



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

•  
•  
•

## FACULTAD DE MEDICINA

• • •

IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO DE  
DETECCIÓN DE NITRATOS EN SUELOS  
MEDIANTE LA FORMACIÓN DE UN AZO  
COMPUESTO Y SU APLICACIÓN EN EL  
DESIERTO DE ATACAMA. IMPLICACIONES  
ASTROBIOLÓGICAS

### T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN INVESTIGACIÓN  
BIOMÉDICA BÁSICA

P R E S E N T A :

PABLO MARTÍNEZ SOSA

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. RAFAEL NAVARRO GONZÁLEZ  
LABORATORIO DE QUÍMICA DE PLASMAS Y  
ESTUDIOS PLANETARIOS  
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES

Facultad de Medicina



MAYO DE 2015

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos institucionales**

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios del Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Rafael Navarro González, con el apoyo de los proyectos “DGAPA IN106013”, “CONACYT 121479”, “CONACYT 220626”, así como una beca de Ayudante del Investigador otorgada por CONACYT con número de expediente de investigador 8753 y de ayudante 10396.

Agradezco al Dr. Rafael Navarro González por darme espacio en su laboratorio, así como su orientación en el desarrollo de este trabajo.

A los integrantes de mi jurado por sus valiosos comentarios y aportaciones al trabajo.

Al M. en C. José Guadalupe de la Rosa Canales por su valiosa ayuda en el laboratorio así como sus valiosas recomendaciones.

A la Q. Paola Molina Sevilla por su tiempo, apoyo y orientación siempre que lo necesité.

A mis compañeros del Laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios, por su buen humor y apoyo siempre.

## Agradecimientos personales

A mis **padres**, a mi **hermano** y a mi **familia**. Por ser siempre una guía en mi vida, por enseñarme, creer en mi, así como presionarme cuando lo he necesitado. Si ustedes no sería la persona que soy.

A **Fernanda**, por ser una parte muy valiosa de mi vida. Gracias por confiar en un extraño en un barco y ser parte de una gran aventura. Te debo gran parte de este trabajo.

A **Manuel**, porque al decidir si debía seguir por ana o kata encontré un gran amigo.

A **Bruno**, porque al buscar vida fuera de la Tierra pondré énfasis en la galaxia Transilvania.

A **Ana**, porque a pesar de la distancia hemos mantenido una amistad que ha sido siempre muy valiosa para mi.

A **Erick**, porque a pesar de la edad has sido una gran influencia.

A todos mis amigos.

*-The third planet is incapable of supporting life- stated the husband patiently-. Our scientists have said there's far too much oxygen in their atmosphere.*

*Ylla, The Martian Chronicles, Ray Bradbury*

*Sabía que buscarías. Este trabajo es para ti, gracias por ser una parte muy importante de mi vida.*

# Índice

1. Resumen	1
2. Antecedentes	2
2.1 Astrobiología	2
2.2 Marte	3
2.2.1 Geofísica de Marte	4
2.2.2 Marte primitivo	5
2.2.3 Misiones espaciales	10
2.3 La relevancia del nitrógeno	18
2.3.1 El nitrógeno en la Tierra: biósfera, litósfera y atmósfera	19
2.3.2 El nitrógeno en Marte	23
2.4 Suelos terrestres análogos a Marte	25
2.4.1 Tipos de suelos análogos	26
2.4.2 Desierto de Atacama	26
2.5 Técnicas analíticas	29
2.5.1 Validación de un método analítico	29
2.5.2 Colorimetría	30
2.5.3 Termogravimetría	31
2.5.4 Espectrometría de masas	31
3. Justificación	32
4. Objetivos	33
4.1 Objetivo general	33
4.2 Objetivos particulares	33
5. Materiales y métodos	34
5.1 Detección de nitratos y nitritos en suelo por colorimetría	34
5.2 Extracción de sales solubles	34
5.3 Reducción de nitratos con zinc	35

5.4 Formación de una sal de azonio	35
5.5 Estandarización de la técnica de reducción de nitrato	36
5.6 Técnica de colorimetría para la determinación de nitritos	37
5.7 Análisis de interferencias	38
5.8 Curva de calibración de nitritos	38
5.9 Curva de calibración de nitratos	38
5.10 Muestras del desierto de Atacama	39
5.11 Obtención de suelos lavados	41
5.12 Prueba de recobro	42
5.13 Análisis del transecto oeste-este	42
5.14 Termogravimetría acoplada a calorimetría diferencial de barrido y espectrometría de masas (TGA-DSC-MS)	42
5.15 Programa de corrección de temperatura	44
6. Discusión y Resultados	45
6.1 Metodología para la formación de un compuesto colorido azo	45
6.1.1 Curva de calibración de nitritos	45
6.1.2 Límites de detección y cuantificación	46
6.2 Metodología de reducción de nitratos	47
6.2.1 Condiciones óptimas de Zn y HCl	47
6.2.2 Curva de calibración de nitratos	48
6.2.3 Límites de detección y cuantificación	49
6.3 Análisis de las muestras del desierto de Atacama	49
6.3.1 Extracción de sales solubles	49
6.3.2 Análisis de nitritos en suelo	51
6.3.3 Análisis de nitratos en suelo	52
6.4 Estudio del efecto que produce el perclorato en la determinación de nitrato, utilizando la Técnica acoplada TGA-DSC-	55



MS, implicaciones para Marte

7. Conclusiones	61
8. Perspectivas	63
9. Bibliografía	64
10. Anexos	69

## Índice de figuras

2.1 Eras geológicas de Marte.	6
2.2 Afloramiento tomado por <i>Curiosity</i> en <i>Hidden Valley</i> .	8
2.3 Estructura del instrumento SAM.	15
2.4 Trayecto de <i>Curiosity</i> en Marte.	16
2.5 Ciclo biótico y abiótico del nitrógeno.	22
2.6 Posible mecanismo de formación de nitrato en Marte.	24
2.7 Desierto de Atacama.	28
5.1 Aparato de filtración,	35
5.2 Reacciones para la formación de un compuesto azo.	37
5.3 Ubicación de las muestras.	41
5.4 Configuración del equipo acoplado TGA-DSC-MS.	43
6.1 Curva de calibración de nitritos.	45
6.2 Curva de calibración de nitratos.	49
6.3 Ubicación de las muestras y escala de la concentración de nitratos.	54
6.4 TGA y MS de $\text{NaNO}_3$ y de $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ .	56
6.5 TGA de las mezclas de $\text{NaNO}_3$ y $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ .	57
6.6 TGA y MS para mezclas específicas y para compuestos puros.	58

## Índice de tablas

5.1 Cantidades de nitrato usadas para la curva de calibración.	39
5.2 Ubicación de las muestras del desierto de Atacama.	40
6.1 Condiciones experimentales utilizadas para optimizar la reducción de nitratos.	47
6.2 Eficiencia de la técnica de extracción de sales solubles.	50
6.3 Análisis de nitritos en el transecto de Atacama.	52
6.4 Análisis de nitratos en el transecto de Atacama.	53

## Tabla de abreviaturas

APX	Espectrómetro de Rayos X por radiación alfa
ATP	Adenosín trifosfato
ChemMin	Muestreador químico remoto inducido por láser
DMF	Dimetil formamida
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
MOLA	Altimetría Laser por Satélite en Marte
MSL	Laboratorio de ciencia en Marte
msnm	Metros sobre el nivel del mar
MS	Espectrometría de masas
MTBSTF	N-terc-Butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida
NAI	Instituto Nacional de Astrobiología
NASA	Administración Nacional de la Aeronáutica y del Espacio
NEDA	N-1-naftiletilen-diamina
QMS	Espectrómetro de masas cuadrupolar
rpm	Revoluciones por minuto
TEGA	Análisis térmico de gases liberados
TGA	Análisis termogravimétrico
USGS	Servicio Geológico de los Estados Unidos
WCL	Laboratorio de química húmeda

## 1. Resumen

Dentro de las metas establecidas para la astrobiología se plantea evaluar la habitabilidad del planeta Marte para vida tal como la conocemos. Un factor importante al evaluar la habitabilidad de Marte es la disponibilidad de especies de nitrógeno, ya que en la Tierra éstas son la principal fuente de este elemento en los organismos. Dados los modelos climáticos de Marte primitivo, se cree que parte del nitrógeno atmosférico pudo haber sido secuestrado en el regolito marciano.

A la fecha no se ha podido detectar definitivamente la presencia de nitratos en el Marte *in situ*. Parte del problema es que no se cuenta con muestras del regolito marciano en la Tierra, por lo que es difícil realizar experimentos sobre éste. Como modelo para el estudio de Marte se utilizan suelos terrestres como lo es el desierto de Atacama en Chile, el cual posee una concentración alta de nitrato de sodio.

En este trabajo se propone la aplicación de una técnica colorimétrica para la detección de nitratos que pudiera servir para validar la técnica acoplada TGA-DSC-MS y su aplicación en suelos terrestres así como en el regolito marciano.

De manera general, los resultados obtenidos muestran que la técnica montada de colorimetría tiene una buena eficiencia y permite cuantificar de manera precisa la cantidad de nitritos y nitratos. La técnica fue probada para un transecto de precipitación longitudinal de muestras del desierto de Atacama entre las cordilleras de Costa y de Domeykos. Además, esta técnica será de gran utilidad para validar la técnica acoplada TGA-DSC-MS, ya que se demostró que es sensible a la presencia de perclorato al analizar la presencia de nitratos.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Astrobiología

La astrobiología es una disciplina que estudia el origen, evolución y futuro de la vida en el Universo<sup>1</sup>. La NASA (*National Aeronautic and Space Agency*) y el NAI (*National Astrobiology Institute*) han establecido siete metas especiales para el estudio de esta disciplina, los cuales son:

- 1) Estudiar la distribución de ambientes habitables en el Universo.
- 2) Investigar los ambientes habitables pasados o presentes.
- 3) Entender cómo surgió la vida en la Tierra.
- 4) Entender cómo ha co-evolucionado la vida en la Tierra.
- 5) Estudiar los mecanismos evolutivos y los límites ambientales de la vida.
- 6) Aprender sobre el futuro de la vida en la Tierra y en otros cuerpos.
- 7) Determinar cómo diferenciar las señales de origen biológico en otros cuerpos y en la Tierra primitiva.

A pesar de que la vida es el objeto de estudio de la astrobiología, aún no se tiene una definición completa y satisfactoria para este concepto. Este problema deriva del hecho de que, hasta ahora, la vida como la conocemos en la Tierra es el único ejemplo que tenemos; así, es difícil determinar cuáles son sus características son esenciales y cuáles no<sup>2</sup>.

Ya que entre las metas mismas de la astrobiología se encuentra el entender qué es la vida y conformar una definición completa del concepto, se tiene una definición pragmática, propuesta por el Dr. Gerald Joyce del *Script Research Institute*: la vida es un sistema autosustentable capaz de llevar a cabo evolución Darwiniana.

El objeto de estudio de la astrobiología está circunscrito a *la búsqueda de la vida tal como la conocemos en el planeta*, lo cual traducido a sus características más conocidas, implica la presencia de agua líquida como disolvente; bioelementos como son carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S); y la presencia de fuentes de energía<sup>3</sup>. A pesar de lo limitado y cerrado de este

enfoque, nos permite reducir el número de *falsos positivos* que pudieran resultar en la búsqueda de vida *sin pautas*. Estas restricciones están sustentadas en las propiedades químicas de los bioelementos y sus compuestos como son la capacidad del carbono para formar moléculas complejas y que las moléculas del agua pueda formar puentes de hidrógeno<sup>3</sup>.

Las investigaciones recientes de la misión *Mars Science Laboratory* (MSL), mejor conocida como *Curiosity*, han logrado que cobre especial relevancia la segunda meta de la astrobiología, la cual pretende: *a) Determinar en cualquier ambiente presente o pasado, la posibilidad de una química prebiótica y posibles señales de vida en cualquier parte del Sistema Solar. b) Determinar la historia geológica de cualquier ambiente que haya tenido agua líquida, ingredientes químicos y fuentes de energía que pudiera haber mantenido sistemas vivos. c) Explorar materiales de corteza y atmósferas planetarias en busca de cualquier evidencia de vida pasada o presente*<sup>1</sup>. Para alcanzar estos objetivos se requiere de la aplicación de metodologías que faciliten el estudio de minerales y la presencia de materia orgánica en el regolito<sup>a</sup> de cuerpos de interés astrobiológico. Además, el primer objetivo de la segunda meta del plan de acción de la astrobiología consiste en el estudio del planeta Marte; esto es aplicable tanto a los resultados obtenidos por *Curiosity*, como a futuras misiones al planeta rojo.

## 2.2 Marte

El planeta Marte ha sido, durante mucho tiempo, el objeto principal de estudio para la búsqueda de vida fuera de la Tierra. El interés astrobiológico hacia el planeta se debe a: su corta distancia a la Tierra que ha facilitado el que sea uno de los cuerpos más y mejor estudiados desde el siglo XIX; además, su distancia al Sol, similar a la de la Tierra, que resulta en que ambos planetas compartan algunas

---

<sup>a</sup> El término regolito se refiere a una capa superficial formada por la destrucción de rocas en el cual no hay actividad biológica implicada en su formación.

características, siendo posible que en una etapa temprana de su formación, tuvieran condiciones ambientales similares para el surgimiento de la vida<sup>4</sup>.

Marte se ubica a una distancia media al Sol de 1.52 UA<sup>b</sup> (Unidades Astronómicas), su periodo de traslación es de 686.9 días terrestres, con un tiempo de rotación o *sol* de 24h 39' 35", y una oblicuidad<sup>c</sup> de 52.2°, con oscilaciones de entre 0 y 60°<sup>5</sup> en ciclos similares a los ciclos de Milankovich en la Tierra<sup>6</sup>. El diámetro de Marte es de 0.53 veces el radio terrestre<sup>d</sup> y una masa 0.11 veces a la masa de nuestro planeta<sup>e</sup>. Esto hace que sus dimensiones se encuentran entre los de la Tierra y la Luna. Además, al igual que otros planetas en el Sistema Solar, posee un sistema de satélites naturales formado por dos lunas: Phobos y Deimos.

### 2.2.1 Geofísica de Marte

La tenue atmósfera marciana alcanza una presión promedio de 0.6 milibares<sup>f</sup> y está compuesta por un 95.3% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), 2.7% de nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>) y un 1.6% de argón (Ar) y el restante 0.4% por pequeñas cantidades de agua (H<sub>2</sub>O), oxígeno diatómico (O<sub>2</sub>) y ozono (O<sub>3</sub>), así como otros gases en cantidades traza<sup>6</sup>.

La temperatura superficial media de Marte es de 215 K (-58 °C), solamente cinco grados por encima de la temperatura que tendría el planeta sin atmósfera. La temperatura superficial promedio es resultado del efecto invernadero de su delgada atmósfera. Además, debido a su composición atmosférica, las variaciones de la temperatura superficial son mucho mayores que en la Tierra: de 60 K en el ecuador, hasta 90 K en los polos<sup>6,7</sup>. Como la presión atmosférica está a penas arriba de la presión del punto triple del agua, la superficie del planeta carece de este compuesto

---

<sup>b</sup> Una Unida Astronómica es la distancia media de la Tierra al Sol, la cual equivale a  $\sim 1.5 \times 10^8$  km.

<sup>c</sup> La oblicuidad es el ángulo entre el plano ecuatorial y orbital de un cuerpo.

<sup>d</sup> El radio medio de la Tierra corresponde a 6371 km.

<sup>e</sup> La masa terrestre corresponde a  $5.97 \times 10^{24}$  kg.

<sup>f</sup> La presión atmosférica en la Tierra es de 1013 milibares.



en forma líquida<sup>6</sup>. Sin embargo, ésta contiene agua que incluso llega a formar nubes<sup>8</sup>. También se encuentra hielo de H<sub>2</sub>O en sus polos. Sin embargo, el componente principal de estas grandes superficies de hielo, es CO<sub>2</sub>. Las capas polares actúan como trampa fría para cualquier forma de agua que pudiera entrar a la atmósfera<sup>5</sup>. Recientemente se han observado estructuras denominadas *Líneas Recurrentes de Pendiente* que sugieren que el agua podría estar fluyendo sobre la superficie aún en el presente<sup>9</sup>.

La superficie de Marte se encuentra cubierta por una delgada capa de algunos cuantos micrómetros de fino polvo color rojizo, compuesto principalmente por óxido de hierro (III). Este polvo es suspendido en su atmósfera por acción del viento formando un aerosol que da al cielo del planeta su muy característico color rosado. Por debajo de esta capa de polvo se encuentra el regolito compuesto principalmente por material basáltico, en el cual se ha detectado la presencia de olivino ( $[\text{Mg}^{+2}, \text{Fe}^{+2}]_2\text{SiO}_4$ ), piroxeno ( $\text{XY}[\text{Si}, \text{Al}]_2\text{O}_6$ , donde “X” puede ser Ca, Na, Fe<sup>+2</sup>, Mg y “Y”, Cr, Mg, Mn, Al, Fe<sup>+3</sup> entre otros), magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) y plagioclasa (NaAlSi<sub>3</sub>O<sub>8</sub> – CaAl<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Este tipo de composición de la corteza marciana sugiere que, por lo menos desde hace 3.5 Giga años (Ga), la superficie del planeta ha sido modelada por efecto de la erosión del viento, impactos meteoríticos, vulcanismo y en menor proporción, por efecto del agua líquida<sup>10</sup>. La erosión relativamente suave de la superficie permite la preservación de estructuras de su pasado remoto, facilitando el estudio de la evolución geológica del planeta.

### 2.2.2 Marte primitivo

La historia geológica del planeta rojo se ha dividido en tres épocas, designadas según los principales acontecimientos geológicos que ocurrieron: Noachiano (4.6-3.7 Ga); Hesperiano (3.7-1 Ga); y Amazoniano (1 Ga a la actualidad). En la figura 2.1 se muestran las épocas geológicas de Marte.

A pesar de que en la actualidad Marte carece de las condiciones necesarias

para que subsista la vida tal como la conocemos en nuestro planeta, existe evidencia, en forma de estructuras geomorfológicas, minerales, entre otros, de que durante el Noachiano temprano dicho planeta podría haber reunido las condiciones necesarias para ser habitable. Los modelos planetarios indican que durante su formación los planetésimos que le dieron origen debieron contener una baja cantidad de materiales volátiles comparado con la Tierra<sup>11</sup>. Por otra parte, la influencia de los planetas exteriores podría haber proporcionado planetésimos provenientes de las regiones exteriores con una mayor cantidad de volátiles, proveyéndolo de diversos elementos importantes para la vida, como C y N<sup>6</sup>.

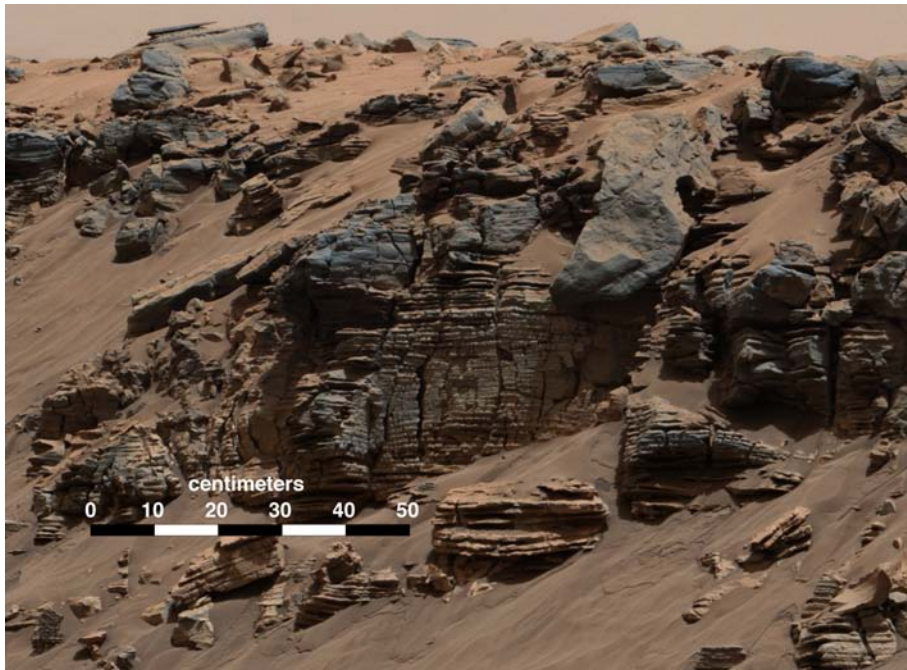
Se ha propuesto que en sus inicios Marte podría haber contado con una atmósfera mucho más densa que la que tiene en la actualidad<sup>12</sup>. Aunque su composición atmosférica primitiva se desconoce, las evidencias geológicas y el análisis de burbujas de gas atrapadas en meteoritas marcianas sugieren la presencia de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>. Una atmósfera más densa también podría haber propiciado el calentamiento del planeta, favoreciendo la presencia de agua líquida estable en la superficie.

Noachiano temprano	Noachiano Medio-tardío	Hesperiano	Amazoniano
	Un campo magnético protege la atmósfera		
	Formación del altiplano Tharsis		
	Alta velocidad de erosión		
Escape hidrodinámico de la atmósfera	Formación de los sistemas de valles		
Eyección atmosférica por impactos		Canales de flujo catastrófico	
Formación de las planicies principales por impactos	Suministro de volátiles por los impactos		

**Figura 2.1 Eras geológicas de Marte.** Se muestran las eras geológicas de Marte así como los eventos principales que ocurrieron en cada una. Modificado de Jakosky *et al.*<sup>12</sup>. Sin embargo, los modelos climáticos aplicados a Marte, sugieren que su

temperatura no pudo haber superado los 273 K; aún incorporando gases como hidrógeno ( $H_2$ ) y  $N_2$ <sup>13,14</sup>. Además, en las etapas tempranas de la evolución estelar del Sol, éste debió haber sido de un 25 a 30% menos luminoso que en la actualidad, por lo que los planetas recibían menor radiación solar, disminuyendo su temperatura superficial. Considerando esto, es difícil pensar en Marte con un ambiente primitivo húmedo y cálido como el que se presentó en la Tierra primitiva.

Por otro lado, existen evidencias de carácter geológico y geomorfológico que apuntan a que existió agua líquida en la superficie marciana. Quizá por largos periodos de tiempo, porque los sistemas de valles, datados entre el Noachiano y el Hesperiano, poseen una morfología que recuerda a los deltas de ríos terrestres<sup>5</sup>. Los recientes análisis realizados por la sonda MSL en la bahía Yellowknife, han encontrado arcillas y venas de sulfato de calcio que sugieren un ambiente lacustre estable, que posiblemente existió en el Noachiano temprano<sup>15</sup> así como evidencia de sedimentos de origen lacustre como los observados en la figura 2.2. Además, durante 2014 el rover *Opportunity*, en el cráter Endeavour, encontró pequeñas esférulas de óxido de hierro ( $FeO$ ) y venas de sulfato de calcio ( $CaSO_4$ ) en las rocas que sugieren un ambiente primitivo previo a la formación del cráter en el que quizá hubo agua líquida con un pH aproximadamente neutro<sup>16</sup>.



**Figura 2.2** Afloramiento tomado por *Curiosity* en *Hidden Valley*. Imagen tomada por el robot durante el *sol* 712 en *Hidden Valley* en la cual se puede observar en la parte central lo que parece ser sedimentos de origen lacustre. Tomado de *NASA*.

Existe evidencia de vulcanismo en Marte, el cual, con base en la edad de cristalización de algunas meteoritas marcianas, podría ser tan reciente como 150 millones de años<sup>5</sup>. Las evidencias más claras del vulcanismo corresponden a los altiplanos de Elysium y Tharsis. La presencia de volcanes es importante por dos principales razones: los volcanes son una fuente de compuestos como CO<sub>2</sub> y S, así como una fuente de energía para la formación de múltiples especies químicas.

En la actualidad Marte es muy distinto a como pudo haber sido en el pasado debido a la pérdida de gran parte de su atmósfera, proceso probablemente originado por las características del planeta que causan que posea una fuerza gravitacional menor que la de la Tierra. Además, a diferencia de nuestro planeta, carece de un campo magnético, probablemente debido a la solidificación del núcleo del planeta o a que sus procesos convectivos cambiaron. La ausencia de campo magnético habría expuesto a la atmósfera marciana al viento solar y una mayor cantidad de radiación; estos efectos podrían favorecer el escape hidrodinámico de la

atmósfera. Como evidencia de que este proceso pudo haber ocurrido, la atmósfera marciana está enriquecida en isotopos pesados. Así, las proporciones isotópicas en este planeta son diferentes a las de la Tierra para los elementos  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{38}\text{Ar}/^{36}\text{Ar}$  y  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ <sup>13,17</sup>.

A pesar de que actualmente Marte carece de campo magnético la presencia de regiones magnetizadas en la superficie sugiere que durante su historia temprana pudo haber tenido uno<sup>5</sup>. Las regiones magnetizadas han sido fechadas, por impactos meteoríticos, de entre el pre-Noachiano hasta el Noachiano tardío, según las suposiciones que se utilicen. Una evidencia especulativa consiste en la presencia de material magnético en la meteorita ALH84001 fechada con 4.09 Ga de antigüedad. Se ha propuesto que estos materiales derivan de la interacción de la meteorita con el campo magnético primitivo<sup>4</sup>.

Otra posible explicación a la pérdida de la atmósfera marciana primitiva, consiste en la deposición de componentes de la atmósfera en forma de minerales en la superficie del planeta, en forma de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) y carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). La interacción de la atmósfera con fuentes de energía como la radiación solar o los relámpagos podría haber generado especies químicas que habrían formado minerales al interaccionar con los elementos presentes en el regolito, quedando secuestrados en el mismo. Dado que Marte no posee actividad tectónica, los elementos depositados no podrían haber retornado a la atmósfera, como ocurre en la Tierra en los ciclos geológicos del carbono y del nitrógeno. Este proceso habría posiblemente generado un *sumidero* de elementos atmosféricos contribuyendo al adelgazamiento de la atmósfera marciana<sup>18</sup>.

También es probable que ambos mecanismos operaran durante la evolución de la atmósfera marciana. El modelado de la evolución geológica marciana ha sido impulsado por los datos recabados por las diversas sondas que han realizado mediciones *in situ* de la atmósfera y el regolito.

### 2.2.3 Misiones espaciales

La primera misión espacial en llegar exitosamente a Marte fue la misión *Mariner 4*, enviada por Estados Unidos, la cual sobrevoló a 10000 km la superficie del planeta el 14 de Julio de 1965 enviando 22 imágenes de la superficie y determinando que la atmósfera era mil veces más tenue que la terrestre y que se encontraba formada principalmente por CO<sub>2</sub>. Desde 1965 se han enviado poco menos de cincuenta misiones de las cuales cerca de la mitad han fracasado.

Dos de las más importantes han sido las *Viking 1* y *2* (1975) de la NASA, al ser las únicas misiones exitosas enviadas fuera de la Tierra que tuvieron el objetivo principal de buscar vida. La misión *Viking* constaba de dos sondas gemelas, las cuales consistían en un módulo estacionario y un orbitador cada una. El módulo de la *Viking 1* se posó en la planicie Chryse (22.27°N 47.97°W) ubicada en la región ecuatorial norte del planeta, mientras que el otro módulo se posó en la planicie Utopía (47.67°N 225.74°W) localizada en el hemisferio norte<sup>19</sup>.

Las sondas *Viking* contaban con tres experimentos de carácter biológico y un cuarto de carácter químico para la detección de vida presente, los experimentos biológicos se denominaban: 1) intercambio de gases; 2) liberación marcada y 3) liberación pirolítica. La finalidad de estos experimentos era buscar señales de metabolismo suponiendo mecanismos similares a los de los organismos terrestres. El experimento químico consistía en un sistema analítico acoplado de pirólisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas. Su finalidad era detectar materia orgánica que pudiera indicar la presencia de vida.

Los resultados obtenidos por las misiones *Viking* se consideran controversiales, ya que dos de los tres experimentos biológicos (liberación pirolítica e intercambio de gases) generaron resultados que no indicaban la presencia de vida. Sin embargo, el experimento de liberación marcada, el cual consistió en adicionar carbohidratos marcados con <sup>14</sup>C al regolito marciano y la posterior medición de radioactividad en el <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, produjo una respuesta similar a lo esperado por actividad biológica. Pese a

esto, la rapidez de la respuesta y la disminución en la intensidad de la misma al repetir el ensayo, no corresponden a las de una reacción de origen biológico<sup>20</sup>.

Por su parte, el experimento químico, consistió en el calentamiento de una muestra de regolito marciano hasta 500 °C así como el análisis por la técnica acoplada de cromatografía de gases y espectrometría de masas de los productos volátiles. Con esta técnica no se detectó la presencia de materia orgánica, solamente la presencia de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, los cuales están presentes en la atmósfera. Un par de datos interesantes fueron el que *Viking 1* detectara la presencia de clorometano (CH<sub>3</sub>Cl), mientras que *Viking 2* detectó diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Para ese entonces, la detección de ambos compuestos fue considerada posible contaminación terrestre<sup>21</sup>; debido a la aparente ausencia de materia orgánica y a los resultados no concluyentes de los experimentos biológicos, se determinó que los resultados obtenidos por los *Viking* se debían a reacciones químicas de compuestos oxidantes presentes en el regolito y no a la presencia de microorganismos<sup>21</sup>.

Los resultados de las sondas *Viking*, encaminaron a las nuevas misiones a utilizar una nueva estrategia denominada, *seguir al agua*, para la detección de lugares que fueran potencialmente habitables para la vida *tal como la conocemos*. Por esta razón se propuso la misión *Phoenix*, la cual tuvo entre sus objetivos estudiar la historia del agua en Marte y analizar la habitabilidad del planeta. Además aportó información importante para entender los resultados obtenidos por las misiones *Viking*. Así, en marzo de 2008 el módulo aterrizó en la región denominada *Green Valley* (68.22°N 234.25°E) perteneciente al polo norte marciano. Esta misión constaba de un instrumento llamado *Analizador por Microscopía, Electroquímica y Conductividad* (MECA) se incluyó el *Laboratorio de Química Húmeda* (WCL) con el propósito de analizar las especies químicas presentes en el regolito marciano. Hasta entonces solamente se había estudiado su composición elemental. WCL contenía una serie de electrodos de ión selectivo para los cationes Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> y los aniones Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> e I<sup>-</sup>. También se incluyó un electrodo de ión selectivo tipo

Hofmeister para la detección de  $\text{NO}_3^-$  pero este electrodo fue destinado a otros propósitos. *Phoenix* contaba además con un instrumento de análisis térmico constituido por un horno de alta temperatura y un espectrómetro de masas (TEGA) capaz de calentar las muestras de suelo marciano tomadas por el brazo robot hasta 1000 °C.

Durante el análisis de la composición del regolito marciano utilizando el WCL, *Phoenix* detectó la presencia de cloro en forma de perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ ) a una concentración aproximada de 0.5%<sub>(w/w)</sub>. Esta especie química se midió utilizando el electrodo Hofmeister, que posee una sensibilidad mil veces mayor a perclorato que a nitrato<sup>22</sup>. La presencia de  $\text{ClO}_4^-$  se confirmó mediante el instrumento TEGA, el cual mostró la liberación de  $\text{O}_2$  en el intervalo de temperaturas 325 a 625 °C, que corresponde al intervalo de temperatura de descomposición de esta especie química<sup>23</sup>. La presencia de perclorato en la superficie de Marte fue sorprendente debido a que en la Tierra esta especie química del cloro se encuentra en cantidades muy bajas, predominando los cloruros ( $\text{Cl}^-$ ).

Existen estudios realizados en suelos terrestres análogos a Marte sugieren que el perclorato pudo interferir en la pirólisis del regolito marciano realizada por los *Viking*, impidiendo detectar posibles cantidades de moléculas orgánicas presentes en el regolito en concentraciones de partes por millón<sup>21</sup>. El que la misión *Viking* no hubiera detectado materia orgánica en la superficie de Marte resultaba un poco contradictorio ya que, aún sin la presencia de vida en el planeta, se hubiera esperado la presencia de materia orgánica exógena debido a la caída continua de meteoritas y polvo, que, se estima contribuyen con una entrada de materia orgánica cercana a los  $2.4 \times 10^8$  g/año<sup>24</sup>.

La evidencia encontrada sobre la presencia de agua en Marte<sup>6</sup>, ha mostrado que la estrategia de *seguir al agua* ha sido eficiente y ha permitido el avance hacia



un nuevo objetivo: evaluar la habitabilidad<sup>g</sup> presente o pasada del planeta<sup>25</sup>. Con este objetivo, se concibió la misión *Mars Science Laboratory* (MSL), que aterrizó el 6 de agosto de 2012 en el cráter Gale (4.49°S 137.42°E). Este programa consiste en un rover denominado *Curiosity* que fue construido para tener una vida útil de por lo menos un año marciano (23 meses terrestres). MSL tiene la capacidad de realizar experimentos sobre las composiciones del suelo y atmósfera, así como estudios climatológicos. El lugar de descenso de MSL fue seleccionado por las facilidades del terreno para el aterrizaje, baja altitud, -4.4 km MOLA<sup>h26</sup>, que permitió un frenado eficiente durante la entrada de la sonda a la atmósfera y su adecuado posicionamiento<sup>25</sup>. Para el estudio de la habitabilidad de Marte, el cráter Gale posee características geológicas interesantes: tiene un diámetro de 150 km y una edad aproximada correspondiente a la frontera del Noachiano tardío y Hesperiano temprano (3.7-3.5 Ga). En la parte central del cráter se encuentra un monte estratificado denominado *Aeolis Mons*, también conocido como monte Sharp, en cuya base se han identificado minerales hidratados como sulfatos, hematita y arcillas<sup>15</sup>, minerales que se forman en presencia de agua líquida. Gale también es muy interesante por la presencia de un sistema de valles cercanos, que sugiere un ambiente fluvial. A diferencia de la misión *Viking*, MSL no tiene la capacidad de detectar vida de manera directa, en cambio tiene la capacidad de identificar moléculas orgánicas complejas, así como posibles bioseñales en el regolito y en la atmósfera.

*Curiosity* es un vehículo de seis ruedas independientes con capacidad de desplazarse por tierra entre 100 y 200 m cada sol; a diferencia de misiones anteriores, posee un generador termoeléctrico de radioisótopos en lugar de paneles solares. La misión cuenta con comunicación directa a la Tierra en ambas direcciones

---

<sup>g</sup> Se define habitable un ambiente en el que exista o haya existido agua líquida, una fuente de carbono y una fuente de energía.

<sup>h</sup> Altimetría Laser por Satélite en Marte (MOLA), instrumento de la sonda *Mars Global Surveyor*, permitía determinar la altimetría de la superficie de Marte con respecto a la órbita de la sonda.

mediante orbitadores (*Odyssey, Mars Reconnaissance Orbiter, Mars Express y MAVEN*).

Para cumplir con los objetivos de la misión, Curiosity cuenta con diez instrumentos científicos a bordo:

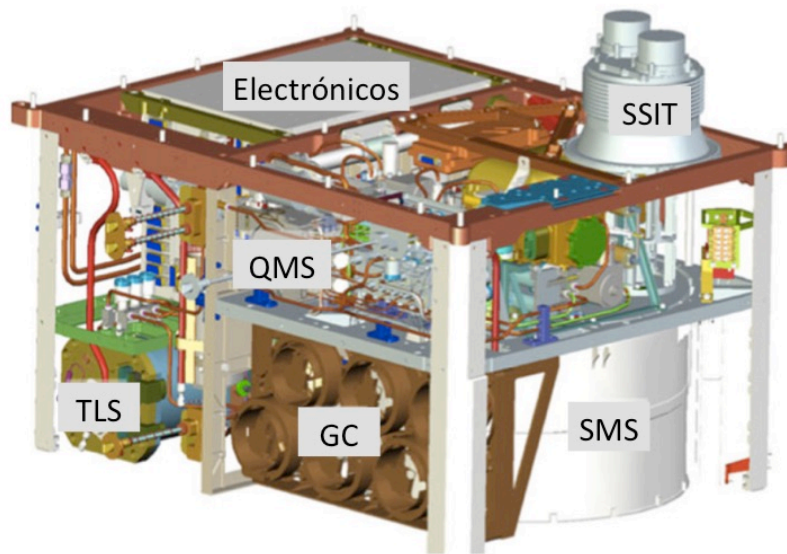
- Espectrómetro de Rayos X por radiación alfa (*APXS*)
- Cámara Binocular de Marte (*MAHLI*)
- Muestreador químico remoto inducido por láser (*ChemCam*)
- Albedo Dinámico de Neutrones (*DAN*)
- Cámara de mástil (*Mastcam*)
- Cámara de descenso de Marte (*MARDI*)
- Detector de radiación (*RAD*)
- Estación de monitoreo ambiental del rover (*REMS*)
- Laboratorio analítico de química y mineralogía (*ChemMin*)
- Analizador de muestras de Marte (*SAM*)

El instrumento SAM consiste en un cromatógrafo de gases (GC), un espectrómetro de masas cuadrupolar (QMS) y un espectrómetro de absorción láser con diodo sintonizable (TLS). El QMS es el instrumento principal de detección, para un intervalo de masas entre 2 y 535 unidades de masa atómica. En la figura 2.3 se muestra la estructura del instrumento SAM. Con el fin de poder obtener datos más precisos, el instrumento tiene la capacidad de realizar calentamientos de baja temperatura en uno de siete recipientes con una mezcla de los agentes derivatizantes MTBSTF<sup>i</sup> y DMF<sup>j</sup>. El objetivo principal de este conjunto de instrumentos es la detección de moléculas orgánicas e inorgánicas, así como marcadores isotópicos que pudieran ser de relevancia para la vida.

---

<sup>i</sup> N-terc-Butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NOSi)

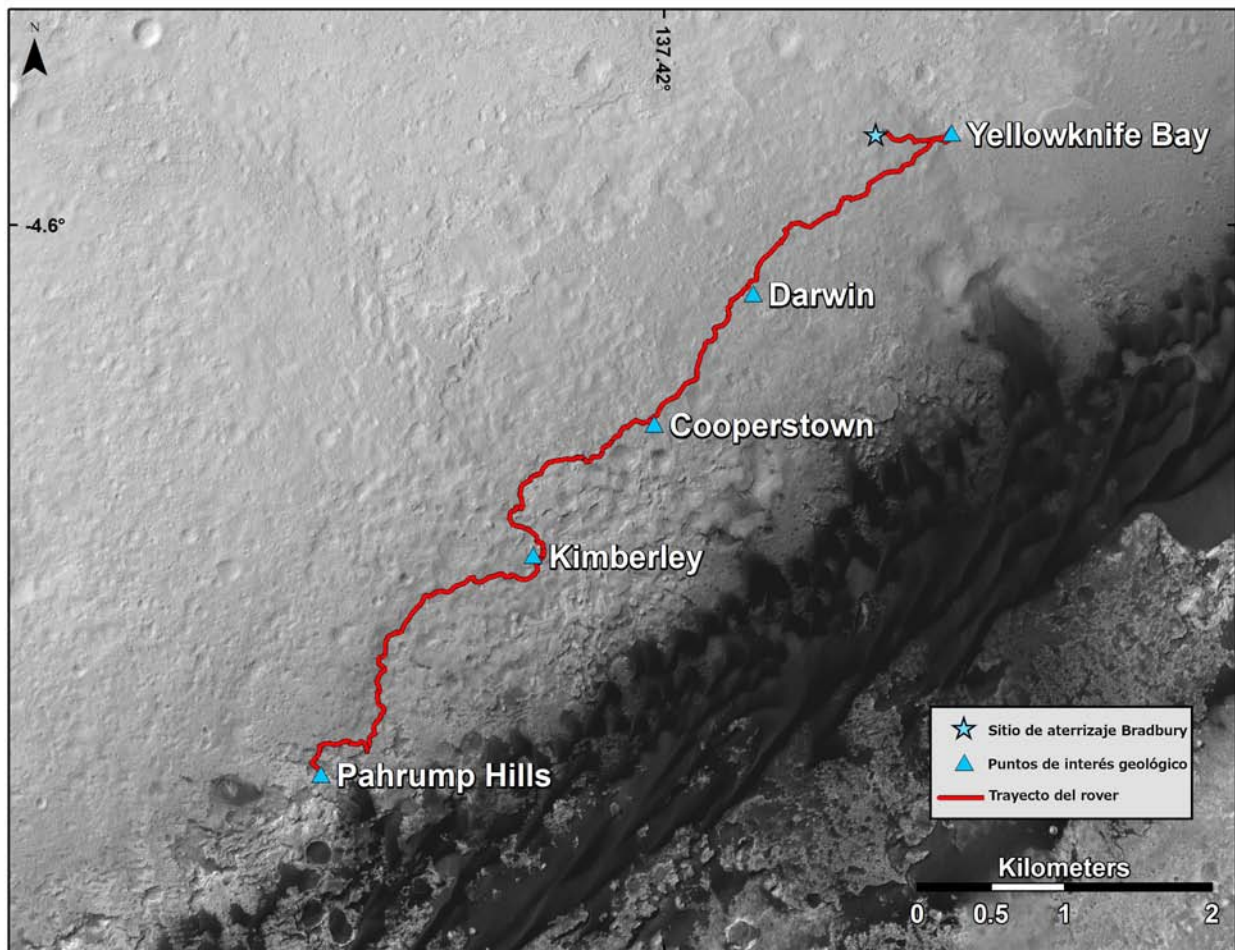
<sup>j</sup> Dimetil formamida ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NC(O)H)



**Figura 2.3 Estructura del instrumento SAM.** Esquema del instrumento SAM donde se muestra la localización de sus componentes, los cuales consisten en: tubo de entrada de muestras sólidas (SSIT), sistema de manipulación de muestras (SMS), cromatógrafo de gases (GC), espectrómetro de absorción láser con diodo sintonizable (TLS) y un espectrómetro de masas cuadrupolar (QMS) Modificada de Mahaffy *et al.*<sup>27</sup>.

Adicionalmente a los instrumentos científicos, *Curiosity* cuenta con una serie de cámaras para su navegación así como un brazo robot equipado con un taladro, una escobilla para la remoción de polvo y una pala para tomar muestras.

Para aumentar las posibilidades de detectar ambientes habitables, además del sitio de interés principal de *Curiosity*, la parte baja del monte Sharp; se designaron lugares secundarios cercanos a los sitios probables de aterrizaje del rover. *Curiosity* se posó en el denominado punto de aterrizaje Bradbury el cual se encuentra a 450 m de la bahía Yellowknife dentro de la cual se encuentra uno de los objetivos secundarios de la misión MSL, el abanico aluvial *Peace Vallis* que parece tener origen fluvial. Debido a varias características de la región como su origen, variedad de unidades geológicas y falta de cráteres, se le dio prioridad a investigar esta región antes de dirigirse a la base del monte Sharp. La figura 2.4 muestra el camino recorrido por *Curiosity* en Marte.



**Figura 2.4 Trayecto de *Curiosity* en Marte.** Se muestra la ruta del rover a partir de su sitio de aterrizaje hasta la base del monte Sharp a la cual llegó el *sol* 817. Modificado de NASA.

La bahía Yellowknife está conformada por arenisca con granulados de fino a grueso, con una composición basáltica que poco difiere de la corteza promedio de la superficie marciana. Tiene expuestos tres estratos denominados, en orden descendente: Glenelg, Gillespie y Sheepbed, siendo este último el más bajo. En esta zona Curiosity obtuvo dos muestras de roca utilizando el taladro del brazo robot, las cuales se denominaron John Klein, la cual presentaba venas de sulfato, y Cumberland, que se encontraba en una región donde había cavidades que se cree se formaron por la liberación de gas. Ambas muestras se obtuvieron perforando 10 cm del estrato Sheepbed y con 3 metros de separación entre ellas.

El color grisáceo de ambas muestras, sugiere que poseen material poco oxidado; y al analizarse mediante APXS, ChemMin y SAM se determinó la presencia de diversos componentes volátiles, siendo los principales H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>.

En ambas muestras sólidas analizadas por SAM, el principal componente volátil fue el agua, que en un análisis de gases evolucionados (*EGA*) se liberó mostrando dos picos a ~160 y ~725°C<sup>28</sup>. La mayor liberación de agua se llevó a cabo a la temperatura baja, que se ha interpretado como la liberación de agua adsorbida en la superficie de granos, agua asociada con cationes en filosilicatos entre otros. La posterior liberación a alta temperatura podría deberse a la deshidroxilación de filosilicatos, probablemente de saponita. Otro de los elementos volátiles detectados por SAM fue O<sub>2</sub>, detectado a través de la señal a ~150°C en la muestra John Klein y a 230°C en Cumberland. La liberación de oxígeno se ha asociado con la descomposición de perclorato o clorato, en concordancia a lo detectado con la misión *Phoenix*. La liberación de oxígeno va acompañada de la liberación de cloruro de hidrógeno HCl, hecho que apoya la suposición de que es resultado de la descomposición de las especies químicas mencionadas. Al comparar las temperaturas de liberación con experimentos en la Tierra, las fuentes más probables de O<sub>2</sub> son perclorato de magnesio [Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] o perclorato de hierro II (Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) o hierro III, Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>]<sup>28</sup>.

Adicionalmente al oxígeno, se detectaron clorometano y diclorometano, los cuales se encontraban presentes en concentraciones mayores a las atribuidas a los subproductos de los agentes derivatizantes MTBSTFA y DMF que lleva la misión. Esto indica la presencia de una fuente adicional de carbono en el regolito, concordando con los análisis realizados antes por las sondas *Viking*.

Además de los componentes principales, el análisis de John Klein y Cumberland mostró la liberación de un ion de masa 30, comúnmente asociado con el anión NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Esta especie se detectó en concentraciones de 70 y 12 nmol, por encima del nivel basal de esta especie que pudiera ser debida a MTBSTFA y DMF<sup>28</sup>. La

liberación de este ion se había obtenido previamente al analizar la muestra de roca Rocknest<sup>29</sup>.

Tras estudiar la región de Yellowknife bay, el rover se dirigió al monte Sharp, en el cual se espera que pueda analizar tres estratos en los que se ha detectado arcillas, sulfatos y fracturas cementadas<sup>25</sup>. El estudio de la parte inferior del monte Sharp es muy importante porque permitirá obtener información sobre la presencia de especies químicas relevantes para evaluar la habitabilidad pasada de Marte, como son sulfatos y arcillas.

Dado que se requiere de condiciones especiales para la presencia de nitrógeno en sus formas biológicamente relevantes y que éste es un elemento indispensable para la vida en la Tierra, se ha planteado la idea de “seguir al nitrógeno” como una manera de delimitar ambientes habitables en sitios en los que se ha encontrado evidencia de agua líquida.

### 2.3 La relevancia del nitrógeno

Bajo el enfoque de *seguir al agua*, NASA ha buscado primordialmente evidencias de agua para detectar ambientes habitables, empero, también es admisible utilizar a los bioelementos como marcadores de ambientes en los que pudiera surgir la vida<sup>30</sup>.

Uno de los principales bioelementos es el nitrógeno, el cual en su forma molecular ( $N_2$ ) se distingue por ser un gas casi inerte difícil de utilizar por los seres vivos. Es por esto que requiere de ser fijado por procesos bióticos o abióticos a formas biológicamente activas para su utilización por la mayoría de los organismos; las cuales son aprovechadas para la formación de biomoléculas como son aminoácidos, ácidos nucleicos y porfirinas; las cuales eventualmente son recicladas a la litósfera, donde mediante los procesos de subducción regresa a la atmósfera vía el vulcanismo. De esta manera la biósfera contribuye de manera importante en el ciclo del nitrógeno.

### 2.3.1 El nitrógeno en la Tierra: biósfera, litósfera y atmósfera

La composición química de los planetésimos que originaron a los planetas rocosos así como su masa determinó que planetas como la Tierra y Marte posean una menor cantidad de elementos volátiles en comparación con la composición promedio de los planetas del Sistema Solar. Específicamente en nuestro planeta, el nitrógeno se encuentra en mayor abundancia en el manto. Sin embargo, la atmósfera es la capa con la mayor concentración por volumen de nitrógeno, con un 78%.

Las características químicas del nitrógeno regulan la forma en que este elemento interactúa con la Tierra y los seres vivos. El átomo de N posee cinco electrones de valencia y, al igual que el carbono, puede formar orbitales híbridos  $sp^3$  así como formar hasta tres enlaces tipo  $\sigma$  más un par de electrones que da lugar a una geometría tetraédrica deformada por la repulsión electrónica del par de electrones sobre los otros tres orbitales híbridos; esta capacidad es particularmente importante en compuestos de carbono y nitrógeno que da lugar a la complejidad química en los organismos.

En los seres vivos el nitrógeno es utilizado para formar algunas de las biomoléculas más esenciales, como las bases nitrogenadas y los aminoácidos, entre otras. Por eso los seres vivos terrestres requieren una gran cantidad de nitrógeno, que va de entre 2 y 20 átomos por cada 100 de carbono que ingieren<sup>31</sup>.

Además de la estabilidad que le confiere el hecho de poseer tres electrones en su capa  $2p$  (capa semillena), el nitrógeno molecular es muy estable debido a su triple enlace, que posee una de las energías de disociación más altas, 941.69 kJ/mol en condiciones normales según el Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST por sus siglas en inglés). Debido a la energía tan alta que se requiere para la disociación de los átomos de nitrógeno del  $N_2$ , la mayoría de los organismos vivos utilizan como fuente de este elemento especies reducidas u oxidadas de nitrógeno

como sustrato (ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), compuestos orgánicos); especies químicas en las que se dice que el nitrógeno se encuentra fijado. El nitrógeno pasa a sus formas disponibles tanto por acción biótica como abiótica; sin embargo, la primera es la que provee el mayor aporte en la Tierra. En total, la acción de los organismos terrestres genera un reciclado estimado de  $2 \times 10^{14}$  gN/año, mientras que el ciclo abiótico del nitrógeno, contribuye con un ciclado de aproximadamente  $2 \times 10^{11}$  gN/año. La importancia del ciclado biológico de este elemento queda subrayado por los cálculos que señalan que, en el caso de que no existiera un flujo de regreso a la atmósfera debido a la denitrificación o anammox<sup>k</sup>, todo el nitrógeno quedaría secuestrado en la corteza terrestre en menos de 100 millones de años<sup>32</sup>.

Los principales organismos fijadores de nitrógeno o diazótrofos pertenecen exclusivamente a los dominios eubacteria y arquea, los cuales para fijar el  $\text{N}_2$  en forma de  $\text{NH}_4^+$  llevan a cabo uno de los procesos metabólicos más costosos energéticamente que existen. La fijación de nitrógeno se lleva a cabo mediante la enzima nitrogenasa, codificada por el operón *nifHDK*, el cual codifica para la enzima heterotetramérica dinitrogenasa  $\alpha_2\beta_2$  y para la enzima homodimérica reductasa de la dinitrogenasa  $\gamma_2$ . La subunidad  $\alpha$ , codificada por *nifD*, posee el centro catalítico que facilita la reducción de  $\text{N}_2$ ; este centro catalítico consiste en un compuesto bioinorgánico constituido por  $\text{MoFe}_7\text{S}_9$  al cual se ha denominado FeMo. Se han encontrado también variaciones de este complejo bimetálico en las que se reemplaza el molibdeno por hierro o vanadio. Sin embargo, estas formas tienen una menor especificidad y rendimiento. En conjunto la dinitrogenasa y su reductasa forman a la nitrogenasa, la cual a un costo de 16 ATP por molécula de  $\text{N}_2$  permite la fijación biótica del nitrógeno<sup>33</sup>. El operón *nifHDK* se encuentra ampliamente distribuido y con poca variación entre los procariontes. Además, el centro catalítico requiere cationes

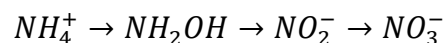
---

<sup>k</sup> La Oxidación Anaerobia de Amonio (*Annamox*) es un metabolismo bacteriano en el cual la oxidación de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{N}_2$  se genera mediante el acoplamiento de esta reacción a la reducción de  $\text{NO}_2^-$ <sup>31</sup>

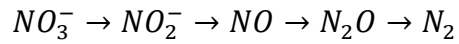


metálicos como Fe, Mo, V. De acuerdo con los científicos, este sistema biológico debe ser muy antiguo, probablemente previo a la *gran oxidación* cuando el mar contenía grandes cantidades de Fe disuelto y biodisponible<sup>34</sup>, y se cree que posteriormente se transmitió tanto por transporte horizontal como por vertical<sup>35</sup>. La acción de los diazótrofos tiene implicaciones más allá de la biósfera, el reciclado del nitrógeno en la Tierra es moldeado en el transcurso del tiempo por la acción biológica, al punto que, en la actualidad, este ciclo biogeoquímico está sujeto en su mayor parte a la acción de los organismos involucrados en el ciclo del nitrógeno.

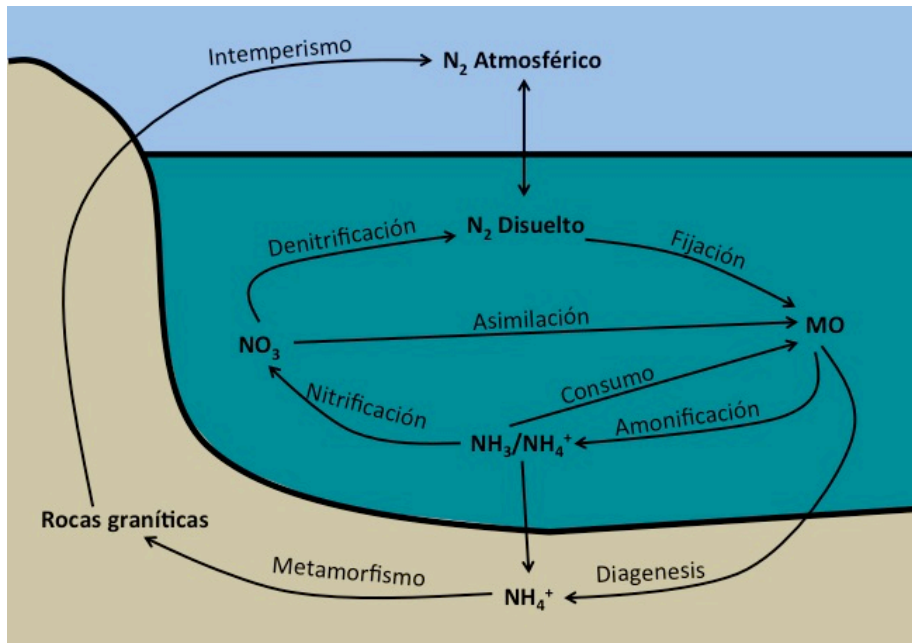
El ciclo del nitrógeno se puede resumir de la siguiente manera: el nitrógeno atmosférico en forma de N<sub>2</sub> es fijado por la acción de procesos abióticos, como por ejemplo la acción de relámpagos y vulcanismo; así como por acción de organismos diazótrofos. La fijación de nitrógeno vía la nitrogenasa genera el ion amonio principalmente, esta especie es fácilmente utilizada por los seres vivos y tiene dos posibles destinos: ser utilizado como precursor para formar moléculas orgánicas o bien, ser oxidado durante el proceso de nitrificación<sup>36</sup>. En caso de incorporarse a las moléculas orgánicas, el nitrógeno continúa el ciclo cuando, al morir el organismo, la materia orgánica se descompone liberando amonio en el proceso de amonificación, este NH<sub>4</sub><sup>+</sup> es posteriormente reintegrado al suelo. Por otra parte, el amonio que entra al proceso de nitrificación es procesado por dos grupos de procariontes: los oxidantes de amonio y los oxidantes de nitrito, en estos dos organismos se lleva a cabo la reacción:



Los organismos oxidantes de amonio, pasan de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>; mientras que los oxidantes de nitrito llevan a cabo únicamente la última parte de la reacción<sup>37</sup>. Los nitratos pueden ser incorporados por el fitoplancton en forma de materia orgánica mediante el proceso de asimilación para luego ser depositados en forma de sedimento. Otra opción es que el nitrato sea reducido por los organismos denitrificantes a N<sub>2</sub> mediante la reacción<sup>38,39</sup>:



A largo plazo, la materia orgánica es degradada por procesos diagenéticos tanto térmicos como biológicos, pasando a la forma  $NH_4^+$ , liberando una gran parte del nitrógeno. Pero, la fracción restante es depositada en sedimentos al sustituir al  $K^+$ . Posteriormente los procesos de metamorfismo<sup>1</sup> pueden oxidar el nitrógeno fijado a  $N_2$ , el cual es liberado a la atmósfera o secuestrado en inclusiones líquidas. El nitrógeno secuestrado en la corteza es finalmente liberado a la atmósfera mediante el vulcanismo<sup>40</sup>. En la figura 2.5 se muestra un esquema del ciclo del nitrógeno en nuestro planeta. Debido a la coevolución tan estrecha que han tenido los ciclos del nitrógeno biótico y abiótico en la Tierra, en términos globales el ciclado se lleva a cabo mediante un único proceso altamente entrelazado.



**Figura 2.5 Ciclo biótico y abiótico del nitrógeno.** Esquema del ciclo del nitrógeno: el nitrógeno atmosférico es fijado por los organismos para formar materia orgánica (MO) la cual puede ser transformada en amoniaco y ser consumido por organismos o pasar a los sedimentos. En caso de tomar la ruta biótica el amoniaco es transformado en nitrato y posteriormente denitrificado; si es secuestrado en los sedimentos, durante el proceso de metamorfismo es oxidado hasta  $N_2$  y posteriormente liberado por vulcanismo e intemperismo. Adaptada de Pinti y Hashizume; Bebout *et al.*<sup>38,41</sup>

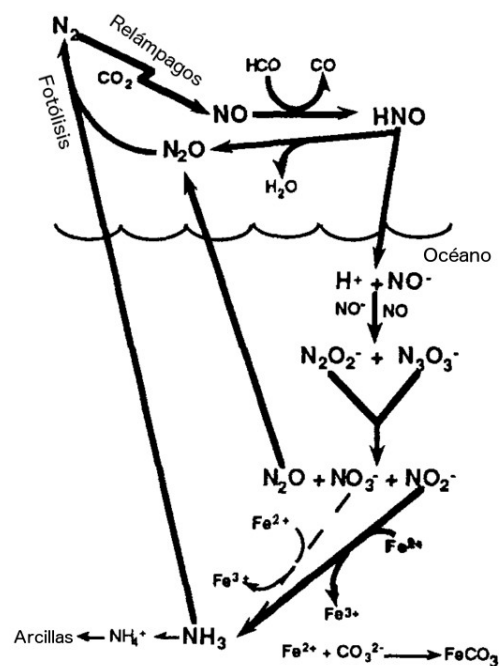
<sup>1</sup> Cambio estructural, químico o mineralógico que sufre una roca por efecto de presión y temperatura sin cambiar de estado físico.

### 2.3.2 El nitrógeno en Marte

Durante la formación de los planetas rocosos, éstos adquieren una atmósfera primaria proveniente de la interacción gravitacional entre los planetas y la nube de acreción. La atmósfera primaria se encuentra formada principalmente por  $H_2$  y  $He$ , así como otros elementos gaseosos que se encuentren presentes en la nube. Una vez iniciadas las reacciones termonucleares en la estrella, la atmósfera primaria es barrida de los planetas cercanos a la estrella y da lugar a una atmósfera planetaria secundaria, que proviene de los compuestos volátiles presentes en los embriones planetarios y los cuales se liberan por desgasamiento. Se cree que la composición atmosférica de Venus, la Tierra y Marte debió ser muy similar durante esta etapa, y debió haber estado formada por  $CO_2$ ,  $N_2$  y  $H_2O$  principalmente. Marte aún posee éstos restos de sus principales componentes atmosféricos, aunque se encuentran en una cantidad menor a la inicial. Se ha calculado que el planeta pudo haber tenido hasta 300 mbares de  $N_2$ , en contraste con los 0.2 que posee en la actualidad; esta pérdida de nitrógeno de la atmósfera de Marte se ha explicado recurriendo a diversos fenómenos tales como el escape térmico e impactos en el planeta. Aunque una posibilidad más es que el nitrógeno se haya fijado en forma de minerales en el regolito<sup>42</sup>.

En un estudio realizado, Mvondo *et al.*<sup>43</sup> simularon el efecto de descargas eléctricas en una atmósfera de  $CO_2$  y  $N_2$  y observaron que el principal producto generado es óxido nítrico (NO). El modelo propone la formación de HNO con una producción de entre  $10^7$  y  $10^8$  Kg por año en la atmósfera el cual, en presencia de agua, podría disolverse y reaccionar consigo mismo formando las especies diazenodiolato ( $HN_2O_2$ ) y N-nitrosomitramida ( $HN_3O_3$ ), las cuales decaerían rápidamente a  $N_2O$ ,  $NO_2^-$  y  $NO_3^-$ . El óxido nitroso podría escapar en forma gaseosa y ser fotolizado a  $N_2$ , mientras que los otros aniones quedarían en solución. Adicionalmente se menciona<sup>18</sup> que la presencia de iones  $Fe^{2+}$  disueltos junto con  $NO_2^-$  y  $NO_3^-$  causaría la reducción de nitrito a amoníaco, el cual podría escapar a la

atmósfera y ser fotolizado a  $N_2$  o formar cationes amonio los cuales podrían quedar secuestrados en el regolito marciano sustituyendo al  $K^+$ . En la figura 2.6 se muestra el posible mecanismo de formación de nitrato en Marte. Sin embargo, este modelo tiene la limitante de requerir la presencia de agua en la superficie de Marte en cantidades suficientes para llevar a cabo dicha reacción. Los resultados más recientes de *Curiosity* y *Opportunity* parecen favorecer esta idea al menos durante el Noachiano temprano<sup>15,16</sup>.



**Figura 2.6** Posible mecanismo de formación de nitrato en Marte. La acción de fuentes de energía como relámpagos promueve la formación de  $NO$  en una atmósfera predominantemente de  $CO_2$  y  $N_2$ , en estas condiciones el producto final de la reacción es  $HNO$ . En presencia de agua el  $HNO$  se disuelve y dimeriza formando  $N_2O_2$  y  $N_3O_3$  los cuales se descomponen en  $NO_2^-$  y  $NO_3^-$ . Finalmente en una disolución con  $Fe^{2+}$  el  $NO_2^-$  se descompone a  $NH_3$ . Modificado de Mancinelli<sup>18</sup>

También se ha explorado la posibilidad de la formación de nitrato y pernitrate ( $HNO_4$ ) por reacciones fotoquímicas en ausencia de agua<sup>22</sup>. Este modelo fue aplicado a condiciones similares a las del Amazoniano y son extrapolables al Marte actual.

El que se favorezca la deposición de  $NO_3^-$  o pernitratos ( $HNO_4$ ) en el regolito

marciano podría explicarse debido a que se ha estimado que éstas serían las especies más estables en el suelo marciano que es muy oxidante. Existen evidencias indirectas de la presencia de nitrato en Marte, por ejemplo las presentadas en un estudio reciente<sup>44</sup> en el cual reportó la presencia de nitrato en una inclusión de sales en el meteorito marciano EETA79001, el cual se calcula tiene una edad de  $170 \pm 2$  millones de años y  $12 \pm 1$  miles de años en la Tierra. La localización de la inclusión, así como la proporción de  $\text{NO}_3:\text{ClO}_4$  y la marca isotópica de  $^{15}\text{N}$  ( $-10.48 \pm 0.32\%$ ) y  $^{18}\text{O}$  ( $+51.61 \pm 0.74\%$ ) apuntan a un origen marciano de estas sales, aunque no se descarta la posibilidad de contaminación terrestre. Es importante señalar que la marca isotópica de nitrógeno no corresponde a la proporción actual en la atmósfera marciana  $\delta^{15}\text{N} \approx 625\%$ , lo cual podría indicar que los nitratos se formaron entre 1 y 2Ga antes de que se redujera la cantidad de  $^{14}\text{N}$  en Marte.

Más recientemente se ha mostrado evidencia directa de la presencia de nitratos en la superficie de Marte<sup>45</sup>. En tres muestras sólidas (Rocknest, John Klein y Cumberland) analizadas mediante espectrometría de masas en el instrumento SAM de *Curiosity* se detectaron niveles de ion 30 por encima de lo que explica la presencia de los derivatizantes. Estos resultados apuntan de manera más directa a la presencia de especies oxidadas de nitrógeno en el regolito del planeta.

## 2.4 Suelos terrestres análogos a Marte

A la fecha ninguna misión enviada a Marte ha logrado regresar muestras del regolito tomadas *in situ*. Esto ha limitado la elaboración de predicciones exactas sobre ese planeta, así como sobre las acciones a seguir de futuras misiones a Marte. A pesar de la ausencia de muestras tomadas directamente de Marte, utilizando meteoritos de origen marciano, estudios de misiones pasadas así como mediciones a distancia, han permitido seleccionar suelos de la Tierra que simulen una o varias características del regolito en Marte; denominados suelos análogos.

### 2.4.1 Tipos de suelos análogos

El estudio de la superficie de Marte mediante sondas, así como el uso de técnicas a distancia ha permitido definir ciertas características del regolito marciano, las cuales es posible simular en ciertas regiones de la Tierra. Es importante señalar que dado que las condiciones son diferentes en los dos planetas, no existe un suelo en la Tierra que reproduzca ni exactamente ni en todos sus aspectos al regolito marciano; simplemente son suelos que comparten una o varias características cualitativas a este último. Los suelos terrestres análogos a Marte se pueden clasificar en cinco tipos, según las características que tienen en común con el regolito<sup>46</sup>:

- Químicos: características como constante dieléctrica, potencial redox, pH, etc.
- Mecánicos: propiedades como fuerza de cohesión y ángulo de fricción interna.
- Físicos: propiedades como tamaño y forma de grano, porosidad, retención de agua, etc.
- Magnéticos: características como susceptibilidad magnética.
- Orgánicos: poseen cantidades de materia orgánica similares a las estimadas en Marte.

Los suelos análogos pueden clasificarse en más de uno de estos tipos y se usan principalmente en función de las propiedades del regolito que se quiere estudiar.

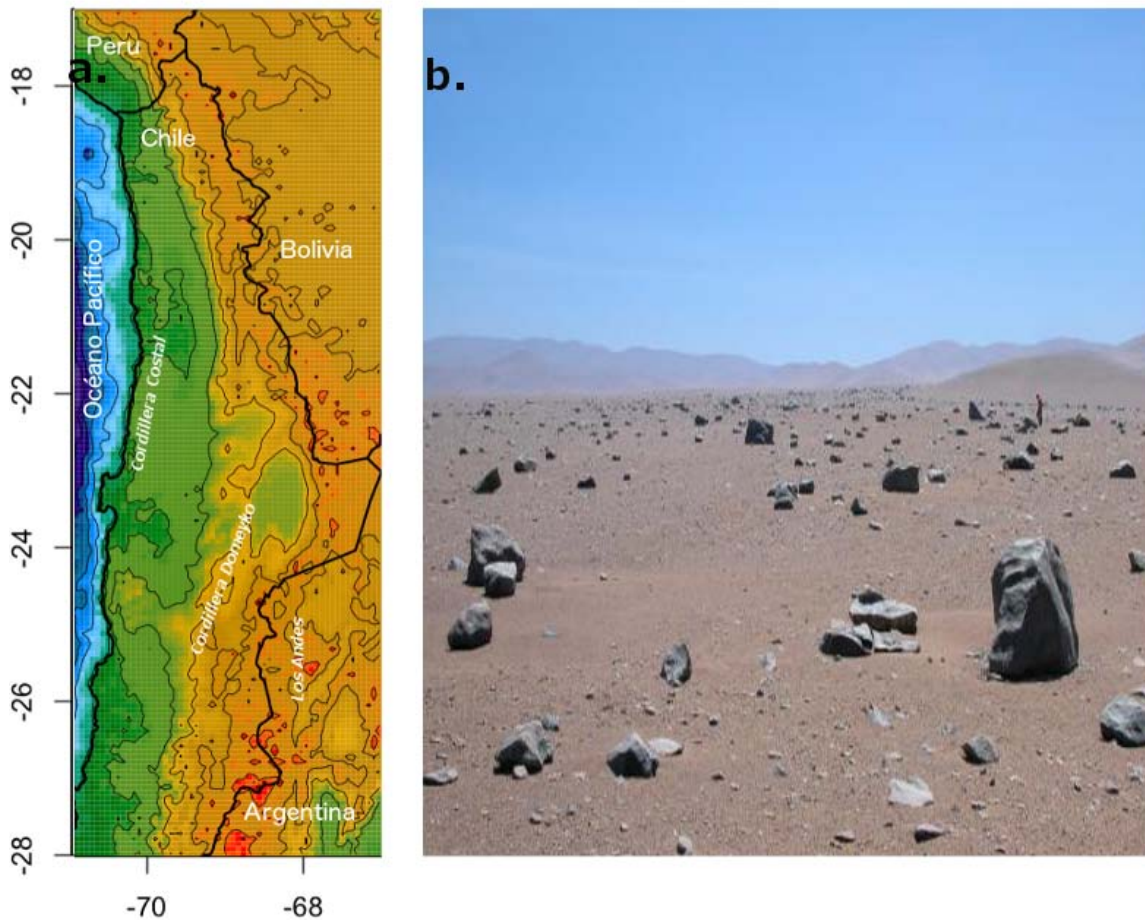
### 2.4.2 Desierto de Atacama

El desierto de Atacama, ubicado en la región del norte de Chile y sur de Perú, se clasifica como un análogo orgánico a Marte debido a su muy particular baja cantidad de materia orgánica presente en ese suelo. Además, Atacama asemeja al regolito marciano en: potencial redox, pH, conductividad eléctrica, composición mineralógica y contenido de agua<sup>46</sup>. Las propiedades del desierto de Atacama son resultado de sus características geomorfológicas: el desierto se encuentra flanqueado

del lado este por los Andes con una altitud aproximada de 6000 metros sobre el nivel del mar (msnm), los cuales evitan la llegada de humedad de la región continental. La corriente fría de Humbolt en el océano Pacífico evita la llegada de aire marino húmedo y el que llega a presentarse es bloqueado por la cordillera Costal, de 2000msnm de altura en promedio, situada al oeste de Atacama<sup>47</sup>. La figura **2.7a** muestra un mapa altitudinal del desierto de Atacama.

La región más seca de Atacama es el valle que se encuentra entre la cordillera Costal y los Andes, conocido como Valle Central que puede dividirse en dos regiones: la Pampa de Tamarugal al norte y la cuenca longitudinal al sur, cerca del distrito Agua Blanca. Debido a su ubicación geográfica, se considera al desierto de Atacama como un desierto *híper árido*, siendo la región de Agua Blanca la que presenta la menor precipitación anual (<1mm al año). Como consecuencia de esto, la presencia de vida se encuentra muy limitada en esta región. Incluso, en las partes más secas, la vida microbiana se encuentra prácticamente ausente en la parte superficial del suelo. La figura **2.7b** muestra una imagen de la zona más árida del desierto de Atacama.

La extrema aridez, así como la casi ausencia de seres vivos, presentes en la región más árida de Atacama, son condiciones muy particulares en la Tierra, las cuales permiten la deposición de sales que normalmente se perderían ya sea por infiltración a cuerpos de agua o por la asimilación de organismos. El desierto de Atacama es particularmente rico en nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), así como cantidades menores de perclorato de calcio ( $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ ) y magnesio ( $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ ).



**Figura 2.7 Desierto de Atacama.** a. Mapa del norte de Chile donde se muestra la ubicación del desierto de Atacama. De oeste a este se encuentra el océano Pacífico, la cordillera Costal, el Valle Central, la cordillera Domeyko y los Andes. Generado con el programa *marmap*<sup>48</sup> y datos de ETOPO1<sup>49</sup> b. Imagen del desierto de Atacama aproximadamente 80km al sureste del puerto de Antofagasta. Tomado de *USGS*.

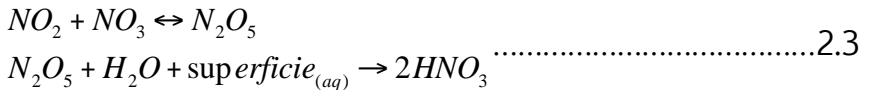
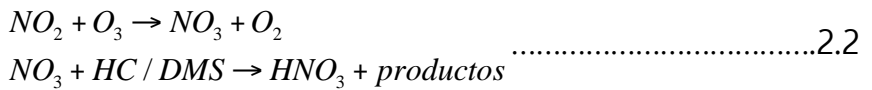
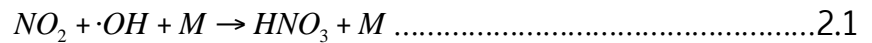
Los depósitos de  $\text{NO}_3^-$  se encuentran principalmente al este de la cordillera de la Costal en áreas por debajo de los 2000m de altitud. Sin embargo, se han reportado depósitos en regiones de hasta a 4000m. Los principales depósitos de nitrato de alto grado de pureza, o *caliche*, se encuentran en los distritos de Tarapacá y Antofagasta<sup>47</sup>.

El origen de los nitratos en Atacama ha sido objeto de gran debate y se han propuesto muchas teorías al respecto.

Los estudios isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{17}\text{O}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ <sup>50,51</sup> sugieren que uno de los principales contribuyentes de nitratos es la deposición atmosférica de nitrato.



Michalski *et al.*<sup>51</sup> propusieron un modelo en el cual la formación de nitrato se lleva a cabo mediante las siguientes reacciones:



Por otro lado se han propuesto diversas fuentes alternativas; en un estudio reciente se analizó la influencia de los aerosoles marinos en las sales solubles de Atacama y se observó que aunque este fenómeno era importante para las regiones cercanas a la costa, no tenía una influencia importante en las partes más continentales<sup>52</sup>. Otro estudio observó lo mismo en los nitratos al estudiar depósitos de sales en trampas de polvo colocadas en la región de Antofagasta<sup>53</sup>.

Sin embargo, dado que éste es un proceso complejo, es probable que no exista un único origen de los nitratos. Por otra parte hay que señalar que a la fecha la ubicación de los depósitos de nitratos en Atacama dependen en gran medida de los registros mineros por lo que se desconoce la distribución real de estas sales.

Los suelos de Atacama son un buen análogo para estudiar la presencia de nitratos en Marte debido a la presencia de esta especie, así como el que tienen un carácter oxidante, los cuales permitirán entender los resultados obtenidos *in situ* por el *Curiosity*.

## 2.5 Técnicas analíticas

### 2.5.1 Validación de un método analítico

La validación de un método analítico permite asegurar que el estudio rutinario de muestras se acercará lo más posible al valor verdadero. Para lograr esto se deben realizar una serie de análisis, los cuales se puede dividir en cuatro pasos:

- 1) Aplicabilidad de la técnica. Se refiere a qué tan adecuado resulta una técnica para realizar el análisis deseado según parámetros previamente definidos.
- 2) Especificidad y selectividad. Estos parámetros indican que tan confiable es la técnica para detectar al analito deseado y cómo afecta la presencia de interferentes a la señal obtenida.
- 3) Estudio de calibración. Consiste en la relación que existe entre la señal observada y la cantidad de analito en muestras estándar. De estos estudios se pueden derivar los límites de detección y cuantificación.
- 4) Estudio de exactitud. Se puede estudiar como la precisión del método, es decir qué tan dispersa se encuentra la señal de muestras homogéneas; así como la prueba de recobro, la cual consiste en evaluar cuánto analito se obtiene en una muestra tras adicionar una cantidad conocida de analito.

## 2.5.2 Colorimetría

La colorimetría es un tipo de espectrometría de absorción molecular UV/visible. En este tipo de técnicas se cuantifica la concentración de una especie química mediante su absorción de longitudes de onda específicas. Este fenómeno sigue la ley de Lambert-Beer, la cual indica que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie química ( $c$ ), a la distancia que recorre el haz de luz ( $b$ ) y a una constante denominada absortividad molar ( $a$ )<sup>54</sup>.

$$A = abc$$

También es posible medir la transmitancia, que es la fracción de la luz incidente que atraviesa la muestra, sin embargo debido a que este parámetro tiene un comportamiento logarítmico, se prefiere utilizar la absorbancia, que es lineal. La proporción entre transmitancia y absorbancia es:

$$A = 2 - \log(\%T)$$

### 2.5.3 Termogravimetría

Los análisis de termogravimetría (TGA) registran el cambio de peso de una muestra al ser calentada o enfriada en una atmósfera controlada<sup>54</sup>. Debido a esto, este tipo de análisis sólo son aplicables a procesos en los que la masa del analito se modifica al calentarse. Los resultados de los TGA se expresan como termogramas, gráficas en las que se muestra en el eje de las abscisas tiempo o temperatura y en el eje de las ordenadas el porcentaje de peso. En los termogramas es útil conocer los puntos donde se inicia la pérdida de masa, así como el punto de inflexión de la curva, que corresponde al punto de mayor cambio.

### 2.5.4 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica que permite identificar y cuantificar una sustancia mediante la relación masa/carga ( $m/z$ ) de sus iones.

De manera general un espectrómetro de masas consiste en un sistema de entrada para las muestras, una fuente de iones, un analizador de masas y un detector de iones<sup>54</sup>.

La fuente de iones permite ionizar el analito, esto se puede llevar a cabo mediante una corriente de electrones los cuales por repulsión cargarán positivamente la molécula del analito, formando el ion parental. Posteriormente, si la energía es lo suficientemente elevada, el ion se fragmentará en iones de menor masa.

Para el análisis de las masas de los iones se puede utilizar un cuadrupolo, en el cual se estabiliza o desestabiliza el haz de iones utilizando campos eléctricos oscilatorios creados mediante cuatro electrodos paralelos. El que el haz de un ion determinado se estabilice y llegue al detector depende de su relación  $m/z$  así como de la frecuencia e intensidad del campo eléctrico generado por el cuadrupolo. Este último aspecto puede ser modulado para seleccionar masas específicas.

### 3. Justificación

El estudio de las especies químicas de nitrógeno en Marte es fundamental para evaluar la habitabilidad de este planeta en el pasado o en el presente. Dentro de las posibles fuentes de nitrógeno en el regolito marciano, los nitratos resultan la opción más factible dadas las condiciones actuales del planeta. Aunque recientemente se publicó evidencia de la presencia de nitratos en Marte, es importante considerar que las técnicas utilizadas por las misiones espaciales que han estudiado directamente el regolito marciano no han sido específicas para identificar ciertas especies químicas, como los nitratos. La alternativa para realizar estudios más detallados sobre esta especie química es su estudio en suelos terrestres análogos a Marte, implementando técnicas analíticas capaces de detectarlos y cuantificarlos para posteriormente usarlas en el regolito marciano.

En este trabajo se propone una técnica colorimétrica para la cuantificación de nitratos en un suelo análogo a Marte como lo es el desierto de Atacama en el norte de Chile. Esta técnica puede servir para complementar el estudio de estos compuestos por la técnica acoplada de análisis termogravimétrico – calorimetría diferencial de barrido – espectrometría de masas (TGA-DSC-MS), cabe mencionar que dichas técnicas actualmente son utilizadas por la misión espacial Curiosity en el planeta Marte.

## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivo general

Desarrollar, implementar y usar una técnica colorimétrica para la detección de nitratos y nitritos en un suelo análogo a Marte como lo es el desierto de Atacama (a lo largo de un transecto de precipitación longitudinal entre la costa y la base de la cordillera Domeykos), estableciendo las condiciones experimentales óptimas.

### 4.2 Objetivos particulares

Para cumplir con el objetivo general se propuso:

- a) Montar una técnica colorimétrica capaz de detectar nitratos en suelos hiperáridos, análogos a Marte, como lo son los del desierto de Atacama en el norte de Chile.
- b) Validar la técnica para corroborar su reproducibilidad y especificidad, teniendo en cuenta que la Comisión Europea acepta recobros iguales o superiores al 80% y hasta 120% en técnicas analíticas aplicadas a muestras de suelo.
- c) Analizar por la técnica validada para nitratos y nitritos, muestras de suelo de un transecto oeste-este, correlacionando los valores obtenidos con variables tales como la topografía y la humedad, entre otras.
- d) Adicionalmente para iniciar la validación de la técnica TGA-DSC-MS se realizaron análisis de nitratos y nitritos puros, que permitan establecer un protocolo para su aplicación en el análisis de suelos análogos a Marte.

## 5. Materiales y métodos

### 5.1 Detección de nitratos y nitritos en suelo por colorimetría

La técnica consiste principalmente en tres pasos: 1) extracción de sales solubles, 2) reducción de nitrato a nitrito, 3) formación de una sal de azonio<sup>m</sup>. En este trabajo, se implementó una técnica capaz de cuantificar nitratos y nitritos. Para la detección de nitratos se utilizó la técnica completa, mientras que para la detección de nitritos se omitió el paso 2.

### 5.2 Extracción de sales solubles

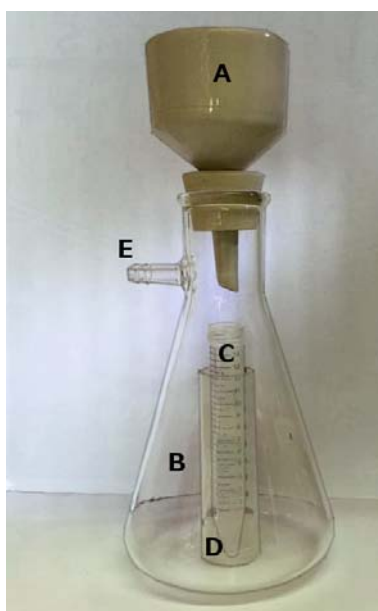
Para la extracción de nitratos y nitritos de muestras de suelo se utilizó la técnica mencionada en Mulvaney *et al*<sup>65</sup>. La cual consiste en preparar una disolución 2 M de cloruro de potasio (KCl) (Meyer, Cat. 2015-500) y adicionar el volumen necesario para tener una relación de suelo a KCl de 1:10. Para los experimentos realizados se utilizó 1 g de suelo mezclado con 10 mL de la disolución, se utilizaron tubos de centrifuga de 15 mL. Los tubos se agitaron en un Vortex multi pulso (Glas-Col, Cat. 099A VB4) a 40 vibraciones por segundo durante 1h. Tras la agitación se dejaron reposar las mezclas hasta que la disolución sobrenadante se aclarara. Posteriormente se centrifugó (Eppendorf, Centrifuge 5702) por 2 min a 4400 rpm. Se extrajo el sobrenadante -sin partículas suspendidas visibles- con una pipeta de vidrio de 10 mL. El sobrenadante se filtró con la ayuda de un embudo Büchner cerámico con papel filtro Whatman No. 41 montado sobre un matraz Kitasato de 1 L, para que el filtrado cayera directamente en el tubo de centrifuga colocado dentro del matraz en un soporte, finalmente el Kitasato se conectó al sistema de vacío del laboratorio. La figura 5.1 muestra el dispositivo empleado en la filtración del sobrenadante.

---

<sup>m</sup> Las sales de azonio son compuestos orgánicos de la forma R-N=N-R'.

### 5.3 Reducción de nitratos con zinc

Para la reducción de nitrato siguiendo la técnica descrita por Narayana *et al.*<sup>56</sup>, se utilizó NaCl (Baker, Cat. 3624-01) molido en mortero de ágata hasta obtener un polvo fino; para cada reducción se pesaron aproximadamente 5 mg de zinc en polvo y se le adicionó suficiente cloruro de sodio hasta obtener 2.6 g de la mezcla sólida homogénea; La mezcla de Zn/NaCl se pasó a un tubo de centrifuga de 15 mL donde se le adicionaron 10 mL de la solución de interés. Se mezcló vigorosamente hasta disolver completamente el sólido y se agregaron 500 $\mu$ L de HCl 0.36% preparados a partir de una disolución de HCl concentrado (Baker, Cat. 9535). El tubo se agitó manualmente durante 3 minutos. De esta solución se tomaron aproximadamente 5 mL para realizar la reacción colorimétrica.



**Figura 5.1** Aparato de filtración. A. Embudo Büchner. B. Matraz Kitasato. C. Tubo de centrifuga. D. Base para el tubo. E. Salida a vacío.

### 5.4 Formación de una sal de azonio

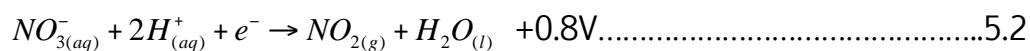
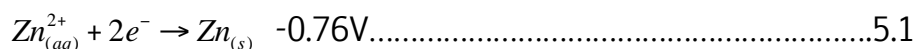
Para la formación de una sal de azonio se preparó una disolución 6% de  $H_3PO_4$  a partir del ácido concentrado (Técnica Química, Cat. 1520); esta disolución se utilizó posteriormente para preparar una disolución 2% de sulfanilamida (Aldrich,

Cat. 63-74-1). Además, se preparó una disolución 0.14% de clorhidrato de N-1-naftiletilen-diamina (NEDA) (Aldrich, Cat. 1465-25-4). Para la detección de nitritos se tomaron aproximadamente 5 mL de la solución de interés, los cuales se mezclaron con 2 mL de la solución de sulfanilamida en un tubo de centrífuga de 15 mL. Se agitó la mezcla en el Vortex durante 5 minutos. Posteriormente, se agregaron 2 mL de la solución NEDA y la disolución se llevó hasta un volumen total de 10 mL con agua destilada. Esta última solución se trasvasó a una celda de vidrio y se introdujo en un colorímetro (LaMotte, DC-1600), en el cual se seleccionó el canal 4 (en donde se produce una longitud de onda de 530nm). El valor obtenido está dado en % de Trasmítancia (%T) el cual se convierte en absorbancia (A), según la siguiente ecuación:

$$A=2\log_{10}(\%T)$$

## 5.5 Estandarización de la técnica de reducción de nitrato a nitrito

Las técnicas de detección de nitratos suelen ser complicadas y con importante interferencia de otros iones y materia orgánica<sup>55</sup>, por ello se decidió utilizar una modificación de la técnica de reducción de  $\text{NO}_3^-$  a nitrito con zinc y cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ )<sup>56</sup>. Como se menciona en la literatura<sup>57</sup> la cantidad de zinc utilizado para la reducción de nitrato es un factor importante para la eficiencia de la reacción y la cantidad óptima para la reacción muchas veces depende del lote utilizado y debe determinarse empíricamente. Otro factor que influye en la reducción de nitrato es el medio ácido en el cual se lleva a cabo la reacción; dado que la reducción se lleva a cabo mediante las ecuaciones 5.1 y 5.2.



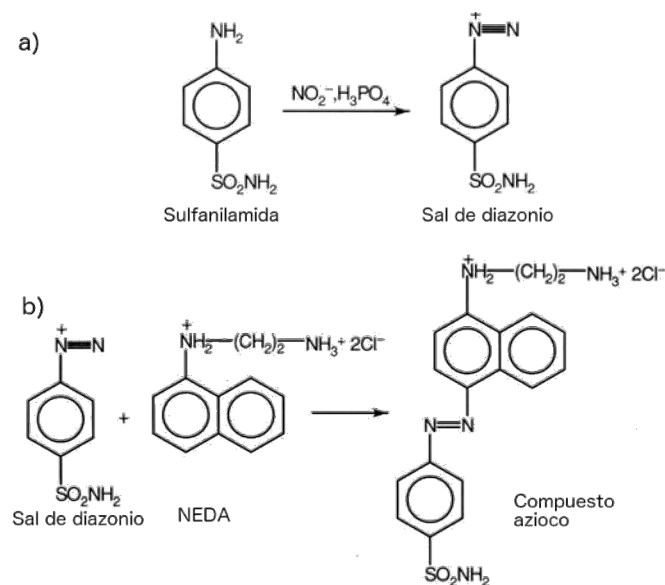
Para encontrar las condiciones óptimas de la reducción de nitratos se evaluó simultáneamente el efecto de variar las cantidades de zinc (0.01, 0.005, 0.001 g) y



el medio ácido (1, 0.5 y 0.1 mL de una solución 0.36% de ácido clorhídrico). Para cada condición se utilizaron dos muestras en las que se redujeron 10 mL de una solución 0.01M de  $\text{NaNO}_3$  de la cual se tomaron 100  $\mu\text{L}$  los cuales fueron analizados mediante la técnica de colorimetría, se obtuvieron los valores de absorbancia de cada caso. Es importante mencionar que el  $\text{NaCl}$  se utiliza únicamente como vehículo para el zinc y no se modificó la cantidad utilizada.

## 5.6 Técnica de colorimetría para la determinación de nitritos

Para la detección de los nitritos producidos en la reducción de nitratos con  $\text{Zn}/\text{NaCl}$  se utilizó la técnica colorimétrica publicada<sup>58,59</sup> en la cual el nitrito se hace reaccionar con sulfanilamida para formar una sal de diazonio, la cual posteriormente se une a N-1-naftiletilen-diamina (NEDA) para formar un compuesto azoico de color violeta el cual absorbe a 540nm. En la figura 5.2, muestra las reacciones necesarias para formar el compuesto colorido que nos permite determinar por la técnica colorimétrica a los nitritos presentes en el sobrenadante.



**Figura 5.2 Reacciones para la formación de un compuesto azo.** a) Reacción entre nitrito y sulfanilamida para formar una sal de diazonio. b) Reacción entre la sal de diazonio y NEDA para formar un azo compuesto. Modificada de Shooter<sup>58</sup>.

## 5.7 Análisis de interferencias

Debido a que la técnica de detección de nitratos y nitritos se utilizaría en muestras de suelo con altas concentraciones de distintas sales, se realizaron pruebas para determinar si este factor podría afectar la técnica. Para ello se estudió el efecto del perclorato de magnesio hexahidratado  $[\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  (Aldich, Cat. 04624EH) y el sulfato de calcio dihidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Aldrich, Cat. C3771) debido a que sus aniones son de las especies solubles más abundantes en Atacama<sup>47,60</sup>. Para estos experimentos se utilizaron 0.14 g de  $\text{CaSO}_4$  y 500  $\mu\text{L}$  de una solución 0.1 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , estas cantidades corresponden aproximadamente al 1% (w/w) si se hubieran extraído de 1 g de suelo, lo cual es una cantidad por encima de lo encontrado en el desierto. Se decidió estudiar si las especies por sí mismas o en combinación con nitrato podían generar interferencia. Para estudiar esto se realizaron los pasos 2 y 3 de la técnica con las muestras de nitrato, sulfato y perclorato o mezclas de nitrato con sulfato o nitrato con perclorato.

## 5.8 Curva de calibración de nitritos

Para determinar el intervalo lineal de la técnica se utilizó un estándar 0.1 M (Thermo, Cat. 920706) a partir del cual se prepararon dos disoluciones 0.1 y 0.01 mM, de éstas se tomaron varios volúmenes (0.1mM: 1200, 1000, 800, 600, 500, 400 y 200  $\mu\text{L}$ ; 0.01 mM: 900 y 700  $\mu\text{L}$ ) para construir la curva de calibración. Las disoluciones se procesaron según se indica en el paso 2. Los resultados se analizaron para obtener el coeficiente de correlación y el límite de detección.

## 5.9 Curva de calibración de nitratos

Para realizar la curva de calibración de nitratos se partió de una solución 73 mM para preparar tres disoluciones de nitratos (73, 7.3 y 0.73 mM) las cuales fueron

reducidas siguiendo la metodología descrita en 5.3. Posteriormente se tomaron de los filtrados volúmenes entre 100 y 1000  $\mu\text{L}$  los cuales fueron usados para realizar los puntos de la curva de calibración. De los datos obtenidos se obtuvieron los valores de coeficiente de correlación y límite de detección. La tabla 5.1 resume las cantidades de nitrato usadas para construir la curva de calibración.

Disolución (mM)	Volumen ( $\mu\text{L}$ )
73	1000
	500
	100
7.3	800
	500
	300
	100
.73	500
	100

**Tabla 5.1** Cantidades de nitrato usadas para la curva de calibración. Del lado izquierdo se muestra la concentración en mM de las disoluciones utilizadas para realizar la curva; del lado derecho se muestra el volumen en  $\mu\text{L}$  tomado de cada disolución para generar los puntos de la curva.

### 5.10 Muestras del desierto de Atacama

Durante 2001 se realizó la toma de muestra de suelo de un transecto oeste-este dentro del desierto de Atacama en el norte de Chile, se obtuvieron diez muestras de aproximadamente medio kilo cada una, dichas muestras se colectaron por medio de palitas estériles de polietileno en los primeros 10 cm de la superficie y en un radio de 5 m, fueron guardadas en bolsas herméticas y mantenidas en almacenamiento seco. Las muestras se obtuvieron de las regiones mostradas en la tabla 5.2 y la figura 5.3:

Muestra	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)
1A	24° 3' 3.5994" S	69° 37' 19.1994" W	1252
2A	24° 9' 50.4" S	69° 22' 8.3994" W	1840
3A	24° 15' 21.6" S	69° 11' 2.3994" W	3198
4A	24° 14' 13.1994" S	68° 56' 27.6" W	2833
5A	26° 21' 10.8" S	69° 51' 53.9994" W	1135
6A	25° 46' 8.3994" S	70° 10' 29.9994" W	1321
7A	25° 18' 17.9994" S	69° 50' 34.8" W	2126
8A	25° 18' 17.9994" S	69° 50' 31.1994" W	2087
9A	24° 35' 20.3994" S	70° 20' 56.4" W	2096
10A	25° 0' 57.5994" S	70° 26' 16.8" W	567
Yungay	24° 4' 9.6" S	69° 51' 58.8" W	

**Tabla 5.2 Ubicación de las muestras.** Se muestra la clave, coordenadas y altitud del sitio.

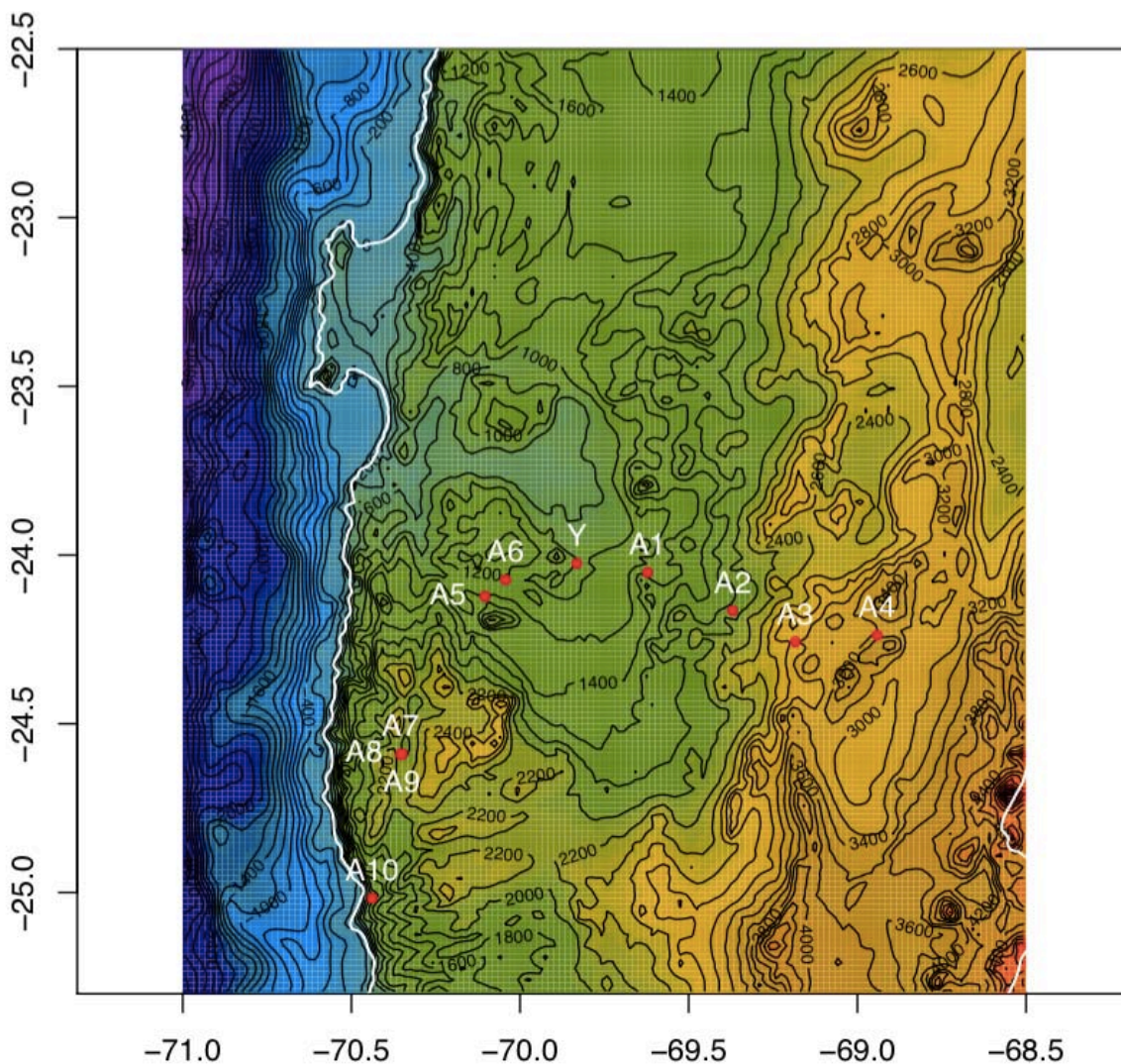


Figura 5.3 Ubicación de las muestras. Mapa de una región del desierto de Atacama donde se indica la ubicación de las muestras así como su clave, A1-A10, Yungay (Y).

### 5.11 Obtención de suelos lavados

Con la finalidad de validar la técnica propuesta para la determinación de  $\text{NO}_3^-$  se utilizaron suelos libres de nitratos para ello se realizó el procedimiento descrito en Mulvaney *et al*<sup>55</sup>. Para este fin se utilizaron suelos del transecto y fueron tratadas con KCl. El sobrenadante obtenido se desechó y los suelos fueron colocados en una estufa de calentamiento a  $80^\circ\text{C}$  por dos horas para eliminar la humedad. Posteriormente fueron tratados siguiendo la metodología completa de detección de nitratos (pasos 1 a 3) y se compararon con suelos de las mismas regiones que no habían sido lavados previamente.

## 5.12 Prueba de recobro

Para probar el efecto que pudiera tener la matriz de suelo en la técnica se utilizó 1 g de suelo lavado al cual se lo dopó con 5  $\mu\text{L}$  de una disolución 0.01 M  $\text{NaNO}_3$ . Los suelos fueron secados por 2 h a  $80^\circ\text{C}$  y se analizaron por quintuplicado a la par que un duplicado del estándar con la misma cantidad de nitratos.

## 5.13 Análisis del transecto oeste-este

Se realizaron tres repeticiones de cada una de las muestras de suelo del transecto oeste-este para el análisis de nitritos y cinco repeticiones para el análisis de nitratos. Cada repetición se realizó en condiciones independientes. Adicionalmente a las muestras, se corrió un blanco de agua y un blanco de suelo lavado.

## 5.14 Termogravimetría acoplada a calorimetría diferencial de barrido y a espectrometría de masas (TGA-DSC-MS)

Para el análisis térmico de  $\text{NO}_3^-$  puro se utilizó un equipo simultáneo de termogravimetría y calorimetría diferencial de barrido (TGA-DSC) (Netzsch, STA 449 F1 *Jupiter*) utilizando un horno de carburo de silicio, el cual opera desde temperatura ambiente hasta  $1600^\circ\text{C}$ , acoplado a un espectrómetro de masas de tipo cuadrupolo (MS) (Netzsch, QMS 403 D *Aëolos*) mediante una interface capilar de cuarzo-vidrio de  $75\ \mu\text{m}$  de diámetro calentada a  $200^\circ\text{C}$ . La figura 5.4 muestra el equipo TGA-DSC-MS.



**Figura 5.4 Configuración del equipo acoplado TGA-DSC-MS.** Esquema en el que se muestran los instrumentos del equipo. a. Balanza para el análisis termogravimétrico. b. Horno para los análisis de TGA y DSC. c. Espectrómetro de masas. d. Interfase. Obtenida de Netzsch.

Previo al análisis de nitrato (aproximadamente 10 mg) se realizó vacío al horno de calentamiento del equipo (TGA-DSC-MS) hasta alcanzar una presión de aproximadamente 66.7 mbar, posteriormente se presuriza el horno con nitrógeno de alta pureza (99.999%) procedimiento que fue repetido varias veces más. Las condiciones de análisis del sistema TGA-DSC que se utilizaron fueron una rampa de temperatura de 20°C/min desde 30°C hasta 1200°C manteniendo atmósfera inerte mediante un flujo de nitrógeno de 50 mL/min. Los gases obtenidos fueron transferidos al equipo de masas, en el cual se analizaron mediante un método de detección de iones múltiples (MID por sus siglas en inglés) siguiendo los iones  $m/z$ : 16, 18, 28, 30, 32, 36, 38, 44, 46, 64, 70, 72, 78 y 91. Adicionalmente también se realizaron mezclas de nitratos con percloratos, cabe mencionar que siempre se utilizaron reactivos de alta pureza  $Mg(ClO_4)_2$  (Aldich, Cat. 04624EH) y  $NaNO_3$  grado

analítico (Sigma-Aldrich, No. S5506), el perclorato de magnesio, debido a que es higroscópico, se liofilizó antes de utilizarlo. Las mezclas que se prepararon partieron de 1 g de  $\text{NaNO}_3$  y porcentajes crecientes de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  (5, 10, 25, 35, 50, 65, 75, 85, 90, 95%), posteriormente se homogeneizaron por medio de un mortero de ágata. Para cada uno de los análisis realizados por la técnica TGA-DSC-MS se usaron aproximadamente 10 mg de cada mezcla y de los reactivos puros, los cuales se colocaron en crisoles de Alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ).

#### 4.15 Programa de corrección de temperatura

Para resolver un retraso en la temperatura a la cual se observan las señales en el MS con respecto a la temperatura de descomposición registrada en el equipo TGA-DSC se compararon cinco muestras de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) grado analítico (Aldrich, Cat. 398101). La descomposición de carbonato a dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) se observó como la pérdida de masa en el TGA y como un pico de  $m/z$  44 en el MS. En el análisis termogravimétrico se consideró el punto de inflexión como la temperatura de máxima descomposición mientras que en el espectro de masas el mismo punto se interpretó como la máxima señal de la corriente de iones. A partir de las muestras de carbonatos se obtuvo una relación empírica mediante el siguiente algoritmo:

$$\begin{aligned}D_1 &= T_{MS}[t] - T_{TGA}[t] \\D_2 &= T_{TGA}[t] - T_{TGA}[t - 8] \\D_3 &= D_1 + D_2 \\T_c[t] &= T_{MS}[t] - D_3\end{aligned}$$

Donde  $T_{MS}[t]$  y  $T_{TGA}[t]$  corresponde a la temperatura del espectrómetro de masas y del horno al tiempo  $t$  respectivamente y  $T_c[t]$  corresponde a la temperatura del MS corregida para el mismo punto. Para realizar la corrección de cada punto en cada experimento se desarrolló un programa en el lenguaje de programación R, ver Anexo 1.

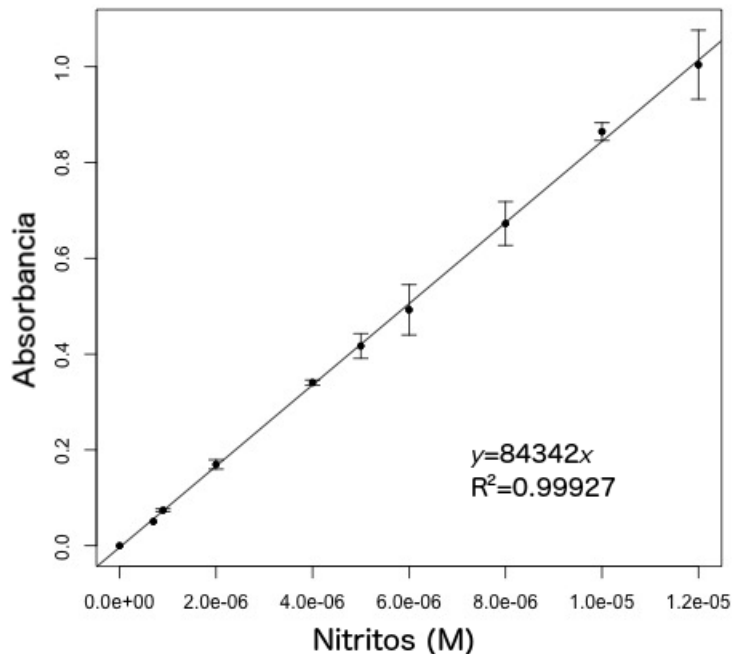


## 6. Discusión y Resultados

### 6.1 Metodología para la formación de un compuesto colorido azo

#### 6.1.1 Curva de calibración de nitritos

La curva de calibración para  $\text{NO}_2^-$  se realizó por medio del método de cuantificación del estándar externo, es decir, se utilizaron estándares de calibración de nitritos de concentración conocida utilizando las condiciones mencionadas en el apartado 5.7. Para cada punto de la curva se realizaron tres replicas independientes. La gráfica de absorbancia en función de concentración de  $\text{NO}_2^-$  se muestra en la figura 6.1.



**Figura 6.1. Curva de calibración de nitritos.** Se muestra la gráfica de la cantidad de nitritos en micromoles contra la absorbancia obtenida. Cada punto de la gráfica representa el promedio de tres réplicas y en la parte inferior derecha se muestra la ecuación de ajuste así como el coeficiente de correlación.

La regresión lineal de la curva obtenida mostró que tiene un buen ajuste a un modelo lineal del tipo:

$$y = \beta_1 x + \beta_0 + \varepsilon,.$$

El coeficiente de absortividad molar obtenido fue de 84770 y el intervalo de

concentraciones en el cual se cumple la ley de Lambert y Beer para esta metodología es de  $2.399 \times 10^{-6}$  a  $9.477 \times 10^{-6} \text{M}$ .

Debido a que la curva de calibración de  $\text{NO}_2^-$  presenta un coeficiente de correlación mayor a 0.99 se confirma que la curva posee un comportamiento lineal. Debido a que la colorimetría presenta un comportamiento exponencial siguiendo la ley de Lambert y Beer se realizó una prueba t para determinar si el coeficiente de correlación realmente refleja una relación lineal de la curva de calibración. Para la prueba se plantearon las hipótesis:

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_A: \beta_1 \neq 0$$

Para la prueba de hipótesis se eligió un  $\alpha=0.05$  y 9 grados de libertad y se obtuvo el valor de t para una prueba de dos colas ( $t_{9, 0.05}=2.26$ ). La t calculada se calculó de la siguiente manera:

$$t = \frac{R\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{1-R^2}} \dots\dots\dots 6.1$$

Se obtuvo una t calculada mayor que la de tablas, por lo que la  $H_0$  se rechaza y se corrobora que efectivamente la curva de calibración tiene un comportamiento lineal.

Debido a que se utilizó un blanco, se decidió ajustar la curva al intercepto 0, por lo que se obtuvo la ecuación mostrada en la figura **6.1**.

### 6.1.2 Límites de detección y cuantificación

Para definir el límite de detección de la técnica se analizaron los datos obtenidos mediante la Suma de Cuadrados y se utilizó la desviación estándar de los residuos ( $S_{y/x}$ ) como una buena aproximación a la desviación estándar del blanco. Se definió el límite de detección como *la lectura de la muestra blanco más tres veces la desviación estándar de los residuos*, de la siguiente manera:

$$L.D. = y_b + 3(S_{y/x}) \dots\dots\dots 6.2$$

Adicionalmente se calculó el límite de detección como el valor del blanco más diez veces la desviación estándar de los residuos:

$$L.C. = y_b + 10(S_{y/x}) \dots\dots\dots 6.3$$

Los valores obtenidos para la curva de nitritos corresponden a 0.02 de absorbancia para el límite de detección y 0.09 para el límite de cuantificación. Estos valores equivalen a  $3.45 \times 10^{-7} \pm 1.86 \times 10^{-7}$  y  $1.15 \times 10^{-6} \pm 1.86 \times 10^{-7}$  M respectivamente.

## 6.2 Metodología de reducción de nitratos

### 6.2.1 Condiciones óptimas de Zn y HCl

Se decidió modificar la metodología descrita en Narayana *et al.*<sup>56</sup> debido a que se quería reducir el error causado por la heterogeneidad de una mezcla sólida Zn/NaCl. Con el fin de determinar las cantidades óptimas de Zn y HCl necesarias para reducir los nitratos se evaluó el efecto simultáneo de estos factores para la reducción de las muestras de nitrato. Considerando la mezcla descrita en la metodología original se eligieron las cantidades de reactivo para evaluar mostrados en la tabla 6.1. En las celdas se muestran los valores promedio de absorbancia para cada condición experimental.

		HCl 0.36% (mL)			Promedio
		1	0.5	0.1	
Zinc (g)	0.01	0.732	0.523	0.089	0.448
	0.005	0.652	0.556	0.100	0.436
	0.001	0.142	0.381	0.152	0.225
	Prom.	0.508	0.487	0.114	

**Tabla 6.1 Condiciones experimentales utilizadas para optimizar la reducción de nitratos.** La tabla muestra las cantidades de HCl utilizadas en las columnas y las de zinc en las filas. La última columna indica los promedios de las filas y la última fila los promedios de las columnas.

Es notorio que el cambio más significativo en la absorbancia se debe a la cantidad de ácido agregado, mientras que la cantidad de zinc parece tener un efecto menor como se observa al comparar los promedios de las filas y las columnas en la tabla. Se eligió adicionar 0.5 mL de ácido debido a que presenta niveles altos de absorbancia pero además tiene cambios menos abruptos a la cantidad de zinc que agregar 1 mL, lo cual permite reducir el error que se pudiera general debido a la cantidad de dicho reactivo. Adicionalmente, ya que la cantidad de zinc no presentaba una diferencia importante se decidió utilizar 0.005 g de zinc por ser un valor intermedio lo cual permite reducir errores al pesar.

### 6.2.2 Curva de calibración de nitratos

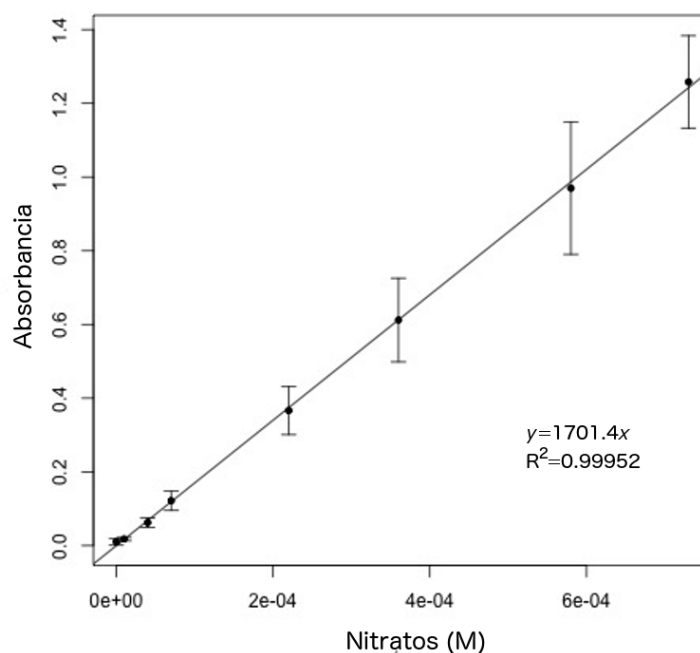
Para evaluar la linealidad de la reducción de  $\text{NO}_3^-$  se construyó una curva de calibración por medio del método de cuantificación del estándar externo según las condiciones descritas en 5.8. Para cada punto de la curva se realizaron réplicas independientes por triplicados y se ajustó a un modelo lineal igual al de la curva de nitritos, con lo que se obtuvo la curva mostrada en la figura 5.2. El coeficiente de absortividad molar obtenido fue de 1702 y el intervalo de concentraciones en el cual se cumple la ley de Lambert y Beer para esta metodología es de  $1.18 \times 10^{-4}$  a  $4.7 \times 10^{-4}$  M. El modelo lineal tiene un coeficiente de correlación mayor a 0.99.

Para probar que la correlación realmente corresponda a un modelo lineal como el que se quiere se realizó una prueba t con las hipótesis nula y alternativa:

$$H_0: \beta_1 = 0$$

$$H_A: \beta_1 \neq 0$$

En la prueba se utilizó la ecuación 6.1 para obtener el valor t calculado que se comparó con el valor de tablas, el cual para 6 grados de libertad y  $\alpha$  de 0.05 corresponde a 2.45 en una prueba de dos colas. El resultado de la prueba mostró que efectivamente la t calculada es mayor que el valor de tablas, por lo que la pendiente es distinta de 0.



**Figura 6.2. Curva de calibración de nitratos.** Se muestra la gráfica de la cantidad de nitratos en micromoles contra la absorbancia obtenida para cada caso.

### 6.2.3 Límites de detección y cuantificación

Para determinar los límites de cuantificación y detección se utilizaron las ecuaciones 6.2 y 6.3 respectivamente. Para la curva de nitratos, el límite de detección corresponde a una absorbancia de 0.033 equivalente a  $1.98 \times 10^{-5} \pm 1.21 \times 10^{-5}$  M de nitrato; por su parte el límite de cuantificación corresponde a una absorbancia de 0.112, equivalente a  $6.615 \times 10^{-5} \pm 1.17 \times 10^{-5}$  M de nitrato. La curva se ajustó a un intercepto de 0, por lo que se obtuvo la ecuación mostrada en la figura 6.2.

## 6.3 Análisis de las muestras del desierto de Atacama

### 6.3.1 Extracción de sales solubles

Se probó la eficiencia de la técnica de extracción de nitratos tanto para conocer la eficiencia completa de la técnica como para asegurar que los suelos dopados que se utilizaron no fueron una fuente externa de nitrato; para ello se realizaron dos experimentos:

El primer experimento consistió en obtener la fracción soluble de tres muestras de suelo pertenecientes al sitio AT-05-03 en la zona más árida del desierto de Atacama. Estas muestras fueron tratadas con la metodología completa de extracción, reducción y colorimetría como se indica en 5.2, 5.3 y 5.4. La fracción sólida de estas muestras se secó a 80°C como se indica en 5.10. Subsecuentemente los suelos lavados fueron analizados nuevamente repitiendo los mismos pasos. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 6.2.

Suelo	Absorbancia 1	Absorbancia 2
A	0.469	0
B	0.523	0.032
C	0.495	0.06
Promedio	0.495	0.031

**Tabla 6.2 Eficiencia de la técnica de extracción de sales solubles.** Se muestran las absorbancias obtenidas para el análisis de nitritos en tres muestras de suelo con la primera extracción (Absorbancia 1) y con la segunda de las mismas muestras (Absorbancia 2).

Los resultados muestran que hay una disminución significativa en la señal de nitratos entre los suelos sin lavar y los suelos lavados. Los valores de absorbancia observadas tras el tratamiento o lavado del suelo se encuentran por debajo del límite de detección de la técnica colorimétrica.

Posteriormente se realizaron pruebas de recobro en las cuales se midió la eficiencia con la cual se detectaba una cantidad conocida de nitrato de una muestra de suelo lavada. Se decidió dopar cinco muestras de suelo con 500 µL de una disolución 0.01 M de NaNO<sub>3</sub>. La absorbancia obtenida se convirtió a molaridad de nitrato con la ecuación obtenida mediante la curva de calibración y esos valores se convirtieron a porcentaje de recobro de la siguiente manera:

$$\%recobro = \left( \frac{M_{calculados}}{M_{agregados}} \right) \times 100$$

De los cinco análisis de suelos dopados se obtuvo un porcentaje de recobro promedio de 111% para los suelos y 88% para el nitrato puro. Ambos valores se encuentran dentro del rango sugerido por la Comisión Europea<sup>61</sup>.

Todos los datos extensos de la estandarización de la técnica se encuentran disponibles en el anexo 2.

### **6.3.2 Análisis de nitritos en suelo**

Se realizaron tres repeticiones independientes de cada muestra de suelo del transecto oeste-este (A1-A10) para el análisis de nitratos. Se realizó extracción y se utilizó el método colorimétrico, siguiendo el procedimiento que se indica en los apartados 5.2 y 5.4. Se obtuvieron los valores promedio de absorbancia para cada sitio de muestreo (tabla 6.3).

Los resultados indican que salvo las muestras A8 y A9, todas poseen valores por encima del límite de detección (0.026), sin embargo ninguna muestra se encuentra por encima del límite de cuantificación establecido (0.094), por lo que no fue posible determinar las concentraciones a las que se encuentra esta especie en el suelo.

Muestra	Latitud	Longitud	Altitud (msnm)	Absorbancia
A1	24° 3' 3.5994" S	69° 37' 19.1994" W	1252	0.041
A2	24° 9' 50.4" S	69° 22' 8.3994" W	1840	0.034
A3	24° 15' 21.6" S	69° 11' 2.3994" W	3198	0.071
A4	24° 14' 13.1994" S	68° 56' 27.6" W	2833	0.029
A5	26° 21' 10.8" S	69° 51' 53.9994" W	1135	0.034
A6	25° 46' 8.3994" S	70° 10' 29.9994" W	1321	0.043
A7	25° 18' 17.9994" S	69° 50' 34.8" W	2126	0.042
A8	25° 18' 17.9994" S	69° 50' 31.1994" W	2087	0.025
A9	24° 35' 20.3994" S	70° 20' 56.4" W	2096	0.02
A10	25° 0' 57.5994" S	70° 26' 16.8" W	567	0.056

Tabla 6.3 Análisis de nitritos en el transecto de Atacama. Se muestra la absorbancia promedio de dos repeticiones por cada sitio de muestreo.

### 6.3.3 Análisis de nitratos en suelo

Para analizar la cantidad de nitritos en los suelos del transecto se realizaron cinco replicas independientes de cada una de las muestras (A1-A10 y Yungay). Las muestras de suelo se trataron siguiendo los pasos de extracción, reducción y aplicándoles el método colorimétrico como se menciona en los apartados 5.2, 5.3 y 5.4. Los resultados se resumen en la tabla 6.4 y en la figura 6.3.



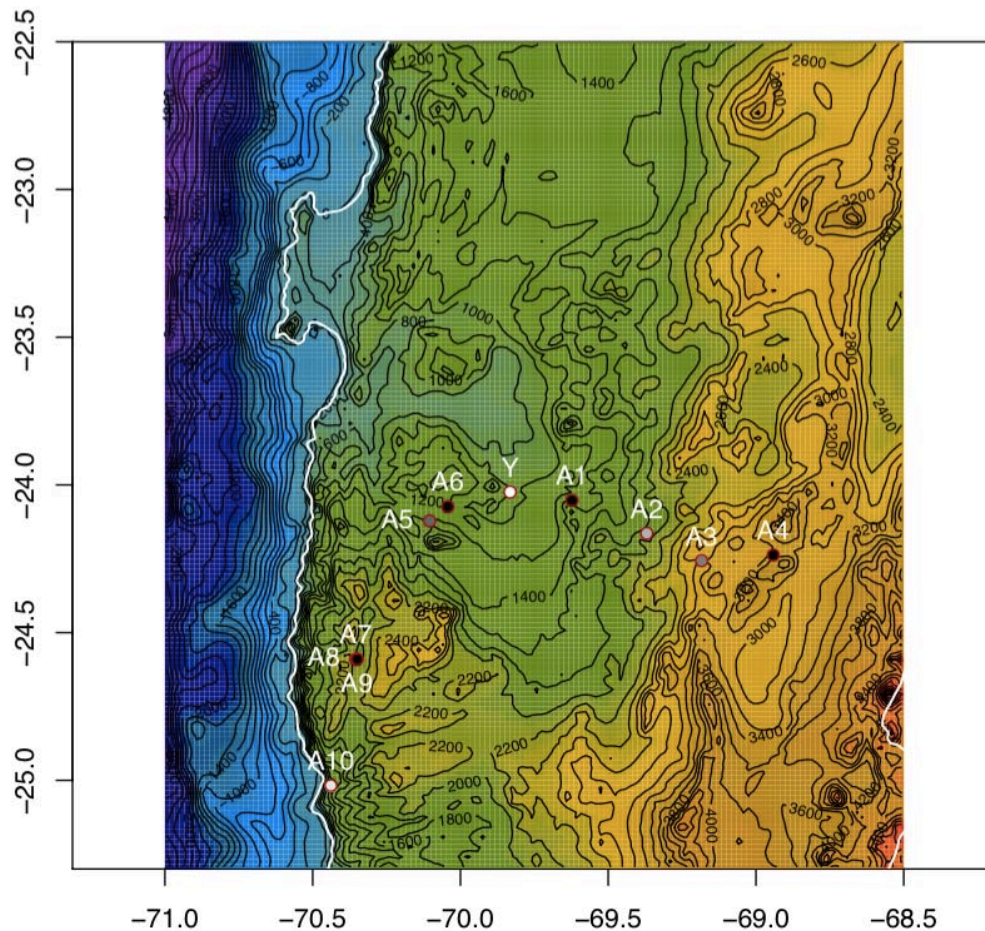
Muestra	Absorbancia	Nitratos ( $\mu\text{mol}/\text{g}_{\text{suelo}}$ )
A1	0.043	-
A2	0.201	1.66
A3	0.11	-
A4	0.048	-
A5	0.186	1.52
A6	0.047	-
A7	0.056	-
A8	0.039	-
A9	0.087	-
A10	0.251	2.07
Yungay	0.495	3.16

**Tabla 6.4 Análisis de nitratos en el transecto de Atacama.** Se muestra la absorbancia promedio de cinco repeticiones para cada sitio además del equivalente en  $\mu\text{mol}/\text{g}_{\text{suelo}}$  para aquellas muestras que se encuentran por encima del límite de cuantificación.

De la tabla 6.4 se puede observar que los sitios con la mayor cantidad de nitratos son las muestras de Yungay y la muestra A10. Las muestras A2 y A5 tienen niveles similares de nitrato. Finalmente el resto de las muestras, excepto A1, A7 y A8, se encuentran por encima del límite de detección (0.033) pero por debajo del límite de cuantificación (0.112), por lo que no se obtuvieron los equivalentes molares de  $\text{NO}_3^-$ . Los resultados muestran que la cantidad de nitritos en las muestras de suelo se encuentra entre 10 y 100 veces por debajo de los niveles de nitrato.

Resulta importante notar que, como se mencionó, la muestra con los niveles más altos de nitratos es la de la región de Yungay, la cual corresponde a la región más seca del desierto. En contraste, la segunda muestra con las cantidades más altas corresponde a la muestra A10, la cual se encuentra en la región costera de

Chile y por lo tanto recibe una influencia importante de los aerosoles marinos (figura 6.3).



**Figura 6.3. Ubicación de las muestras y escala de la concentración de nitratos.** La figura muestra la ubicación de las muestras y los niveles de nitrato en la escala de grises de las muestras con mayor concentración (blanco) a las de menor (negro).

Resulta interesante que pese a que se ha publicado que los nitratos se encuentran predominantemente en regiones por debajo de los 2000 msnm, en este estudio no observamos una correlación significativa entre concentración de nitratos y altura, latitud o longitud. Consideramos que esto es reflejo de que la deposición de nitratos en Atacama es un proceso complejo en el cual juegan un papel importante la cercanía del mar, la humedad, y la localización geográfica.

A pesar de que los niveles de nitrato que se detectaron en este estudio están

muy por debajo de los niveles máximos publicados en el desierto ( $\sim 470 \mu\text{mol/g}_{\text{suelo}}$ ), es importante señalar que en estudio de los perfiles de suelo de Atacama se ha mostrado que estas altas concentraciones se encuentran principalmente a profundidades mayores de un metro<sup>62</sup> mientras que las muestras utilizadas en este estudio se tomaron a profundidades de no más de 10 cm.

Los datos extensos de los resultados obtenidos en el análisis de las muestras de suelo se encuentran disponibles en el anexo 2.

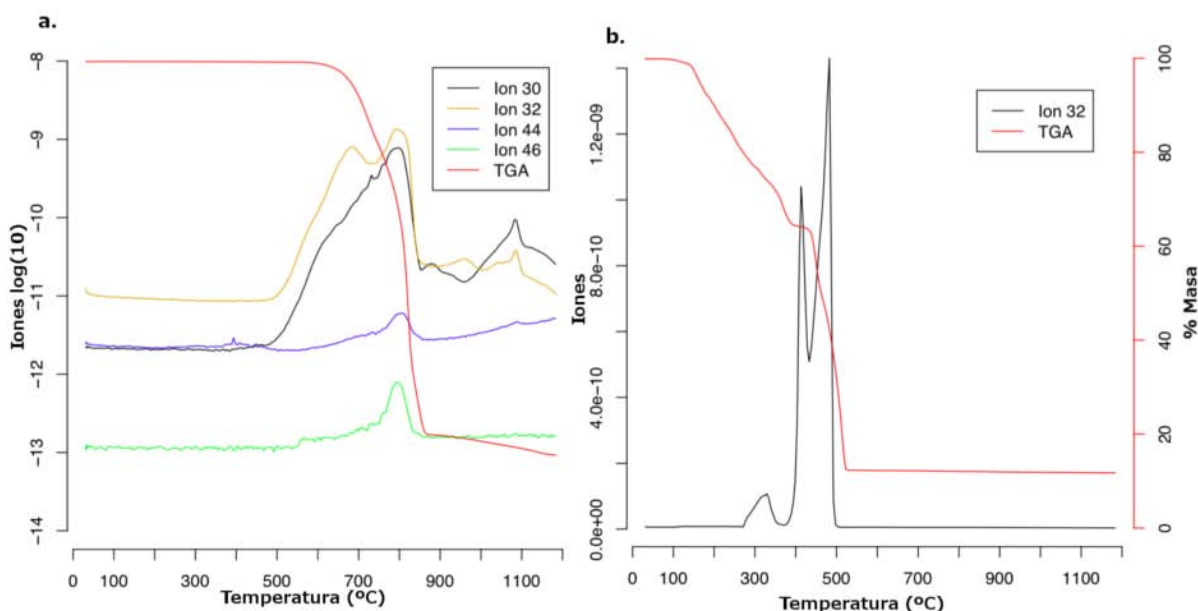
#### **6.4 Estudio del efecto que produce el perclorato en la determinación de nitrato, utilizando la técnica acoplada TGA-DSC-MS, implicaciones para Marte**

Como ya se había mencionado, durante el análisis de la composición del regolito marciano realizado por la misión espacial *Phoenix*, se detectó la presencia perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ )<sup>22,21</sup>. La presencia de dicho ion en la superficie de Marte confirma la naturaleza oxidante del suelo. La misión espacial Curiosity mediante el instrumento SAM utiliza una técnica analítica térmica en el regolito de Marte por lo que es importante estudiar el efecto que producen los percloratos en la descomposición térmica de los nitratos.

El análisis de  $\text{NaNO}_3$  puro mediante las técnicas acopladas de TGA-DSC-MS, muestra en el termograma que la descomposición se llevó a cabo a partir de los  $600^\circ\text{C}$  y hasta los  $830^\circ\text{C}$ , con un máximo a los  $796^\circ\text{C}$ . Estos resultados son congruentes con las temperaturas publicadas en la literatura<sup>63-66</sup>. En espectrometría de masas mediante detección de múltiples iones (MID) se siguieron las abundancias de los iones 30, 32 y 46, los cuales corresponden a los pico base para el óxido nítrico (NO), oxígeno ( $\text{O}_2$ ) y dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), respectivamente. El espectro de masas muestra que aproximadamente a  $786^\circ\text{C}$  y  $791^\circ\text{C}$  hay picos para la señal del ion 32. Cabe mencionar que a esta última temperatura también se obtienen los

máximos de pico para los iones 30, 44 y 46. En la Figura 6.4a se muestran los resultados obtenidos.

El análisis termogravimétrico del  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  mostró las primeras pérdidas de peso por arriba de los  $150^\circ$  siguiendo un comportamiento ligeramente escalonado hasta cerca de los  $400^\circ\text{C}$ ; esta pérdida de peso se ha atribuido a la deshidratación del perclorato en tres pasos; a partir de los  $400^\circ\text{C}$  se observó una pérdida de peso más pronunciada que terminó aproximadamente a  $530^\circ\text{C}$ , lo cual corresponde a la descomposición del perclorato, tal como se reporta en la literatura<sup>67-69</sup>. La espectrometría de masas mostró tres picos para el ion 32 cuyo máximo aparece a  $328$ ,  $413$  y  $482^\circ\text{C}$ , no se observó la presencia de otros iones, lo cual se observa en la Figura 6.4b.



**Figura 6.4.** TGA y MS de  $\text{NaNO}_3$  y  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ . **a.** Se muestra la termogravimetría (rojo) y espectrometría de masas para los iones 30, 32, 44 y 46 (negro, amarillo morado y verde respectivamente) en función de la temperatura para nitrato de sodio. **b.** Se muestra el termograma (rojo) y ion 32 (negro) para el perclorato de magnesio.

Posteriormente se estudió la descomposición de mezclas de  $\text{NaNO}_3$  y  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  en distintos porcentajes (5, 10, 25, 35, 50, 65, 75, 85, 90,  $95\%_{(w/w)}$ ) mediante la

técnica de TGA; lo que se observó en los termogramas es que la temperatura a la que comienza la descomposición, así como la temperatura de descomposición máxima disminuyen conforme aumenta la cantidad de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , como se muestra en la figura 6.5. El inicio de la descomposición de las mezclas de  $\text{NaNO}_3$ -  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  pasa de aproximadamente  $660^\circ\text{C}$  en el nitrato puro a aproximadamente  $417^\circ\text{C}$  para mezclas a partir de 75% de  $\text{ClO}_4$ . Las mezclas entre 10 y 65% presentaron una pérdida de peso aproximadamente a  $500^\circ\text{C}$  la cual presentó una progresiva disminución de temperatura conforme aumentó la proporción de perclorato como lo muestra la figura 6.5.

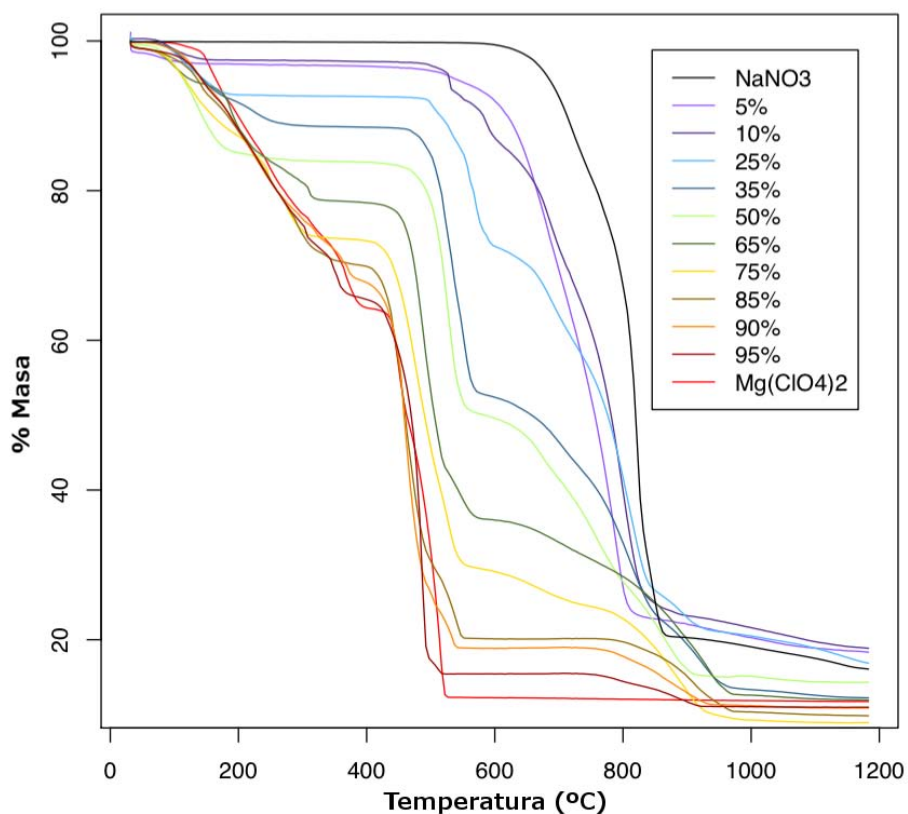
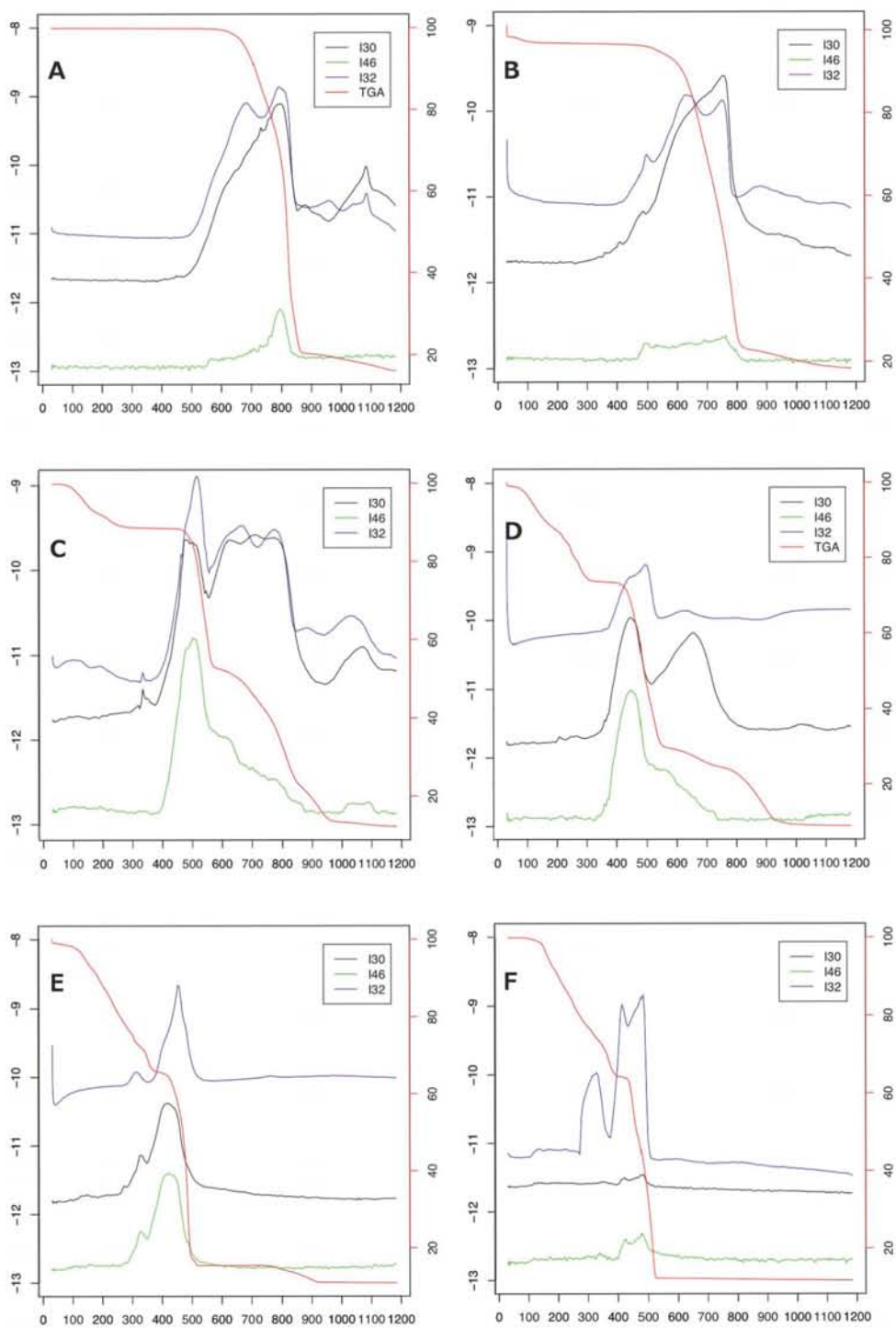


Figura 6.5. TGA de las mezclas de  $\text{NaNO}_3$  y  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ . La gráfica muestra la pérdida de masa en porcentaje contra la temperatura para todas las mezclas de nitratos y percloratos según se indica.



**Figura 6.6. TGA y MS para mezclas específicas y compuestos puros.** Se muestra la pérdida de masa (rojo) y la señal de los iones 30 (negro), 32 (azul) y 46 (verde) en función de la temperatura para nitrato de sodio puro (A), mezclas con 5, 35, 75 y 95% de perclorato (B, C, D y E) y perclorato de magnesio puro (F). Las gráficas de todas las muestras se encuentran en el anexo 3.

Utilizando los datos aportados por la técnica de espectrometría de masas se compararon las señales de los iones 30, 32, 44 y 46 en las distintas mezclas de  $\text{NO}_3^-$ - $\text{ClO}_4^-$ . En el nitrato puro se observa una pérdida de masa en el TGA aproximadamente a  $791^\circ\text{C}$  la cual coincide con la liberación de gases que producen en el espectrómetro de masas los iones 30, 32 y 46 como se muestra en la figura **6.6A**. En las mezclas de  $\text{NaNO}_3$ - $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  se observan tres patrones distintos de liberación de estos iones. El primero, en mezclas con concentraciones menores a 35% de perclorato (figura **6.6B**), se observa que los iones 30, 32 mantienen un patrón de liberación similar al del nitrato puro con un ligero corrimiento a temperaturas más bajas; por su parte en mezclas de más de 10% el ion 46 presenta un único pico aproximadamente a  $500^\circ\text{C}$ . El TGA es muy similar al del nitrato puro salvo en la parte inicial donde se observa una pequeña caída de peso.

Las mezclas entre 35 y 75% (figura **6.6C y D**) presentan el segundo patrón, el cual consiste en dos picos definidos para los iones 30 y 32, el primer pico se presentó alrededor de los  $460^\circ\text{C}$  mientras que el segundo pico lo hizo alrededor de los  $680^\circ\text{C}$ . El ion 46 mantiene el patrón de liberación a  $500^\circ\text{C}$ , pero muestra un aumento en la señal de este ion. Los TGA presentan tres pérdidas de masa a aproximadamente  $150$ ,  $500$  y  $700^\circ\text{C}$ .

Finalmente, el último patrón de liberación se da en las mezclas por encima de 75% (figura **6.6E**) las cuales presentan un único pico alrededor de los  $430^\circ\text{C}$  en el que nuevamente coinciden los iones 30, 32 y 46. En estas mezclas la pérdida de masa en el TGA muestra claramente la descomposición de perclorato a bajas temperaturas como se puede observar al comparar los TGA de las figuras **6.6E y F**, sin embargo se observa también la pérdida de masa de los nitratos tanto a bajas temperaturas ( $430^\circ\text{C}$ ), como a altas temperaturas ( $800^\circ\text{C}$ ).

El análisis del ion 44 correspondiente a óxido de dinitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}$ ) se descartó en todas las mezclas debido a que en prácticamente todos los casos mostraba

mucha interferencia debida al  $\text{CO}_2$  presente en el aire que no puede ser totalmente eliminado. Esto imposibilitó la interpretación de ésta señal como se muestra en el anexo 4.

Con los resultado obtenidos consideramos que la descomposición de los percloratos podría liberar cloro que, en presencia de agua, formaría  $\text{HCl}$ , el cual se ha publicado que puede alterar la estructura de los nitratos; ésto podría explicar el corrimiento de la señal de ion 30 y 32 a bajas temperaturas. Adicionalmente consideramos que el rápido cambio de la señal de ion 46 y su incremento se podría deber a la reacción entre el oxígeno liberado durante la descomposición del perclorato y podría reaccionar con las especies de la descomposición del nitrato.



## 7. Conclusiones

Las técnicas potenciométricas para el análisis de nitratos y nitritos en suelos presentan interferencia debida a aniones, como percloratos; por ello, sugerimos el uso de una técnica colorimétrica la cual no sufre de este inconveniente para la validación de la técnica TGA-DSC-MS.

Se diseñó, validó e implementó una técnica colorimétrica capaz de detectar nitratos y nitritos en suelos análogos a Marte como lo es el desierto de Atacama, cuyos valores para los límites de detección y cuantificación para nitrito son de  $3.45 \times 10^{-7} \pm 1.86 \times 10^{-7}$  y  $1.15 \times 10^{-6} \pm 1.86 \times 10^{-7}$  M respectivamente; y para nitratos son de  $1.98 \times 10^{-5} \pm 1.21 \times 10^{-5}$  y  $6.62 \times 10^{-5} \pm 1.17 \times 10^{-5}$  M. Dicha técnica consiste en la formación de un compuesto colorido, el cual fue cuantificado a 530 nm.

Demostramos que las condiciones óptimas para llevar a cabo la reacción de reducción de nitratos a nitritos, para este caso son; agregar 5 mg de zinc y 500  $\mu$ L de una solución 0.36% HCl.

La técnica colorimétrica para la determinación de nitritos mostró tener un comportamiento lineal ya que presenta un coeficiente de correlación de 0.999, con un límite de confianza de 95%.

Finalmente la técnica completa de extracción, reducción y colorimetría mostró un porcentaje de recobro de 110%, el cual se encuentra dentro de los parámetros establecidos en este estudio y por la Comisión Europea para el análisis de muestras de suelo.

Se implementó la técnica para la determinación de  $\text{NO}_3^-$  en suelos del desierto de Atacama en un transecto oeste-este entre la costa y la cordillera Domeykos. Los resultados obtenidos indican que la concentración de nitratos en muestras superficiales presentan un comportamiento complejo que no pudo atribuirse individualmente a ninguno de los factores estudiados (altitud, longitud, latitud y cercanía al mar).

La identidad de los nitratos por la técnica TGA-DSC-MS fue confirmada por la correlación de los picos de los iones 30, 32 y 46, correspondientes a los picos bases del NO, O<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub>.

Nuestros resultados muestran que la técnica TGA-DSC-MS es sensible a interferentes para la detección de nitratos. Los análisis muestran que la presencia de percloratos baja la temperatura de descomposición del nitrato en aproximadamente 400°C. Debido a esto, para la correcta interpretación de los resultados obtenidos por la misión *Curiosity* es necesario utilizar una técnica como la propuesta en este estudio, para validar la técnica térmica en la Tierra.

## 8. Perspectivas

La técnica que hemos validado se pretende utilizar para estudiar muestras del desierto de Atacama, de especial interés es analizar un transecto norte-sur el cual proveerá datos sobre la influencia de la humedad y en perfiles de suelo, los cuales aportarán información sobre la influencia de la infiltración. Con estos análisis se podrá entender mejor la distribución de los nitratos en dicho desierto.

Con respecto a la técnica térmica, se continuarán los estudios de la descomposición de las sales puras de nitrato y perclorato, mejorando los programas de análisis; además se desea incluir en el programa del espectrómetro de masas iones asociados a especies cloradas, ya que esto nos permitirá elucidar el mecanismo mediante el cual el perclorato reduce la temperatura de descomposición de los nitratos. Adicionalmente se realizarán experimentos simulando las condiciones de baja presión a las que trabaja la misión *Curiosity*.

Ya que sólo es posible conocer la identidad de sólo los iones presentes presentes en el regolito marciano pero no las sales que forman, se procederá a estudiar distintas mezclas de sales de nitratos y percloratos tanto puras como en matriz de suelo para poder interpretar los resultados obtenidos tanto en suelo de Atacama como los resultados obtenidos por *Curiosity*.

Se espera poder utilizar la técnica acoplada TGA-DSC-MS para el análisis de muestras de suelo de Atacama, ya que esta clase de estudios no se han realizado para esta clase de suelos y podría resultar una técnica útil para estos análisis. Adicionalmente a las implicaciones en la Tierra, los resultados de validación por colorimetría y la técnica acoplada nos permitirá tener un panorama más completo sobre los resultados presentes y futuros de la misión *Curiosity* en Marte, así como planear misiones futuras.

## 9. Bibliografía

1. Des Marais, D. J. *et al.* The NASA Astrobiology Roadmap. *Astrobiology* **8**, 715–30 (2008).
2. McKay, C. P. What is life--and how do we search for it in other worlds? *PLoS Biol.* **2**, E302 (2004).
3. Chyba, C. F. & Hand, K. P. Astrobiology: The Study of the Living Universe. *Annu. Rev. Astron. Astrophys.* **43**, 31–74 (2005).
4. Fassett, C. I. & Head, J. W. Sequence and timing of conditions on early Mars. *Icarus* **211**, 1204–1214 (2011).
5. Carr, M. H. Mars: Surface and Interior. *Encyclopedia of the Solar System* 315–330 (2007).
6. Catling, D. C. & Leovy, C. Mars Atmosphere: History and Surface Interactions. *Encyclopedia of the Solar System* 301–314 (2007).
7. Leovy, C. Weather and climate on Mars. *Nature* **412**, 245–249 (2001).
8. Whiteway, J. A. *et al.* Mars Water-Ice Clouds and Precipitation. *Science* **325**, 68–70 (2009).
9. McEwen, A. S. *et al.* Recurring slope lineae in equatorial regions of Mars. *Nat. Geosci.* **7**, 53–58 (2013).
10. Golombek, M. P. & Mccsween, H. Y. Mars: Landing Site Geology, Mineralogy and Geochemistry. *Encyclopedia of the Solar System* 331–348 (2007).
11. Mckay, P., Stoker, C. R. & Division, S. S. The Early Environment and its Evolution on Mars: Implications for Life. *Rev. Geophys.* **27**, 189–214 (1989).
12. Jakosky, B. M. & Phillips, R. J. Mars' volatile and climate history. *Nature* **412**, 237–244 (2001).
13. Ramirez, R. M. *et al.* Warming early Mars with CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>. *Nat. Geosci.* (2013). doi:10.1038/ngeo2000
14. Paris, P. Von, Grenfell, J. L., Rauer, H. & Stock, J. W. N<sub>2</sub>-associated surface warming on early Mars. *Planet. Space Sci.* **82-83**, 149–154 (2013).
15. Grotzinger, J. P. *et al.* A Habitable Fluvio-Lacustrine Environment at Yellowknife Bay , Gale Crater , Mars. *Science* **343**, 1–18 (2013).
16. Arvidson, R. E. *et al.* Ancient Aqueous Environments at Endeavour Crater, Mars. *Science* **343**, 1–8 (2014).
17. Mahaffy, P. R. *et al.* Abundance and isotopic composition of gases in the martian atmosphere from the Curiosity rover. *Science* **341**, 263–6 (2013).

18. Mancinelli, R. L. The search for nitrogen compounds on the surface of mars. *Adv. Sp. Res.* **18**, 241–247 (1996).
19. Huntress, W. T., Moroz, V. I. & Shevaley, I. L. Lunar and Planetary robotic exploration missions in the 20th century. *Sp. Sci. Rev.* **107**, 541–649 (2003).
20. Schuerger, A. C. & Clark, B. C. Viking Biology Experiments: Lessons Learned and the Role of Ecology in Future Mars Life-Detection Experiments. *Space Sci. Rev.* **135**, 233–243 (2007).
21. Navarro-González, R., Vargas, E., de la Rosa, J., Raga, A. C. & McKay, C. P. Reanalysis of the Viking results suggests perchlorate and organics at midlatitudes on Mars. *J. Geophys. Res.* **115**, E12010 (2010).
22. Smith, M. L., Claire, M. W., Catling, D. C. & Zahnle, K. J. The formation of sulfate, nitrate and perchlorate salts in the martian atmosphere. *Icarus* **231**, 51–64 (2014).
23. Hecht, M. H. *et al.* Detection of Perchlorate and the Soluble Chemistry of Martian Soil at the Phoenix Lander Site. *Science* **325**, 64–67 (2009).
24. Benner, S. a, Devine, K. G., Matveeva, L. N. & Powell, D. H. The missing organic molecules on Mars. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 2425–30 (2000).
25. Grotzinger, J. P. *et al.* Mars Science Laboratory Mission and Science Investigation. *Space Sci. Rev.* **170**, 5–56 (2012).
26. Hassler, D. M. *et al.* Mars' Surface Radiation Environment Measured with the Mars Science Laboratory's Curiosity Rover. *Science* (2013). doi:10.1126/science.1244797
27. Mahaffy, P. R. *et al.* The Sample Analysis at Mars Investigation and Instrument Suite. *Sp. Sci. Rev.* **170**, 401–478 (2012).
28. Ming, D. W. *et al.* Volatile and Organic Compositions of Sedimentary Rocks in Yellowknife Bay, Gale Crater, Mars. *Science* **343**, 1–15 (2013).
29. Navarro-González, R. *et al.* Possible detections of nitrates on Mars by the Sample Analysis at Mars (SAM) instrument. in *44th Lunar and Planetary Science Conference* 6–7 (2013).
30. Capone, D. G., Popa, R., Flood, B. & Nealson, K. H. Geochemistry. Follow the nitrogen. *Science* **312**, 708–9 (2006).
31. Canfield, D. E., Glazer, A. N. & Falkowski, P. G. The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. *Science* **330**, 192–196 (2010).
32. Cartigny, P. & Marty, B. Nitrogen Isotopes and Mantle Geodynamics: The Emergence of Life and the Atmosphere-Crust-Mantle Connection. *Elements* **9**, 359–366 (2013).

33. Raymond, J., Siefert, J. L., Staples, C. R. & Blankenship, R. E. The natural history of nitrogen fixation. *Mol. Biol. Evol.* **21**, 541–54 (2004).
34. Klotz, M. G. in *Methods in enzymology* **486**, 483–506 (Elsevier Inc., 2011).
35. Thomazo, C. & Papineau, D. Biogeochemical Cycling of Nitrogen on the Early Earth. *Elements* **9**, 345–351 (2013).
36. Thomazo, C., Ader, M. & Philippot, P. Extreme <sup>15</sup>N-enrichments in 2.72-Gyr-old sediments: evidence for a turning point in the nitrogen cycle. *Geobiology* **9**, 107–20 (2011).
37. Klotz, M. G. & Stein, L. Y. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *FEMS Microbiol. Lett.* **278**, 146–56 (2008).
38. Pinti, D. L. & Hashizume, K. Early Life Record from Nitrogen Isotopes. *Earliest Life Earth Habitats, Environ. Methods Detect.* 183–205 (2011). doi:10.1007/978-90-481-8794-2
39. Jones, C. M., Stres, B., Rosenquist, M. & Hallin, S. Phylogenetic analysis of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification. *Mol. Biol. Evol.* **25**, 1955–66 (2008).
40. Busigny, V. & Bebout, G. E. Nitrogen in the Silicate Earth: Speciation and Isotopic Behavior during Mineral-Fluid Interactions. *Elements* **9**, 353–358 (2013).
41. Bebout, G. E., Fogel, M. L. & Cartigny, P. Nitrogen: Highly Volatile yet Surprisingly Compatible. *Elements* **9**, 333–338 (2013).
42. Mancinelli, R. L. & Banin, A. Where is the nitrogen on Mars? *Int. J. Astrobiol.* **2**, 217–225 (2003).
43. Mvondo, D., Navarro-Gonzalez, R., McKay, C. P., Coll, P. & Raulin, F. Production of nitrogen oxides by lightning and coronae discharges in simulated early Earth, Venus and Mars environments. *Adv. Space Res.* **27**, 217–23 (2001).
44. Kounaves, S. P., Carrier, B. L., O’Neil, G. D., Stroble, S. T. & Claire, M. W. Evidence of martian perchlorate, chlorate, and nitrate in Mars meteorite EETA79001: Implications for oxidants and organics. *Icarus* **229**, 206–213 (2014).
45. Stern, J. C. *et al.* Evidence for indigenous nitrogen in sedimentary and aeolian deposits from the Curiosity rover investigations at Gale crater , Mars. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2015). doi:10.1073/pnas.1420932112
46. Marlow, J. J., Martins, Z. & Sephton, M. A. Mars on Earth: soil analogue es for future Mars missions. *News Rev. Astron. Geophys.* **49**, 20–23 (2008).
47. Ericksen, G. E. Geology and Origin of the Chilean Nitrate Deposits. *United States Gov. Print. Off.* 1–37 (1981).

48. Pante, E. & Simon-Bouhet, B. marmap: A package for importing, plotting and analyzing bathymetric and topographic data in R. *PLoS One* **8**, e73051 (2013).
49. Amante, C. & Eakins, B. W. *ETOPO1 1 Arc-minute global relief model: Procedures, data sources and analysis*. (2009).
50. Böhlke, J. K., Ericksen, G. E. & Revesz, K. Stable isotope evidence for an atmospheric origin of desert nitrate deposits in northern Chile and southern California, U.S.A. *Chem. Geol.* **2541**, 135–152 (1997).
51. Michalski, G., Böhlke, J. K. & Thiemens, M. Long term atmospheric deposition as the source of nitrate and other salts in the Atacama Desert, Chile: New evidence from mass-independent oxygen isotopic compositions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 4023–4038 (2004).
52. Rech, J. a, Quade, J. & Hart, W. S. Isotopic evidence for the source of Ca and S in soil gypsum, anhydrite and calcite in the Atacama Desert, Chile. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 575–586 (2003).
53. Wang, F., Michalski, G., Seo, J. & Ge, W. Geochemical, isotopic, and mineralogical constraints on atmospheric deposition in the hyper-arid Atacama Desert, Chile. *Geochim. Cosmochim. Acta* **135**, 29–48 (2014).
54. Skoog, D. A., Holler, F. J. & Nieman, T. A. *Principios de Análisis Instrumental*. (McGraw-Hill, 2001).
55. Mulvaney, R. L. in *Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods-SSSA Book Series 5* 1123–1184 (1996).
56. Narayana, B. & Sunil, K. A Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite and Nitrate. *Eurasian J. Anal. Chem.* **4**, 204–214 (2009).
57. Heanes, D. L. Determination of nitrate in soil and water by an adaptation of an Orange I method. *Analyst* **100**, 316 (1975).
58. Shooter, D. Nitrogen dioxide and its determination in the atmosphere: A simple method for surveying ambient pollution concentrations. *J. Chem. Educ.* **70**, A133 (1993).
59. Navarro-González, R. & Castillo-Rojas, S. Lightning stiking. *Educ. Chem.* 161–162 (1995).
60. Lybrand, R. a., Michalski, G., Graham, R. C. & Parker, D. R. The geochemical associations of nitrate and naturally formed perchlorate in the Mojave Desert, California, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta* **104**, 136–147 (2013).
61. European Commission. *Residues: Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre-registration data requirements for*. (2000).
62. Ewing, S. A. *et al.* A threshold in soil formation at Earth's arid-hyperarid transition. *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**, 5293–5322 (2006).

63. Bond, B. D. & Jacobs, W. M. The Thermal Decomposition of Sodium Nitrate. *J. Chem. Soc.* **1265-1268**, 2-5 (1966).
64. Freeman, E. S. The kinetics of the thermal decomposition of sodium nitrate<sup>1</sup> and of the reaction between sodium nitrite and oxygen. *Therm. Decompos. Sodium Nitrate* (1956).
65. Hoshino, Y., Utsunomiya, T. & Abe, O. The Thermal Decomposition of Sodium Nitrate and the Effects of Several Oxides on the Decomposition. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **54**, 1385-1391 (1981).
66. Olivares, R. I. The thermal stability of molten nitrite/nitrates salt for solar thermal energy storage in different atmospheres. *Sol. Energy* **86**, 2576-2583 (2012).
67. Acheson, R. J. & Jacobs, P. W. M. The thermal decomposition of magnesium perchlorate and of ammonium perchlorate and magnesium perchlorate mixtures. *J. Phys. Chem.* **74**, 281-288 (1970).
68. Devlin, D. J. & Herley, P. J. Thermal Decomposition and Dehydration of Magnesium Perchlorate Hexahydrate. *Thermochim. Acta* **104**, 159-178 (1986).
69. Lauer, H. V. *et al.* Thermal and Evolved Gas Analysis of Magnesium Perchlorate: Implications for Perchlorates in Soils at the Mars Phoenix Landing Site. *40th Lunar Planet. Sci. Conf.* **2**, 4-5 (2009).



## 10. Anexos

### Anexo 1

Los archivos del programa de corrección así como las instrucciones de su uso pueden descargarse mediante la liga <http://goo.gl/frJNMz> .

### Anexo 2

Los datos obtenidos tanto para la validación del método como los resultados obtenidos al estudiar las muestras de suelo se pueden descargar mediante la liga <http://goo.gl/kwNUjm> .

### Anexo 3

Las gráficas de la descomposición de todas las mezclas de nitrato de sodio con perclorato de magnesio, así como los compuestos puros se encuentran disponibles en la liga <http://goo.gl/hwtoh1> .

### Anexo 4

La gráfica que muestra los espectros de masas del ion 44 en las distintas mezclas y compuestos puros se puede descargar de la liga <http://goo.gl/cqLAqH> .