

Convocatoria AEET-SIBECOL de ayudas a proyectos de investigación ERC en ecología (10ª ed., 2020)

1. Datos de identificación.

Título de la propuesta	PHOtoproducTion Of Nitrous Oxide in Inland waters (PHOTON)
Categoría	Tomando la Iniciativa
Nombre y apellidos del Beneficiario	Elizabeth León Palmero
Datos de contacto: e-mail y teléfono	eleonpalmero@ugr.es / ell@sdu.dk +34 628600714
Departamento/Instituto/Grupo de Investigación/Otros	Universidad de Granada / Facultad de Ciencias / Departamento de Ecología / Grupo de Redes Tróficas Pelágicas (RNM 125) *University of Southern Denmark / Faculty of Sciences / Department of Biology / Nordcee group
Dirección, código postal, provincia	Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, España *Campusvej 55, 5230, Odense M, Denmark

*Actualmente

2. Memoria Técnica. Actividades y resultados de investigación

2.1. Introducción (Planteamiento, objetivos y justificación)

Las actividades humanas han incrementado la entrada de nitrógeno en las aguas continentales y costeras, potenciando la producción de óxido nitroso (N_2O)¹⁻⁵. **El N_2O es un potente gas de efecto invernadero**, con 298 veces el potencial calorífico del CO_2 en un horizonte a 100 años⁶ y el principal agente destructor de la capa de ozono⁷. El óxido nitroso se produce durante la oxidación del amonio⁸⁻¹⁰, desnitrificación¹¹, y desnitrificación nitrificante¹². Estudios recientes han demostrado que el N_2O también puede producirse abióticamente a través de la descomposición del intermediario extracelular de la oxidación del amonio, la hidroxilamina (NH_2OH) en N_2O (Figura 1a, parte azul), y la quimiodesnitrificación del NO_2^- en N_2O acoplada a la oxidación de diferentes compuestos, como el Fe(II) en Fe(III) (Figura 1b)¹³⁻¹⁸.

Durante mi tesis doctoral demostré, por primera vez, que **la luz solar estimula producción abiótica de óxido nitroso en condiciones abióticas** en dos embalses eutróficos de agua dulce¹⁹. Sin embargo, el **mecanismo** de esta fotoproducción de óxido nitroso era desconocido. La luz solar promueve la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) a partir de la fotoionización del oxígeno, y la fotooxidación inducida por nitratos (Figura 1a, amarillo)^{20,21}, y la reducción de Fe(III) a Fe(II) (Figura 1b, amarillo)²²⁻²⁴. Por lo tanto, en este proyecto se planteó que **la fotoproducción de N_2O podría ocurrir por la descomposición del NH_2OH catalizada por ROS (Figura 1a), la quimiodesnitrificación del NO_2^- acoplada a la oxidación del Fe(II) fotorreducido (Figura 1b), o ambos procesos.**

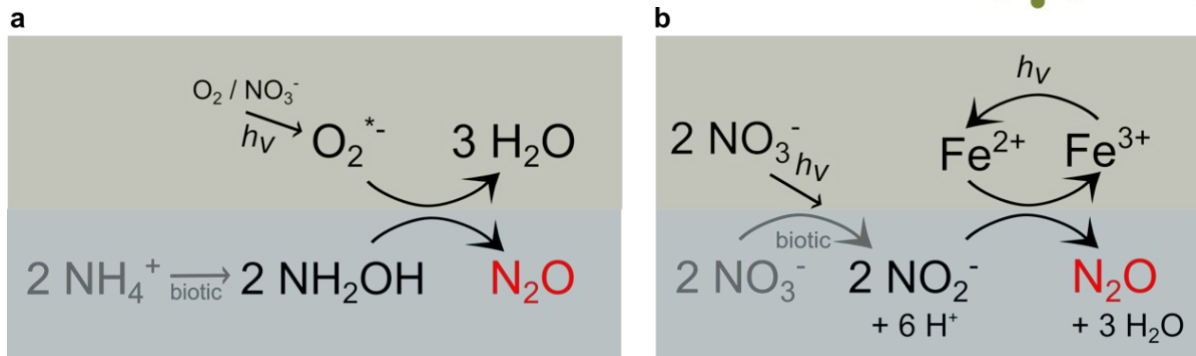


Figura 1. Posibles mecanismos de fotoproducción de N₂O. (a) Descomposición de hidroxilamina (b) Quimiodesnitrificación de nitrito. *hν*: luz solar.

Por lo tanto, el objetivo general de este proyecto fue **cuantificar la tasa de fotoproducción de óxido nítrico a partir de hidroxilamina (NH₂OH; objetivo específico 1, SO1) y a partir de nitrito (NO₂⁻; objetivo específico 2, SO2)**. Para ello se usaron trazadores isotópicos de nitrógeno-15 (i.e., ¹⁵N-NH₂OH, and ¹⁵N-NO₂⁻) en condiciones abióticas en las aguas superficiales de un embalse eutrófico (i.e., Embalse de Cubillas, Granada), y también en un ecosistema marino costero (i.e., playa de las Azucenas, Motril, Granada). Las reacciones que se propusieron son la descomposición de hidroxilamina por especies reactivas de oxígeno (ROS), y la quimiodesnitrificación de nitrito a óxido nítrico acoplada a la fotooxidación de Fe (II), que previamente se habría fotorreducido desde Fe (III) por acción de la luz solar. Estas reacciones se muestran en la Figura 1.

Además de estos dos objetivos planteados, decidimos **ampliar el proyecto original**. En primer lugar, hicimos un **tratamiento adicional con nitrato (¹⁵N-NO₃⁻)**, ya que el nitrato es el compuesto principal dentro del pool del nitrógeno inorgánico en este sistema, y a su vez, puede ser reducido por acción de la luz solar (y de forma abiótica) a nitrito²⁰, como se muestra en la Figura 1b. Es decir, el nitrato podría fotorreducirse a nitrito, y de esa forma contribuir a la quimiodesnitrificación a partir de nitrito descrita en el SO2. En segundo lugar, repetimos el experimento también en un **medio marino**, concretamente en la costa de Motril, Granada. Este lugar es también un área muy eutrofizada, y de producirse la fotoproducción en este ambiente, significaría que esta nueva reacción tendría un alcance muchísimo mayor de lo originalmente considerado, al no solo ocurrir en agua dulce, sino también en agua marina. El diseño fue similar al usado en el embalse de Cubillas.

2.2.Descripción de la ejecución- Metodología

El muestreo y las incubaciones se desarrollaron en julio de 2021, ya que el experimento requería de alta radiación solar. Se hizo una caracterización general del agua usando una sonda multiparamétrica YSI, y se muestreó el agua superficial (1 m) en el embalse de Cubillas y en la playa de las Azucenas en Motril (Granada). A continuación se filtró el agua usando filtros GF-F de fibra de vidrio de 0.7 μm de tamaño de poro, previamente combustionados (2 h, 500

°C). Se determinaron las concentraciones de nitrato, nitrito y amonio iniciales usando métodos estándar²⁵. Se rellenaron los viales cuidadosamente para evitar la formación de burbujas, y se inyectaron los distintos trazadores isotópicos. En el primer tratamiento inyectamos $^{15}\text{N-NH}_2\text{OH}$ (cloruro de ^{15}N -hidroxilamina $>98\%^{15}\text{N}$) a una concentración final de $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$. En el segundo tratamiento inyectamos $^{15}\text{N-NO}_2^-$ (^{15}N -nitrito de sodio $>98\%^{15}\text{N}$) a una concentración final de $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$. En el tercer tratamiento (adicional) inyectamos $^{15}\text{N-NO}_3^-$ (^{15}N -nitrato de potasio $>98\%^{15}\text{N}$) a una concentración final de $5.0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Para asegurar que las incubaciones fueran abióticas se añadió HgCl_2 (concentración final 1 mmol L^{-1}). Se sellaron los viales con grasa Apiezon para evitar el intercambio gaseoso con la atmósfera.

Los viales se incubaron en unas plataformas flotantes que se construyeron para el experimento, que a su vez se colocaron en una piscina hinchable en la terraza del edificio del Instituto Interuniversitario del Sistema Tierra de Andalucía (IISTA), en Granada (Figura 2). Se utilizaron viales esféricos de cuarzo que son completamente transparentes a la radiación solar. Se incluyeron tanto tratamiento de luz (viales de cuarzo, 2 réplicas por tiempo de incubación) como controles en oscuridad (viales cubiertos con cinta negra, 1 control por tiempo) a diferentes tiempos (t_0 , t_1 , t_2). Durante este experimento también se midió la radiación solar en el rango de radiación fotosintéticamente activa (PAR, 400 - 700 nm) utilizando un sensor PAR Quantum SKP 215 (Skye), y en el rango UV-B (280 - 320 nm) con un sensor UVB-1 (Yankee Environmental System) respectivamente. Estos datos de radiación fueron proporcionados por el personal del IISTA. Los tiempos de incubación y la radiación recibida se detallan en la Tabla 1.



Figura 2. Desarrollo del experimento de fotoproducción de N_2O . (a) Piscina hinchable en la terraza del edificio IISTA (b) Detalle de los viales en las plataformas flotantes durante la incubación.

Tabla 1. Tiempos de incubación y radiación recibida por los viales. $t_0 = 0$ días; $t_1 = 1-2$ días; $t_2 = 4-7$ días.

Lugar de muestreo	Tiempo	n	Fecha inicio de la incubación	Horas de luz (h)	Radiación PAR (W m^{-2})	Radiación UV-B (W m^{-2})
Embalse de Cubillas	t_0	3	07/07/2021	0	0	0
	t_1	2 + 1	07/07/2021	15.6	210378	24.84
	t_2	2 + 1	07/07/2021	110.3	1281951	146.54
Costa de Motril	t_0	3	19/07/2021	0	0	0
	t_1	2 + 1	19/07/2021	17.7	197871	22.09
	t_2	2 + 1	19/07/2021	57.8	692561	81.68

Una vez pasado el tiempo de la incubación (Tabla 1), las muestras se transfirieron cuidadosamente a botes de sérum Wheaton de 50 mL utilizando jeringas de gas herméticas y se almacenaron en oscuridad. Se determinó la producción de $^{15}\text{N}-\text{N}_2\text{O}$ utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de relación isotópica (GC-IRMS, Thermo Delta V Plus). Se detectaron las masas 44 (i.e., $^{44}\text{N}_2\text{O}$, que representa $^{14}\text{N}^{14}\text{N}^{16}\text{O}$), 45 (i.e., $^{45}\text{N}_2\text{O}$ que representa $^{14}\text{N}^{15}\text{N}^{16}\text{O}$ o $^{15}\text{N}^{14}\text{N}^{16}\text{O}$), y 46 (i.e., $^{46}\text{N}_2\text{O}$ que representa $^{15}\text{N}^{15}\text{N}^{16}\text{O}$), y los ratios entre los isótopos 45/44, 46/44. Nótese que durante esta memoria usaré $^{15}\text{N}-\text{N}_2\text{O}$ para referirme a ambos compuestos: $^{45}\text{N}_2\text{O}$, y $^{46}\text{N}_2\text{O}$.

Es importante señalar que aunque la idea inicial era medir la concentración de $^{15}\text{N}-\text{N}_2\text{O}$ en el Departament de Mineralogia, Petrologia i Geologia Aplicada en la Universitat de Barcelona, posteriormente a la solicitud del proyecto nos comunicaron que sería imposible hacerlo allí. Por este motivo tuve que buscar otra alternativa y las medición de las muestras se retrasó. Finalmente, fui capaz de determinar la concentración de $^{15}\text{N}-\text{N}_2\text{O}$ en las muestras gracias a la colaboración con el Dr. Bo Thamdrup en el Departamento de Biología de la Universidad del Sur de Dinamarca, donde me encuentro actualmente trabajando como investigadora postdoctoral. Estas medidas se llevaron a cabo en junio de 2022, por lo que los resultados que se muestran a continuación no están analizados con el detalle que me gustaría.

2.3. Resultados obtenidos (cumplimiento de objetivos)

En la tabla 2 se muestra la caracterización general de los sistemas. La temperatura, la concentración de oxígeno y el pH fueron mayores en el embalse que en el área costera, así como la salinidad, por motivos obvios. El nitrato fue el compuesto principal en el pool de nitrógeno inorgánico disuelto en ambos casos, siendo mayor en el área marina. El amonio fue indetectable en ambos casos, y así como el nitrito en la costa de Motril.

Tabla 2. Caracterización general de los sistemas en el momento del muestreo.

	Embalse de Cubillas	Costa de Motril
Localización geográfica	37°16'45.5"N 3°40'19.0"W	36°42'57.3"N 3°30'29.6"W
Fecha del muestreo	07/07/2021	19/07/2021

Temperatura (°C)	26.3	22.2
Concentración de oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)	9.6	6.7
Saturación de oxígeno (%)	128	106
pH	8.01	7.74
Conductividad (μS cm ⁻¹)	1014	75000
Sólidos disueltos totales (mg L ⁻¹)	643.5	51400.0
Salinidad (ppt)	0.48	55.29
Concentración de nitrato (μmol L ⁻¹)	28.20	41.4
Concentración de nitrito (μmol L ⁻¹)	1.1	0.0
Concentración de amonio (μmol L ⁻¹)	0.0	0.0

En cuanto a los resultados de las incubaciones, podemos confirmar que se ha detectado enriquecimiento en ¹⁵N-N₂O (⁴⁵N₂O y ⁴⁶N₂O) a partir de nitrito (¹⁵N-NO₂⁻) y de nitrato (¹⁵N-NO₃⁻), lo que demostraría **la existencia de una nueva reacción química: la FOTOQUIMIODESNITRIFICACIÓN.**

Se encontraron diferencias significativas (*p-value* < 0.05) entre los tratamientos de luz y oscuridad en la producción de ¹⁵N-N₂O en los tratamientos con nitrito (¹⁵N-NO₂⁻) y con nitrato (¹⁵N-NO₃⁻), pero no en el caso de la hidroxilamina (¹⁵N-NH₂OH). En la Tabla 3 se especifica el resultado general de cada tratamiento en relación al objetivo específico.

Tabla 3. Resumen de los resultados según los objetivos del proyecto.

Lugar de muestreo	Objetivo específico	Reacción potencial	Tratamiento	¿Diferencias significativas entre luz y oscuridad?*
Embalse de Cubillas	SO1	Descomposición de la hidroxilamina	¹⁵ N-NH ₂ OH	No
	SO2	Quimiodesnitrificación	¹⁵ N-NO ₂ ⁻	Sí
	SO2	Quimiodesnitrificación	¹⁵ N-NO ₃ ⁻	Sí
Costa de Motril	SO1	Descomposición de la hidroxilamina	¹⁵ N-NH ₂ OH	No
	SO2	Quimiodesnitrificación	¹⁵ N-NO ₂ ⁻	Sí
	SO2	Quimiodesnitrificación	¹⁵ N-NO ₃ ⁻	Sí

*p-valor < 0.05

Durante las incubaciones con los trazadores isotópicos marcados se observó enriquecimiento en ¹⁵N-N₂O, tanto para ⁴⁵N₂O como para ⁴⁶N₂O. El ⁴⁵N₂O se corresponde a una molécula de N₂O que sólo contienen un átomo marcado de ¹⁵N, es decir, ¹⁴N¹⁵N¹⁶O o ¹⁵N¹⁴N¹⁶O. En cambio, el ⁴⁶N₂O contendría dos átomos marcados de ¹⁵N, por lo que se correspondería a ¹⁵N¹⁵N¹⁶O. Cuando hay disponibilidad de ¹⁴N en el ambiente, el ¹⁵N-N₂O puede formarse a

partir de ^{14}N preexistente, junto con el ^{15}N del trazador que se ha inyectado, lo que determinaría la formación de $^{45}\text{N}_2\text{O}$. En cambio, cuando la disponibilidad de ^{14}N es muy pequeña en el ambiente, el ^{15}N - N_2O tiende a formarse a partir de dos ^{15}N de los sustratos marcados inyectados, determinando entonces la mayor formación de $^{46}\text{N}_2\text{O}$.

En nuestras incubaciones se observó tanto enriquecimiento en $^{45}\text{N}_2\text{O}$ como en $^{46}\text{N}_2\text{O}$. En las Figuras 3 – 6 se muestra el aumento en el enriquecimiento en ambos a lo largo del tiempo en las submuestras de 8 mL, respecto a la radiación UV-B recibida. También se han resumido las pendientes en el enriquecimiento de N_2O 45 y 46 respecto a la radiación UV-B en la tabla 3.

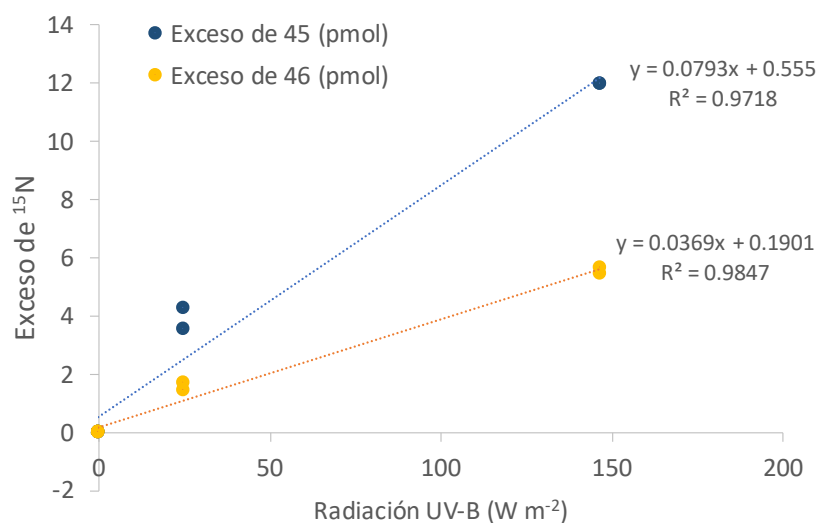


Figure 3. Incremento en el exceso de N_2O 45 (azul) y 46 (naranja) respecto a la radiación UV-B recibida durante la incubación con $^{15}\text{N}\text{-NO}_2^-$ usando agua del embalse de Cubillas.

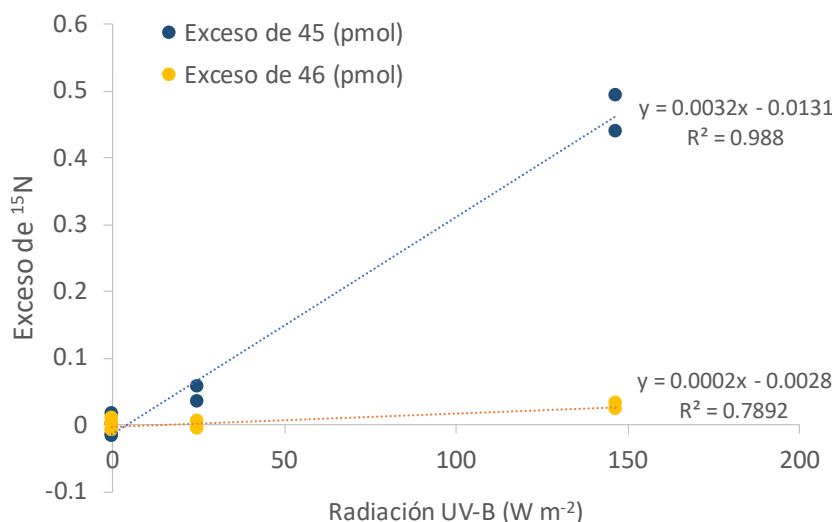


Figure 4. Incremento en el exceso de N_2O 45 (azul) y 46 (naranja) respecto a la radiación UV-B recibida durante la incubación con $^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ usando agua del embalse de Cubillas.

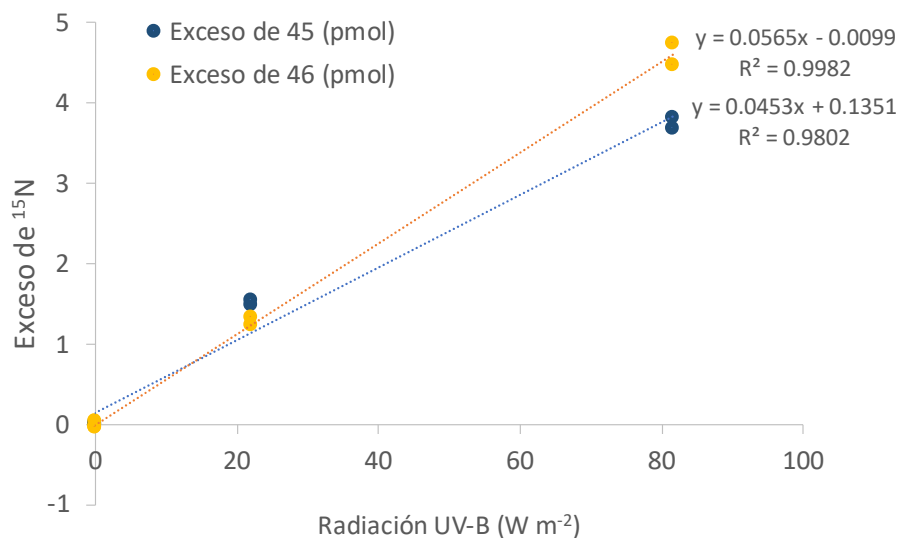


Figure 5. Incremento en el exceso de N_2O 45 (azul) y 46 (naranja) respecto a la radiación UV-B recibida durante la incubación con $^{15}\text{N-NO}_2^-$ usando agua de la costa de Motril.

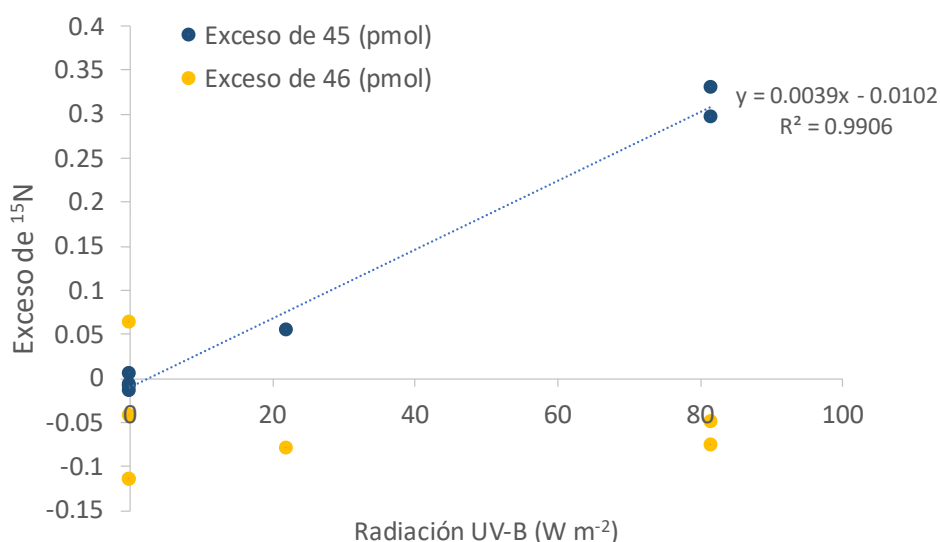


Figure 6. Incremento en el exceso de N_2O 45 (azul) y 46 (naranja) respecto a la radiación UV-B recibida durante la incubación con $^{15}\text{N-NO}_3^-$ usando agua de la costa de Motril.

El enriquecimiento fue un orden de magnitud mayor a partir de $^{15}\text{N-NO}_2^-$ que a partir de $^{15}\text{N-NO}_3^-$. Esto confirmaría que la reacción planteada de fotoquimiodesnitrificación tal y como se expone en la Figura 1b. Para formar $^{15}\text{N-N}_2\text{O}$ a partir de $^{15}\text{N-NO}_3^-$, primero este ha de transformarse en $^{15}\text{N-NO}_2^-$, mientras que a partir del $^{15}\text{N-NO}_2^-$ la reacción es directa. Aún quedaría por confirmar si esta quimiodesnitrificación se produce por acción del Fe u otro metal.

En el embalse de Cubillas el enriquecimiento en $^{45}\text{N}_2\text{O}$ fue mayor que de $^{46}\text{N}_2\text{O}$, para el nitrito y para nitrato, ya que ambos compuestos estaban disponibles en el sistema de forma

natural. Sin embargo, no se detectó nitrito en el agua de la costa de Motril (Tabla 2), lo que podría explicar que el enriquecimiento en 46 fue ligeramente mayor que de 45 en este sistema. Es interesante destacar que en general las pendientes no fueron muy diferentes en el agua dulce (i.e., embalse de Cubillas) con respecto al agua marina (i.e., costa de Motril), lo que indicaría que esta reacción depende más del sustrato y la luz que de la salinidad del sistema.

Tabla 3. Pendientes en el enriquecimiento de N_2O 45 y 46 en los dos sistemas estudiados.

Lugar de muestreo	Tratamiento	$^{45}N_2O$	$^{46}N_2O$
Embalse de Cubillas	$^{15}N-NO_2^-$	0.0793	0.0369
	$^{15}N-NO_3^-$	0.0032	0.0002
Costa de Motril	$^{15}N-NO_2^-$	0.0453	0.0565
	$^{15}N-NO_3^-$	0.0039	No significativa

2.4. Conclusiones y valoración de la ejecución

Gracias a este proyecto he logrado **confirmar la fotoproducción de óxido nitroso usando isótopos estables, y encontrar el sustrato (i.e., nitrito) de esta reacción**. Esto significa que hemos demostrado la existencia de **una nueva reacción química**: la **fotoquimiodesnitrificación**. Esta reacción ocurriría a partir de nitrito directamente, pero también a partir de nitrato ya que este puede reducirse a nitrito. El nitrato es el componente principal del pool del nitrógeno inorgánico en la mayoría de los sistemas acuáticos, tanto de agua dulce como de agua marina, por lo que **esta reacción podría tener una enorme relevancia en los sistemas eutróficos, incluso en aquellos donde la concentración aparente de nitrito es muy baja**. Además, también hemos demostrado aquí que la reacción no solo ocurre en sistemas acuáticos de agua dulce, sino también de agua marina, lo que ha incrementado enormemente el impacto de este descubrimiento. Como señalaba anteriormente, tanto la inclusión del nuevo trazador isotópico (nitrato marcado), como del medio marino fueron ampliaciones que se hicieron posteriormente, pero ambos han incrementado enormemente el valor científico de estos resultados y el impacto que tendrán. **En definitiva, la fotoquimiodesnitrificación podría ser responsable de una parte importante de la producción global de óxido nitroso en los ecosistemas acuáticos. Encontrar todas las fuentes desconocidas de N_2O es de vital importancia teniendo en cuenta que la tendencia en el incremento atmosférico de N_2O está siendo más rápida que lo estimado por el IPCC²⁶.**

También me gustaría resaltar que la ejecución del proyecto se ha visto **retrasada** por la dificultad para encontrar un sistema adecuado donde medir las muestras, por lo que agradezco especialmente la **extensión del proyecto que se me concedió**. Finalmente encontré un sistema donde medir las muestras en el centro donde actualmente trabajo como investigadora postdoctoral (Universidad del Sur de Dinamarca). Las muestras no se pudieron

medir hasta este pasado mes de junio por la alta ocupación del GC-IRMS, y por este motivo los resultados que se han expuesto en esta memoria no están analizados con la profundidad que me gustaría.

2.5.Publicaciones resultantes

Los resultados obtenidos de este experimento están aún siendo analizados. Se está trabajando en un futuro artículo que, debido a la gran relevancia del hallazgo aquí citado (i.e., **fotoquimiodesnitrificación**), será enviado en los próximos meses a la revista **Nature** para su revisión. Esperamos que este trabajo tendrá una gran repercusión científica, ya que se trata, nada más y nada menos, del descubrimiento de una nueva ruta de producción de óxido nítrico hasta ahora desconocida. Esta nueva ruta, como señalaba anteriormente, tiene una relevancia e impacto global, ya que ha sido demostrada tanto en agua dulce como en agua marina.

A partir de la publicación del hallazgo, los resultados serán **divulgados** por diferentes vías. Tengo previsto presentar este trabajo en el **congreso internacional** de la *Association for the Sciences of Limnology and Oceanography* (ASLO) en Palma de Mallorca el próximo Junio: “2023 Aquatic Sciences Meeting – ASLO”. Los resultados también serán diseminados a través de **Twitter** y publicaciones en **blogs científicos**, así como **charlas de divulgación científica**, todos ellos ámbitos en los que tengo remarcada experiencia.

3. **Informe de gastos del proyecto.** Relación de partidas de gastos y sus importes. Se deberán aportar justificantes originales de los pagos realizados (tickets, recibos o facturas).

En la siguiente tabla se detallan los gastos del proyecto. En cuanto al transporte, el punto de partida considerado es el Instituto del Agua, que era el lugar de trabajo habitual. El IISTA es el Instituto Interuniversitario del Sistema Tierra de Andalucía, en cuya terraza se realizó el experimento. Todos los días durante el experimento me desplazé al IISTA a comprobar el estado del experimento y renovar el agua de la piscina. Era muy importante que el agua estuviera a una temperatura razonable y que el nivel fuera el adecuado. Las facturas se adjuntan al final de la memoria.

Tabla 4. Presupuesto de gastos durante el proyecto.

Tipo	Ítem	Detalles	Precio	Coste total
Transporte	Transporte al embalse de Cubillas para muestreo	Vehículo institucional, 20 km x 2	0.20 €/km	8.00 €
	Transporte a la costa de Motril para muestreo	Vehículo institucional, 70 km x 2	0.20 €/km	28.00 €

	Viaje al IISTA para transporte de materiales y preparación del experimento	Vehículo institucional, 5 km x 6	0.20 €/km	6.00 €
	Viajes al IISTA para seguimiento de las incubaciones	Metro de Granada, 23 x 2 viajes	1.35 €/viaje	62.10 €
Material de laboratorio	Trazadores isotópicos	$^{15}\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, (^{15}N , 98%+) y $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ (^{15}N , 98%+), Empresa TRACER		912.34 €
	Jeringas MonoJect Luer Lock 140 mL	BioGen		246.84 €
	Jeringas Luer Lock 200 mL	Amazon		62.19 €
	Llaves de 3 vías y conectores luer-lock de jeringa para transferencia de muestras	DH Material Medico		71.87 €
	Piscina hinchable y protector de suelo	Zhou Shi Bai Jia Le S.L.		33.45 €
Envío de muestras a Dinamarca	Caja de plástico para almacenar las muestras	Zhou Shi Bai Jia Le S.L.		9.80 €
	Envío a Odense, Dinamarca	DHL		287.04
Análisis de las muestras en Dinamarca	Análisis de ^{15}N usando el GC-IRMS	Coste fraccionado por consumo de Helio del GC-IRMS		270.00 €* €
Coste total				1997.63 €

*El coste real de este servicio ha sido mayor, pero mi actual grupo de investigación en Dinamarca se ha hecho cargo del resto del pago.

4. Bibliografía citada.

- Seitzinger, S. P. & Kroeze, C. Global distribution of nitrous oxide production and N inputs in freshwater and coastal marine ecosystems. *Glob. Biogeochem. Cycles* **12**, 93–113 (1998).
- Seitzinger, S. P., Kroeze, C. & Styles, R. V. Global distribution of N_2O emissions from aquatic systems: natural emissions and anthropogenic effects. *Chemosphere - Global Change Science* **2**, 267–279 (2000).
- Gruber, N. & Galloway, J. N. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* **451**, 293–296 (2008).
- Mulholland, P. J. *et al.* Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature* **452**, 202 (2008).
- Beaulieu, J. J. *et al.* Nitrous oxide emission from denitrification in stream and river networks. *PNAS* **108**, 214–219 (2011).
- IPCC. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. (Cambridge University Press, 2013).

7. Ravishankara, A. R., Daniel, J. S. & Portmann, R. W. Nitrous oxide (N₂O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Science* **326**, 123–125 (2009).
8. Anderson, J. H. The metabolism of hydroxylamine to nitrite by *Nitrosomonas*. *Biochem. J.* **91**, 8–17 (1964).
9. Vajrara, N. *et al.* Hydroxylamine as an intermediate in ammonia oxidation by globally abundant marine archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **110**, 1006–1011 (2013).
10. Stein, L. Y. Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms. *Current Opinion in Chemical Biology* **49**, 9–15 (2019).
11. Knowles, R. Denitrification. *Microbiol. Rev.* **46**, 43–70 (1982).
12. Frame, C. H. & Casciotti, K. L. Biogeochemical controls and isotopic signatures of nitrous oxide production by a marine ammonia-oxidizing bacterium. *Biogeosciences* **7**, 2695–2709 (2010).
13. Heil, J. *et al.* Site-specific ¹⁵N isotopic signatures of abiotically produced N₂O. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **139**, 72–82 (2014).
14. Zhu-Barker, X., Cavazos, A. R., Ostrom, N. E., Horwath, W. R. & Glass, J. B. The importance of abiotic reactions for nitrous oxide production. *Biogeochemistry* **126**, 251–267 (2015).
15. Soler-Jofra, A. *et al.* Importance of abiotic hydroxylamine conversion on nitrous oxide emissions during nitrification of reject water. *Chemical Engineering Journal* **287**, 720–726 (2016).
16. Liu, S. *et al.* Abiotic conversion of extracellular NH₂OH contributes to N₂O emission during ammonia oxidation. *Environ. Sci. Technol.* **51**, 13122–13132 (2017).
17. Wankel, S. D. *et al.* Evidence for fungal and chemodenitrification based N₂O flux from nitrogen impacted coastal sediments. *Nat. Commun.* **8**, 15595 (2017).
18. Otte, J. M. *et al.* N₂O formation by nitrite-induced (chemo)denitrification in coastal marine sediment. *Scientific Reports* **9**, 1–12 (2019).
19. León Palmero, E. Greenhouse gases in reservoirs: from watersheds to functional genes. (Universidad de Granada, 2021).
20. Zepp, R. G., Hoigne, J. & Bader, H. Nitrate-induced photooxidation of trace organic chemicals in water. *Environmental science & technology* **21**, 443–450 (1987).
21. Mopper, K. & Zhou, X. Hydroxyl radical photoproduction in the sea and its potential impact on marine processes. *Science* **250**, 661–664 (1990).
22. Pehkonen, S. O., Siefert, R., Erel, Y., Webb, S. & Hoffmann, M. R. Photoreduction of iron oxyhydroxides in the presence of important atmospheric organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* **27**, 2056–2062 (1993).
23. Emmenegger, L., Schönenberger, R., Sigg, L. & Sulzberger, B. Light-induced redox cycling of iron in circumneutral lakes. *Limnology and Oceanography* **46**, 49–61 (2001).
24. Song, W. *et al.* Photochemical oscillation of Fe(II)/Fe(III) ratio induced by periodic flux of dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 3121–3127 (2005).
25. American Public Health Association (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. (American Public Health Association, 1992).
26. Thompson, R. L. *et al.* Acceleration of global N₂O emissions seen from two decades of atmospheric inversion. *Nat. Clim. Chang.* **9**, 993–998 (2019).

Fdo:Elizabeth León Palmero

enOdense....., a29..... dejulio..... de 2022

Attn: **Elizabeth León Palmero**

Asunto: Beca a proyecto: “PHOtoproducTion Of Nitrous Oxide in Inland waters (PHOTON)”.

La Dra. Cristina Armas, Secretaria de la Asociación Española de Ecología Terrestre (AEET) y responsable del área de Proyectos de Investigación.

Por la presente comunica a la interesada que,

atendiendo a su solicitud, —presentada por escrito, a esta Secretaría el día 6 de octubre de 2021—, de extensión de plazo para la entrega de los informes finales de resultado del proyecto titulado: **“PHOtoproducTion Of Nitrous Oxide in Inland waters (PHOTON)”**, que resultó beneficiario de una beca en la Modalidad “Ganando la independencia”, en la 10ª edición de la Convocatoria de concesión de ayudas a proyectos de investigación en ecología liderados por jóvenes investigadores”, año 2020 y, con motivo de las dificultades alegadas por el interesado, para presentar a término dicho informe, la Junta Directiva de la AEET, **ha resuelto conceder a su IP, Elizabeth León Palmero, una prórroga de seis meses en la ejecución de dicho proyecto**, una prórroga de seis meses en la ejecución de dicho proyecto, teniendo, por tanto, que presentar la memoria técnica del proyecto, así como también el informe final de gastos del mismo, a la Secretaría de la AEET, antes del 31 de julio de 2022.

Y para que conste a los efectos oportunos y a petición del interesado, firmo la presente en Almería a 31 de octubre de 2021.



Fdo.: Cristina Armas





TRACER tecnologías analíticas, S.L.

Puerto de Santa María 112

28043 Madrid

34 91 716 00 10

B-82689092

FACTURA

FACTURA N°

021054

FECHA

16/06/2021

Elizabeth León Palmero. Universidad de Granada

Instituto del Agua, C/ Ramón y Cajal, nº 4

18003 Granada

GRANADA

PEDIDO N°

Q1818002F

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNIDAD	SUBTOTAL	TOTAL
Albarán:	1-006024					
LC-0979-N	Hydroxylamine:HCl (15N,98%)	0,500	g	988,00	494,00	494,00
LC-1504-N	Sodium nitrite (15N, 98%+)	1,000	g	260,00	260,00	260,00

PORTES	IMPORTE	BASE	TIPO	I.V.A.
	754,00	754,00	21,00	158,34

TOTAL: 912,34 Euro

FORMA DE PAGO

ENTIDAD BANCARIA

IBAN

Transferencia 30 días f.f.

BBVA

Torrelaguna, 66

28043 Madrid - SPAIN

ES98 0182 7387 2402 0159 1593

UNIVERSIDAD DE GRANADA

✕

✍

Redactar

✉

Correo

👥

Contactos

⚙

Configura...

🔌

Cerrar ses...

Previsualizar mensaje

↩

Responder

↩

Responder ...

↶

Reenviar

🗑

Eliminar

🖨

Imprimir

🚩

Marcar

⋮

Más

⬅

Anterior

➡

Siguiente

⋮

[BIOGEN Científica] Confirmación de pedido

From [BIOGEN Científica](#) on 2021-06-25 13:27

✉

[Detalles](#)

☰

[Sólo texto](#)

BIOGEN

Científica

COMPROMETIDOS CON LA INVESTIGACIÓN DESDE 1989

Estimado **Elizabeth León Palmero** , gracias por comprar en **BIOGEN Científica**.

Detalles del Pedido

Pedido: **JMKHNKDLO** realizado el **25/06/2021 13:27:14**

Forma de Pago: **Redsys**

Referencia	Producto	Precio Unidad	Cantidad	Precio Total
NE-SYR-MJ140LLBX	Jeringa de plástico 140ml MonoJect Luer Lock, 20 unid.	204.00EUR	1	204.00EUR
Productos				204.00EUR
Descuentos				0.00EUR
Envíos				0.00EUR
TOTAL				246.84EUR

Envío

Transporte: **Biogen** elegirá el transportista más idóneo en cada caso

DIRECCIÓN DE ENTREGA

Elizabeth León Palmero
Universidad de Granada
Instituto del Agua
Calle Ramón y Cajal Edificio Fray Luis, nº4
18003 Granada
España

DIRECCIÓN DE FACTURACIÓN

Elizabeth León Palmero
Universidad de Granada
Departamento de Ecología
Facultad de Ciencias, Campus Fuentenueva, s/n
18071 Granada
España
628600714

Puede revisar su pedido y descargar la factura en: ["Historia y detalles de mis pedidos"](#) dentro de su [cuenta](#).

Si tiene una cuenta de invitado, puede seguir su pedido desde la sección: ["Seguimiento de invitado"](#) en nuestra tienda.

BIOGEN Científica

 desarrollado por PrestaShop™

https://webmail.ugr.es/?_task=mail&_caps=pdf%3D1%2Cflash%3D0%2Ctiff%3D1%2Cwebp%3D0&_uid=17467&_mbox=INBOX&_action=show

Página 1 de 1

**Address:**

Medi-Inn Online GmbH
Weilerweg 5
56729 Hirten
Germany

Contact:

Fon: +49 (0) 2656 952264
Fax: +49 (0) 2656 952314

Internet:

www.medi-inn.de
mail@medi-inn.de

Medi-Inn Online GmbH · Weilerweg 5 · 56729 Hirten · Germany

Elizabeth León Palmero
Calle Rector García Duarte 2, 2 planta, derecha
18002 Granada, Granada
Spanien

INVOICE

Invoice no.

1500534

Sales portal

Amazon-Shop

Shipping address

ELIZABETH LEON PALMERO
Calle Ramón y Cajal, Edificio Fray Luis, nº4 UNIVERSIDAD DE
GRANADA, CIF:
UNIVERSIDAD DE GRANADA, CIF:
18003 Granada, Granada
Spanien

Customer ID Order no.

1726717 1506554

Date of invoice Date of delivery

30.06.2021 30.06.2021

POS	ITEM	UNIT PRICE	QUANTITY	LINE TOTAL
1	Romed 3-teilige Heridas Jeringuilla para Lavado Vesical Luer-Lock 200 ML, 1 Pieza	7.44 EUR	5 x	37.20 EUR
	Shipping costs			24.99 EUR
				Total (net): 51.39 EUR (21%) EUR
				plus 21% VAT: 10.79 EUR
				Total (gross): 62.19 EUR

Payment Method: Prepayment

This invoice has already been paid via the bank account/credit card deposited in your Amazon account.
Please do not make another bank transfer.

Thank you for shopping at www.medi-inn.de!

For further information or if you have any questions please do not hesitate to contact us.

Medi-Inn Online GmbH
Gschf.: Laurentius Kugel
Weilerweg 5
56729 Hirten
Germany

Fon: +49 (0) 2656 952264
Fax: +49 (0) 2656 952314
mail@medi-inn.de
www.medi-inn.de

USt.-ID-Nr.: N2765859J
Steuernummer: 29/652/16075

Commerzbank AG
Medi-Inn Online GmbH
IBAN: DE69 3804 0007 0325 5445 00
BIC: COBADEFFXXX

ZHOU SHI BAI JIA LE S.L

Factura

C/CAMINO DE RONDA 174 BAJO
18003 GRANADA
Tel. : 651757935
CIF: B18947317

Cliente ID: 6871
UNIVERSIDAD DE GRANADA
CIF: Q1818002F
AVDA. FUENTENUEVA S/N
18071 GRANADA GRANADA

Nº Factura: 2021018652 Fecha: 07-07-2021
Operador: CAJA Almacen: General

CODIGO	DESCRIPCION	IVA%	Unds.	Precio	D. %	SubTotal
6941057454269	PISCINA	21	1	11.50		11.50
8430373017213	PROTECTOR SUELO EVA	21	1	21.95		21.95

Zhou Shi Bai Jia Le, S. L.
C.I.F. B-18947317
Cmno. de Ronda, 174 - Planta
18003 - Granada
Tlf. 958 294 792

	Base Imponible	IVA%	Importe IVA	REQ%	Importe REQ	Subtotal
	27.64	21.00	5.81			33.45
Subtotal	27.64		5.81			

Total: 33.45 €

NO HACEMOS DEVOLUCION EN EFECTIVO! SE CAMBIA CON EL TICKET DE COMPRA EN 7 DIAS!ARTICULO

ZHOU SHI BAI JIA LE S.L

C/CAMINO DE RONDA 174 BAJO
18003 GRANADA
CIF:B18947317 TEL.651757935

CAN.	PRE.	DESCRIPCION	SUMA
1x	9,80	CAJA ORDENACION N.4	9,80
Imponible	IVA%	IVA	REQ Subtotal
8,10	21%	1,70	9,80

1 ARTIC. TOTAL: 9,80 Euro

Tarjeta: 9,80 Euro

No: 2112020183 02-12-2021 17:17:32
ATENDIDO POR: CAJA

IVA INCLUIDO
GRACIAS POR SU VISITA

NO HACEMOS DEVOLUCION EN EFECTIVO! SE
CAMBIA CON EL TICKET DE COMPRA EN 7
DIAS!ARTICULO DED FIESTA NO SE
CAMBIAN!IVA 21% INCLUIDO



Shipment Receipt

Shipper Address

UNIVERSIDAD DE GRANADA
ELIZABETH LEON PALMERO
INSTITUTO DEL AGUA
RAMON Y CAJAL, 4
Edificio Fray Luis de León
GRANADA
GRANADA
Spain
18003
Q1818002F

Billing Address

UNIVERSIDAD DE GRANADA
ELIZABETH LEON PALMERO
INSTITUTO DEL AGUA
RAMON Y CAJAL, 4
Edificio Fray Luis de León
GRANADA
GRANADA
Spain
18003

Receiver Address

University of Southern Denmark
Elizabeth Leon Palmero
Campusvej 55
Department of Biology
ODENSE M
Region Syddanmark
Denmark
5230

Invoice number / Reference number: 765526
Invoice date / Date of issue: 2022-01-17

Shipment Details

Shipment Date: 2022-01-13
Waybill Number: 1321606915
Service Type:
Packaging Type: PACKAGE
Number of Pieces: 1
Total Weight: 20,00kg
Dimensional Weight: 24,04kg
Chargeable Weight: 20,00kg
Insured Amount:

Booking Reference: PRG220113039783
Shipment Collection Date: 2022-01-13

Shipment Reference:
Description of Contents: Muestras de agua en botellas de vidrio para investigacion / Water samples in glass serum vials dedicated to research

International Information

Declared Value: 100,00 EUR
Duties and Taxes:
Dutiable status: Non-Dutiable

TOTAL PRICE PAID: 287,04 EUR

Charge Breakdown:

Description	Net Price	VAT Rate	VAT Amount	Total Price	Currency	Note
Transportation Charges	202,80	21,00	42,59	245,39	EUR	
Fuel Surcharge	30,42	21,00	6,39	36,81	EUR	
Emergency Situation	4,00	21,00	0,84	4,84	EUR	
Total	237,22		49,82	287,04	EUR	



Shipment Receipt
