LABORATORIO DE ISÓTOPOS ESTABLES

ESTACIÓN BIOLÓGICA DE DOÑANA

INFORME DE ACTIVIDAD 2018

Susana Carrasco Congregado, Sarai López García, Manuela González Forero

1. INTRODUCCIÓN 2
2. EQUIPAMIENTO 3
3. PERSONAL Y FORMACIÓN DE ESTUDIANTES 5
4. ESTADÍSTICAS DE USO 6
5. WEB DEL LIE 9
6. DESARROLLO DE PATRONES. ESTANDARES INTERNACIONALES 10
7. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA. PARTICIPACIÓN EN EVENTOS. CURSOS 12
8. PROYECCIÓN, RETOS Y NECESIDADES FUTURAS 13

1. INTRODUCCIÓN

Fig. 1: El laboratorio

En este informe ofrecemos un resumen con todas las actividades llevadas a cabo en el laboratorio durante el 2018 las cuáles han estado parcialmente limitadas por la carencia de personal.

2. EQUIPAMIENTO

En 2018 no se ha adquirido equipamiento adicional. Como años anteriores, contamos con un sistema de espectrometría de masas de Thermo Finnigan, compuesto por un IRMS **Delta V Advantage**, acoplado a un **Analizador Elemental HT Plus** mediante un **Conflo IV**.

Fig. 2: Sistema de Espectrometría de Masas Thermo Finnigan

Además, contamos con un **Espectrómetro CRDS de Picarro**, adquirido en el año 2013, que nos permite medir los isótopos de d^2H y $d^{18}O$ en agua y vapor de agua por la técnica CRDS (Cavity Ring-Down Spectroscopy). Su adquisición abre un nuevo campo de aplicabilidad de las aproximaciones isotópicas en nuestro centro en el estudio de dinámica de agua en los ecosistemas.

Fig. 3: Espectrómetro CRDS de Picarro del LIE

Las prestaciones de nuestro equipamiento, así como todos los servicios que podemos ofertar desde nuestro laboratorio están específicamente anunciadas en la página web del mismo.

Seguimos a la espera de la adquisición de una campana de extracción de gases nueva a cargo de una petición de infraestructuras presentada por la dirección del centro en 2017.

Sí se nos han concedido los fondos necesarios para la adquisición de un GasBench II (Thermo Scientific GasBench II universal on-line gas preparation system) con el que el laboratorio será capaz de ampliar las aplicaciones del espectrómetro de masas. De hecho se ha procedido a su instalación en 2019 y esperamos poder empezar a dar el nuevo servicio a principios de 2020.

En futuras convocatorias, y debido a la gran demanda de análisis de deuterio en queratina, sería bueno solicitar fondos para la adquisición de un equipo de espectrometría de masas dedicado exclusivamente a análisis de muestras por combustión, destinando el que tenemos actualmente a análisis de deuterio, lo que agilizaría y potenciaría la actividad del laboratorio.

3. PERSONAL Y FORMACIÓN DE ESTUDIANTES

Durante este año, el personal en el laboratorio ha sido el siguiente:

- Susana Carrasco Congregado, ayudante técnico, en excedencia desde octubre de 2017 hasta la actualidad.
- Sarai López García, titulado superior asignado al LIE desde diciembre de 2016. Actualmente con contrato PTA.
- El comité científico, compuesto por el personal técnico del laboratorio, el responsable científico (Manuela González Forero) y asesores científicos (Joan Navarro Bernabé, José Antonio Donázar y Jennifer Leonard).

Como comentábamos al principio, este año la actividad formativa no ha sido posible realizarla acogiendo de forma directa el laboratorio a estudiantes en prácticas. Pero sí hemos podido ofrecer asesoramiento técnico y acceso a la infraestructura del laboratorio a estudiantes en prácticas de otros departamentos.

4. ESTADÍSTICAS DE USO

En el año en curso se han recibido y procesado un total de 96 solicitudes de análisis de muestras orgánicas sólidas, cada una de ellas con un número variable de análisis, ascendiendo a 4934 las muestras analizadas en el año 2018. En las siguientes gráficas se indican las solicitudes de análisis en 2018, y su evolución en el periodo de 2012 a 2018, así como las tablas de muestras analizadas mensualmente en el año 2018 y el total de análisis realizados por isótopos y tipo de muestra.

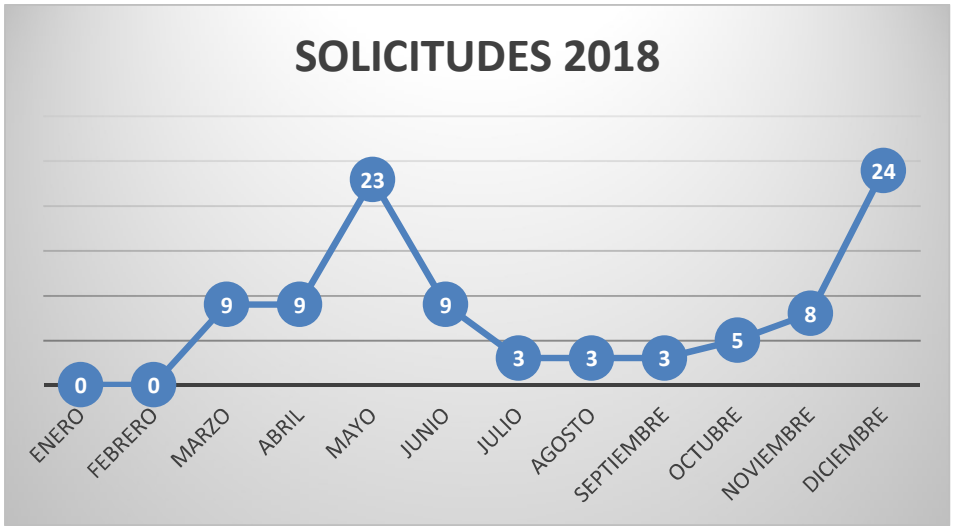

Fig. 4: Evolución del número de solicitudes de análisis de muestras sólidas orgánicas durante el año 2018

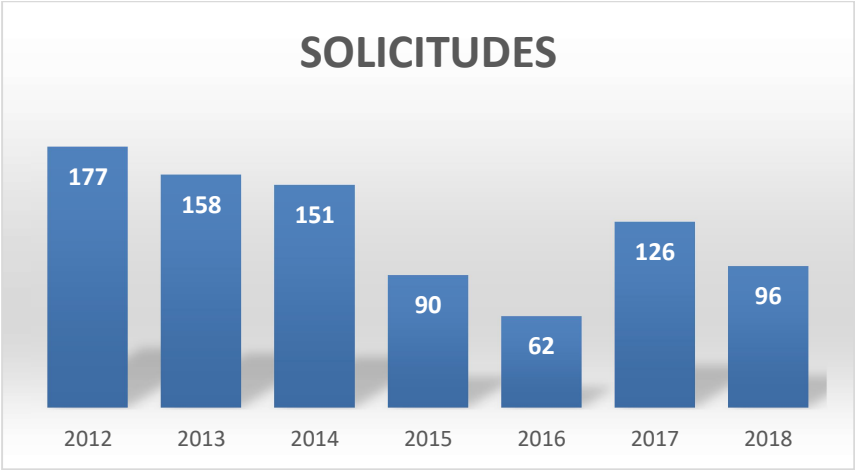

Fig. 5: Evolución del número de solicitudes de análisis en el período 2012-2018.

En la siguiente tabla se especifica el número total de análisis individuales realizados por mes (para muestras orgánicas sólidas y líquidas).

MES	***TOTAL MUESTRAS***
ENERO	187
FEBRERO	0
MARZO	515
ABRIL	585
MAYO	1591
JUNIO	574
JULIO	170
AGOSTO	166
SEPTIEMBRE	110
OCTUBRE	251
NOVIEMBRE	194
DICIEMBRE	591
TOTAL	4934

Tabla 2: Muestras analizadas por mes

En la siguiente tabla se detalla el total de análisis realizados en el LIE durante el año 2018, según el tipo de isótopo analizado y si se trata de muestras sólidas o líquidas:

Muestras	**$\delta^{15}N/\delta^{13}C$ o $\delta^{2}H/\delta^{18}O$ (sólidos)**	**$\delta^{2}H/\delta^{18}O$ (líquidos)**	**$\delta^{34}S$**
Nº Muestras	4934	0	0
TOTAL	**4934**		

Tabla 3: Se indica, para cada uno de los isótopos y tipo de muestra, el número de análisis realizados en 2018.

A continuación, se citan todos los usuarios del laboratorio durante el año 2018.

EBD	*OTROS CENTROS DE INVESTIGACION*	*EMPRESA PRIVADA*
DR. ÓSCAR GORDO (Postdoc) DR. JUAN JOSÉ NEGRO BALMASEDA DRA. MANUELA G. FORERO DRA. Mª CARMEN DÍAZ PANIAGUA DR. JOSÉ ANTONIO DONÁZAR SANCHO DR. CARLES VILÁ ARBONÉS DR. JOSÉ LUÍS TELLA DRA. ANA G. POPA-LISSEANU (Postdoc) DRA. AINARA CORTÉS AVIZANDA (Postdoc)	INSTITUT CATALÁ D'ORNOTOLOGIA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ (ALICANTE) INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR ICM/CSIC UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA	NAVARPLUMA S.L. FUNDACIÓN AZTI-TECNALIA

Tabla 4: Usuarios LIE 2018.

5. WEB DEL LIE

Fig. 6. Web del laboratorio

Nuestra web constituye una importante herramienta para la divulgación de nuestros servicios y trabajos. A través de ella los usuarios pueden descargarse todo el material necesario para el acceso al laboratorio y las solicitudes de análisis.

El número de visitas a la Web sigue creciendo y aunque el 60% de los visitantes son nacionales, desde 2014 que se construyó la versión en inglés la proyección internacional de la página ha ido en aumento. La Web se actualiza periódicamente, incluyendo nuevos documentos que facilitan la labor al usuario, como por ejemplo los protocolos relacionados con las diferentes metodologías de preparación de muestras y las nuevas publicaciones científicas.

6. DESARROLLO DE PATRONES. ESTANDARES INTERNACIONALES

Durante el 2014 se amplió la lista de patrones, tanto internacionales como internos, de forma que en el año 2018 el LIE cuenta con 26 patrones internacionales comprados a la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) y a la Sociedad Geológica Americana (USGS), 14 materiales de referencia cedidos por el Laboratorio de Isótopos Estables del Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra (IACT) de Granada, y "The Stable Isotope Hydrology and Ecology Research Laboratory" (Environment Canada, Canada), y 13 patrones internos desarrollados por el propio laboratorio, incluidos los dos materiales de queratina que hemos preparado especialmente para utilizarlos como patrones en las mediciones diarias de d^2H. Estos son: LIE-PA2, preparado a partir de las plumas de 2 Alcas y LIE-AL, preparado con las plumas de un Alcatraz. Estos se suman a los que ya teníamos anteriormente (LIE-BB, LIE-CV y LIE-PA).

Los patrones preparados con las plumas de Alca y de Alcatraz, son materiales muy importantes sobre todo para las mediciones de d^2H. Éstos tienen valores de deltas positivos, lo cual los hace únicos en el mundo, ya que no existe en el mercado ningún material de queratina con estos valores.

Las mediciones de d^2H son muy importantes en el estudio de migraciones. Estas se hacen fundamentalmente en los tejidos de queratina del animal (plumas, pelos, cuernos etc.). Debido a la fracción intercambiable que presentan los isotopos de H_2 en este tipo de tejidos, se hace necesario contar con materiales de referencia de este mismo compuesto, para equilibrarlos juntos (muestras y patrones) en el ambiente del laboratorio antes de su medición.

Esta amplia gama de materiales de queratina, abarcando un amplio rango de valores isotópicos, nos permite medir de forma adecuada los isótopos de d^2H, y nos convierte en uno de los pocos laboratorios nacionales e internacionales que lo hacen.

PATRÓN	SUMINISTRADOR	MATERIAL
GISP	IAEA	Agua
VSMOW2	IAEA	Agua
SLAP2	IAEA	Agua
IAEA-CH-3	IAEA	Celulosa
IAEA-CH-6	IAEA	Sacarosa
IAEA-CH-7	IAEA	Polietileno
NBS-22	IAEA	Aceite
IAEA-N-1	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-N-2	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-NO-3	IAEA	Nitrato de Potacio
USGS-34	IAEA	Nitrato de Potacio
IAEA-S-1	IAEA	Sulfuro de Plata
IAEA-S-2	IAEA	Sulfuro de Plata
IAEA-S-3	IAEA	Sulfuro de Plata
NBS-127	IAEA	Sulfato de Bario
IAEA-600	IAEA	Cafeína
IAEA-601	IAEA	Ácido Benzoico
NBS18	IAEA	CaCO3
LSVEC	IAEA	Carbonato de Litio
IAEA-305	IAEA	Sulfato de Amonio
IAEA-310	IAEA	UREA
USGS-40	USGS	L-glutamic acid
USGS-41	USGS	L-glutamic acid
USGS42	USGS	Tibetan human hair
USGS43	USGS	Indian human hair
CBS	Environmet Canada	Caribou Hoof (casco de reno)
KHS	Environmet Canada	Kudu Horn (cuerno antílope)
LGR-1	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-2	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-3	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-4	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-5	Antonio Delgado (IACT)	Agua
LGR-1A	LGR	Agua
LGR-2A	LGR	Agua
LGR-3A	LGR	Agua
LGR-4A	LGR	Agua
LGR-5A	LGR	Agua
EEZ-20	Antonio Delgado (IACT)	Sacarosa
UR-05	Antonio Delgado (IACT)	UREA
EEZ-1	Antonio Delgado (IACT)	Calcita
EEZ-10	Antonio Delgado (IACT)	Calcita
LIE-1	Interno	Agua Milli-Q de la EBD
LIE-2	Interno	Agua Milli-Q evaporada
LIE-3	Interno	Agua Milli-Q evaporada
LIE-U-21	Interno	UREA
LIE-P-22	Interno	PROTEÍNA
LIE-SF-23	Interno	SORGHUM FLOUR
LIE-C-24	Interno	COLÁGENO
LIE-BB	Interno	BARBA DE BALLENA
LIE-CV	Interno	CUERNO DE VACA de la Reserva
EK	Interno	Spectrum Keratin
LIE-PA	Interno	PLUMA DE ALCA
LIE-PA2	Interno	PLUMA DE ALCA
LIE-AL	Interno	PLUMA DE ALCATRAZ

Tabla 5: Relación de patrones internacionales e internos disponibles en el laboratorio.

7. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA. PARTICIPACIÓN EN EVENTOS. CURSOS

Se detallan las tesis doctorales, trabajos de máster y publicaciones producidas a partir de muestras analizadas en el laboratorio y/o publicaciones del personal y usuarios del LIE en las que se han incluido análisis isotópicos durante el 2018. Además de la participación en eventos y cursos recibidos y/o impartidos.

➢ *Publicaciones*

- Franco, J. *Incidencia y cuantificación de microplásticos en depredadores marinos en el Golfo de Bizcaia.* (Fundación AZTI).

- Giménez, J., Louis, M., Barón, E., Ramírez, F., Verborgh, P., Gauffier, P., Esteban, R., Eljarrat, E., Barceló, D., G. Forero, M., de Stephanis, R. (2018). *Towards the identification of ecological management units: A multidisciplinary approach for the effective management of bottlenose dolphins in the southern Iberian Peninsula.* Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst. 28: 205–215.

- Giménez, J., Cañadas, A., Ramírez, F., Afán, I., García-Tiscare, S., Fernández-Maldonado, C., Castillo, J.J., de Stephanis, R. (2018). *Living apart together: Niche partitioning among Alboran Sea cetaceans.* Ecological Indicators 95: 32–40.

- Rodríguez A., Ramírez F., Carrasco MN., Chiaradia A. (2018). *Seabird plastic ingestion differs among collection methods: Examples from the short-tailed shearwater*. Environmental Pollution 243: 1750-1757.

- Donázar-Aramendía, I., Sánchez-Moyano J.E., García-Asencio I., Miró J.M., Megina, C. (2018). *Impact of dredged-material disposal on soft-bottom communities in a recurrent marine dumping area near to Guadalquivir estuary, Spain.* Marine Environmental Research 139: 64–78.

- *3rd Stable isotope Course in Ecology and Environmental Sciences*

Impartido del 12 al 16 de noviembre del 2018 entre Sevilla y Doñana.

Profesores:
Albert Soler i Gil; Antoni Rossell-Melé; David Soto; Francisco Ramírez Benítez; Joan Giménez Berdugo; Manuela Gonzalez Forero; Ricardo Álvarez Alonso; Sarai López García

Materias:
- Base teórica de geoquímica isotópica 1 (Albert Soler)
- Multi-isotopic approach to understand the origin and destination of dissolved nitrate in underground water (Albert Soler)
- An overview of stable isotope applications to ecological and environmental studies (Manuela G. Forero)
- Principles and applications of IRMS to ecological studies (Ricardo Álvarez)
- Compound specific stable isotopic analysis (Antoni Rosell)
- Isotopic applications to spatial assignments (Francisco Ramírez)
- Isotopic Mixing Models (MixSIAR) (Joan Giménez)
- Niche metrics (Joan Giménez)
- Stable isotopes and (past) climate change (Antonio García-Alix)

8. PROYECCIÓN, RETOS Y NECESIDADES FUTURAS

A lo largo de estos años de funcionamiento en general y en 2018 en particular, podemos afirmar que, pese a las dificultades puntuales de personal y recortes económicos, hemos alcanzado los objetivos inicialmente establecidos y enmarcados dentro del proyecto EcoGenes, que financió parcialmente la creación del laboratorio, y los objetivos del servicio en cuanto a calidad en los años siguientes.

En este año 2018, en donde las limitaciones de personal han sido especialmente importantes, podemos decir, a modo de conclusión, que la actividad se ha mantenido. Nuestra intención es seguir avanzando para dar un servicio de calidad y contribuir activamente al desarrollo de la metodología analítica de los isótopos estables para una aplicación fructífera en investigaciones principalmente en el campo de la Ecología. Para poder mantener un servicio de calidad en el laboratorio, necesitamos además de dedicación, una dotación de personal cualificado y estable en el tiempo, y también contar con unas garantías de mantenimiento y reparación del equipamiento del LIE.

La reincorporación en 2019 del técnico en excedencia, un técnico con contrato PTA de 3 años de duración y la incorporación de un estudiante con contrato de Garantía Juvenil para principios de 2020, permitirá poner en marcha el nuevo equipamiento adquirido, GasBench II, y el desarrollo de nuevas técnicas, así como avanzar en investigaciones

enfocadas a la mejora del servicio y el campo de la isotopía en general y la posibilidad de desarrollar nuevas técnicas e investigaciones propias. Esta mejora a corto plazo no debería evitar que se haga un esfuerzo por consolidar al personal del LIE y asegurar su dotación de personal a largo plazo.

Se intentará retomar la labor formativa a lo largo de 2019, no sólo acogiendo de nuevo estudiantes sino también organizando actividades formativas, siendo nuestra intención organizar una nueva edición del Curso de Isótopos Estables organizado por el LIE, que se impartirá, probablemente en el primer semestre de 2020.

Como se ha mencionado anteriormente, aunque con un grado de priorización menor que el de la estabilización del personal técnico del LIE, se recomienda a la dirección del centro considerar en futuras peticiones de infraestructuras, la ampliación del equipamiento del LIE con un analizador elemental dedicado exclusivamente a análisis de muestras por combustión, un cromatógrafo de gases acoplado al IRMS y un UniPre para el equilibrado de muestras de queratina.

El analizador elemental del que disponemos actualmente nos permite medir relaciones isotópicas de $d^{15}N$, $d^{13}C$, $d^{34}S$, mediante combustión y $d^{2}H/d^{18}O$ mediante pirólisis. Aunque el grueso de peticiones corresponde a C/N, en los últimos tiempos la demanda de análisis de deuterio ha ido aumentando, de forma que en 2018 la tendencia se ha invertido llegando a analizar 2882 muestras para deuterio y 2052 para C/N. El cambiar de un método a otro requiere de un mínimo de 4 días ya que conlleva bajada de temperatura, cambio de reactor, subida de temperatura y ajuste de los parámetros del método en cuestión, lo que ralentiza considerablemente los plazos de entrega de resultados. Por tanto, el tener dos analizadores elementales mejoraría considerablemente la productividad del laboratorio al tener los dos métodos de análisis siempre disponibles.

Por otro lado, las muestras de queratina requieren, previo a su análisis, de un tiempo (aproximadamente 4 días) para que se equilibre la fracción intercambiable de deuterio con el ambiente. Un dispositivo UniPrep, que consiste en un muestreador completamente hermético que se calienta acelerando el proceso de equilibrado utilizando vapor de agua con valores isotópicos conocidos, nos permitiría hacer un equilibrado más eficiente y más rápido de este tipo de muestras.

En la línea de mejora y ampliación de los servicios prestados en la actualidad por el LIE, el adquirir un cromatógrafo de gases acoplado al IRMS permitiría al laboratorio dar un salto cuantitativo al poder realizar análisis isotópicos en compuestos específicos en lugar de en el “bulk”, como se viene haciendo hasta ahora con el analizador elemental. Una herramienta con un alto potencial en estudios de ecología o asignación de fuentes contaminantes, que se va a desarrollar y expandir, sin duda, en los próximos años.