



*Facultad
de
Ciencias*

**Identificación estructural, por técnicas
espectroscópicas y de microscopía, de
micromuestras de roca del sistema
kárstico del Alto Bueras**

(Structural identification of rock microsamples from the Alto Bueras karstic system using spectroscopic and microscopy techniques.)

Trabajo de Fin de Grado
para acceder al

GRADO EN FÍSICA

Autor: Luis Gómez Fernández

Director: Fernando Rodríguez González

Noviembre 2023

Título: Identificación estructural, por técnicas espectroscópicas y de microscopía, de micromuestras de roca del sistema kárstico del Alto

Bueras

Autor: Luis Gómez Fernández

Grado: Grado en Física

Director : Fernando Rodríguez

E-mail: gomezfernandezluis11@gmail.com

Teléfono: 682153537

Dirección: Universidad de Cantabria —Facultad de Ciencias
39005 Santander – Spain

© 2023 Luis Gómez Fernández

Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Agradecimientos

En primer lugar, debo expresar mi sincera gratitud a Fernando Rodríguez por su dedicación y apoyo constante a lo largo de estos meses. Su profundo conocimiento y pasión por la ciencia no solo han enriquecido mi aprendizaje, sino que también han influido profundamente en mi perspectiva profesional. A Jesús González, por mostrarme como el mundo, en este caso las cuevas, se puede observar desde una perspectiva puramente física.

Mi reconocimiento se extiende a Sierra, Dani, Manuel y a todo el equipo de exploración de ADEMCO. Su incansable búsqueda del mundo subterráneo desconocido ha sido fundamental para la recolección de las muestras. Su trabajo es un pilar esencial en este estudio.

A Javi, le agradezco por ser una influencia significativa desde los comienzos de mi formación en física (incluso antes, con pluma y servilleta), inculcándome los fundamentos de este campo con claridad y paciencia. A Diego, le agradezco por siempre estar dispuesto a escuchar y apoyar desde los inicios de este proyecto. Su interés y consejos han sido de gran ayuda. A Deivid, porque la ciencia es en inglés y con la ayuda de algún colacao de cañero me ha enseñado a comunicarme, abriendo las puertas a una comprensión más amplia de la ciencia global. Y a Izan, con quien he compartido todos estos años de formación.

A mi padre, por enseñarme a utilizar las manos, sacando fuego y recogiendo sedal. Y como no a mi madre, por guiarme a lo largo de todo el camino, por absolutamente todo.

*[...] Ten siempre a Ítaca en tu mente.
Llegar allí es tu destino.
Mas no apresures nunca el viaje.
Mejor que dure muchos años
y atracar, viejo ya, en la isla,
enriquecido de cuanto ganaste en el camino
sin aguantar a que Ítaca te enriquezca.[...]*

Resumen

El presente estudio se centra en la caracterización mineralógica de micromuestras sedimentarias del sistema del Alto Bueras, con un énfasis particular en la composición estructural determinada a través de técnicas espectroscópicas avanzadas, principalmente espectroscopía Raman y emisión luminiscente.

La metodología experimental parte de la recogida de las muestras en la cavidad del sistema kárstico de Bueras, Cantabria. Posteriormente una selección y preparación meticulosa de las muestras, ya que por su naturaleza presentan una notable heterogeneidad. Los análisis morfológicos, han mostrado estructuras ovales distintivas en las muestras analizadas. Estas estructuras ovales podrían indicar procesos biológicos específicos, como la actividad microbiana, que juega un papel relevante en la nucleación y el crecimiento de los minerales presentes en las muestras.

La espectroscopía Raman, en sinergia con análisis de fluorescencia, ha permitido discernir la presencia de carbonatos, específicamente calcita, y óxidos de manganeso (γ - MnO_2 , Todorokita y Woodruffita), proporcionando así una comprensión más profunda de los posibles procesos geobiológicos implicados en la formación de estas estructuras. La espectroscopía de fluorescencia proporcionó una herramienta adicional para la distinción mineral de las diversas zonas que componen la muestra, permitiendo una cuantificación precisa de la concentración mineral y una resolución mejorada de la heterogeneidad composicional.

Otro aspecto utilizado en la investigación ha sido el cálculo de las tensiones en la calcita, utilizando los desplazamientos de los picos espectrales Raman para atribuirlos a tensiones producidas dentro de la estructura cristalina del mineral del orden de 0,5 GPa.

En conclusión, este trabajo enfatiza la aplicabilidad de la espectroscopía Raman y la fluorescencia en la caracterización mineralógica de gran diversidad de estructuras. Destaca la importancia de las observaciones morfológicas para el estudio de tensiones en la comprensión de los procesos geobiológicos. Los hallazgos ofrecen perspectivas significativas para futuras investigaciones en las disciplinas de geología, paleontología y arqueología, y demuestran el potencial de estas técnicas espectroscópicas para el análisis de sistemas geológicos complejos. La elección de estas técnicas, además de su poder selectivo en la identificación de las distintas especies minerales que conforman la roca, son importantes por como se pueden trasladar fácilmente permitiendo estudios en las propias cavidades o entornos naturales.

Palabras clave: Espectroscopía Raman, fluorescencia, estromatolitos, óxidos de manganeso, calcita.

Abstract

The current study focuses on the mineralogical characterization of sedimentary microm-samples from the Alto Bueas system, with a particular emphasis on the structural composition determined through advanced spectroscopic techniques, mainly Raman spectroscopy and luminescent emission.

The experimental methodology begins with the collection of samples in the cavity of the Bueas karst system, Cantabria. This is followed by a meticulous selection and preparation of the samples, as their nature presents notable heterogeneity. Morphological analyses have shown distinctive oval structures in the analyzed samples. These oval structures could indicate specific biological processes, such as microbial activity, which plays a relevant role in the nucleation and growth of the minerals present in the samples.

Raman spectroscopy, in synergy with fluorescence analysis, has allowed the discernment of the presence of carbonates, specifically calcite, and manganese oxides (γ - MnO_2 , Todorokite, and Woodruffite), thereby providing a deeper understanding of the possible geobiological processes involved in the formation of these structures. Fluorescence spectroscopy provided an additional tool for the mineral distinction of the various areas comprising the sample, allowing for precise quantification of the mineral concentration and improved resolution of compositional heterogeneity.

Another aspect utilized in the research has been the calculation of stresses in calcite, using shifts in the Raman spectral peaks to attribute them to stresses produced within the crystal structure of the mineral on the order of 0, 5 GPa.

In conclusion, this work emphasizes the applicability of Raman spectroscopy and fluorescence in the mineralogical characterization of a wide variety of structures. It highlights the importance of morphological observations in the study of stresses for understanding geobiological processes. The findings offer significant perspectives for future research in the disciplines of geology, paleontology, and archaeology, and demonstrate the potential of these spectroscopic techniques for the analysis of complex geological systems. The choice of these techniques, in addition to their selective power in identifying the different mineral species that make up the rock, is important because of how easily they can be transferred, allowing studies in the actual cavities or natural environments.

Keywords: Raman Spectroscopy, Fluorescence, Stromatolites, Manganese Oxides, Calcite

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Estromatolitos y estromatolitos cavernarios	2
1.2. El sistema del Alto Bueas	3
1.3. Raman en restos arqueológicos y paleontológicos	3
2. Fundamentos teóricos	7
2.1. Espectroscopía Raman	7
2.1.1. Modos vibracionales	7
2.1.2. Teoría del efecto Raman	8
2.2. Absorción de la energía de excitación y emisión luminescente	10
2.2.1. Regla de Oro de Fermi	11
2.2.2. Retorno radiativo al estado fundamental: Luminescencia	12
2.3. Estromatolitos cavernarios en sistemas kársticos	12
2.3.1. Definición y formación de estromatolitos	12
2.3.2. Estromatolitos en sistemas kársticos	12
2.3.3. Importancia científica y ambiental de los estromatolitos cavernarios	12
2.4. Estructura cristalina y actividad Raman en compuestos de interés	13
2.4.1. Carbonatos	13
2.4.2. Óxidos de manganeso	14
3. Metodología experimental	17
3.1. Selección y preparación de muestras de estromatolitos cavernarios	17
3.2. Configuración experimental	19
3.2.1. Adquisición de datos de fluorescencia	19
3.3. Adquisición de datos espectroscópicos	20
3.4. Procesamiento y análisis de datos Raman	21
4. Resultados y discusión	23
4.1. Análisis morfológico de las muestras	23
4.2. Caracterización estructural de las muestras	25
4.2.1. Análisis de los picos espectrales característicos	25
4.2.2. Análisis de espectros de fluorescencia	35

5. Conclusiones y trabajo futuro	37
Bibliografía	39

Índice de tablas

2.1.	Frecuencias de los modos vibracionales activos Raman para diferentes carbonatos con estructura tipo calcita. Las frecuencias se presentan en cm^{-1} . En el caso del ensamblaje 3, los datos han sido extraídos de Farsang et al. [25]. Los demás del estudio Dufresne, Ruffledt y Marshall [24]	14
2.2.	Frecuencias de los modos vibracionales activos Raman para las fases α , β y γ , todorokite y woodruffite del MnO_2 . Las frecuencias se presentan en cm^{-1} . Los resultados han sido extraídos de Julien, Massot y Poinignon [28], para las frecuencias de Woodruffite se ha utilizado la información de [31].	15
4.1.	Características de los picos identificados en el espectro Raman correspondientes a la zona <i>black</i> (Fig. 4.8). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).	26
4.2.	Características de los picos identificados en el espectro Raman de la zona correspondiente a las <i>white</i> (Fig. 4.9). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).	27
4.3.	Características de los picos identificados en el espectro Raman de la zona correspondiente a las <i>bolitas</i> (Fig. 4.10). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).	28
4.4.	Características de los picos de calcita identificados en el espectro Raman tras el tratamiento con peróxido de hidrógeno (Fig. 4.12). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1).	29
4.5.	Ajuste de Frías García-Lago et al. [38] para el desplazamiento de los picos Raman en función de la presión a la que es sometida una muestra de calcita en una celda de yunque de diamante. El ajuste tiene la forma de $y = n + mx$, se dan los valores de n , m y sus errores asociados para diferentes picos.	30
4.6.	Resultados de la presión calculada a la que están sometidos los modos de la calcita de la muestra <i>bolitas</i>	31
4.7.	Características de los picos ajustados a la fase $\gamma - \text{MnO}_2$ (Fig. 4.15). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.2).	32
4.8.	Características de los picos ajustados, correspondientes al primer pico en el espectro Raman de <i>bolitas</i> (Fig. 4.16). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).	33
4.9.	Características de los picos ajustados, correspondientes al segundo pico en el espectro Raman de <i>bolitas</i> (Fig. 4.16). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).	33

Índice de figuras

1.1. Vista de la entrada de la cavidad Buchi, mostrando su apertura característica en el paisaje kárstico. En el interior, se observan las formaciones geológicas y las características espeleológicas de la cueva. Fotografías realizadas por José Luis Sierra (Grupo de exploración ADEMCO), en ellas, dos integrantes del grupo: Luis Gómez Fernández y Manuel Manrique.	1
1.2. A: Depósito rico en óxido de manganeso con capas alternas más oscuras y compactas y láminas más claras y porosas. Obsérvese el núcleo de grava, el bandeo crenulado y en aumento hacia arriba, y la presencia de láminas truncadas. B: Oncoides rico en óxido de manganeso. C: Sección delgada de B, mostrando láminas dendríticas predominantes con alta porosidad (en azul) y núcleo de clastos de arenisca y limolita. Reproducido de <i>Geology</i> 32, Carlos Rossi, Rafael P. Lozano, Núria Isanta, John Hellstrom Copyright (2010), con permiso de Geological Society of America.	2
1.3. Mapa geológico del sistema del Alto Bueas. Las áreas representadas en verde corresponden a las calizas con rudistos y orbitolinas, mientras que las zonas punteadas denotan las arcillas limolíticas. Las trazas en rojo y blanco indican la progresión del sistema kárstico a través de estas formaciones geológicas. Instituto Geológico y Minero de España (IGME). (2021). Mapa Geológico de España a escala MAGNA. Disponible en: igme.maps.arcgis.com	4
1.4. Fotografías de la sonda de microespectroscopía raman utilizada por el grupo de altas presiones y espectroscopía de la Universidad de Cantabria. En (figura izquierda) se observa la sonda apuntando a depósito ocres de óxidos de hierro y en (figura derecha) a depósitos de óxidos de manganeso. Autoría de la fotografía: Jesús González.	4
2.1. Se representan los modos vibracionales en redes unidimensionales con uno y dos átomos por celda unitaria. En la parte superior, se muestra el modo acústico para una red de un átomo, donde la relación de dispersión es simétrica respecto al origen. En la parte inferior, se presentan los modos acústico y óptico para una red de dos átomos, exhibiendo una clara separación entre los modos en función del vector de onda K	9
2.2. Representación gráfica de la dispersión Raman: un fotón incidente con frecuencia ω_i interacciona con un material y se dispersa. Si la energía se transfiere al material, el fotón dispersado tiene una frecuencia ω_e menor y se denomina Stokes(rojo). Si el material transfiere energía al fotón, resultando en una frecuencia ω_e mayor, se denomina Anti-Stokes(azul)	10

2.3.	Representación esquemática de la Ley de Lambert-Beer. La intensidad de la luz incidente, $I_0(\lambda)$, disminuye a $I(\lambda)$ tras pasar por una muestra con una concentración c y un espesor dx . Esta ley establece que la disminución de la intensidad de la luz a través de un medio absorbente es proporcional al espesor del medio y a la concentración del absorbente.	10
2.4.	Celda unidad representativa de los carbonatos del grupo calcita. El negro es C, el blanco es O, y el gris es A, donde A es el catión divalente. Las oscilaciones de fonones que surgen del poliedro de carbonato se muestran debajo. Reproducido de Journal of Raman Spectroscopy 49(12), Craig P. Marshall, Carson J. Ruffledt, William J.B. Dufresne, "Raman spectroscopy of the eight natural carbonate minerals of calcite structure", páginas: 9, Copyright (2018), con permiso de John Wiley and Sons.	13
2.5.	Representaciones de las estructuras cristalinas de (figura izquierda) Todorokite y (figura derecha) Woodruffite generadas utilizando el programa VESTA. Se destacan las celdas unitarias y los poliedros de coordinación en cada mineral. Archivos .CIF obtenidos de los estudios de Post y Heaney [29] y Post et al. [30]	15
2.6.	Representación de estructuras tipo túnel de (figura izquierda) Todorokite y (figura derecha) Woodruffite generada utilizando el programa VESTA. Archivos .CIF obtenidos de los estudios de Post y Heaney [29] y Post et al. [30]	15
3.1.	Fotografía de la muestra recogida en la cavidad tras haber pasado el proceso de secado durante una semana. La muestra ha sido cortada por la mitad para facilitar el fotografiado y la posterior toma de micromuestras. Perfil de las dos mitades (Fig. izquierda) y planta superior de las dos mitades (Fig. derecha). . .	17
3.2.	Micromuestras recién cortadas mostrando (figura izquierda) la vista superior de la planta y (figura derecha) el perfil lateral. Cada segmento en la escala representa 1 cm.	18
3.3.	Reacción de una de las micromuestras con peróxido de hidrógeno al 35 %. Se puede observar la efervescencia propia de la descomposición del peróxido. . .	18
3.4.	Fotografía del espectrómetro Raman Horiba T64000 utilizado. Imagen obtenida del catálogo de DirectIndustry.	19
3.5.	Componentes del raman portátil utilizado para medir la fluorescencia de las muestras. Se puede observar A) el generador LASER de 532nm y en B) el monocromador	20
3.6.	Microscopio Raman con láser de 532 nm y monocromador sin filtro, equipado con una cámara digital integrada para la captura detallada y el análisis avanzado de fluorescencia en muestras microscópicas.	20
3.7.	Captura de pantalla de la interfaz inicial del software GRAMS, punto de partida para el procesamiento y análisis de espectros. Se observar el desplegable para acceder a la herramienta de procesamiento avanzado.	21
3.8.	Interfaz de la sección de procesamiento avanzado mostrando la herramienta de 'peak fitting'. En (figura izquierda) el espectro sin realizar ningún ajuste. Tras seleccionar los picos pertinentes (figura derecha) se posicionan las lorentzinas para realizar el ajuste.	22
3.9.	Pantalla de ejecución del ajuste en el software, utilizando la herramienta <i>run</i> . . .	22

4.1. Imagen de la muestra recogida en la cavidad, mostrando una sección transversal. Se pueden apreciar las capas distintivas y estructuras sedimentarias del estromatolito. La sección transversal proporciona información detallada sobre la organización interna y la composición mineralógica de esta formación.	23
4.3. Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de (figura izquierda) x10, con una escala de 500 μm (figura central) x20 con una escala de 100 μm (figura derecha) x40 con una escala de 50 μm . Se puede observar (figura izquierda) la alternancia entre capas oscuras laminadas y claras dendríticas. Por otra parte, en (figura derecha) se observan estructuras ovaladas de $\approx 1\mu\text{m}$	24
4.5. Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de x20. En (Fig. izquierda) se pueden distinguir 3 zonas principales en base al color, una zona negra A, una zona ocre B y una zona blanca C. En (Fig. derecha) la muestra tratada con peróxido de hidrógeno al 35 %, el color de los negros y ocres es más tenue y difuso.	24
4.7. Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de x20. Se pueden distinguir un monocristal semitransparente enfocando su zona superior (figura izquierda) y enfocando su zona inferior (figura derecha).	25
4.8. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las <i>black</i> . La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x50. Todo ello durante 120s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 153, 7, B) 280, C) 494, D) 584, F) 643, G) 711, A) 1085, todos ellos en cm^{-1}	26
4.9. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las <i>white</i> . La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 10 s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 150, 3, B) 278, 9, C) 481, 2, D) 576, 2, F) 644, 4, G) 711, 6, A) 1085, 5, todo ello en cm^{-1}	27
4.10. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las <i>bolitas</i> . La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 144, 1, B) 260, 6, C) 492, D) 579, 3, F) 656, 7, G) 711, 7, A) 1083, todo ello en cm^{-1}	28
4.11. Espectro dispersión Raman para $\alpha-$, $\beta-$, $\gamma-$ y $\delta-$ MnO_2 . Reproducido de Journal of Alloys and Compounds, 852, Shenggui Ma, Xue Ye, Xia Jiang, Wanglai Cen, Wenju Jiang, Hualin Wang, First principles calculation of mechanical, dynamical and thermodynamic properties of MnO_2 with four crystal phases, 6., Copyright (2020), con permiso de Elsevier [34].	28
4.12. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a <i>white</i> tratada con peróxido de hidrógeno. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. Los picos observados en 153, 7, 280, 711 y 1085 corresponden a las frecuencias características de la calcita, lo que indica una transformación química de la muestra tras el tratamiento.	29
4.13. Superposición de los espectros Raman de la muestra correspondiente a "bolitas" y de la muestra sometida al tratamiento con peróxido de hidrógeno. Se observa un desplazamiento en el espectro de la muestra sin tratar, mientras que la otra corresponde con el espectro característico de la calcita.	31

- 4.14. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *black*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120s. (Fig. izquierda) En azul el ajuste forzado a la fase $\alpha - \text{MnO}_2$, con picos en 577,9, 634,8 cm^{-1} . (Fig. derecha) En azul el ajuste forzado a la fase $\beta - \text{MnO}_2$ mediante lorentzianas, con picos en 537,85, 666,33 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas. 32
- 4.15. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *black*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. En azul el ajuste forzado a la fase $\gamma - \text{MnO}_2$ mediante lorentzianas, con picos en 494,5, 575,9 y 649,2 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas. 32
- 4.16. Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las bolitas. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. En azul el ajuste mediante lorentzianas, con picos en (figura izquierda) 138,1, 146 y 153,4 cm^{-1} y (figura derecha) 148,8, 265,2, 278 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas. 33
- 4.17. Espectros Raman rotacionales y vibracionales puros del aire ambiente a temperatura ambiente y presión atmosférica. Reproducido de Journal of Glaciology, Hiroshi Ohno, Yoshinori Iizuka, Shuji Fujita, "Pure rotational Raman spectroscopy applied to N_2/O_2 analysis of air bubbles in polar firn," Copyright 2021, Cambridge University Press, con permiso de Cambridge University Press bajo la licencia Creative Commons CC BY [39]. 34
- 4.18. Las curvas de dispersión de fonones calculadas para MnO_2 con diferentes fases cristalinas. (a) $\alpha - \text{MnO}_2$, (b) $\beta - \text{MnO}_2$, (c) $\gamma - \text{MnO}_2$, (d) $\delta - \text{MnO}_2$. Reproducido de Journal of Alloys and Compounds, 852, Shenggui Ma, Xue Ye, Xia Jiang, Wanglai Cen, Wenju Jiang, Hualin Wang, First principles calculation of mechanical, dynamical and thermodynamic properties of MnO_2 with four crystal phases, 5., Copyright (2020), con permiso de Elsevier. 34
- 4.19. Espectro de fluorescencia de la muestra en tres zonas diferentes. La información ha sido recogida con la sonda Raman portátil, utilizando un láser de 514 nm y una lente de x20. El espectro negro corresponde a la zona *black*, el azul a la zona *bolitas* y el rojo a la zona *white*. 35
- 4.21. Fotografía tomada con el microscopio del equipo Raman portátil, donde se incide con un láser de 514 nm sobre la zona *black* (izquierda) y *bolitas* (derecha). 35
- 4.23. Fotografía tomada con el microscopio del equipo Raman portátil, donde se incide con un láser de 514 nm sobre un monocristal correspondiente a *white* con el láser apagado (izquierda) con el láser encendido (derecha). 35

Capítulo 1

Introducción

La espeleología, más allá de ser una actividad de exploración, ha permitido a científicos y entusiastas descubrir maravillas geológicas que han permanecido ocultas durante milenios. Estas formaciones subterráneas, a menudo inaccesibles, ofrecen una ventana única al pasado geológico y biológico de nuestro planeta.

En una reciente expedición al sistema del Alto Bueras en Cantabria (Fig. 1.1), el equipo de exploración espeleológica ADEMCO descubrió una formación rocosa que, a simple vista, evocaba las características de los estromatolitos cavernarios (son estructuras rocosas biogénicas formadas por la producción de partículas sedimentarias por parte de comunidades microbianas). Estas estructuras, que son el resultado de la acumulación de capas de microorganismos y sedimentos a lo largo del tiempo, han sido objeto de fascinación y estudio en diversas regiones del mundo [1] [2] [3]. Sin embargo, su presencia y características en las cuevas de Cantabria aún no han sido exhaustivamente investigadas.



Figura 1.1: Vista de la entrada de la cavidad Buchi, mostrando su apertura característica en el paisaje kárstico. En el interior, se observan las formaciones geológicas y las características espeleológicas de la cueva. Fotografías realizadas por José Luis Sierra (Grupo de exploración ADEMCO), en ellas, dos integrantes del grupo: Luis Gómez Fernández y Manuel Manrique.

La elección de este tema no fue casual. Tras haber observado formaciones similares en otras cavidades, surgió la inquietud de entender mejor su origen, composición y significado en el contexto geológico de la región. Dos investigaciones previas, una centrada en los depósitos de manganeso en la cueva de Azé [4] en Francia y otra en los estromatolitos de manganeso en la cueva El Soplao [5] en Cantabria (Fig. 1.2), han proporcionado valiosos antecedentes. Ambos estudios sugieren una fuerte influencia microbiana en la formación de estos depósitos y plantean preguntas sobre las condiciones ambientales que favorecen su desarrollo.

El núcleo de esta investigación radica en dos cuestiones fundamentales: ¿Son realmente estromatolitos las estructuras encontradas en el sistema del Alto Bueas? Y si es así, ¿cuál es su estructura cristalina y composición química? La hipótesis que guía este trabajo se basa en la notable similitud entre el corte transversal de nuestra muestra y los estromatolitos cavernarios descritos en la literatura científica.

Dado que el trabajo involucra una investigación multidisciplinar, en la que las técnicas físicas de caracterización de materiales desempeñan un papel decisivo, este aspecto se plantea en el marco de este trabajo, como introducción a las técnicas de caracterización de materiales y la aplicación del método científico en estos sistemas complejos.

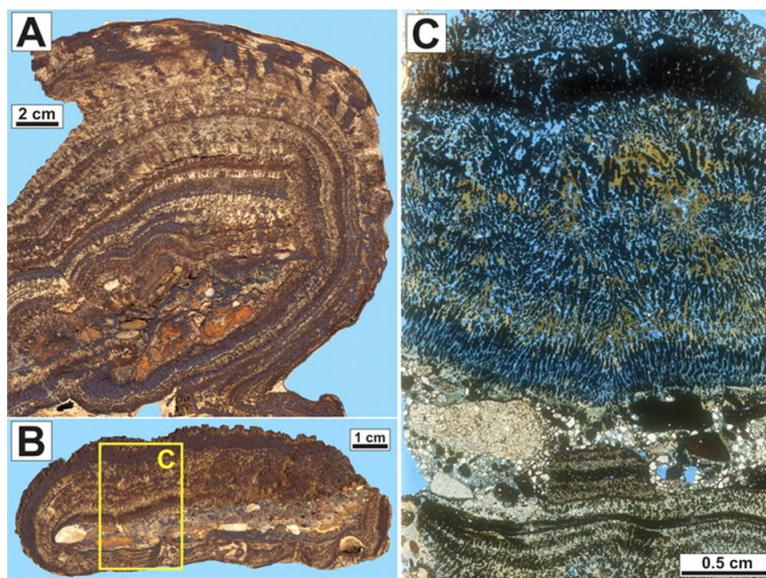


Figura 1.2: A: Depósito rico en óxido de manganeso con capas alternas más oscuras y compactas y láminas más claras y porosas. Obsérvese el núcleo de grava, el bandeo crenulado y en aumento hacia arriba, y la presencia de láminas truncadas. B: Oncoides rico en óxido de manganeso. C: Sección delgada de B, mostrando láminas dendríticas predominantes con alta porosidad (en azul) y núcleo de clastos de arenisca y limolita. Reproducido de *Geology* 32, Carlos Rossi, Rafael P. Lozano, Núria Isanta, John Hellstrom Copyright (2010), con permiso de Geological Society of America.

El método de trabajo seguido es el siguiente. Tras la recolección y preparación de las muestras, se llevaron a cabo análisis espectroscópicos Raman. Estos análisis, que permiten identificar y comparar los picos espectrales de diferentes compuestos, son esenciales para determinar la presencia de óxidos de manganeso y carbonatos, entre otros.

A través de este estudio, aspiramos a hacer una contribución al conocimiento de la estructura cristalina de los compuestos generados por microorganismos en el subsuelo cántabro. Además, esperamos arrojar luz sobre la geología y microbiología de estas regiones, enriqueciendo así nuestra comprensión de estos ecosistemas subterráneos únicos.

1.1. Estromatolitos y estromatolitos cavernarios

Los estromatolitos son estructuras sedimentarias laminadas formadas principalmente por la actividad metabólica de microorganismos. Estos microorganismos pueden unir partículas o inducir la precipitación mineral [6], dando lugar a la formación de estas estructuras características [7].

Aunque tradicionalmente se asocian con ambientes marinos y lacustres y están compuestos principalmente de CaCO_3 , los estromatolitos pueden tener otras composiciones. Existen microorganismos no fotosintéticos que pueden producir compuestos de fosfato, sílice o incluso

óxidos de ferromanganeso [8].

Su presencia en cuevas, especialmente en regiones oscuras, es un fenómeno poco conocido. Aunque se han identificado costras de óxido de manganeso en algunas cuevas [9], estas no siempre presentan características típicas de estromatolitos. Sin embargo, en lugares como la cueva El Soplao, se han descubierto compuestos por óxido de manganeso [5]. Estos, son similares en estructura a los formados de CaCO_3 , pero su formación está respaldada por una abundante presencia de microbios fósiles, lo que revela su origen biogénico. Sin embargo, dada la complejidad de establecer la biogenicidad y la posibilidad de interpretaciones alternativas, es esencial abordar con cautela la autenticidad de estos fósiles y considerar la posibilidad de que algunos puedan ser pseudofósiles.

La distinción entre fósiles auténticos y pseudofósiles ha sido un tema recurrente en la investigación geobiológica. Los pseudofósiles, aunque pueden parecerse a fósiles a primera vista, no tienen un origen biológico. Para determinar con precisión la biogenicidad de las estructuras, es esencial aplicar un conjunto de criterios rigurosos. Según Ivarsson, Broman y Holm [8], es posible establecer una serie de criterios específicos para muestras de rocas cristalinas que ayuden a discernir entre fósiles auténticos y pseudofósiles. Estos criterios abordan aspectos como la compatibilidad del contexto geológico con la vida, la autenticidad del supuesto microfósil en la roca, la presencia de morfología microbiológica, la existencia de restos químicos que indiquen vida pasada, evidencia de colonias o comunidades y la presencia de biominerales.

Los estromatolitos cavernarios pueden ofrecer una ventana única al pasado, permitiendo una mejor comprensión de las condiciones ambientales de antiguos depósitos microbianos. Estos pueden ser indicativos de condiciones subóxicas similares a las que se encontraban en la Tierra durante el Precámbrico [10]. Además, su estudio puede arrojar luz sobre la capacidad de adaptación de los microorganismos en ambientes extremos, como el interior de las cuevas.

1.2. El sistema del Alto Bueras

El sistema kárstico del Alto Bueras (Fig. 1.3), localizado en la región de Voto (atravesada por el río Clarín), representa una estructura geológica fundamental en el estudio de procesos kársticos en rocas sedimentarias. Este sistema se ha desarrollado en dos tipos principales de rocas: las calizas con rudistas y orbitolinas y las areniscas y arcillas limolíticas (Fig. 1.3).

Las calizas con rudistas y orbitolinas son rocas sedimentarias que contienen bivalvos conocidos como rudistas y foraminíferos ¹ denominados orbitolinas, indicativos de antiguos ambientes marinos de poca profundidad. Por otro lado, las areniscas y arcillas limolíticas, también de origen sedimentario, se componen de granos de arena y limo, reflejando una variedad de ambientes de deposición [11].

1.3. Aplicaciones de la micro-espectroscopía Raman en restos arqueológicos y paleontológicos

La arqueología y la paleontología, disciplinas que se dedican al estudio de nuestro pasado, han experimentado una revolución en las últimas décadas gracias a la incorporación de tecnologías avanzadas. Una de estas tecnologías es la micro-espectroscopía Raman, que ha demostrado ser esencial para el estudio detallado de pinturas, restos óseos y útiles prehistóricos [12]. Esta técnica, que se basa en la dispersión inelástica de la luz, ha permitido a los investigadores caracterizar materiales a nivel molecular sin recurrir a métodos invasivos o destructivos,

¹Organismo unicelular perteneciente al filo Foraminifera, caracterizado por tener una concha o testa generalmente compuesta de carbonato de calcio [11].

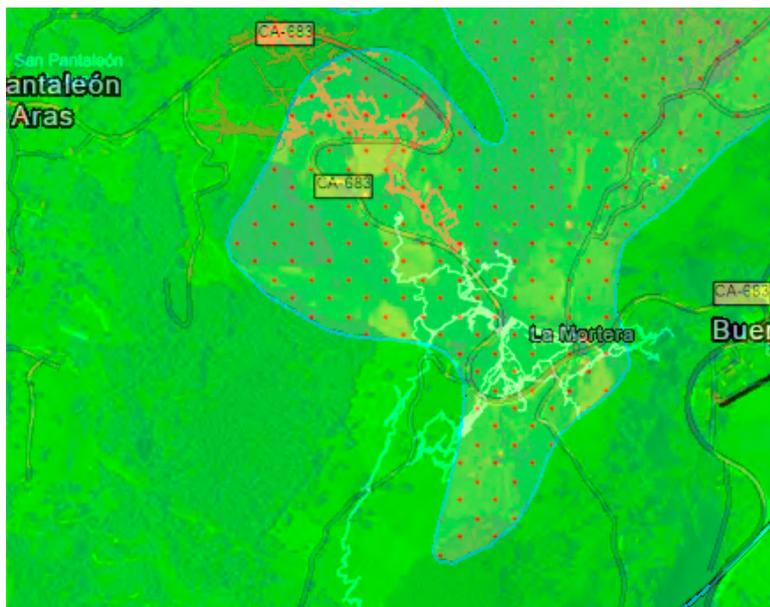


Figura 1.3: Mapa geológico del sistema del Alto Bueras. Las áreas representadas en verde corresponden a las calizas con rudistos y orbitolinas, mientras que las zonas punteadas denotan las arcillas limolíticas. Las trazas en rojo y blanco indican la progresión del sistema kárstico a través de estas formaciones geológicas. Instituto Geológico y Minero de España (IGME). (2021). Mapa Geológico de España a escala MAGNA. Disponible en: igme.maps.arcgis.com

preservando así la integridad de las valiosas muestras.

La plataforma tecnológica multiuso del grupo de Altas Presiones y Espectroscopía de la Universidad de Cantabria, equipado con un laboratorio Raman de alta resolución y equipos portátiles para trabajos de campo, ha transformado la forma en que se abordan los estudios arqueológicos. Ya no es necesario transportar muestras frágiles y valiosas a laboratorios distantes. Ahora, los investigadores pueden llevar a cabo análisis *in situ*, ya sea en el interior de cuevas, en yacimientos arqueológicos o incluso en museos e institutos donde se almacenan o exhiben las muestras [13].



Figura 1.4: Fotografías de la sonda de microespectroscopía raman utilizada por el grupo de altas presiones y espectroscopía de la Universidad de Cantabria. En (figura izquierda) se observa la sonda apuntando a depósito ocre de óxidos de hierro y en (figura derecha) a depósitos de óxidos de manganeso. Autoría de la fotografía: Jesús González.

Un ejemplo de la aplicación de esta tecnología (Fig. 1.4) es la cueva de La Pasiéga [14]. Aquí, la micro-espectroscopía Raman se utilizó para caracterizar espeleotemas de CaCO_3 , que se encontraron cerca de las pinturas de La Cierva. Estos análisis permitieron identificar las variedades de calcita y aragonito en puntos específicos de las formaciones, lo que llevó a cuestionar las dataciones previas realizadas por otros investigadores. Este hallazgo pone de manifiesto la precisión y el poder de la técnica, así como su capacidad para enriquecer nuestra comprensión del pasado.

Otra colaboración institucional aplicando esta técnica se ha dado con el Museo de Prehistoria y Arqueología de Cantabria (MUPAC). En el yacimiento de Atapuerca, por ejemplo, se analizaron muestras de sedimento para identificar la presencia y variación de óxidos de hierro [15]. Estos análisis han proporcionado información sobre las condiciones geológicas y ambientales de la época.

Dentro del marco de estudio del sistema kárstico del Alto Bueras, la utilización de esta tecnología se presenta como esencial para la identificación estructural de las micromuestras de roca, proporcionando una herramienta crucial para la comprensión detallada de estas formaciones geológicas.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

En este apartado, se presentarán los fundamentos teóricos necesarios para comprender los aspectos clave relacionados con el análisis químico y estructural de las micromuestras mediante espectroscopía Raman y la espectroscopía de emisión. En primer lugar, se abordará con cierto detalle la espectroscopía Raman, que constituye la base fundamental de esta investigación. Se explorarán sus principios básicos, incluyendo la teoría del efecto Raman, los conceptos de desplazamiento Raman y modos vibracionales. Posteriormente, se examinará la espectroscopía de emisión fotoluminiscente, una técnica complementaria que ofrece información sobre las propiedades ópticas y estructurales. Estos fundamentos teóricos serán la raíz para comprender y contextualizar el enfoque metodológico utilizado en el estudio de las micromuestras encontradas en el sistema kárstico.

2.1. Espectroscopía Raman

La dispersión Raman está estrechamente relacionada con los modos vibracionales en los materiales, los cuales se refieren a las diferentes maneras en que los átomos en un cristal pueden oscilar alrededor de sus posiciones de equilibrio. Estas vibraciones son cuantizadas y son descritas por ondas llamadas fonones. Los modos vibracionales pueden ser clasificados de acuerdo con la manera en que los átomos se mueven; por ejemplo, si todos los átomos se mueven juntos en la misma dirección, el modo es acústico, pero si los átomos adyacentes se mueven en direcciones opuestas, el modo es óptico.

2.1.1. Modos vibracionales

Dentro del contexto de la estructura cristalina, es importante resaltar que los átomos en un cristal están dispuestos en una red tridimensional periódica. Esta estructura periódica permite analizar las vibraciones de la red en términos de ondas planas, facilitando la descripción matemática de los modos vibracionales. La teoría de los fonones describe cómo las vibraciones de los átomos en una red cristalina pueden ser entendidas en términos de estas ondas cuantizadas. Los fonones son los cuantos de estas vibraciones, similar a cómo los fotones son los cuantos de las ondas electromagnéticas.

Antes de profundizar en la ecuación fundamental que describe las vibraciones, es esencial introducir el concepto de coordenadas normales. Las coordenadas normales son un conjunto de coordenadas que son función de las coordenadas cartesianas, utilizadas para describir los modos vibracionales en un sistema, ya que su uso permite diagonalizar fácilmente la matriz dinámica del sistema, que proporciona las frecuencias y los modos de vibración asociados. En el caso de una red cristalina, las coordenadas normales q_n son funciones del tiempo y

representan la amplitud de vibración en el modo normal n . La expresión matemática para una coordenada normal $q_n(t)$ en términos de las amplitudes q_{n0} y las frecuencias angulares ω_n de los modos normales es [16]

$$q_n(t) = q_{n0} \cos(\omega_n t) \quad (2.1)$$

Por ejemplo, para describir las vibraciones de un cristal unidimensional con un único tipo de átomos

$$-M\omega^2 u_s = C(u_{s+1} + u_{s-1} - 2u_s) \quad (2.2)$$

donde M es la masa del átomo, C es la constante de fuerza entre átomos vecinos u_s , es el desplazamiento del átomo s y ω la frecuencia angular de la vibración.

Para una red con dos tipos de átomos de masa M_1 y M_2 , la relación de dispersión se vuelve más complicada [17, p. 185]

$$\omega^2 = C \left(\frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2} \right) \pm C \sqrt{\left(\frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2} \right)^2 - \frac{4 \sin^2(Ka)}{M_1 M_2}} \quad (2.3)$$

En este caso, se observan dos ramas de vibración: la rama óptica y la rama acústica. En la rama óptica, los dos tipos de átomos oscilan en fase opuesta, mientras que en la rama acústica oscilan en fase [17]. Esto tiene implicaciones importantes para la dispersión Raman, ya que los modos ópticos son generalmente más activos en Raman debido al cambio en la polarizabilidad que ocurre cuando los átomos oscilan en fase opuesta [18].

Las curvas de dispersión (Fig. 2.1) son representaciones gráficas de la relación entre la frecuencia angular ω y el vector de onda K de los modos vibracionales. Estas curvas proveen información crucial sobre la naturaleza de las vibraciones en la red, y son particularmente importantes para entender cómo varían las frecuencias de los modos con el momento en la red.

Las ecuaciones para una red con un solo tipo de átomo 2.2 y para una red con dos tipos de átomos 2.3 proporcionan las relaciones de dispersión matemáticas, y estas pueden ser graficadas para obtener las curvas de dispersión.

En el caso de sólidos cristalinos con estructuras más complejas, como pueden ser óxidos o carbonatos, el cálculo de las curvas vibracionales asociadas tiene mayor dificultad, recurriendo a modelos numéricos y computacionales.

2.1.2. Teoría del efecto Raman

En el contexto de los modos vibracionales que mencionamos anteriormente, la dispersión Raman puede ser interpretada clásicamente a través de la polarizabilidad dependiente del tiempo de las moléculas. Cuando una molécula es expuesta al campo eléctrico $E(t) = E_o \cos \omega t$ de una onda electromagnética, el momento dipolar p de la molécula está dado por la expresión [16]

$$p = \mu_0 + \alpha E \quad (2.4)$$

donde μ_0 es el momento dipolar permanente y αE es el momento dipolar inducido por el campo eléctrico a frecuencia ω . La polarizabilidad α es un tensor de segundo orden, con componentes α_{ij} . Las propiedades de transformación de las componentes α_{ij} de α dependen de la simetría de la molécula o cristal, esto es, de las coordenadas normales.

El momento dipolar total para una molécula que vibra está entonces dado por [16, p. 164]

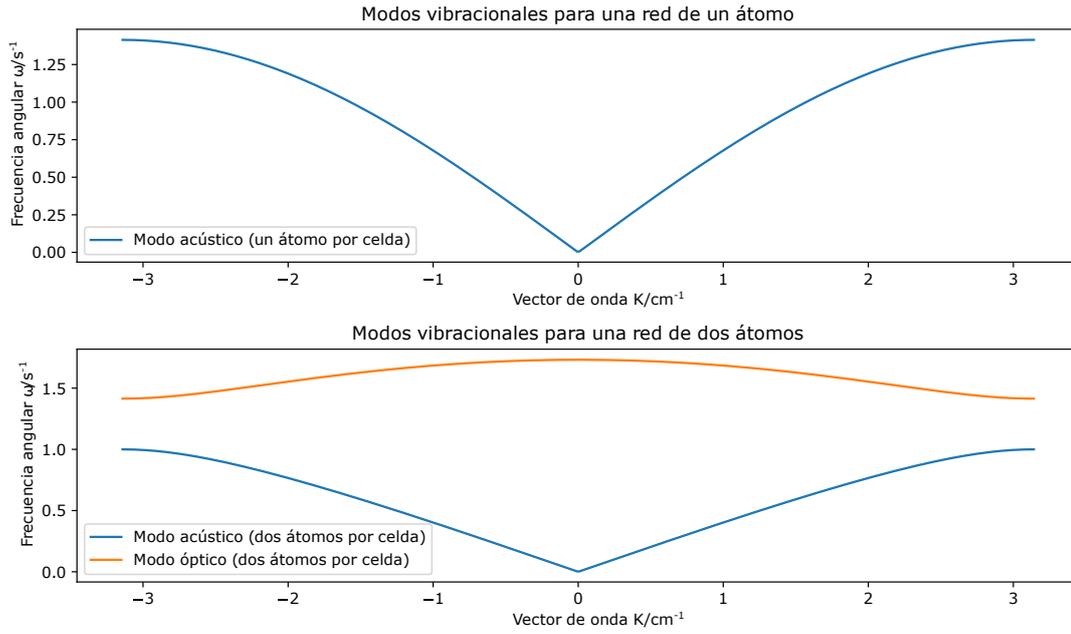


Figura 2.1: Se representan los modos vibracionales en redes unidimensionales con uno y dos átomos por celda unitaria. En la parte superior, se muestra el modo acústico para una red de un átomo, donde la relación de dispersión es simétrica respecto al origen. En la parte inferior, se presentan los modos acústico y óptico para una red de dos átomos, exhibiendo una clara separación entre los modos en función del vector de onda K .

$$p = \mu_0 + \alpha(0)E_0 \cos(\omega t) + \frac{E_0}{2} \sum_{n=1}^Q \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_n} \right)_0 q_{n0} [\cos\{(\omega + \omega_n) t\} + \cos\{(\omega - \omega_n) t\}] \quad (2.5)$$

Dado que un dipolo oscilante emite radiación cuyo campo eléctrico es proporcional a $E(t) \propto \frac{d^2 p}{dt^2}$, donde

$$\frac{d^2 p}{dt^2} = \alpha(0)E(0) \cos \omega t + \frac{E_0}{2} \left(\frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_n} \right)_0 q_{n0} \omega^2 [\cos\{(\omega + \omega_n) t\} + \cos\{(\omega - \omega_n) t\}] \quad (2.6)$$

En la expresión 2.5, el segundo término representa la dispersión Rayleigh y el tercer término a la dispersión Raman. Por lo tanto, para que un modo vibracional de una molécula sea "Raman Activo", es necesario que $(\partial \alpha_{ij} / \partial q_n)_{q=0} = 0$.

En el contexto de la física de fonones, el efecto Raman se refiere específicamente a la dispersión inelástica de la luz a partir de fonones ópticos. Estos fonones ópticos son esencialmente sin dispersión ¹ cerca de $q = 0$.

¹Su frecuencia no cambia significativamente con pequeños cambios en el vector de onda

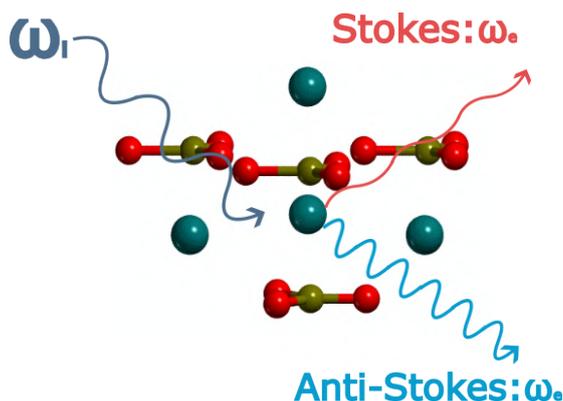


Figura 2.2: Representación gráfica de la dispersión Raman: un fotón incidente con frecuencia ω_i interactúa con un material y se dispersa. Si la energía se transfiere al material, el fotón dispersado tiene una frecuencia ω_e menor y se denomina Stokes(rojo). Si el material transfiere energía al fotón, resultando en una frecuencia ω_e mayor, se denomina Anti-Stokes(azul)

Durante el proceso de dispersión Raman en un cristal, se deben cumplir las leyes de conservación de energía y momento. La conservación de energía dicta que $\omega_i = \omega_e \pm \Omega$, donde ω_i y ω_e son las frecuencias de los fotones incidente y dispersado respectivamente, y Ω es la frecuencia del fonón. La conservación del momento se describe por $k_i = k_e \pm K$, donde k_i y k_e son los vectores de onda de los fotones incidente y dispersado respectivamente, y K es el vector de onda del fonón para procesos a un solo fonón, esto implica que solo se van a activar los modos $\Gamma(K \simeq 0)$. En este contexto, las líneas Stokes (Fig. 2.2) surgen cuando la frecuencia de dispersión Raman es $\omega_e - \Omega$. Estas líneas son más intensas que las anti-Stokes debido a que la población de moléculas en el nivel vibracional fundamental ($\omega = 0$) es mayor que en el primer nivel excitado ($\omega = 1$), siguiendo la ley de distribución de Maxwell-Boltzmann. Por lo tanto, se acostumbra medir solo el lado Stokes del espectro. Por otro lado, las líneas anti-Stokes corresponden a la frecuencia $\omega_e + \Omega$ [19].

2.2. Absorción de la energía de excitación y emisión luminescente

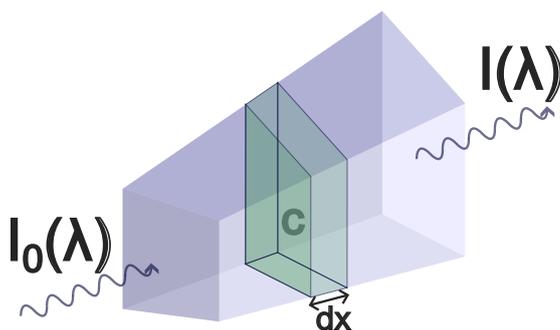


Figura 2.3: Representación esquemática de la Ley de Lambert-Beer. La intensidad de la luz incidente, $I_0(\lambda)$, disminuye a $I(\lambda)$ tras pasar por una muestra con una concentración c y un espesor dx . Esta ley establece que la disminución de la intensidad de la luz a través de un medio absorbente es proporcional al espesor del medio y a la concentración del absorbente.

La espectroscopía de absorción y emisión luminescente tiene sus raíces en los trabajos pioneros de Bunsen y Kirchhoff, quienes establecieron la relación entre las líneas de emisión y absorción atómicas. La ley de Beer-Lambert, que rige la absorción de luz (Fig. 2.3), se expresa como [20]:

$$\frac{dI(\lambda)}{dx} = -\alpha I(\lambda) \quad (2.7)$$

donde α se define como el coeficiente de absorción y λ la longitud de onda de la luz. La transmisión de luz a través de un medio se obtiene al integrar la Ecuación 2.7:

$$I_T(\lambda) = I_0(\lambda) \exp(-\alpha x) \quad (2.8)$$

por lo tanto, la transmitancia viene dada por

$$T(\lambda) = \frac{I_t}{I_o} = \exp(-\alpha x) \quad (2.9)$$

con ello, el espectro de absorción viene dado por

$$\alpha(\lambda) = \frac{1}{x} \ln \frac{I_0}{I_T} \quad (2.10)$$

El coeficiente α se puede reescribir como $c\epsilon$, donde c es la concentración molar y ϵ el coeficiente de absorción molar.

2.2.1. Regla de Oro de Fermi

La probabilidad de transición entre dos estados cuánticos, esencial en los procesos de absorción y emisión, se cuantifica mediante la regla de oro de Fermi [18], que establece:

$$W_{ij} = \frac{2\pi}{\hbar} |\langle j|H'|i\rangle|^2 \rho(E_j) \quad (2.11)$$

donde W_{ij} es la probabilidad por unidad de tiempo de la transición del estado inicial i al estado final j , H' es el hamiltoniano de perturbación, \hbar es la constante reducida de Planck y $\rho(E_j)$ es la densidad de estados finales.

En el marco de la aproximación de dipolo eléctrico, el Hamiltoniano de perturbación H' se define como la interacción entre el momento dipolar eléctrico del sistema μ_{DE} y el campo eléctrico externo E_0 , expresado por:

$$H' = e\mathbf{r} \cdot \mathbf{E}_0 = \mu_{DE} \cdot \mathbf{E}_0 \quad (2.12)$$

Para un hamiltoniano dipolar, la fuerza del oscilador f_{ij} , cantidad adimensional que relaciona que cantidad de la energía del oscilador clásico debería ser atribuida a una transición [21], se relaciona con el elemento de matriz del operador de posición entre los estados inicial y final, y es proporcional a la probabilidad de transición. La relación entre la fuerza del oscilador y el elemento de matriz es dada por[16]:

$$f_{ij} = \frac{2m\omega_{ji}}{3\hbar e^2} |\langle j|\mu_{DE}|i\rangle|^2 \quad (2.13)$$

donde m es la masa del electrón, ω_{ji} es la frecuencia angular de la transición y $|\langle j|\mu_{DE}|i\rangle|^2$ es el cuadrado del elemento de matriz del operador momento dipolar eléctrico. Este elemento de matriz es crucial para determinar la intensidad de la interacción dipolar y, por ende, la intensidad de las líneas espectrales observadas en la espectroscopía.

La fuerza del oscilador se deriva de la teoría cuántica y proporciona una explicación de por qué algunas líneas de absorción y emisión atómicas son más intensas que otras. Esto se debe

a las diferencias en los elementos de matriz para las transiciones entre los distintos estados cuánticos.

2.2.2. Retorno radiativo al estado fundamental: Luminescencia

El retorno al estado fundamental puede ser espontáneo o inducido. La emisión espontánea se describe con la ecuación de tasa de Einstein para la emisión espontánea [21]:

$$\frac{dN_f}{dt} = -N_f A_{f1} \quad (2.14)$$

donde N_f es la población del estado f y A_{fi} el coeficiente de Einstein para la emisión espontánea $f \rightarrow i$.

La emisión inducida sigue la relación:

$$\frac{dN_f}{dt} = -N_f B_{f1} \rho(\bar{\nu}) \quad (2.15)$$

donde B_{f1} es el coeficiente de Einstein para la emisión inducida y $\rho(\bar{\nu})$ la densidad de estados radiativos.

Los coeficientes de Einstein son calculados mediante la regla de oro de Fermi 2.11.

2.3. Estromatolitos cavernarios en sistemas kársticos

2.3.1. Definición y formación de estromatolitos

Los estromatolitos son depósitos sedimentarios laminados que resultan del crecimiento y/o actividad metabólica de microbios bentónicos², que unen partículas clásticas³ y/o inducen la precipitación mineral [22]. Aunque la mayoría de los estromatolitos están compuestos de CaCO_3 e inducidos por microbios fotosintéticos en ambientes marinos y lacustres, existen microorganismos no fotosintéticos que también pueden producir estromatolitos con composiciones distintas, como fosfato, sílice o óxidos de ferromanganeso [23].

2.3.2. Estromatolitos en sistemas kársticos

En las regiones oscuras de las cuevas, la formación de estromatolitos es prácticamente desconocida. Aunque se han descrito costras de óxido de manganeso en algunas, la evidencia de origen microbiano suele ser inconclusa [4]. Sin embargo, en la cueva El Soplao, se describen por primera vez extensos estromatolitos de óxido de manganeso formados en su interior [5]. Estos presentan características extremadamente similares a los estromatolitos típicos de CaCO_3 , pero a diferencia de la mayoría, su biogenicidad está respaldada por la excepcional abundancia de microbios fósiles.

2.3.3. Importancia científica y ambiental de los estromatolitos cavernarios

Los estromatolitos cavernarios, como los encontrados en El Soplao, pueden contribuir a aumentar nuestra comprensión de las condiciones ambientales de antiguos depósitos microbianos

²Organismos que habitan en el fondo de los ecosistemas acuáticos.

³Las partículas clásticas son fragmentos de roca o mineral que se han desprendido de masas rocosas más grandes debido a procesos erosivos, y que posteriormente son transportados por agentes como el agua.

de ferromanganeso, como algunos estromatolitos precámbricos que también podrían haberse formado en condiciones subóxicas [10]. La formación de estos estromatolitos en cuevas proporciona una ventana única a la actividad microbiana [22] en ambientes subterráneos y destaca la capacidad de los microorganismos para adaptarse y prosperar en condiciones extremas.

2.4. Estructura cristalina y actividad Raman en compuestos de interés

2.4.1. Carbonatos

Los carbonatos, siendo el más común la calcita (CaCO_3), son minerales que se encuentran en rocas sedimentarias, ígneas y metamórficas. Los minerales del grupo de la calcita (Fig. 2.4) están compuestos por aniones CO_3^{2-} que forman poliedros trigonales planos rígidos. Estos poliedros contienen carbono en el centro de un triángulo equilátero formado por tres oxígenos. La geometría triangular de los poliedros CO_3 domina la estructura de los carbonatos de estructura de calcita, lo que resulta en una simetría trigonal/romboédrica [24].

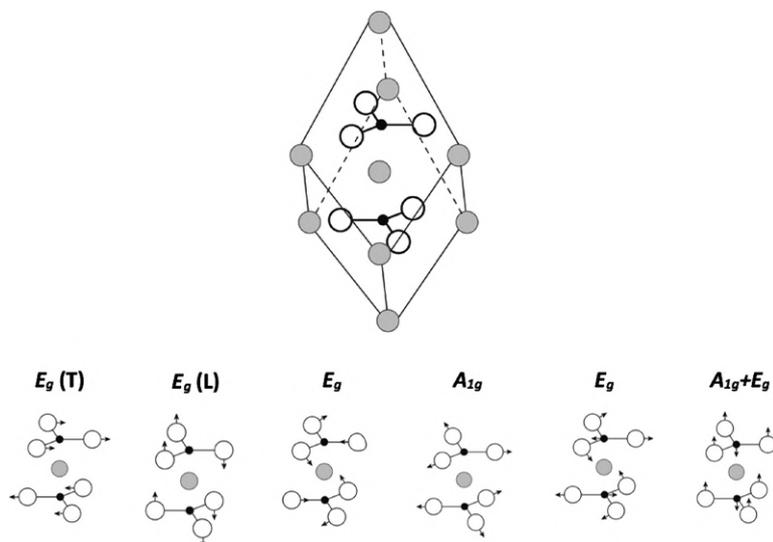


Figura 2.4: Celda unidad representativa de los carbonatos del grupo calcita. El negro es C, el blanco es O, y el gris es A, donde A es el catión divalente. Las oscilaciones de fonones que surgen del poliedro de carbonato se muestran debajo. Reproducido de Journal of Raman Spectroscopy 49(12), Craig P. Marshall, Carson J. Ruffledt, William J.B. Dufresne, "Raman spectroscopy of the eight natural carbonate minerals of calcite structure", páginas: 9, Copyright (2018), con permiso de John Wiley and Sons.

En el estudio de Dufresne, Ruffledt y Marshall [24] se ha observado que el fonón A_{1g} varía entre $1,084$ y $1,094 \text{ cm}^{-1}$ dependiendo del catión divalente presente. Además, se ha identificado que los modos E_g (externos) en 154 y 281 cm^{-1} se asignan como fonones translacionales (T) y liberacionales (L) E_g , respectivamente.

En el espectro Raman de la calcita pura, se han identificado las siguientes asignaciones de fonones: el modo A_{1g} (interno) asociado a la vibración de estiramiento C – O del grupo CO_3^{2+} está en $1,085 \text{ cm}^{-1}$, los modos E_g (internos) en 711 y $1,434 \text{ cm}^{-1}$, y los modos E_g (externos) en 154 y 281 cm^{-1} [24]. Estos picos son característicos y esenciales para la identificación y caracterización de los minerales de carbonato.

Dentro del estudio de los carbonatos, en el meteorito condrítico Cold Bokkeveld, se han identificado varios ensamblajes⁴ que revelan una evolución compleja del cuerpo parental. Estos

⁴Grupo de minerales que coexisten y se forman bajo condiciones similares en una roca o depósito mineral.

ensamblajes varían en su composición y morfología, reflejando diferentes etapas y condiciones de formación [25].

El Ensamblaje 3 [25] es particularmente interesante. Se presenta como un objeto globular de aproximadamente $100 \times 130 \mu\text{m}^2$ incrustado en una matriz rica en filosilicatos. Este ensamblaje comprende un cristal de pirrotita $\text{Fe}_{(1-x)}\text{S}$ ($x = 0 - 0,2$) con un borde de pentlandita $(\text{Ni}, \text{Fe})_9\text{S}_8$, que está parcialmente reemplazado por calcita a lo largo del límite pirrotita/pentlandita. Parte de la pirrotita que está en contacto directo con la pentlandita y la calcita ha mostrado signos de disolución. La ausencia de productos de alteración ricos en azufre, como la tochilinita, en las cercanías indica que la disolución del sulfuro y la formación de carbonatos estuvieron estrechamente relacionadas [25].

Tabla 2.1: Frecuencias de los modos vibracionales activos Raman para diferentes carbonatos con estructura tipo calcita. Las frecuencias se presentan en cm^{-1} . En el caso del ensamblaje 3, los datos han sido extraídos de Farsang et al. [25]. Los demás del estudio Dufresne, Ruffledt y Marshall [24]

Compuesto	Modos activos Raman / cm^{-1}			
	$E_g(\text{T})$	$E_g(\text{L})$	E_g	A_{1g}
CaCO_3	154	280	711	1085
CdCO_3	159	272	715	1088
MnCO_3	185	292	720	1088
FeCO_3	184	287	735	1087
ZnCO_3	194	303	730	1093
CoCO_3	200	309	730	1092
MgCO_3	215	333	738	1094
	ν_1	ν_2	ν_3	ν_4
Ensamblaje 3	142	282	710	1081

Por último, el aragonito es otra de las formas polimórficas del CaCO_3 . Según el estudio de Buzgar, Apopei et al. [26], el espectro Raman del aragonito está dominado por una intensa banda atribuida al modo ν_1 de estiramiento simétrico del grupo carbonato, con números de onda en 1083, 1069 y 1059 cm^{-1} . Además, se realizó un estudio detallado sobre las propiedades Raman del aragonito monocristalino a una temperatura de 80 K [27]. Aunque se proporcionan numerosos modos Raman y sus frecuencias correspondientes, es relevante mencionar que la totalidad de estos y sus frecuencias específicas se detallan en una tabla dentro del documento de De La Pierre et al. [27] y también Dufresne, Ruffledt y Marshall [24].

2.4.2. Óxidos de manganeso

Los óxidos de manganeso (MnO_x) presentan una variedad de fases cristalinas y estructuras que determinan sus propiedades químicas y físicas.

La fase $\alpha - \text{MnO}_2$ se manifiesta a través de una estructura tetragonal perteneciente al grupo espacial I4/m. Esta estructura se compone de una celda unidad que integra bloques de octaedros MnO_6 , intercalados con canales vacíos de dimensiones coherentes. La fase $\beta - \text{MnO}_2$ o pirolusita, una variante tetragonal de MnO_2 , bajo el grupo P42/mnm, se caracteriza por tener túneles abiertos (2x2) en una red conformada por octaedros MnO_6 . Además es la forma estable del óxido. Por otro lado, la fase $\gamma - \text{MnO}_2$ presenta una estructura de túnel complejo. Finalmente, la fase $\delta - \text{MnO}_2$ o Birnessite, que es tetragonal y pertenece al grupo espacial P63/mmc, se compone de un marco espinela $[\text{Mn}_2]\text{O}_4$. En esta estructura, los cationes Mn^{4+} se sitúan en posiciones octaédricas, mientras que los aniones de oxígeno se distribuyen en sitios específicos. [28]

Otras fases de intereses, como la Birnessite, destacan por su estructura lamelar que cuen-

ta con espacios intercalados capaces de albergar cationes y agua. En una línea similar, tanto Coronadite como Todorokite $(\text{Na}, \text{Ca}, \text{K}, \text{Ba}, \text{Sr})_{0,3-0,7}(\text{Mn}, \text{Mg}, \text{Al})_6\text{O}_{12} \cdot 3, 2 - 4, 5(\text{H}_2\text{O})$ (Fig. 2.6) presentan estructuras de túnel, siendo especialmente aptos para contener diversos cationes. Woodruffite $\text{Zn}_{0,2}(\text{Mn}_{0,6}^{4+}\text{Mn}_{0,4}^{3+})\text{O}_2 \cdot 0, 7(\text{H}_2\text{O})$ (Fig. 2.6), por su parte, se distingue por su estructura única que presenta túneles 3x4, mientras que Hollandite es reconocido por su estructura de túnel.

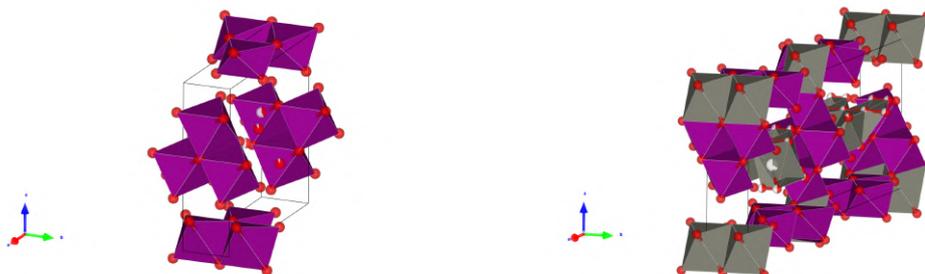


Figura 2.5: Representaciones de las estructuras cristalinas de (figura izquierda) Todorokite y (figura derecha) Woodruffite generadas utilizando el programa VESTA. Se destacan las celdas unitarias y los poliedros de coordinación en cada mineral. Archivos .CIF obtenidos de los estudios de Post y Heaney [29] y Post et al. [30]



Figura 2.6: Representación de estructuras tipo túnel de (figura izquierda) Todorokite y (figura derecha) Woodruffite generada utilizando el programa VESTA. Archivos .CIF obtenidos de los estudios de Post y Heaney [29] y Post et al. [30]

Tabla 2.2: Frecuencias de los modos vibracionales activos Raman para las fases α , β y γ , todorokite y woodruffite del MnO_2 . Las frecuencias se presentan en cm^{-1} . Los resultados han sido extraídos de Julien, Massot y Poinssignon [28], para las frecuencias de Woodruffite se ha utilizado la información de [31].

Compuesto	Modos activos Raman / cm^{-1}								
	ν_1	ν_2	ν_3	ν_4	ν_5	ν_6	ν_7	ν_8	ν_9
$\alpha - \text{MnO}_2$	259	-	410	507	586	628	-	-	-
$\beta - \text{MnO}_2$	-	319	377	486	538	-	665	-	750
$\gamma - \text{MnO}_2$	264	337	379	491	520	572	631	670	738
Todorokita	263	-	358	-	590	641	-	-	730
Woodruffite	161	233	303	419	510	548	627	734	-

Los óxidos de manganeso, especialmente en el contexto marino [8], presentan una variedad de estructuras y composiciones que reflejan las condiciones geoquímicas y geotérmicas de su entorno de formación. Una característica notable de algunos es su estructura globular. Esta morfología es el resultado de procesos de nucleación y crecimiento en ambientes donde las condiciones favorecen su precipitación. Estas estructuras globulares pueden ser indicativas de condiciones específicas de formación, como variaciones en la química del agua o en la actividad microbiana.

En el contexto de los depósitos ferromanganesíferos, la estructura globular puede estar asociada con la precipitación de óxidos en presencia de microorganismos que facilitan o catalizan

la formación de estas estructuras [32]. Además, la presencia de estructuras globulares en óxidos de manganeso puede tener implicaciones en la interpretación de las condiciones paleoambientales y en la comprensión de los procesos geoquímicos que tuvieron lugar durante la formación de estos depósitos [7].

Es importante mencionar que, además de la morfología globular, los óxidos de manganeso pueden presentar otras morfologías dependiendo de las condiciones de formación, como laminaciones, estructuras botrioidales o concreciones [32]. La identificación y estudio detallado de estas estructuras puede proporcionar información valiosa sobre las condiciones geoquímicas y biológicas del ambiente de deposición y sobre los procesos que condujeron a la formación de estos óxidos.

Capítulo 3

Metodología experimental

3.1. Selección y preparación de muestras de estromatolitos cavernarios

La preparación meticulosa de las muestras es un paso fundamental para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos mediante el análisis Raman. Cada etapa del proceso de preparación ha sido diseñada para optimizar la calidad de las muestras y asegurar que reflejen con precisión las características del material original. A continuación, se detallan los pasos llevados a cabo en este proceso:

Antes de cualquier manipulación, las muestras se dejaron secar al aire libre durante siete días. Este secado natural es esencial para minimizar el contenido de humedad en las muestras, ya que la presencia de agua puede interferir con el análisis Raman, afectando la calidad de los espectros obtenidos [33].



Figura 3.1: Fotografía de la muestra recogida en la cavidad tras haber pasado el proceso de secado durante una semana. La muestra ha sido cortada por la mitad para facilitar el fotografiado y la posterior toma de micromuestras. Perfil de las dos mitades (Fig. izquierda) y planta superior de las dos mitades (Fig. derecha).

Tras el secado, se procedió a cortar las muestras en fragmentos más pequeños, conocidos como micromuestras (Fig. 3.2). Para ello, se utilizó una segueta especializada que permitió obtener cortes precisos sin dañar o alterar la estructura interna de las muestras.

Las micromuestras, una vez obtenidas, se sometieron a un proceso de aplanamiento. Utilizando papel de lijar de diferentes granulometrías, se pulió la superficie de cada micromuestra hasta lograr una superficie lo más plana y uniforme posible. Este paso es crucial para garantizar una observación nítida bajo el microscopio Raman y asegurar que el láser incida de manera uniforme sobre toda la superficie de la muestra.

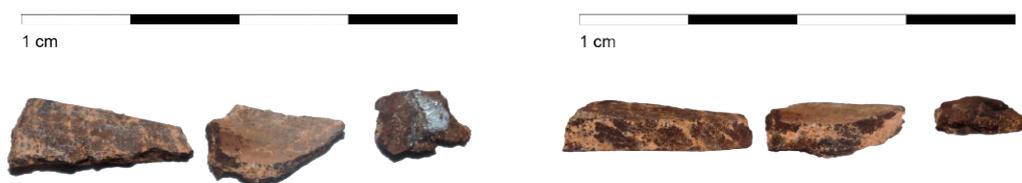


Figura 3.2: Micromuestras recién cortadas mostrando (figura izquierda) la vista superior de la planta y (figura derecha) el perfil lateral. Cada segmento en la escala representa 1 cm.

Es importante destacar que una de las micromuestras se sometió a un baño en una solución de peróxido de hidrógeno H_2O_2 al 35 % (Fig. 3.3). Este tratamiento químico puede ayudar a resaltar características específicas de la muestra y a prepararla para un análisis más detallado, ya que reacciona fuertemente con el MnO_2 dando lugar a compuestos de valencia más estable como el MnO .

Antes de proceder con el análisis Raman, se realizó una inspección visual detallada de cada micromuestra preparada. Esto permitió verificar que no hubiera irregularidades o imperfecciones que pudieran afectar los resultados del análisis.



Figura 3.3: Reacción de una de las micromuestras con peróxido de hidrógeno al 35 %. Se puede observar la efervescencia propia de la descomposición del peróxido.

3.2. Configuración experimental

Se ha utilizado el espectrómetro Raman Horiba T64000 (Fig. 3.4), un instrumento diseñado específicamente para investigaciones Raman de alta resolución. Este dispositivo emplea una óptica cofocal y se distingue por su alta resolución espectral ($0,6 \text{ cm}^{-1}$) y su capacidad para minimizar eficientemente la interferencia de luz parásita mediante una configuración de triple monocromador de modo sustractivo. Adicionalmente, está equipado con un filtro Rayleigh ajustable que opera en un rango que va desde el ultravioleta (UV) hasta el infrarrojo cercano (NIR).



Figura 3.4: Fotografía del espectrómetro Raman Horiba T64000 utilizado. Imagen obtenida del catálogo de DirectIndustry.

Se empleó el láser Coherent Innova Spectrum 70C $\text{Kr}^+ - \text{Ar}^+$ con una longitud de onda específica de 514 nm. Para optimizar la focalización y resolución de las muestras, se utilizaron objetivos de x20 y x50, permitiendo así una observación detallada y precisa de las características espectrales en el análisis Raman, en puntos de focalización de 10 y 4 μm respectivamente.

3.2.1. Adquisición de datos de fluorescencia

El dispositivo utilizado para las medidas de fluorescencia es un sistema de espectroscopía Raman portátil. Otra opción hubiera sido utilizar un fluorímetro, pero dado que la cantidad de centros absorbentes es baja, conviene utilizar un haz de luz láser [20] para excitar con potencias superiores a 10 mW. Este sistema está compuesto por varios componentes que trabajan en conjunto para permitir la detección y caracterización de señales espectrales:

- El generador láser, A en la Fig. 3.5, pieza fundamental del sistema, es un láser de semiconductor que proporciona la fuente de luz necesaria para la excitación de la muestra. El láser opera a una longitud de onda de 532 nm.



Figura 3.5: Componentes del raman portátil utilizado para medir la fluorescencia de las muestras. Se puede observar A) el generador LASER de 532nm y en B) el monocromador

- El monocromador (Fig. 3.5) B es un dispositivo óptico que se utiliza para dispersar la luz en sus componentes espectrales. En un sistema Raman, selecciona y filtra la luz dispersada que proviene de la muestra después de la excitación láser, permitiendo que solo las longitudes de onda deseadas lleguen al detector. Al no tener un filtro puede capturar un rango más amplio de señales.

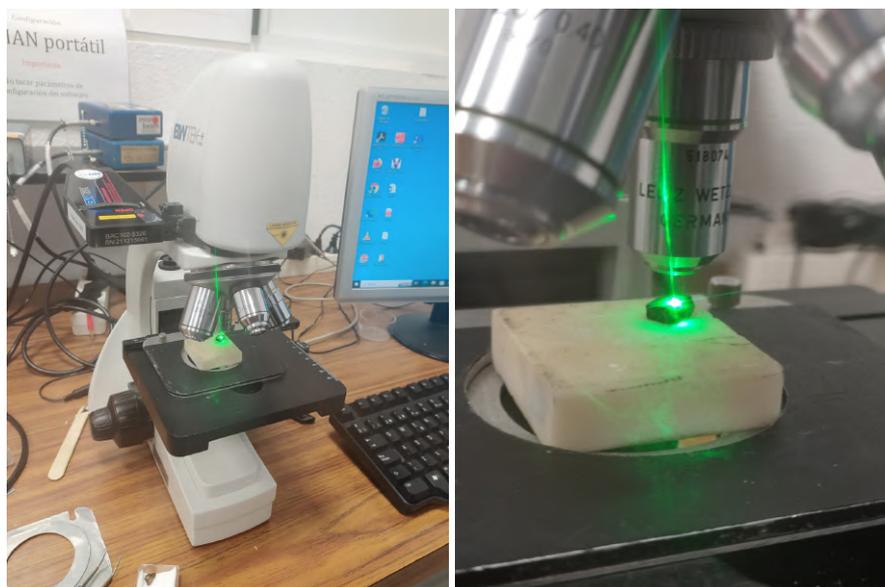


Figura 3.6: Microscopio Raman con láser de 532 nm y monocromador sin filtro, equipado con una cámara digital integrada para la captura detallada y el análisis avanzado de fluorescencia en muestras microscópicas.

- El microscopio (Fig. 3.6) permite enfocar el láser en la muestra y recoger la luz dispersada con alta precisión. La cámara digital integrada captura imágenes de la muestra, lo que permite una correlación directa entre la señal espectroscópica y la morfología de la muestra

3.3. Adquisición de datos espectroscópicos

Tras observar y caracterizar las diferentes partes de la muestra, se procedió a la adquisición de datos espectroscópicos de las distintas zonas de interés. Se utilizó el espectrómetro Raman T64000 con un láser sintonizado a 514 nm. Se emplearon objetivos de x20 y x50. El objetivo de x20 ofrece un campo de visión más amplio, ideal para obtener una perspectiva general de la muestra, mientras que la lente de x50 proporciona un detalle más fino, siendo útil para zonas

específicas que requieren una mayor resolución. Además, se variaron los tiempos de toma de datos para asegurar una recopilación óptima. Dependiendo de la zona y la naturaleza de la muestra, se ajustaron los tiempos para capturar la máxima información sin sobreexponerla al láser.

3.4. Procesamiento y análisis de datos Raman

Para el procesamiento y análisis de los datos Raman, se ha empleado el software GRAMS/AI de Thermo-Galactic. Este software es reconocido por su capacidad para visualizar, procesar y gestionar datos espectroscópicos. A continuación, se detallan los pasos seguidos en el procesamiento de los datos:

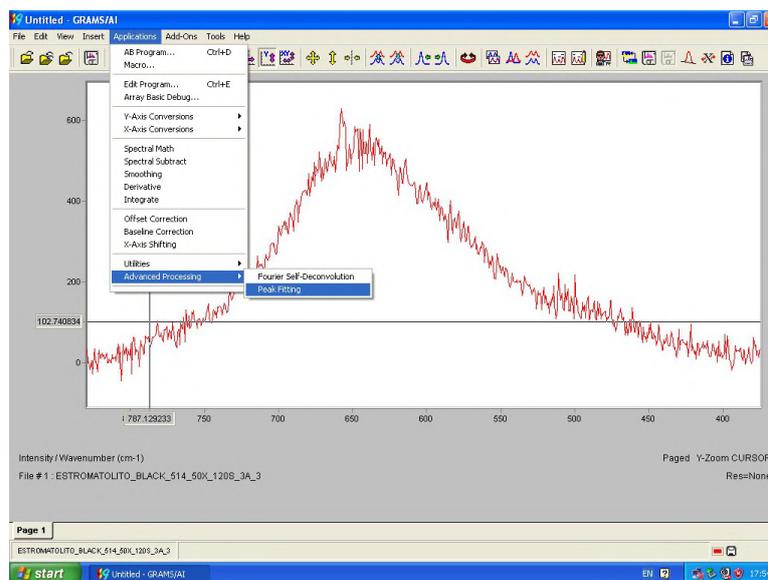


Figura 3.7: Captura de pantalla de la interfaz inicial del software GRAMS, punto de partida para el procesamiento y análisis de espectros. Se observa el desplegable para acceder a la herramienta de procesamiento avanzado.

- **Conversión de archivos:** Se inició convirtiendo los archivos de formato .txt a .spc utilizando la herramienta GRAMS Convert, que permite la conversión inteligente de múltiples directorios, transformando formatos conocidos al estándar GRAMS .SPC.
- **Edición de las unidades de los ejes:** Se ajustaron las unidades de los ejes para que reflejaran Unidades arbitrarias de intensidad (UA)/cm⁻¹.
- **Corrección de la línea base:** Factores como el ruido o las contribuciones de la fluorescencia pueden modificar las intensidades aparentes del espectro. Mediante esta corrección se pueden suprimir estos agentes.
- **Corrección del offset:** Se realizó una corrección del offset para garantizar que los datos reflejaran con precisión las mediciones realizadas.
- **Eliminación de spikes:** Se identificaron y eliminaron los spikes, que son picos generados por la incidencia de la radiación externa en el CCD. Estos picos pueden interferir con el análisis preciso de los datos.
- **Procesamiento avanzado:** En la sección de procesamiento avanzado (Fig. 3.7) del software, se accedió a la herramienta de "peak fitting" o ajuste de picos.

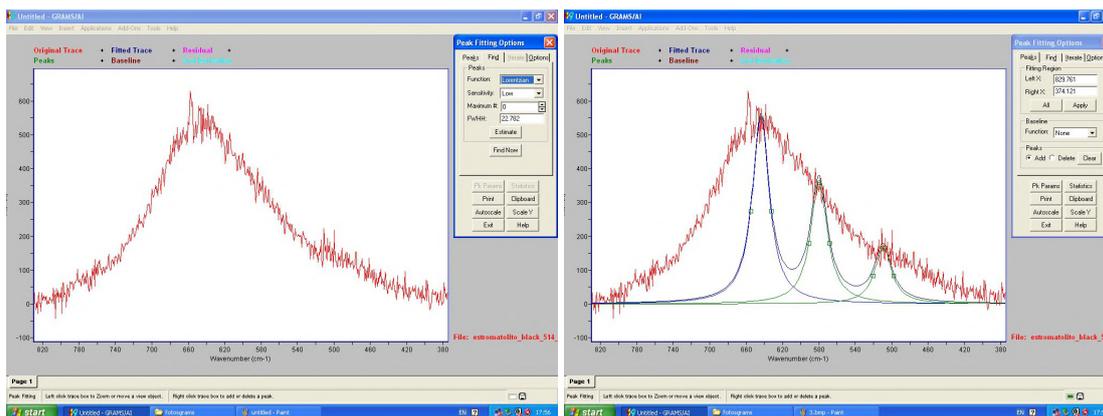


Figura 3.8: Interfaz de la sección de procesamiento avanzado mostrando la herramienta de 'peak fitting'. En (figura izquierda) el espectro sin realizar ningún ajuste. Tras seleccionar los picos pertinentes (figura derecha) se posicionan las lorentzinas para realizar el ajuste.

- **Observación y selección de picos característicos:** Se observaron los posibles picos característicos y se seleccionaron utilizando el ajuste del espectro a picos con perfil lorentziano (Fig. 3.8). Este ajuste es preferido en espectroscopía Raman debido a que proporciona una representación adecuada de la forma y anchura de los picos, siendo especialmente útil para describir fenómenos de resonancia.
- **Ejecución del ajuste:** Se procedió a ejecutar el ajuste utilizando la herramienta *run* del software (Fig. 3.9).

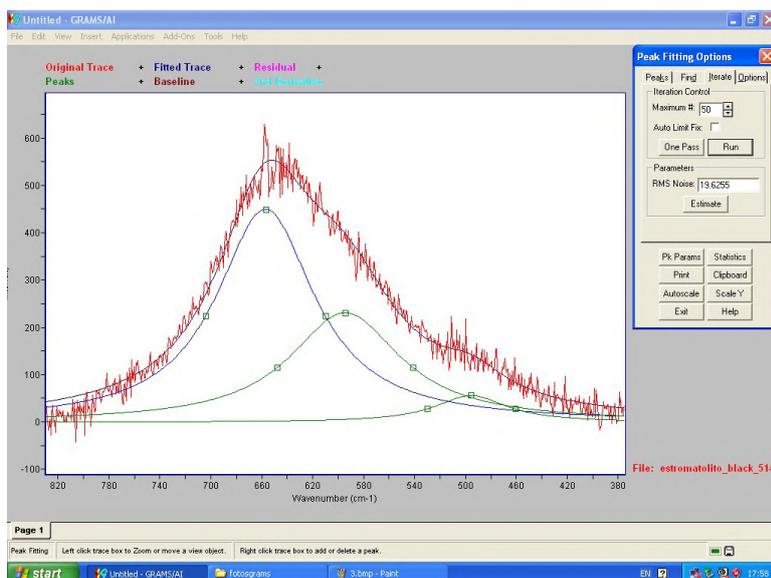


Figura 3.9: Pantalla de ejecución del ajuste en el software, utilizando la herramienta *run*.

- **Modificación de parámetros:** En caso de que el ajuste inicial no fuera el deseado, se modificaron los parámetros de los picos hasta obtener la envolvente que mejor se adaptara a los datos observados.

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Análisis morfológico de las muestras

Las muestras obtenidas en la cavidad han sido cortadas mediante una segueta, obteniéndose lo siguiente (Fig. 4.1).



Figura 4.1: Imagen de la muestra recogida en la cavidad, mostrando una sección transversal. Se pueden apreciar las capas distintivas y estructuras sedimentarias del estromatolito. La sección transversal proporciona información detallada sobre la organización interna y la composición mineralógica de esta formación.

La muestra estudiada (Fig. 4.1) presenta características morfológicas distintivas que pueden corresponder a las de un estromatolito. Internamente, la estructura se distingue por la presencia de bandas bien definidas. Estas se componen de capas alternadas: las laminadas, que exhiben un tono oscuro, y las dendríticas, que se manifiestan con una tonalidad más clara. Específicamente, las capas dendríticas se caracterizan por formar una intrincada red de cilindros que se ramifican en diversas direcciones. Las ramas derivadas de estas ramificaciones poseen un espesor que varía entre 1 y 5 cm.

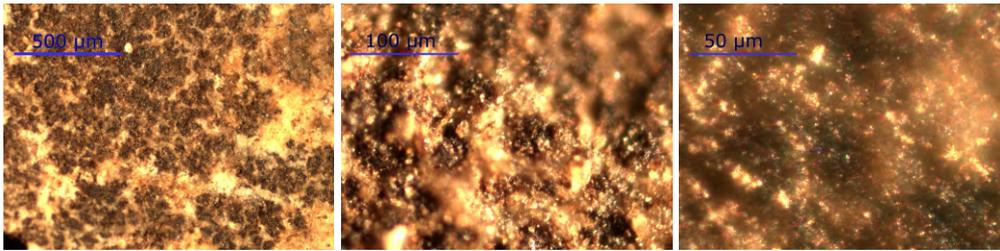


Figura 4.3: Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de (figura izquierda) $\times 10$, con una escala de $500 \mu\text{m}$ (figura central) $\times 20$ con una escala de $100 \mu\text{m}$ (figura derecha) $\times 40$ con una escala de $50 \mu\text{m}$. Se puede observar (figura izquierda) la alternancia entre capas oscuras laminadas y claras dendríticas. Por otra parte, en (figura derecha) se observan estructuras ovaladas de $\approx 1 \mu\text{m}$.

En el núcleo de la muestra, se identifica un nódulo arcilloso que destaca por presentar cristalizaciones (Fig. 4.1). Finalmente, al observar la pieza desde una perspectiva externa, se puede apreciar que adopta una forma esférica-lobular. Adicionalmente, al observar con una lente de $\times 40$ (Fig. 4.3), se destaca la presencia de poros ovals de tamaño micrométrico, los cuales se localizan en el centro de las mencionadas ramificaciones.

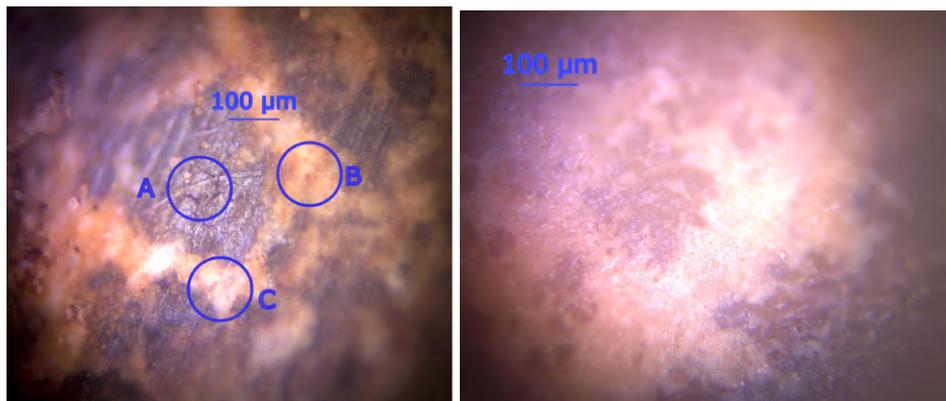


Figura 4.5: Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de $\times 20$. En (Fig. izquierda) se pueden distinguir 3 zonas principales en base al color, una zona negra A, una zona ocre B y una zona blanca C. En (Fig. derecha) la muestra tratada con peróxido de hidrógeno al 35 %, el color de los negros y ocre es más tenue y difuso.

La Fig. 4.5 ofrece una vista detallada de la muestra bajo examen a través de un microscopio de reflexión con una lente de $\times 20$, observándose variaciones notables en la coloración entre una muestra tratada y una sin tratar con peróxido de hidrógeno al 35 % (reacción que se expondrá en detalle más adelante). En la primera imagen, se distinguen claramente tres zonas basadas en la coloración: una zona negra, una zona ocre y una zona blanca, cada una demarcando las diferentes capas y estructuras internas de la muestra. Sin embargo, en la segunda imagen, correspondiente a la muestra tratada con el peróxido, los colores negro y ocre aparecen más tenues y difusos, indicando una posible alteración en la composición o estructura.

En la Fig. 4.7, se observa la muestra con una lente de $\times 20$, enfocándose en un monocristal semitransparente en particular. En la primera imagen, el enfoque está en la zona superior del monocristal, destacando su transparencia. Por otro lado, en la segunda imagen, el enfoque se traslada a la zona inferior del monocristal, para poder distinguir la profundidad de la zona.

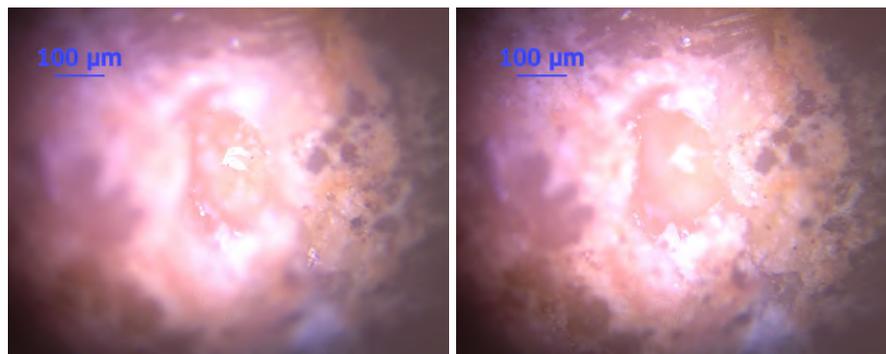


Figura 4.7: Imágenes de la muestra obtenidas a partir de un microscopio de reflexión con una lente de x20. Se pueden distinguir un monocristal semitransparente enfocando su zona superior (figura izquierda) y enfocando su zona inferior (figura derecha).

En resumen, el análisis con microscópico distingue tres zonas cruciales en la muestra: la zona negra, asociada a capas laminadas oscuras y densas; la zona ocre, relacionada con capas dendríticas de morfología compleja, en las que se distinguen microestructuras ovales; y la zona blanca, que podría indicar una región de cristalización o composición mineral diferente. Estas zonas reflejan la diversidad mineralógica y textural de la muestra, y el cambio en la coloración post-tratamiento con peróxido de hidrógeno sugiere una reactividad química que requiere una exploración adicional en su estudio.

4.2. Caracterización estructural de las muestras

4.2.1. Análisis de los picos espectrales característicos

A continuación se discutirán los resultados obtenidos de los espectros Raman de las muestras, las cuales han sido categorizadas en distintas zonas de interés (Fig. 4.5): *black* correspondiente a A, *white* correspondiente a C, *bolitas* correspondiente a B y la muestra tratada con peróxido de hidrógeno denominada *oh*.

Zona negra

En primer lugar, la zona *black* (Fig. 4.3 A), caracterizada por su coloración oscura y densidad, que sugiere un contenido mineral específico y condiciones de formación particulares. Para la toma de datos se ha utilizado un láser de 514 nm, una lente de x50 y un tiempo de exposición de 120 s.

Comparando los picos identificados (Fig. 4.8) con la tabla 2.1, se observa que los picos 153.7, 280, 711, y 1085 cm^{-1} coinciden con las frecuencias de los modos vibracionales activos Raman para la calcita (CaCO_3), que son 154, 280, 711, y 1085 cm^{-1} , respectivamente. Esto sugiere que este compuesto está presente en las muestras analizadas.

La coincidencia de los picos del espectro Raman con los modos vibracionales de la calcita indica que las capas laminadas oscuras y densas contienen este mineral. Su presencia en estas capas puede estar relacionada con procesos de precipitación mineral durante la formación de la muestra, como se sugiere en el ensamblaje 3 (ver Fundamentos 2), donde la calcita aparece reemplazando parcialmente a la pirrotita.

En cuanto a los óxidos de manganeso, la tabla 2.2 proporciona información específica sobre sus picos característicos. Los picos 494, 584, y 643 cm^{-1} podrían compararse con los picos de las fases que aparecen en la tabla. Por ejemplo, el pico en 494 podría estar asociado con la fase de la todorokita, mientras que el pico en 643 podría corresponder a la fase de la birnessita,

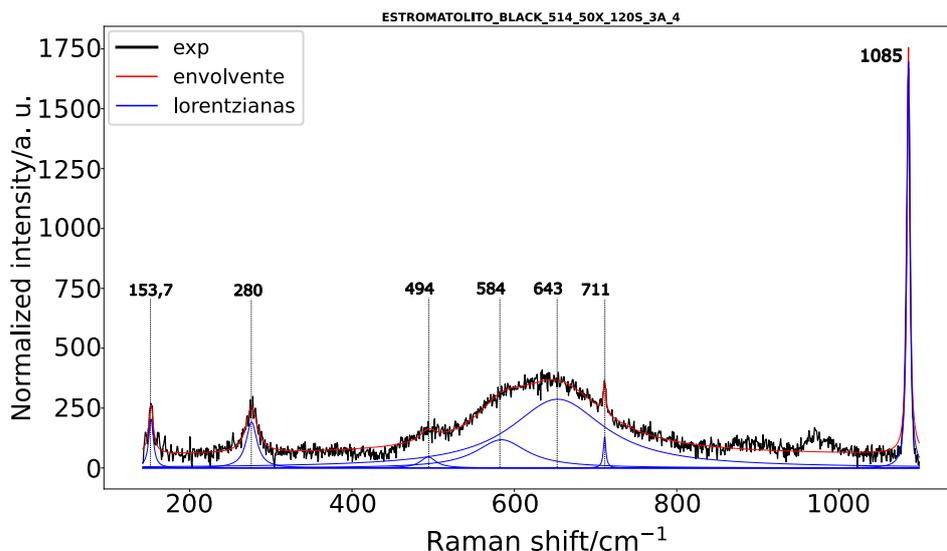


Figura 4.8: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *black*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x50. Todo ello durante 120s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 153,7, B) 280, C) 494, D) 584, F) 643, G) 711, A) 1085, todos ellos en cm^{-1} .

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
Calcita	153,0	204,8	6,9
Calcita/ MnO_2	280,0	191,9	16,1
MnO_2	494,0	45,9	23,2
MnO_2	584,0	117,8	76,5
MnO_2	643,0	286,9	141,1
Calcita	711,0	129,9	3,8
Calcita	1085,0	1700,0	4,4

Tabla 4.1: Características de los picos identificados en el espectro Raman correspondientes a la zona *black* (Fig. 4.8). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).

ambas fases de MnO_x . Para poder discernir entre todas las fases cuales aparecen en el espectro, se hará más adelante un estudio más detallado de los picos característicos.

Zona blanca

Se prosigue con la zona *white*, que contrasta con la *black* por su coloración más clara que podría indicar diferencias en la composición mineral y en los procesos diagenéticos.

Los picos identificados en el espectro *white* (Fig. 4.9) se presentan en las siguientes posiciones: 150,3, 278,9, 481,2, 576,2, 644,4, 711,6, y 1085,5 cm^{-1} . Estos picos son indicativos de la presencia de calcita y óxidos de manganeso en las muestras.

Se observa una relación evidente entre las regiones *black* y *white*, pero con pequeñas variaciones. En el caso de este espectro, el nivel de ruido complica un análisis detallado de los picos.

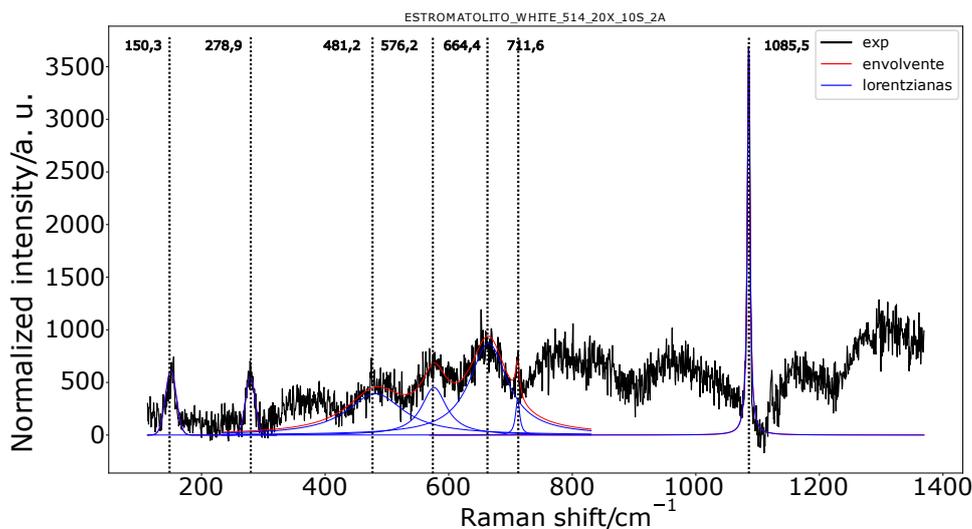


Figura 4.9: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *white*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 10 s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 150,3, B) 278,9, C) 481,2, D) 576,2, F) 644,4, G) 711,6, A) 1085,5, todo ello en cm^{-1} .

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
Calcita	150,3	609,4	20,8
Calcita/ MnO_2	278,9	558,7	18,2
MnO_2	481,2	393,5	111,3
MnO_2	576,2	451,5	49,4
MnO_2	644,4	871,5	75,5
Calcita	711,6	343,2	8,0
Calcita	1085,5	3694,0	5,2

Tabla 4.2: Características de los picos identificados en el espectro Raman de la zona correspondiente a las *white* (Fig. 4.9). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).

Zona ocre

El análisis del espectro en la zona (Fig. 4.10) de la muestra correspondiente a *bolitas* (Fig. 4.3 B) se ha llevado a cabo utilizando un láser de 514 nm y una lente de x20 durante un tiempo de exposición de 120 segundos. Los picos característicos identificados en el espectro Raman se presentan en las siguientes posiciones: 144,1, 260,6, 492, 579,3, 656,7, 711,7, y 1083 cm^{-1} .

El pico en 711,7 y el pico en 1083 de nuevo son consistentes con los modos vibracionales de la calcita. Los otros picos característicos de la calcita se encuentran desplazados hacia la izquierda, lo que puede indicar factores que los modifican que se expondrán más adelante.

En lo que se refiere a los óxidos, el pico 260,6 se da en diferentes fases cristalinas, como la α , la γ o la todorokita. El pico 492, si bien también podría darse por la fase β , la ausencia de otros picos intensos [34] característicos y la presencia del doble pico en torno a 600 (Fig. 4.11) plantea decantarse por la presencia de fase γ . Los picos 579,3 y 656,7 también son consistentes con esta última.

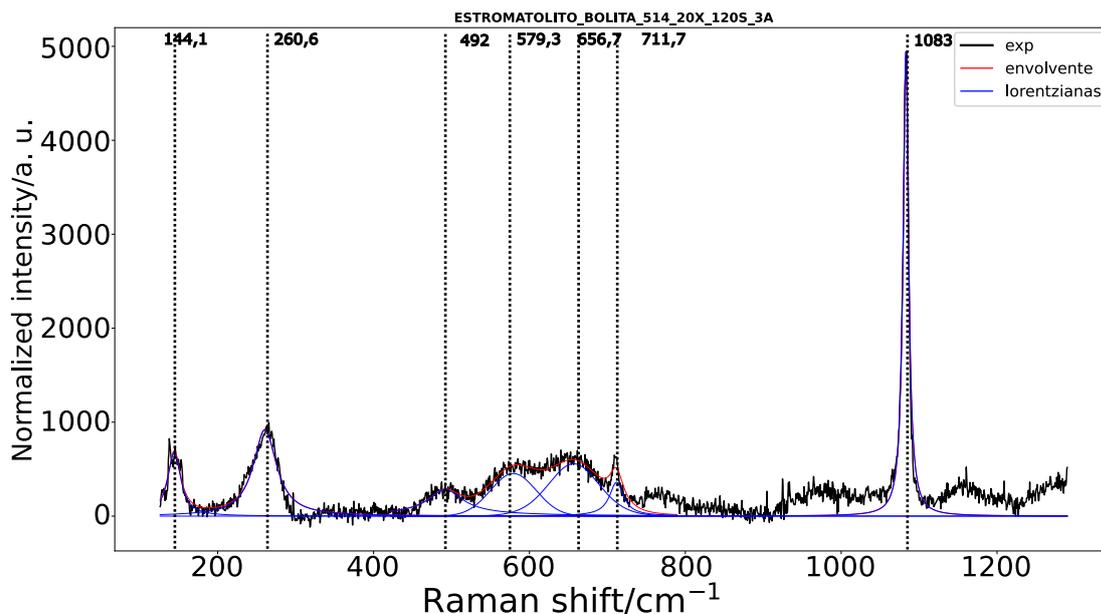


Figura 4.10: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *bolitas*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. Los picos característicos se muestran en el espectro. Los principales picos identificados son: A) 144, 1, B) 260, 6, C) 492, D) 579, 3, F) 656, 7, G) 711, 7, A) 1083, todo ello en cm^{-1} .

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FHWM/ cm^{-1}
Calcita	144,1	671,3	20,3
Calcita/MnO ₂	260,6	919,0	36,0
MnO ₂	492,0	282,2	58,7
MnO ₂	579,3	453,6	68,9
MnO ₂	656,7	557,1	77,0
Calcita	711,7	360,6	22,0
Calcita	1083,0	4948	8,4

Tabla 4.3: Características de los picos identificados en el espectro Raman de la zona correspondiente a las bolitas (Fig. 4.10). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).

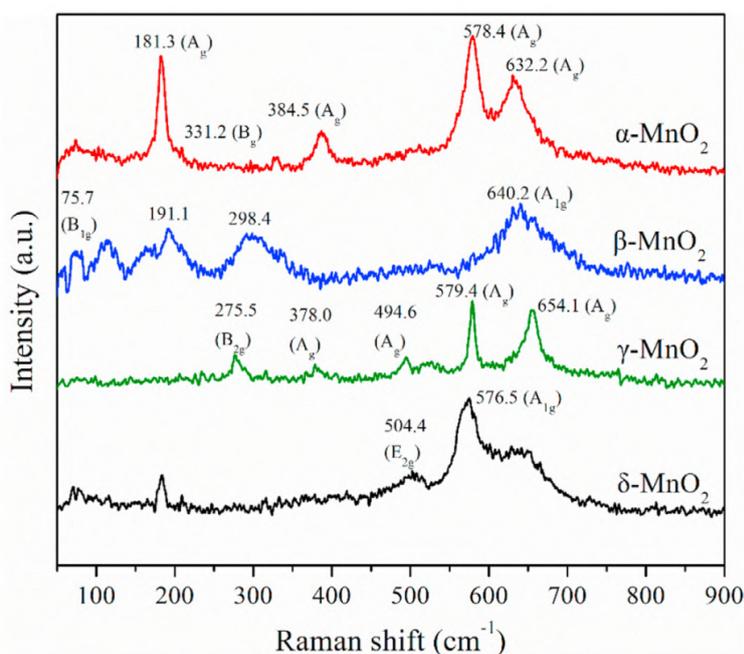


Figura 4.11: Espectro dispersión Raman para α -, β -, γ - y δ -MnO₂. Reproducido de Journal of Alloys and Compounds, 852, Shenggui Ma, Xue Ye, Xia Jiang, Wanglai Cen, Wenju Jiang, Hualin Wang, First principles calculation of mechanical, dynamical and thermodynamic properties of MnO₂ with four crystal phases, 6., Copyright (2020), con permiso de Elsevier [34].

Muestra tratada con peróxido de hidrógeno

La Fig. 4.12 muestra el espectro Raman de la muestra después de ser tratada con peróxido de hidrógeno. La adquisición de datos se realizó utilizando un láser de 514 nm y una lente de x20 durante 120 segundos. Los picos observados a 153,7, 280, 711 y 1085 cm^{-1} son característicos de la calcita, lo que sugiere una transformación química significativa de la muestra tras el tratamiento.

Es notable que en este espectro no se observan otros picos, lo que indica que no hay presencia detectable de otros minerales o compuestos aparte de la calcita, salvo el manganeso divalente en forma MnO proveniente del MnO_2 reducido por el peróxido de hidrógeno, ya que este no es Raman activo. La ausencia de otros picos sugiere que el tratamiento con peróxido de hidrógeno ha podido eliminar o transformar otras fases presentes en la muestra, dejando un espectro limpio de calcita. Los picos identificados son de gran nitidez, lo que implica que están muy definidos y presentan una alta relación señal-ruido. Esta claridad es indicativa de una muestra con una composición química homogénea y una cristalinidad elevada, lo cual es favorable para la interpretación de los datos espectroscópicos.

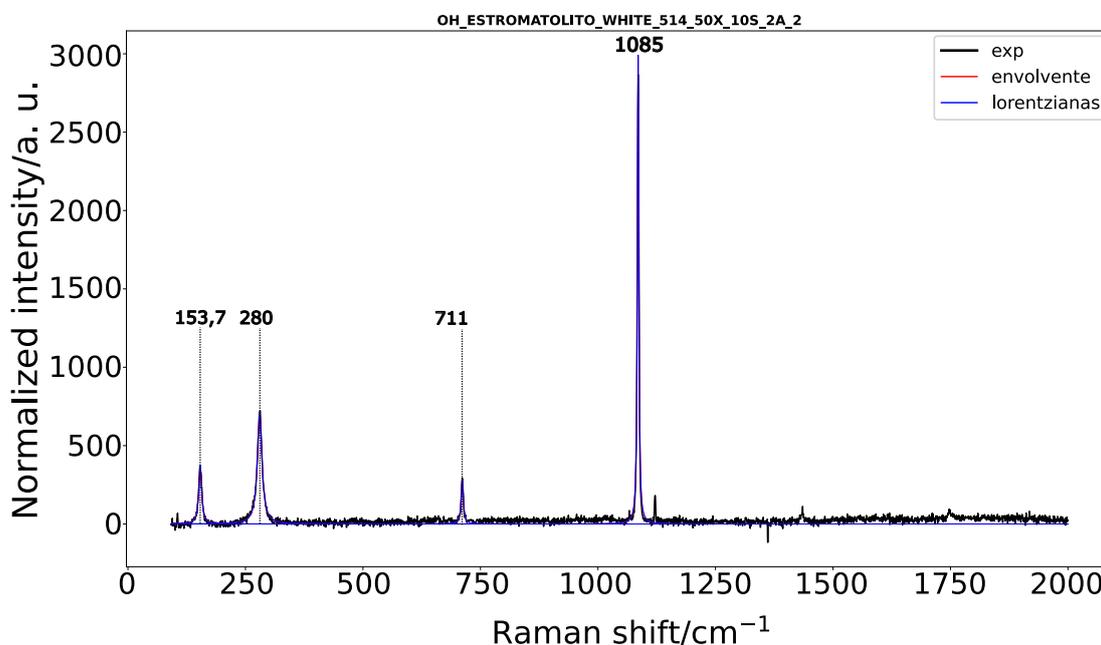


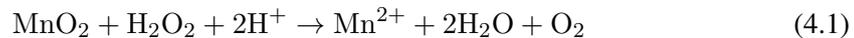
Figura 4.12: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a *white* tratada con peróxido de hidrógeno. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. Los picos observados en 153, 7, 280, 711 y 1085 corresponden a las frecuencias características de la calcita, lo que indica una transformación química de la muestra tras el tratamiento.

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
$E_g(\text{T})$	153,7	374,8	7,4
$E_g(\text{L})$	280,0	711,6	11,7
E_g	711,0	282,8	5,6
A_{1g}	1085,0	2990,9	3,6

Tabla 4.4: Características de los picos de calcita identificados en el espectro Raman tras el tratamiento con peróxido de hidrógeno (Fig. 4.12). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1).

La desaparición de los picos característicos tras el tratamiento con peróxido de hidrógeno puede ser descrita por una disminución en la concentración de los óxidos de manganeso [35] o su transformación en el compuesto Raman inactivo MnO .

La reacción clave que puede explicar este fenómeno es la reducción del MnO_2 a una forma más soluble de manganeso, como se muestra a continuación [36]



En esta reacción, el MnO_2 sólido reacciona con el peróxido de hidrógeno y los iones de hidrógeno para formar iones de manganeso (Mn^{2+}), agua y oxígeno gaseoso. Los iones de manganeso formados son más solubles en agua que el MnO_2 sólido, lo que resulta en una disminución de la concentración de MnO_2 visible en la muestra sólida.

Comparación de espectros

Se han comparado los espectros correspondientes a *bolitas* y a la muestra tratada con peróxido de hidrógeno mediante una superposición para poder observar de forma cómoda posibles diferencias.

En la Fig. 4.13, se da un desplazamiento hacia la izquierda de los picos correspondientes a los modos traslacionales y longitudinales de la muestra de *bolitas* respecto a la calcita más pura. Esta situación puede darse por diferentes condicionantes.

Por una parte, un mecanismo de desplazamiento en los picos puede venir dado por tensiones y deformaciones en el material. Según el estudio Angel et al. [37], los desplazamientos en los picos Raman no son directamente proporcionales a los esfuerzos aplicados, sino que dependen de los coeficientes de proporcionalidad que varían según el modo y la dirección en el cristal. Esto significa que los cambios en el espectro Raman son una función de las deformaciones inducidas por cambios en la presión o la temperatura, y no simplemente una medida del estrés o la presión.

En el caso de una muestra que contiene óxidos de manganeso, la interacción entre la calcita y los óxidos podría inducir tensiones internas o alterar el estado de deformación del cristal. Estas tensiones o deformaciones podrían cambiar las posiciones de los picos Raman debido a la modificación de la estructura cristalina y las interacciones atómicas. Por ejemplo, si los óxidos generan un entorno de estrés compresivo o tensional en la calcita, podría reflejarse en un desplazamiento de los picos Raman hacia números de onda más altos o más bajos, respectivamente.

Por otro lado, una muestra más pura de calcita, sin la presencia de óxidos, tendría un espectro Raman que refleja su estado de deformación intrínseco, sin las influencias adicionales de otros minerales.

Este desplazamiento fue estudiado en el trabajo de Frías García-Lago et al. [38], donde se estudió la variación de los picos Raman en función de la presión generada en celdas de yunque de diamante en una muestra de calcita. Se llegó a los siguientes resultados:

Pico (y)	n	$\pm n$	m	$\pm m/\text{cm}^{-1}\text{GPa}^{-1}$
A_{1g}	1085	0,05	4,50	0,06
E_g	712,3	0,1	2,14	0,14
$E_g(\text{L})$	281,4	0,12	6,6	0,2
$E_g(\text{T})$	154,5	0,3	2,4	0,4

Tabla 4.5: Ajuste de Frías García-Lago et al. [38] para el desplazamiento de los picos Raman en función de la presión a la que es sometida una muestra de calcita en una celda de yunque de diamante. El ajuste tiene la forma de $y = n + mx$, se dan los valores de n , m y sus errores asociados para diferentes picos.

Extrapolando los ajustes de la tabla 4.5, se han obtenido los siguientes resultados (tab. 4.6) de las tensiones a las que están sometidos los diferentes modos de la calcita en la muestra (Fig.

4.10). Dado que los valores son negativos, se concluye que la fuerza a la que está sometida la calcita es de elongación.

Modo	Presión/GPa
A_{1g}	$(-0,64 \pm 0,01)$
E_g	$(-0,26 \pm 0,05)$
$E_g(L)$	$(-0,38 \pm 0,02)$
$E_g(T)$	$(-0,5 \pm 0,2)$

Tabla 4.6: Resultados de la presión calculada a la que están sometidos los modos de la calcita de la muestra *bolitas*.

Otro de los mecanismos posibles que pueden inducir este desplazamiento, se relaciona con los cambios en la estructura cristalina y la composición química de los minerales, tal como se describe en el documento Farsang et al. [25]. Estos cambios pueden ser inducidos por varios procesos, como las transiciones de fase, la sustitución iónica y las interacciones con fluidos acuosos.

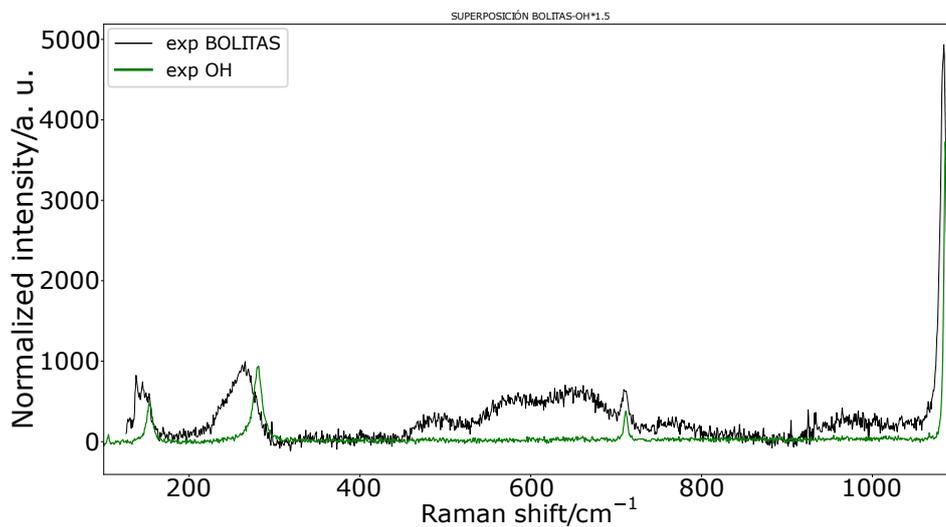


Figura 4.13: Superposición de los espectros Raman de la muestra correspondiente a "bolitas" y de la muestra sometida al tratamiento con peróxido de hidrógeno. Se observa un desplazamiento en el espectro de la muestra sin tratar, mientras que la otra corresponde con el espectro característico de la calcita.

Inspección espectroscópica avanzada

Tras realizar, *grosso modo*, el análisis genérico de los espectros, conviene centrarse en los picos más característicos para determinar la estructura de forma más fehaciente.

Para ello, en primer lugar, se ha hecho una comparativa ajustando los espectros de los óxidos a los picos de interés de las distintas fases (Fig. 4.11). Eso se ha hecho con un espectro centrado en torno a 600 cm^{-1} , enfocando en la zona *black* con una lente de x50 y un tiempo de exposición de 120 s. En las Figuras 4.14 y 4.15, se observa que las lorentzianas en el ajuste correspondiente a α y β no generan una envolvente por sí solas que se adapte al espectro experimental, mientras que en el caso de γ sí.

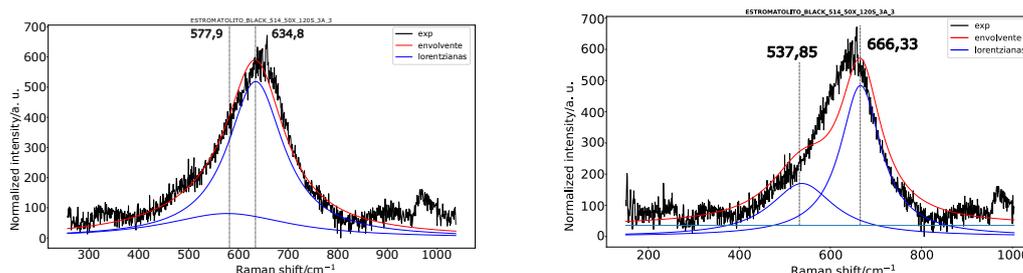


Figura 4.14: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *black*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120s. (Fig. izquierda) En azul el ajuste forzado a la fase α – MnO_2 , con picos en 577,9, 634,8 cm^{-1} . (Fig. derecha) En azul el ajuste forzado a la fase β – MnO_2 mediante lorentzianas, con picos en 537,85, 666,33 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas.

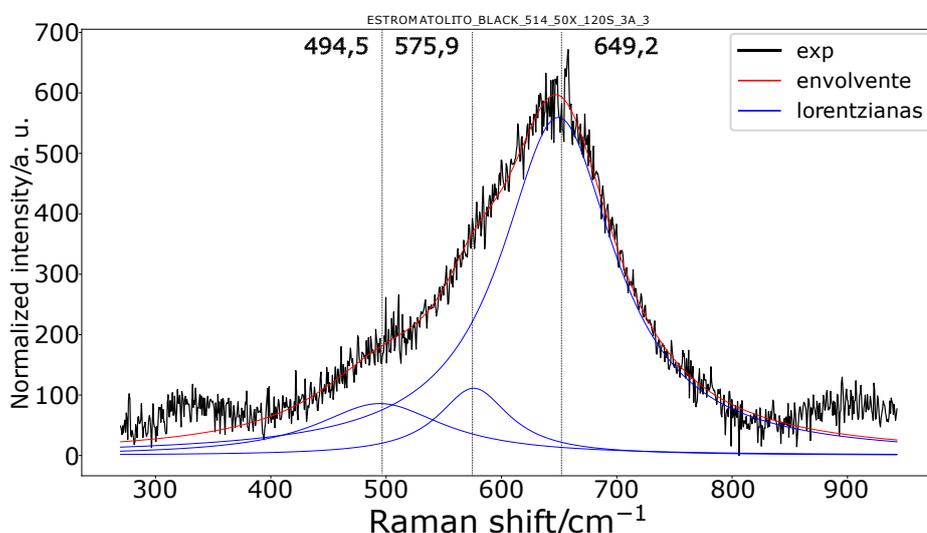


Figura 4.15: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las *black*. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de x20. Todo ello durante 120 s. En azul el ajuste forzado a la fase γ – MnO_2 mediante lorentzianas, con picos en 494,5, 575,9 y 649,2 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas.

Pico	x/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
γ – MnO_2	494,5	85,9	135,3
γ – MnO_2	575,9	111,2	75,2
γ – MnO_2	649,2	559,4	120,7

Tabla 4.7: Características de los picos ajustados a la fase γ – MnO_2 (Fig. 4.15). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.2).

En segundo lugar, siguiendo el mismo procedimiento, se han analizado los dos primeros picos observados en *bolitas* haciendo énfasis en el desglose de los mismos para poder explicar el desplazamiento hacia la izquierda mencionado anteriormente.

En la Fig. 4.16 se pueden observar los ajustes tras realizar dicho procedimiento. Comparando con los modos activos de las tablas 2.1 y 2.2, en el primer espectro se tiene que los picos 138,1 y 146 cm^{-1} guardan correspondencia con el ensamblaje 3, el 153,4 cm^{-1} con la calcita. En el segundo, el pico 246,8 cm^{-1} corresponde a la woodorokita, el 265,2 cm^{-1} a todorokite y el 278 cm^{-1} a la calcita. Estos resultados pueden explicar el desplazamiento observado.

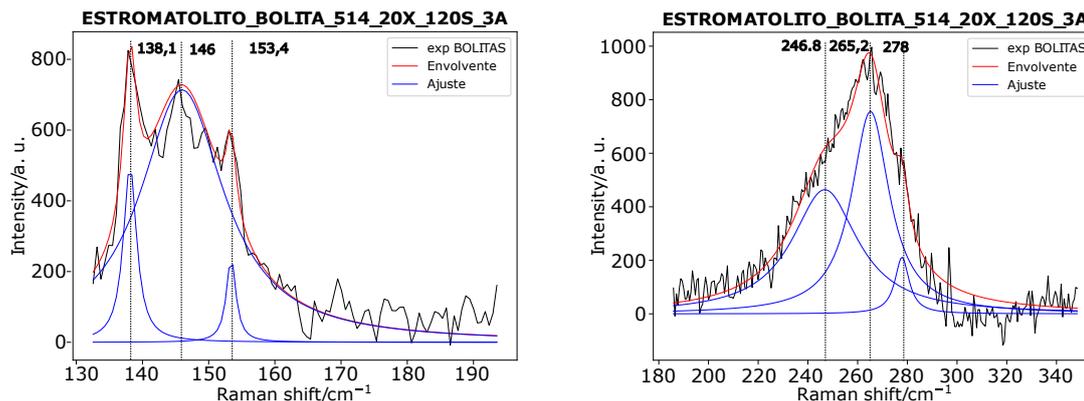


Figura 4.16: Espectro Raman de la zona de la muestra correspondiente a las bolitas. La toma de datos se ha realizado con un láser de 514 nm y una lente de $\times 20$. Todo ello durante 120 s. En azul el ajuste mediante lorentzianas, con picos en (figura izquierda) 138,1, 146 y 153,4 cm^{-1} y (figura derecha) 148,8, 265,2, 278 cm^{-1} . En rojo la envolvente generada por esas lorentzianas.

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
Ensamblaje 3	138,1	501,8	2,4
Ensamblaje 3	146,0	713,9	15,4
Calcita	153,4	239,8	1,72

Tabla 4.8: Características de los picos ajustados, correspondientes al primer pico en el espectro Raman de *bolitas* (Fig. 4.16). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).

Pico	Posición/ cm^{-1}	Intensidad/U.A	FWHM/ cm^{-1}
Woodorokita	246,8	463,8	32,3
Todorokita	265,2	276,1	18,5
Calcita	278,9	211,3	6,9

Tabla 4.9: Características de los picos ajustados, correspondientes al segundo pico en el espectro Raman de *bolitas* (Fig. 4.16). Se ha asignado a cada pico el compuesto correspondiente a los datos bibliográficos (ver Tab. 2.1 y 2.2).

Factores que complican el análisis espectral

Dado que los espectros han sido obtenidos a temperatura ambiente y presión atmosférica, es común observar picos por debajo de aproximadamente 150 cm^{-1} (Fig. 4.14), que pueden atribuirse a las transiciones rotacionales y vibracionales de las moléculas de gases en el aire [39], como el nitrógeno (N_2) y el oxígeno (O_2), que son los compuestos principales (Fig. 4.17).

Para evitar la interferencia de estas señales del aire en el análisis de muestras, se pueden tomar medidas como realizar el experimento en una atmósfera controlada o utilizar técnicas de sustracción de fondo para eliminar las señales rotacionales y vibracionales del espectro Raman final.

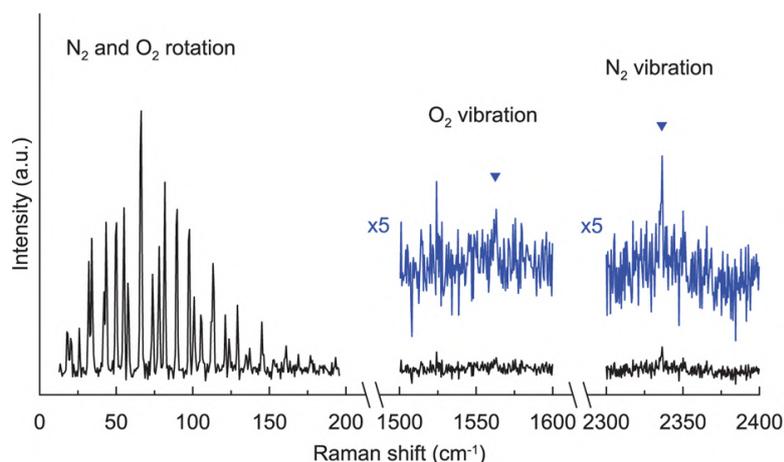


Figura 4.17: Espectros Raman rotacionales y vibracionales puros del aire ambiente a temperatura ambiente y presión atmosférica. Reproducido de Journal of Glaciology, Hiroshi Ohno, Yoshinori Iizuka, Shuji Fujita, "Pure rotational Raman spectroscopy applied to N₂/O₂ analysis of air bubbles in polar firn," Copyright 2021, Cambridge University Press, con permiso de Cambridge University Press bajo la licencia Creative Commons CC BY [39].

Otra problemática añadida a la hora de realizar el análisis se da por el ensanchamiento de los picos y lo poco resueltos que estos están, esto puede deberse a diversos factores, como pequeñas variaciones composicionales y tensiones, las cuales contribuyen al ensanchamiento de los picos Raman tal y como se observa en los asociados a los óxidos de manganeso, y en el número de modos activos Raman con energías similares que coexisten a la vez. Esto último se observa en la Fig. 4.18, en la fase α - MnO₂, en torno a 500 cm⁻¹ donde se acumulan gran parte de ellos.

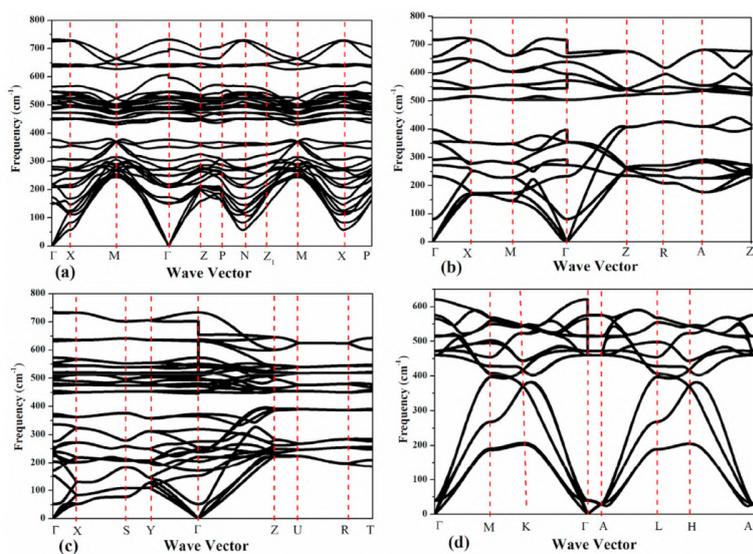


Figura 4.18: Las curvas de dispersión de fonones calculadas para MnO₂ con diferentes fases cristalinas. (a) α - MnO₂, (b) β - MnO₂, (c) γ - MnO₂, (d) δ - MnO₂. Reproducido de Journal of Alloys and Compounds, 852, Shenggui Ma, Xue Ye, Xia Jiang, Wanglai Cen, Wenju Jiang, Hualin Wang, First principles calculation of mechanical, dynamical and thermodynamic properties of MnO₂ with four crystal phases, 5., Copyright (2020), con permiso de Elsevier.

4.2.2. Análisis de espectros de fluorescencia

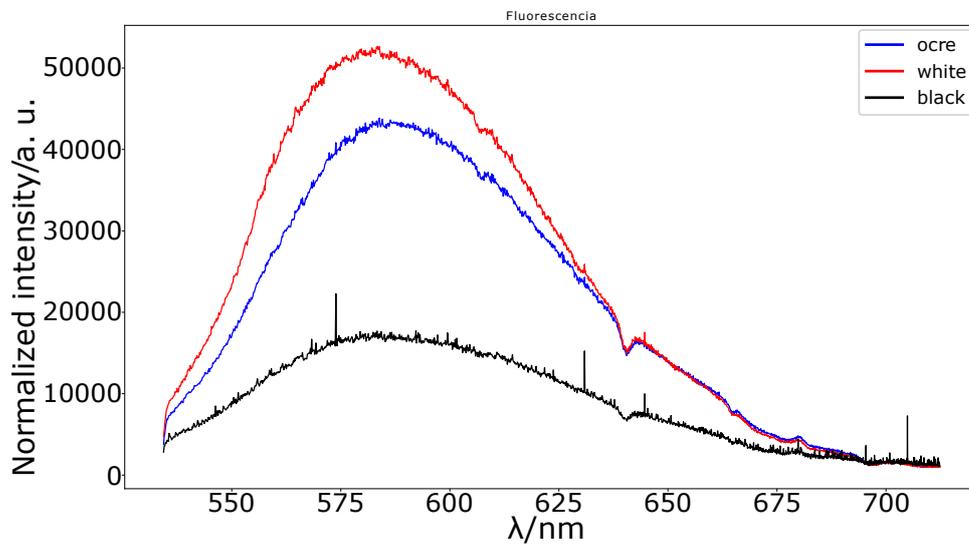


Figura 4.19: Espectro de fluorescencia de la muestra en tres zonas diferentes. La información ha sido recogida con la sonda Raman portátil, utilizando un láser de 514 nm y una lente de x20. El espectro negro corresponde a la zona *black*, el azul a la zona *bolitas* y el rojo a la zona *white*.

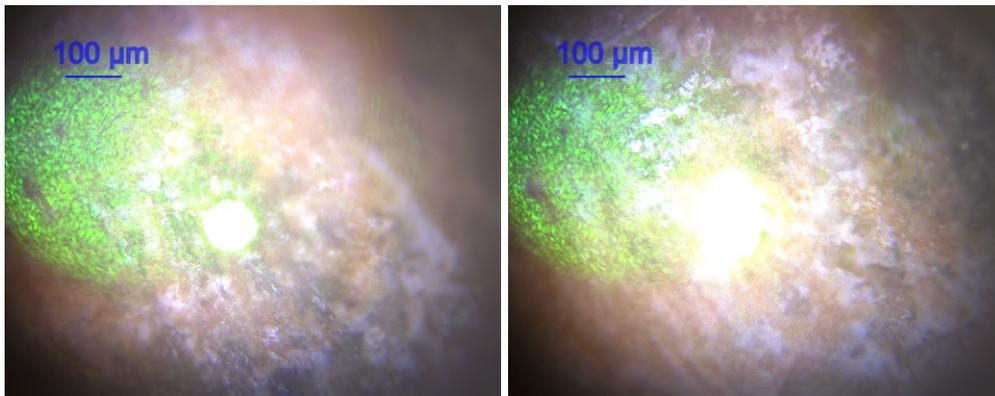


Figura 4.21: Fotografía tomada con el microscopio del equipo Raman portátil, donde se incide con un láser de 514 nm sobre la zona *black* (izquierda) y *bolitas* (derecha).

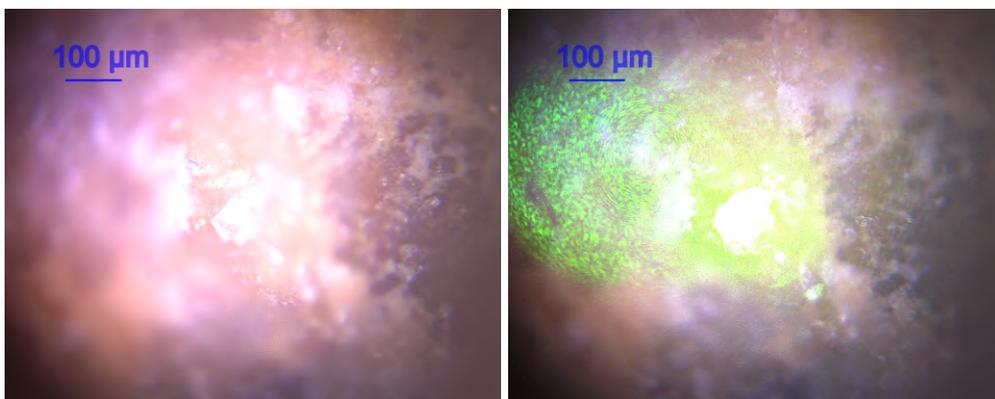


Figura 4.23: Fotografía tomada con el microscopio del equipo Raman portátil, donde se incide con un láser de 514 nm sobre un monocristal correspondiente a *white* con el láser apagado (izquierda) con el láser encendido (derecha).

Las muestras estudiadas presentan fotoluminiscencia bajo excitación con un láser de 514 nm con potencias del orden de 10 mW. Esta fotoluminiscencia, que es típica de la calcita, presenta una intensidad variable dependiendo de la zona de la muestra.

La observación de la fotoluminiscencia en diferentes zonas de la muestra utilizando la sonda Raman portátil muestra variaciones significativas en la intensidad de la emisión en el rango de la calcita (Fig. 4.19). Estos resultados son consistentes con la composición mineralógica esperada de las zonas analizadas, donde la intensidad se correlaciona con la mayor presencia de calcita. Sin embargo, la diferencia en la intensidad sugiere una variación en la concentración o en la interacción de este mineral con otros componentes. La emisión de la calcita ha sido documentada en el estudio de Pedone, Cercone y Burruss [40] donde emite alrededor de 580 nm cuando se excita con un láser de 514 nm.

La zona *black* (Fig. 4.21 izquierda), caracterizada por la presencia de óxidos de manganeso, mostró la intensidad más baja de fluorescencia en el rango de la calcita. La presencia de estos óxidos puede indicar una menor concentración de calcita en comparación con las otras zonas.

Por otro lado, la zona de *bolitas* (Fig. 4.21 derecha), con un color ocre, presentó una intensidad de fluorescencia intermedia. Esto podría indicar una concentración mayor que en la zona negra, pero aún afectada por la presencia de otros minerales o compuestos que modulan la intensidad.

Finalmente, la zona *white* (Fig. 4.23), con mayor pureza en términos de contenido de calcita, mostró la mayor intensidad de fluorescencia. Este resultado era esperado, ya que una mayor pureza y concentración debería correlacionarse con una señal más intensa [41], en ausencia de interferencias significativas de otros materiales.

Aunque el origen de la luminiscencia en la calcita puede ser muy variado [20], la presencia de compuestos de manganeso en las muestras sugiere que el elemento responsable de la luminiscencia sea el Mn^{2+} . La posición en torno a 580 nm y la anchura son consistentes con una emisión debida al Mn^{2+} , tal y como se ha demostrado en otras calcitas impurificadas selectivamente con otros iones [20, p. 62].

Capítulo 5

Conclusiones y trabajo futuro

La investigación presentada en este trabajo supone una contribución importante al estudio de las micromuestras cavernarias del Alto Bueras mediante la aplicación de técnicas de espectroscopía Raman y fotoluminiscencia. El análisis ha revelado una complejidad estructural y química que refleja la historia geológica de las formaciones estudiadas. Las conclusiones destacadas del trabajo son:

1. La caracterización morfológica ha desvelado una organización interna de capas alternadas que son distintivas de los estromatolitos, con bandas bien definidas que alternan entre tonos oscuros y claros, reflejando una historia de crecimiento episódico y condiciones ambientales variables. La presencia de estructuras dendríticas y formaciones ovas de tamaño micrométrico dentro de estas capas sugiere una dinámica de sedimentación y mineralización que merece una investigación más profunda.
2. El tratamiento con peróxido de hidrógeno al 35 % ha servido para resaltar las características morfológicas y composicionales de las muestras. Este proceso químico no solo ha permitido una mejor visualización de las estructuras internas sino que también ha facilitado la identificación de variaciones mineralógicas, como se evidencia en las diferencias de coloración entre las zonas tratadas y no tratadas.
3. El estudio espectroscópico por Raman ha proporcionado una visión detallada de la composición estructural de las muestras. La comparación de los espectros de las muestras tratadas y no tratadas ha permitido identificar a la calcita y los óxidos de manganeso γ - MnO_2 , Todorokite y Woodruffite como los componentes mayoritarios de estas rocas. La correlación directa entre la señal espectroscópica y la morfología de la muestra ha proporcionado una comprensión más profunda de las interacciones entre los componentes mineralógicos y las condiciones ambientales durante la formación de los estromatolitos.
4. La observación de un desplazamiento hacia mayores frecuencias en los picos Raman de los modos traslacionales y longitudinales en la muestra de bolitas, en comparación con la calcita pura (ver Figura 4.13), sugiere la presencia de tensiones y deformaciones en el material, así como pequeñas variaciones composicionales. Además, la interacción entre la calcita y los óxidos de manganeso presentes en la muestra podría ser la causa de estos efectos que alteran el estado de deformación del cristal, como se refleja en los cambios de las posiciones de los picos Raman. En definitiva, se concluye la importancia de considerar las condiciones de estrés y las interacciones minerales al analizar los espectros Raman en estudios de caracterización de materiales.
5. Los espectros de fotoluminiscencia han revelado diferencias significativas en la intensidad de la fluorescencia entre las distintas zonas, lo que indica variaciones en la concentración de calcita y la presencia de otros minerales. Estos resultados son coherentes

con la heterogeneidad observada en la morfología de las muestras y subrayan la importancia de realizar un análisis espectroscópico detallado para comprender la composición mineralógica de las formaciones geológicas.

6. Este trabajo ha demostrado en la caracterización de las fases cristalinas específicas de los óxidos de manganeso encontrados (MnO_x), tales como la fase $\gamma - \text{MnO}_2$, Todorokite y Woodruffite. Esta caracterización detallada de las fases cristalinas, aporta un conocimiento nuevo al campo de compuestos de manganeso generados por acción microbiana y amplía la comprensión fundamental proporcionada.

En resumen, este estudio ha demostrado la utilidad de las técnicas espectroscópicas en la caracterización de micromuestras geológicas. Los hallazgos obtenidos no solo enriquecen el conocimiento actual sobre las formaciones estromatolíticas sino que también abren nuevas vías para la investigación futura. La metodología adoptada en este trabajo puede aplicarse a otros contextos geológicos, arqueológicos y paleontológicos, lo que podría revelar detalles adicionales sobre la historia de la Tierra y contribuir a la comprensión de los procesos geoquímicos y biogeoquímicos que han dado forma a nuestro planeta a lo largo de las eras.

Como trabajo futuro, se propone la utilización de microscopía electrónica de barrido para observar los posibles fósiles y justificar mejor que las estructuras ovals sean efectivamente fósiles. Además, se espera la documentación de investigadores de Yucatán que han encontrado estructuras similares pero con materia orgánica, lo que podría ser una evidencia de estos organismos vivos y enriquecería aún más el estudio de estas formaciones geológicas. Además, para abordar la raíz de la luminescencia de la calcita, que puede ser influenciada por la presencia de iones como Mn^{2+} , Eu^{3+} , Tb^{3+} , etc. [20], se recomienda la implementación de espectroscopía resuelta en el tiempo. Esta técnica permitiría discernir los procesos de emisión de luz con una resolución temporal, proporcionando una comprensión más profunda de los mecanismos de activación de la luminescencia y la dinámica de los estados excitados. Tal enfoque podría revelar detalles intrincados sobre las interacciones entre los iones activadores y la matriz de calcita, lo que es crucial para comprender completamente las propiedades ópticas de estas muestras geológicas.

Bibliografía

- [1] Lisker Sorin et al. «Late Pleistocene palaeoclimatic and palaeoenvironmental reconstruction of the Dead Sea area (Israel), based on speleothems and cave stromatolites». En: *Quaternary Science Reviews* 29.9-10 (2010), págs. 1201-1211. DOI: [10.1016/j.quascirev.2010.01.018](https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2010.01.018).
- [2] Anna Siedlecka. «Late Precambrian tidal-flat deposits and algal stromatolites in the Båtsfjord Formation, East Finnmark, North Norway». En: *Sedimentary Geology* 21.4 (1978), págs. 277-310. DOI: [10.1016/0037-0738\(78\)90023-4](https://doi.org/10.1016/0037-0738(78)90023-4).
- [3] Asru Chaudhuri. «Precambrian stromatolites in the Pranhita-Godavari valley (south India)». En: *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 7.4 (1970), págs. 309-340. DOI: [10.1016/0031-0182\(70\)90099-4](https://doi.org/10.1016/0031-0182(70)90099-4).
- [4] Severine Papier et al. «Manganese geomicrobiology of the black deposits from the azé cave, saône-et-loire, france». En: *Quaternaire* 4 (2011), págs. 297-305.
- [5] Carlos Rossi et al. «Manganese stromatolites in caves: el Soplao (Cantabria, Spain)». En: *Geology* 38.12 (2010), págs. 1119-1122. DOI: [10.1130/G31283.1](https://doi.org/10.1130/G31283.1).
- [6] Henry Chafetz et al. «Mn- and Fe-rich black travertine shrubs: Bacterially (and nanobacterially) induced precipitates». En: *Journal of Sedimentary Research* 68 (mayo de 1998), págs. 404-412. DOI: [10.2110/jsr.68.404](https://doi.org/10.2110/jsr.68.404).
- [7] John Grotzinger y Andrew Knoll. «Stromatolites in Precambrian Carbonates: Evolutionary Mileposts or Environmental Dipsticks?» En: *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 27 (mayo de 1999).
- [8] Magnus Ivarsson, Curt Broman y Nils G Holm. «Chromite oxidation by manganese oxides in subseafloor basalts and the presence of putative fossilized microorganisms». En: *Geochemical transactions* 12.1 (2011), págs. 1-10. DOI: [10.1186/1467-4866-12-5](https://doi.org/10.1186/1467-4866-12-5).
- [9] Andrew J Friedrich y Jeffrey G Catalano. «Distribution and speciation of trace elements in iron and manganese oxide cave deposits». En: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 91 (2012), págs. 240-253. DOI: [10.1016/j.gca.2012.05.032](https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.05.032).
- [10] Noah Planavsky et al. «Formation and diagenesis of modern marine calcified cyanobacteria». En: *Geobiology* 7.5 (2009), págs. 566-576. DOI: [10.1111/j.1472-4669.2009.00216.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2009.00216.x).
- [11] Alfredo Arche. «Sedimentología: del proceso físico a la cuenca sedimentaria». En: *Sedimentología* (2010), págs. 11-1287.
- [12] Rodrigo Alonso-Alcalde, Marcos Terradillos-Bernal et al. «Atapuerca y los orígenes de la arqueología experimental. investigación, educación y divulgación de nuestro pasado». En: *Boletn de Arqueología Experimental* 14 (2020), págs. 4-17. DOI: [10.15366/baexuam2020.14.001](https://doi.org/10.15366/baexuam2020.14.001).

- [13] Fernando. Rodríguez González et al. *Plataforma tecnológica multiuso para el estudio de pinturas, restos óseos y útiles prehistóricos por medio de micro-espectroscopia Raman portátil*. Inf. téc. Proyectos de I+D Convocatoria 2021. SODERCAN, Gobierno de Cantabria, 2021.
- [14] Randall White et al. «Still no archaeological evidence that Neanderthals created Iberian cave art». En: *Journal of Human Evolution* (2020). DOI: [10.1016/j.jhevol.2019.102640](https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2019.102640).
- [15] Irene Romo Dez et al. *Caracterización de óxidos de hierro en sedimentos arqueopaleontológicos por espectroscopia Raman*. 2021. DOI: [10.9902/22298](https://doi.org/10.9902/22298).
- [16] José M. Menéndez Montes et al. *Materia a alta presión: fundamentos y aplicaciones*. Spanish. Oviedo: Ediciones de la Universidad de Oviedo, 2011. ISBN: 9788483178775.
- [17] Charles Kittel. *Introduction to Solid State Physics*. 8.^a ed. Wiley, 2004. ISBN: 9780471415268.
- [18] Mark Fox. *Optical Properties of Solids*. Second. Oxford Master Series in Physics. Oxford University Press, mar. de 2010, pág. 416. ISBN: 9780199573370.
- [19] John R. Ferraro y Kazuo Nakamoto. *Introductory Raman spectroscopy*. Academic Press, 1994, pág. 370. ISBN: 0122539907.
- [20] Michael Gaft, Renata Reisfeld y Gérard Panczer. *Modern luminescence spectroscopy of minerals and materials*. Springer, 2015.
- [21] Alan Corney. *Atomic and laser spectroscopy*. Clarendon Press Oxford, 1978.
- [22] Robert Riding. «Microbial carbonates: the geological record of calcified bacterial–algal mats and biofilms». En: *Sedimentology* 47 (2000), págs. 179-214. DOI: [10.1046/j.1365-3091.2000.00003.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3091.2000.00003.x).
- [23] Michael G Sommers, Michael E Dollhopf y Susanne Douglas. «Freshwater ferromanganese stromatolites from Lake Vermilion, Minnesota: microbial culturing and environmental scanning electron microscopy investigations». En: *Geomicrobiology Journal* 19.4 (2002), págs. 407-427. DOI: [10.1080/01490450290098513](https://doi.org/10.1080/01490450290098513).
- [24] William JB Dufresne, Carson J Ruffledt y Craig P Marshall. «Raman spectroscopy of the eight natural carbonate minerals of calcite structure». En: *Journal of Raman Spectroscopy* 49.12 (2018), págs. 1999-2007. DOI: [10.1002/jrs.5481](https://doi.org/10.1002/jrs.5481).
- [25] Stefan Farsang et al. «Carbonate assemblages in Cold Bokkeveld CM chondrite reveal complex parent body evolution». En: *Meteoritics & Planetary Science* 56.4 (2021), págs. 723-741. DOI: [10.1111/maps.13647](https://doi.org/10.1111/maps.13647).
- [26] Nicolae Buzgar, Andrei Ionu Apopei et al. «The Raman study of certain carbonates». En: *Geologie Tomul L 2.2* (2009), págs. 97-112. DOI: [10.13140/2.1.1358.3368](https://doi.org/10.13140/2.1.1358.3368).
- [27] Marco De La Pierre et al. «The Raman spectrum of CaCO₃ polymorphs calcite and aragonite: A combined experimental and computational study». En: *The Journal of Chemical Physics* 140.16 (2014). DOI: [10.1063/1.4871900](https://doi.org/10.1063/1.4871900).
- [28] Christian Julien, Marc Massot y Christiane Poinson. «Lattice vibrations of manganese oxides: Part I. Periodic structures». En: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 60.3 (2004), págs. 689-700. DOI: [10.1016/S1386-1425\(03\)00279-8](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(03)00279-8).
- [29] Jeffrey Post y Peter Heaney. «Synchrotron Powder X-ray Diffraction Study of the Structure and Dehydration Behavior of Palygorskite». En: *American Mineralogist* 92 (abr. de 2008). DOI: [10.2138/am.2008.2590](https://doi.org/10.2138/am.2008.2590).
- [30] Jeffrey Post et al. «Woodruffite: A new Mn oxide structure with 3 X 4 tunnels». En: *American Mineralogist* 88 (nov. de 2003). DOI: [10.2138/am-2003-11-1209](https://doi.org/10.2138/am-2003-11-1209).

- [31] Jeffrey E Post, David A McKeown y Peter J Heaney. «Raman spectroscopy study of manganese oxides: Tunnel structures». En: *American Mineralogist* 105.8 (2020), págs. 1175-1190. DOI: [10.2138/am-2020-7390](https://doi.org/10.2138/am-2020-7390).
- [32] Kaiwen Ta et al. «Hydrothermal nontronite formation associated with microbes from low-temperature diffuse hydrothermal vents at the South Mid-Atlantic Ridge». En: *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 122.9 (2017), págs. 2375-2392. DOI: [10.1002/2017JG003852](https://doi.org/10.1002/2017JG003852).
- [33] Jens Reichardt, Oliver Behrendt y Felix Lauermann. «Spectrometric fluorescence and Raman lidar: absolute calibration of aerosol fluorescence spectra and fluorescence correction of humidity measurements». En: *Atmospheric Measurement Techniques* 16.1 (2023), págs. 1-13. DOI: [10.5194/amt-16-1-2023](https://doi.org/10.5194/amt-16-1-2023).
- [34] Shenggui Ma et al. «First principles calculation of mechanical, dynamical and thermodynamic properties of MnO₂ with four crystal phases». En: *Journal of Alloys and Compounds* 852 (2021), pág. 157007. DOI: [10.1016/j.jallcom.2020.157007](https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.157007).
- [35] DB Broughton, RL Wentworth y ME Laing. «Mechanism of decomposition of hydrogen peroxide solutions with manganese dioxide. II». En: *Journal of the American Chemical Society* 69.4 (1947), págs. 744-747. DOI: [10.1021/ja01196a004](https://doi.org/10.1021/ja01196a004).
- [36] DB Broughton y RL Wentworth. «Mechanism of decomposition of hydrogen peroxide solutions with manganese dioxide. I». En: *Journal of the American Chemical Society* 69.4 (1947), págs. 741-744. DOI: [10.1021/ja01196a003](https://doi.org/10.1021/ja01196a003).
- [37] Ross J Angel et al. «Stress, strain and Raman shifts». En: *Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials* 234.2 (2019), págs. 129-140. DOI: [doi:10.1515/zkri-2018-2112](https://doi.org/10.1515/zkri-2018-2112).
- [38] Fernando Frías García-Lago et al. *Polimorfismo del CaCO₃ en cavidades prehistóricas: su influencia en las dataciones*. 2021. DOI: [10902/25161](https://doi.org/10902/25161).
- [39] Hiroshi Ohno, Yoshinori Iizuka y Shuji Fujita. «Pure rotational Raman spectroscopy applied to N₂/O₂ analysis of air bubbles in polar firn». En: *Journal of Glaciology* 67.265 (2021), págs. 903-908. DOI: [10.1017/jog.2021.40](https://doi.org/10.1017/jog.2021.40).
- [40] Vicki A Pedone, Karen Rose Cercone y RC Burruss. «Activators of photoluminescence in calcite: evidence from high-resolution, laser-excited luminescence spectroscopy». En: *Chemical Geology* 88.1-2 (1990), págs. 183-190. DOI: [10.1016/0009-2541\(90\)90112-K](https://doi.org/10.1016/0009-2541(90)90112-K).
- [41] Yuchao Fu, Meizhen Huang y Wanxiang Li. «Spatial intensity distribution model of fluorescence emission considering the spatial attenuation effect of excitation light». En: *Optics Express* 29.5 (2021), págs. 6468-6480. DOI: [10.1364/OE.416452](https://doi.org/10.1364/OE.416452).

