abs(dx(k));
    else
        paso(k) = abs(dy(k));
    end

    incx(k) = dx(k)/paso(k); %Dividir paso entre numero mayor si se requieren más puntos
    incy(k) = dy(k)/paso(k);
    fin(k) = paso(k);

    u = zeros(1,fin(k));
    v = zeros(1,fin(k));
    u(1) = x(k); v(1) = y(k);

    for i=1:fin(k)

        u(i+1) = u(i)+incx(k);
        v(i+1) = v(i)+incy(k);

    end

    %Represento la trayectoria en el mapa
    plot(u,v,'r*');
    impixelinfo;

    %Obtengo los valores numéricos de cada punto en el mapa
    Valores = impixel(R',u,v);
    c=genvarname(['V',num2str(k)]);
    eval([c, '=Valores']);
end

%Represento en una gráfica los valores recogidos
Valores_Totales = [V1;V2;V3;V4;V5;V6;V7;V8;V9]; %Cambiar en función del número de puntos --> [V1;V2;V3...VNpuntos-1]
figure(2)
plot(Valores_Totales(:,1),'b-');
axis equal;
xlabel('Número de medidas');
ylabel('Concentración Mg/Ca');
title('Gráfica del ratio Mg/Ca a lo largo de una trayectoria');
```

```

elseif (Metodo == 2)

%Datos
R = ratio_to_export;

figure(1)
image(R,'CDataMapping','scaled');
set(gca,'YDir','normal');
caxis([0 40]);
title('Ratio Mg/Ca - Lapa Octubre 2006');
xlabel('posX');
ylabel('posY');
c = colorbar;
c.Label.String = 'Grado de concentración Mg/Ca';
hold on

%Programa para el trazado de trayectorias entre dos puntos
disp('Selecciona 2 puntos por los que quieres que pase la trayectoria')
[x,y] = getpts;
x = round(x);
y = round(y);

%Implementación Algoritmo DDA para trazado de trayectorias entre 2 puntos
dx = x(2)-x(1);
dy = y(2)-y(1);

if(abs(dx)>abs(dy))
    paso = abs(dx);
else
    paso = abs(dy);
end

incx = dx/paso;
incy = dy/paso;

u(1) = x(1); v(1) = y(1);
for i=1:paso

    u(i+1) = u(i)+incx;
    v(i+1) = v(i)+incy;

end

```

```

figure(1)
plot(u,v,'r*');
hold on;
V = impixel(R',u,v);

l = size(u);
l = l(2);
xi = u(1); yi = v(1); %puntos iniciales segunda trayectoria

%Ntrayect = input('Introduce numero de trayectorias: ');
disp('Selecciona 4 puntos de fin');
[xf,yf] = getpts %selecciono los puntos finales
Ntrayect = length(xf);

%Implementación algoritmo DDA para el trazado de trayectorias simultáneas
for k = 1:Ntrayect

    dx(k) = xf(k)-xi;
    dy(k) = yf(k)-yi;

    if(abs(dx(k))>abs(dy(k)))
        paso(k) = abs(dx(k));
    else
        paso(k) = abs(dy(k));
    end

    incx(k) = dx(k)/paso(k);
    incy(k) = dy(k)/paso(k);

    up(1) = xi; vp(1) = yi;
    for i=1:paso(k)

        up(i+1) = up(i)+incx(k);
        vp (i+1) = vp(i)+incy(k);

    end
end

```

```

plot(up,vp,'r*');

%Obtengo los valores numéricos de cada punto en el mapa
Valores = impixel(R',up,vp);
c=genvarname(['V',num2str(k)]);
eval([c, '=Valores']);

end

%Represento todas las trayectorias
Valores_Totales1 = [V;V1];
Valores_Totales2 = [V;V2];
Valores_Totales3 = [V;V3];
Valores_Totales4 = [V;V4];
impixelinfo;

%Trayectoria promediada
dif1 = length(Valores_Totales1):length(Valores_Totales4);
dif2 = length(Valores_Totales2):length(Valores_Totales4);
dif3 = length(Valores_Totales3):length(Valores_Totales4);

Vt1 = [Valores_Totales1(:,1);zeros(length(dif1),1)];
Vt2 = [Valores_Totales2(:,1);zeros(length(dif2),1)];
Vt3 = [Valores_Totales3(:,1);zeros(length(dif3),1)];
Vt4 = Valores_Totales4;

for p = 1:length(Valores_Totales1)

    Tr_prom(p) = (Vt1(p,1) + Vt2(p,1) + Vt3(p,1) + Vt4(p,1))./4;

end

```

```

%Representación en gráficas
figure(2)
subplot(2,2,1)
plot(Valores_Totales1(:,1));
title('Variación niveles de Mg/Ca trayectoria 1');
xlabel('Número de puntos de la trayectoria');
ylabel('Ratio Mg/Ca');

subplot(2,2,2)
plot(Valores_Totales2(:,1));
title('Variación niveles de Mg/Ca trayectoria 2');
xlabel('Número de puntos de la trayectoria');
ylabel('Ratio Mg/Ca');

subplot(2,2,3)
plot(Valores_Totales3(:,1));
title('Variación niveles de Mg/Ca trayectoria 3');
xlabel('Número de puntos de la trayectoria');
ylabel('Ratio Mg/Ca');

subplot(2,2,4)
plot(Valores_Totales4(:,1));
title('Variación niveles de Mg/Ca trayectoria 4');
xlabel('Número de puntos de la trayectoria');
ylabel('Ratio Mg/Ca');

figure(3)
plot(Tr_prom);
title('Promedio de las 4 trayectorias');
xlabel('Número de puntos de la trayectoria');
ylabel('Ratio Mg/Ca');

end

```