



DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE ENRIQUECIMIENTO ISOTÓPICO DURANTE LA DESNITRIFICACIÓN POR ETANOL

DETERMINATION OF THE ISOTOPIC ENRICHMENT FACTOR DURING DENITRIFICATION BY ETHANOL

Ceballos, Elina¹; Margalef, Rosanna²; Carrey, Raul²; Ayora, Carlos³

¹CONICET-IHLLA, República de Italia 780, Azul, BA, C.C. 47 (B7300), Argentina, ²Grupo de Mineralogía Aplicada y Medio Ambiente, Dep. Mineralogía, Petrología y Geología Aplicada, Facultad de Ciencias de la Tierra, Universidad de Barcelona, España, ³Departamento de Geociencia, Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua, IDAEA-CSIC, C/Jordi Girona, 18, 08028 Barcelona, España.

eceballos@faa.unicen.edu.ar

Resumen

En este estudio se han realizado experimentos de tipo batch para calcular el fraccionamiento isotópico del NO_3^- durante la desnitrificación que tiene lugar en las aguas subterráneas con contenidos de nitratos superiores a los 240 mg/L en un sitio de la Cuenca del río Matanza-Riachuelo (CMR). En medio anóxico (caja de guantes con una atmósfera de argón), se utilizaron botellas de vidrio que se llenaron con 15 mg de sedimento, 75 mL de agua con un contenido de nitrato de 243 mg/L y se añadió 30 μL de etanol. Los valores isotópicos del NO_3^- durante el proceso desnitrificante variaron en un rango de +11.20 a +56.50 para $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ y entre +7.05‰ a +65.68‰ para $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$. Los valores del factor de enriquecimiento isotópico obtenidos fueron -27.5‰ para ϵN y de -33.7‰ para ϵO .

Palabras Claves: Desnitrificación heterótrofa, fraccionamiento isotópico, agua subterránea.

Introducción

En Argentina, la degradación de las aguas subterráneas por la presencia de nitrato (NO_3^-) es una de las problemáticas más comunes debido al uso de extensas áreas para actividades agrícola-ganaderas, como así también a causa de alta densidad poblacional sin un sistema de cloacas (Carbo et al., 2009; Aranibar et al., 2011; Martínez et al., 2014; Giuliano et al., 2015). En la cuenca del río Matanza-Riachuelo (CMR), la cuenca más poblada, industrializada y contaminada de Argentina, (Zabala et al., 2016), se han medido contenidos de NO_3^- de hasta 200 mg/L en las aguas subterráneas (Ceballos et al., 2016, 2018), superando el límite permitido para el consumo humano (45 mg/L) establecido por el Organismo Mundial de la Salud (OMS), lo que se convierte en un riesgo para la población, ya que en varias zonas de la cuenca el agua de consumo es de origen subterráneo.

La desnitrificación es el principal proceso natural para atenuar la contaminación por nitratos en las aguas subterráneas. El estudio de la composición isotópica de los compuestos de nitrógeno es útil para conocer la eficacia de la desnitrificación. Así, durante la desnitrificación, a medida que la concentración de nitrato disminuye, el N y O del nitrato residual se enriquecen en sus isótopos pesados $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{18}\text{O}$, provocando el fraccionamiento isotópico (Fukada et al., 2003; Kendall et al., 2007). Este fraccionamiento isotópico ha demostrado ser útil para distinguir entre la desnitrificación y otros procesos como la dilución, que también puede disminuir la concentración de NO_3^- pero sin cambiar el valor isotópico, en áreas donde se observa una disminución en la concentración de nitrato (Kendall et al., 2007; Amiri et al., 2015; Vitòria et al., 2008). El estudio de las composiciones de isótopos $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{18}\text{O}$ y las concentraciones de nitrato permiten determinar el factor de enriquecimiento isotópico correspondiente (ϵ), utilizado para caracterizar la extensión de los procesos de atenuación (Fukada et al., 2003). En este estudio, experimentos de tipo batch en laboratorio fueron realizados para obtener el factor de fraccionamiento isotópico (ϵ) para N y O del NO_3^- durante la reacción de desnitrificación con sedimentos y agua del acuífero contaminado de la CMR.



Materiales y métodos

Ensayos batch

Se utilizó un total de 12 botellas de vidrio de 0.125 L selladas. Los batch se montaron dentro de una caja de guantes con una atmósfera de argón para eliminar cualquier traza de O₂ disuelto existente. En cada botella se colocó sedimento del acuífero freático y agua extraída de una perforación de 20 m de profundidad ubicado en el barrio San Ignacio, localidad El Jagüel. Posteriormente se les añadió etanol, en una proporción C/N 3:1. Cada botella fue llenada con 15 g de sedimento, 75 mL de agua subterránea con un contenido de nitrato de 243 mg/L y 30 µL de etanol. Luego, se quitaron de la caja de guantes y se envolvieron con papel de aluminio para evitar procesos de fotodegradación y se colocaron a temperatura ambiente con agitación continua. Las botellas correspondientes a cada sistema fueron abiertas después de un tiempo estipulado e inmediatamente filtradas con filtro (nylon) de 0.22 µm y conservadas a 4 °C hasta su análisis.

Técnicas analíticas

El análisis químico de NO₃⁻ y NO₂⁻ se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El NH₄⁺ se determinó por colorimetría. Para el análisis del carbono orgánico disuelto (COD), las muestras filtradas con un filtro de 0.22 µm fueron sometidas a una combustión total de la materia orgánica y el CO₂ producido se cuantificó por absorción en el IR (TOC 500 SHIMADZU).

Los análisis isotópicos δ¹⁵N y δ¹⁸O de nitrato disuelto de las muestras de agua extraídas de los experimentos, se obtuvieron siguiendo el método desnitrificador de Sigman et al. (2001) y Casciotti et al. (2002). Los análisis isotópicos para el NO₃⁻ se prepararon en el laboratorio del grupo de investigación Mineralogía Aplicada y Medio Ambiente y se analizaron en los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona.

La composición isotópica se expresa en términos de la notación δ por mil (‰) con respecto a los estándares internacionales: V-SMOW (agua oceánica media estándar de Viena) para δ¹⁸O, AIR (N₂ atmosférica) para δ¹⁵N siguiendo la ecuación 1.

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{R_{\text{muestra}} - R_{\text{std}}}{R_{\text{std}}} \times 1000; \text{ donde } R = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \quad (1)$$

Las variaciones en las composiciones isotópicas de δ¹⁵N y δ¹⁸O durante la desnitrificación, se expresan según el modelo de Rayleigh (Ecuaciones 2 y 3), donde ε es el factor de enriquecimiento isotópico que depende de los materiales y las características del acuífero (Mariott et al., 1981).

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{residual}} = \delta^{15}\text{N}_{\text{inicial}} + \epsilon \text{N} \ln([\text{NO}_3]_{\text{residual}}/[\text{NO}_3]_{\text{inicial}}) \quad (2)$$

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{residual}} = \delta^{18}\text{O}_{\text{inicial}} + \epsilon \text{O} \ln([\text{NO}_3]_{\text{residual}}/[\text{NO}_3]_{\text{inicial}}) \quad (3)$$

Resultados

La atenuación del NO₃⁻ con el tiempo se muestra en la Figura 1A. La concentración inicial de nitrato (4.1 mM) disminuye hasta 3.3 mM en las primeras 18 h y se elimina completamente a las 31 h. La disminución de la concentración de NO₃⁻ coincide con el incremento de la de NO₂⁻ desde 0.22 mM hasta 1.7 mM a las 28 h y después disminuye hasta 0.003 mM a las 39 h. Por otro lado, el contenido de COD varió de 11.84 mM a 3.3 mM durante el proceso de desnitrificación. Por lo tanto, el C orgánico oxidado para eliminar el N del sistema fue de 4.45 mM.

Los valores isotópicos del NO₃⁻ durante el proceso desnitrificante variaron en un rango de +11.20 a +56.50 para δ¹⁵N-NO₃⁻ y entre +7.05‰ a +65.68‰ para δ¹⁸O-NO₃⁻. La gráfica de δ¹⁵N vs. δ¹⁸O de la Figura 1B muestra un R² de 0.968 y una pendiente de 1.192. Estos valores confirman que la atenuación del NO₃⁻ durante el experimento fue causada por desnitrificación. El valor de ε es calculado por la pendiente de la regresión lineal entre ln [NO₃] y δ¹⁵N y δ¹⁸O. Si se produce la desnitrificación, se observa una correlación lineal y la pendiente se corresponde

con la ϵ (Kendall et al., 2007). Las muestras estudiadas mostraron una buena correlación entre estos parámetros. Las gráficas de la Figura 1C y D muestran que los valores del factor de enriquecimiento isotópico obtenidos fueron -27.5‰ para ϵ_N y de -33.7‰ para ϵ_O , respectivamente. La relación ϵ_N/ϵ_O para los materiales del acuífero fue de 0.816, cayendo dentro de las relaciones obtenidas en experimentos de laboratorio utilizando materiales de acuíferos con altos contenidos de C orgánico (Carrey et al., 2013, 2014).

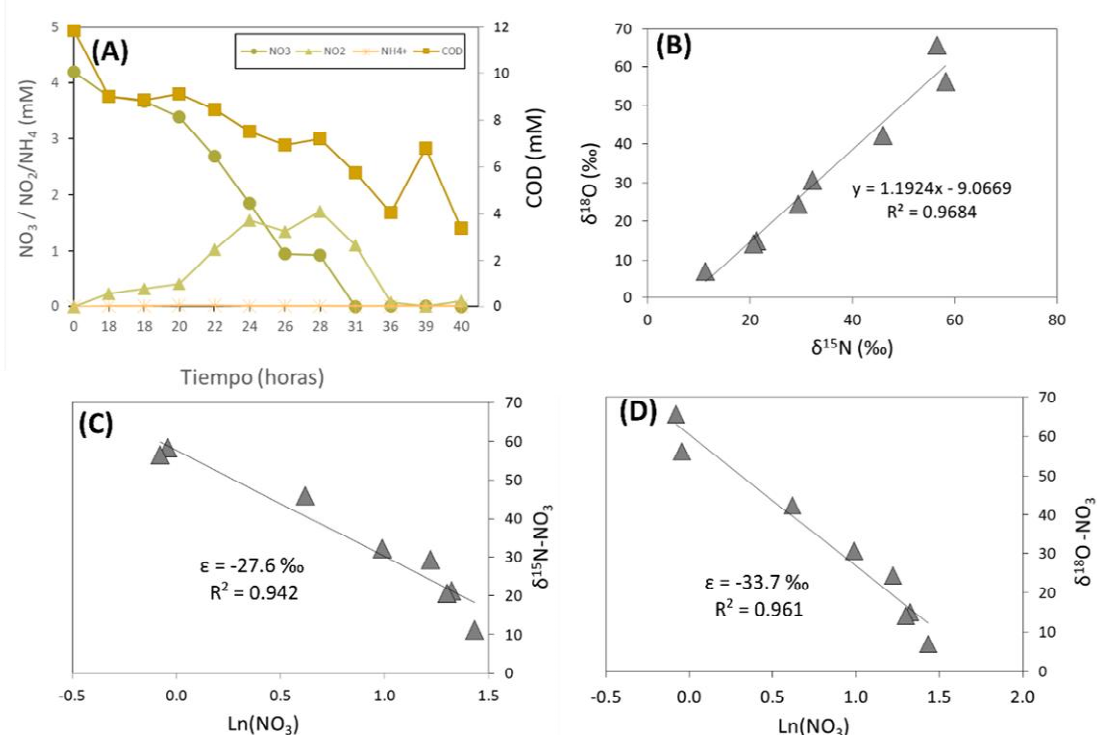


Figura 1. A) Desnitrificación utilizando etanol como donador de electrones; B) $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ vs. $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ de las muestras extraídas de los experimentos: la pendiente es típica de procesos desnitrificantes; C) Gráfica de $\delta^{15}\text{N}$ vs $\text{Ln}(\text{NO}_3)$: la pendiente corresponde al factor de enriquecimiento isotópico de ^{15}N y D) Gráfica de $\delta^{18}\text{O}$ vs $\text{Ln}(\text{NO}_3)$: la pendiente corresponde al factor de enriquecimiento isotópico de ^{18}O .

Conclusiones

Se realizaron experimentos batch para cuantificar el factor de fraccionamiento del NO_3^- durante la desnitrificación utilizando sedimentos y agua del acuífero de un sector de la Cuenca del río Matanza-Riachuelo. Se observó que la atenuación del NO_3^- produjo un aumento del fraccionamiento isotópico del N y O del NO_3^- residual. Los valores del factor de enriquecimiento isotópico obtenidos para el NO_3^- fueron -27.5‰ para ϵ_N y de -33.7‰ para ϵ_O , valores mucho mayores que los calculados en experimentos utilizando materiales de acuíferos con alto contenido de C orgánico. Esto indicaría que las variaciones en el fraccionamiento isotópico durante la desnitrificación, además de explicarse por las variaciones en la velocidad de reacción, podrían verse influenciada por la comunidad bacteriana presente en el acuífero.

Bibliografía

- Amiri, H., Zare, M. y Widory, D. 2015. Assessing sources of nitrate contamination in the Shiraz urban aquifer (Iran) using the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ dual-isotope approach. *Isot. Environ. Health Stud.* <http://dx.doi.org/10.1080/10256016.2015.1032960>.
- Aranibar, J. N., P.E. Villagra y M.L. Gomez, E. Jobbágy, M. Quiroga, R.G. Wuilloud, R.P. Monasterio, and A. Guevara., 2011. Nitrate dynamics in the soil and unconfined aquifer in arid groundwater coupled ecosystems of the Monte desert, Argentina, *J. Geophys. Res.*, 116, G04015.
- Casciotti, K.L., Sigman, D.M., Hastings, M.G., Böhlke, J.K. y Hilkert, A., 2002. Measurement of the oxygen isotopic composition of nitrate in seawater and freshwater using the denitrifier method. *Anal. Chem.* 74 (19), 4905–4912.



- Carbo, L.I., M.C. Flores y Herrero M.A.** 2009. Well site conditions associated with nitrate contamination in a multilayer semiconfined aquifer of Buenos Aires, Argentina. *Environ Geol.* 57:1489–1500.
- Carrey, R., Otero, N., Soler, A., Gómez-Alday y J.J., Ayora, C.** 2013. The role of lower Cretaceous sediments in groundwater nitrate attenuation in central Spain: column experiments. *Appl. Geochem.* 32, 142–152.
- Carrey, R., Otero, N., Vidal-Gavilan, G., Ayora, C., Soler, A., Gomez-Alday, J.J.,** 2014a. Induced nitrate attenuation by glucose in groundwater: flow-through experiment. *Chem. Geol.* 370 (0), 19-28.
- Ceballos E., Bea S., García Einschalg F., Sancí R.** 2016. Especiación y movilidad del cromo en aguas subterráneas contaminadas de un sector de la cuenca del Río Matanza-Riachuelo, Buenos Aires, Argentina. IX Congreso Argentino de Hidrogeología y VII Seminario Hispano Latinoamericano. Catamarca, Argentina Editorial Científica Universitaria UNCA. ISBN 978-987-661-222-7
- Ceballos, E., Bea, S. A., Sancí, R.** 2018 Applying reactive transport modeling in a chromium contaminated site in the Matanza-Riachuelo Basin, Buenos Aires, Argentina. *International Journal of Environment and Health.* Vol. 9, No. 1.
- Fukada, T., Hiscock, K., Dennis, P.F., Grischek, T.** 2003. A dual isotope approach to identify denitrification in groundwater at a river-bank infiltration site. *Water Res.* 37, 3070–3078.
- Giuliano, M.J., Blarasin, M.T., Panarello, H.,** 2015. Evaluación de la geoquímica e isótopos del nitrato en el acuífero libre de una llanura con actividad agropecuaria, Córdoba, Argentina. *Revista Académica de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán,* Vol. 19, No.1, ISSN 1665-529-X.
- Kendall, C., Elliott, E.M., Wankel, S.D.** 2007. Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems. (Chapter 12). In: Michener, R.H., Lajtha, K. (Eds.), *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, second ed. Blackwell Publishing, pp. 375–449.
- Martínez, D., E., Moschione, E., Bocanegra, M., Glok Galli, R., Aravena.** 2014. Distribution and origin of nitrate in groundwater in an urban and suburban aquifer in Mar del Plata, Argentina. *Environ Earth Sci.*72:1877–1886.
- Sigman, D.M., Casciotti, K.L., Andreani, M., Barford, C., Galanter, M., Böhlke, J.K.** 2001. A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Anal. Chem.* 73, 4145–4153.
- Vitoria, L., Soler, A., Canals, A., Otero, N.** 2008. Environmental isotopes (N, S, C, O, D) to determine natural attenuation processes in nitrate contaminated waters: example of Osona (NE Spain). *Appl. Geochem.* 23, 3597–3611.
- Zabala, M.E., M., Manzano, L., Vives.** 2016. Groundwater chemical baseline values to assess the recovery plan in the Matanza-Riachuelo River basin Argentina. *Science of the Total Environment,* Vol. 541, pp.1516–1530.