

## USO DOS ISÓTOPOS $^{15}\text{N}$ E $^{18}\text{O}$ EM NITRATO E A SUA IMPORTÂNCIA EM ESTUDOS DE CONTAMINAÇÃO DE AQUÍFEROS URBANOS NA AMÉRICA LATINA

Claudia VARNIER

Alexandra Vieira SUHOGUSOFF

Ricardo HIRATA

Ramón ARAVENA

### RESUMO

Este trabalho analisa o estado atual do conhecimento sobre o uso de isótopos estáveis ( $^{15}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}$ ) na identificação de fontes de nitrato e os processos que controlam o transporte e transformação das espécies nitrogenadas em aquíferos situados em áreas urbanas e periurbanas na América Latina. Ao longo desse artigo, apresentam-se: (i) as principais reações e processos que controlam o nitrogênio dentro do ciclo; (ii) as fontes de contaminação de nitrato nas águas subterrâneas; (iii) as composições isotópicas de  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  de acordo com as fontes e fatores que levam a seu fracionamento; (iv) o uso combinado de outros traçadores (Cl,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ ) com os isótopos  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  em estudos de contaminação; e (v) estudos de caso na América Latina que empregam isótopos ambientais em aquíferos urbanos. Embora existam muitos dados acerca da composição isotópica de nitrato em águas subterrâneas, estes restringem-se a regiões situadas na Europa, América do Norte, Ásia e Oceania, constatando-se uma latente lacuna de dados no cenário latino-americano. Dessa forma, mais estudos são necessários concentrando-se no uso de modelos estáveis de mistura de isótopos e na melhoria da compreensão sobre o fracionamento isotópico mediante realização de experimentos laboratoriais e de campo em áreas urbanas na América Latina.

*Palavras-chave:* Isótopos estáveis; Nitrogênio; Áreas urbanas; Água subterrânea.

### ABSTRACT

THE USE OF  $^{15}\text{N}$  AND  $^{18}\text{O}$  ISOTOPES IN NITRATE AND THEIR IMPORTANCE IN URBAN AQUIFER CONTAMINATION STUDIES IN LATIN AMERICA. This paper analyzes the current state of knowledge on the use of stable isotopes ( $^{15}\text{N}$  and  $^{18}\text{O}$ ) in the identification of nitrate sources and the processes that control the transport and transformation of nitrogen species in aquifers located in urban and peri-urban areas in Latin America. Throughout this paper, the following are presented: (i) the main reactions and processes involved within the nitrogen cycle; (ii) the sources of nitrate contamination in groundwater; (iii) the isotopic compositions of  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  and  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  according to the sources and factors leading to their fractionation; (iv) the combined use of other tracers (Cl,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ ) with  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  and  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  isotopes in contamination studies; and (v) case studies in Latin America that employ environmental isotopes in urban aquifers. Although there are many data on the isotopic composition of nitrate in groundwater, these are restricted to regions located in Europe, North America, Asia, and Oceania, and there is a latent data gap in the Latin American scenario. Thus, more studies are needed to fully explore the potential of the isotope approach for evaluating sources of nitrate and processes that affect nitrate in groundwater in urban areas in Latin America.

*Keywords:* Stable isotopes; Nitrogen; Urban areas; Groundwater.

## 1 INTRODUÇÃO

O nitrato é o contaminante inorgânico de maior ocorrência em aquíferos no mundo devido à sua alta mobilidade e persistência. Sua presença frequente nas águas subterrâneas tem preocupado gestores dos recursos hídricos, dado o crescente número de casos reportados nas áreas urbanas de diversos países da África (CRONIN *et al.* 2007, DIÉDHIYOU *et al.* 2012, OUEDRAOGO *et al.* 2016, ELISANTE & MUZUKA 2017, LAPWORTH *et al.* 2017), Ásia (UMEZAWA *et al.* 2008, GU *et al.* 2013, ZHANG *et al.* 2015, ASADI *et al.* 2017), América do Norte (DRAKE & BALDER 2005, PENNINO *et al.* 2017, VILLAREAL *et al.* 2019), Europa (FUKADA *et al.* 2004, WAKIDA & LERNER 2005, CORNIELLO *et al.* 2007, NAVARRO & CARBONELL 2007, VYSTAVNA *et al.* 2017, DUCCI *et al.* 2019), América Latina (BOCANEGRA *et al.* 2001, REYNOLD-VARGAS *et al.* 2006, MARTÍNEZ *et al.* 2014), inclusive no Brasil (ANA 2007, 2010; BARBOSA 2005; LIMA 2008; VARNIER *et al.* 2010, 2019; SUHOGUSOFF *et al.* 2013; HIRATA *et al.* 2015; MONTANHEIRO & CHANG 2016; FREDDO FILHO 2018; STRADIOTO *et al.* 2019; HIRATA *et al.* 2020; PEIXOTO 2020).

A Portaria GM/MS nº 888/2021 (BRASIL 2021) estabelece o limite de potabilidade de nitrato para consumo humano em 10 mg/L na forma de nitrogênio (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ou 45 mg/L, como nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Este valor está de acordo com os aplicados pela Organização Mundial da Saúde (WHO 2011) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA 1995). Além do valor estabelecido pelo Ministério da Saúde, no estado de São Paulo a CETESB adota o Valor de Prevenção de 5 mg/L N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, que corresponde ao limite a partir do qual recomenda-se a tomada de ações de prevenção e controle, por suspeita de influência antrópica sobre a qualidade das águas subterrâneas (CETESB 2004).

A ingestão de água com concentrações de nitrato superiores ao padrão de potabilidade pode causar doenças como a metemoglobinemia (ou síndrome do bebê azul), alguns tipos de câncer (p. ex. linfático, gástrico) ou mesmo problemas no sistema reprodutivo, em seres humanos e animais (USEPA 1995, MANASSARAM *et al.* 2006, WHO 2011).

Dentre as principais fontes antrópicas desse contaminante em áreas urbanas, listam-se a disposição de resíduos sólidos (lixões e aterros sanitários, em locais impróprios) e, principalmente, os sistemas de saneamento, como fossas sépticas e negras e re-

des coletoras de esgoto, que podem vir a constituir fontes de poluição difusa ou multipontual.

Os lixões e aterros sanitários mal construídos, normalmente situados nos grandes centros urbanos e periurbanos, contribuem com quantidades significativas de nitrogênio e seus impactos na qualidade dos aquíferos foram amplamente reportados nas últimas décadas (MACFARLANE *et al.* 1983, FATTA *et al.* 1999, BOCANEGRA *et al.* 2001, WAKIDA & LERNER 2005, COSSU 2013, ABIRIGA *et al.* 2020). Segundo VRBA (2008), inúmeras áreas de disposição de resíduos sólidos no planeta encontram-se em locais impróprios (p. ex. sobre sedimentos muito permeáveis sobrejacentes a aquíferos livres e rasos), não possuem rede de monitoramento das águas subterrâneas ou mesmo são instaladas de forma inadequada, sem atender às normas técnicas vigentes, possibilitando fugas e percolação do chorume.

A precariedade ou mesmo a ausência de sistemas de esgotamento sanitário é uma das principais causas de contaminação de aquíferos em áreas urbanas, principalmente se forem considerados os países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Dados levantados pelo Programa Mundial de Desenvolvimento de Água da UNESCO (UNESCO 2009) mostram que mais de 80% de todo o esgoto gerado em países em desenvolvimento é despejado no solo e em cursos d'água, sem tratamento, poluindo rios, lagos, mares e aquíferos.

Em território brasileiro, a publicação “Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas” (ANA 2017) aponta que 9,1 mil toneladas de esgoto são geradas por dia, sendo que 2,4 mil toneladas são lançadas a céu aberto. Do total de esgoto gerado, apenas 44% são coletados e tratados e 17%, embora coletados, são despejados posteriormente em corpos hídricos superficiais (HIRATA *et al.* 2019). O volume anual relativo à parcela não coletada representa aproximadamente 3.785 Mm<sup>3</sup>, dos quais 99% infiltram-se nos solos anualmente, ou seja, 3.747 Mm<sup>3</sup>/ano (HIRATA *et al.* 2019).

Segundo VARNIER *et al.* (2019), os vazamentos de esgoto provenientes das redes coletoras, ocorrências comuns nos grandes centros urbanos, são decorrentes de vários fatores, que compreendem: i) instalação inadequada das redes coletoras; ii) falta de manutenção das redes e sua consequente deterioração com o passar do tempo; iii) problemas geotécnicos (p. ex. recalques diferenciais; colapsividade); e iv) eventos naturais (p. ex. movimentação gravitacional de camadas do subsolo).

A investigação sobre a origem e os mecanismos que controlam a ocorrência de nitrato nas águas subterrâneas é de suma importância para a compreensão do ciclo de nitrogênio em aquíferos, possibilitando aos administradores de recursos hídricos das cidades formular estratégias de ações de curto, médio e longo prazo para entender e controlar a problemática da contaminação, além de propor os procedimentos e diretrizes que visem à preservação da qualidade das águas subterrâneas captadas para o abastecimento humano. Dada a ampla variedade de fontes potenciais de contaminação de nitrato e o comportamento não conservativo das espécies nitrogenadas (N) nos aquíferos, muitas vezes torna-se difícil identificá-las usando as técnicas convencionais de monitoramento da qualidade da água, das quais destaca-se a análise de concentrações de íons em fase dissolvida.

Para auxiliar no entendimento da geoquímica do nitrogênio em água, bem como na identificação de suas fontes, o uso de isótopos ambientais, em especial o de nitrogênio ( $^{15}\text{N}$ ), desde a década de 70 vem sendo aplicado em diversos estudos hidrogeológicos envolvendo contaminação de águas subterrâneas (KOHL *et al.* 1971, KREITLER 1974). A partir do início dos anos 90, quando medições do isótopo de oxigênio ( $^{18}\text{O}$ ) em nitrato passaram a ser rotineiras, a técnica combinada de  $^{15}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}$  em nitrato, aliada às análises de parâmetros físico-químicos e químicos (p. ex. série nitrogenada) em amostras de água, e uma boa compreensão do modelo tridimensional de circulação das águas subterrâneas, permitiram identificar a origem do nitrato e de eventuais misturas de fontes, definir o seu transporte ao longo da zona saturada, bem como indicar a ocorrência de processos de nitrificação e desnitrificação, conforme apontado em trabalhos conduzidos em áreas urbanas (ARAVENA & ROBERTSON 1998, FUKADA *et al.* 2004, DRAKE & BAUDER 2005, WAKIDA & LERNER 2005, UMEZAWA *et al.* 2008, HOSONO *et al.* 2011, MARTÍNEZ *et al.* 2014, YAN *et al.* 2016, GRIMMEISEN *et al.* 2017, VARNIER *et al.* 2017, VYSTAVNA *et al.* 2017, ZENDEHBAD *et al.* 2019, BLARASIN *et al.* 2020, HIRATA *et al.* 2020).

Apesar de ser uma ferramenta amplamente utilizada em estudos hidrogeológicos desenvolvidos na

América do Norte, Europa, Ásia, a maior parte deles em áreas rurais, na América Latina, a publicação de artigos na comunidade científica acerca do uso de isótopos de  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , em aquíferos urbanos contaminados por nitrato é ainda incipiente (MELO *et al.* 1998, ARAVENA *et al.* 1999, IRIARTE *et al.* 2006, VIVIANI-LIMA 2007, MARTÍNEZ *et al.* 2014, VARNIER *et al.* 2017, LEITE 2019, SUHOGUSOFF *et al.* 2019, BLARASIN *et al.* 2020, HIRATA *et al.* 2020).

Observa-se, também, a falta de uma revisão mais abrangente sobre o uso de isótopos estáveis em estudos que envolvem o comportamento das espécies de N, transporte e suas transformações em aquíferos urbanos, bem como uma discussão dos fatores que determinam a composição isotópica de  $\text{NO}_3^-$ , amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) em subsuperfície.

Diante desse cenário, este artigo de revisão fornece uma visão abrangente do atual estado da arte sobre o uso dos isótopos  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  como ferramenta auxiliar na identificação de fontes de contaminação e avaliação dos processos físicos e biogeoquímicos que controlam o transporte e comportamento das espécies de N em aquíferos urbanos, com enfoque em estudos de caso no Brasil e em alguns países da América Latina, nas últimas décadas. Ele é composto por quatro partes a saber: i) processos que controlam as transformações das espécies de nitrogênio; ii) informações básicas sobre os isótopos  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e as assinaturas isotópicas para as diferentes fontes de nitrato; iii) processos que afetam os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  nas águas subterrâneas.

## 2 AS ESPÉCIES DE NITROGÊNIO E OS SEUS PAPÉIS NO CICLO

O nitrogênio é considerado o principal constituinte da atmosfera, com aproximadamente 78% em volume, e o quarto elemento mais importante aos seres vivos, fazendo parte de moléculas orgânicas tais quais aminoácidos, proteínas, DNA, RNA, clorofila e hormônios. Na natureza, esse elemento ocorre em muitos estados de oxidação, variando desde -3 ( $\text{NH}_3$ ), em sua forma mais reduzida, até +5 ( $\text{NO}_3^-$ ), na condição mais oxidada (Figura 1).

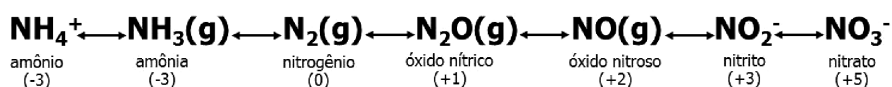


FIGURA 1 – Relação entre as espécies de nitrogênio e os seus respectivos estados de oxidação.

Os solos, oceanos, lagos, atmosfera e atividade biológica constituem as principais fontes naturais de nitrogênio no planeta. A transferência deste elemento entre os diferentes subsistemas terrestres é contínua. Os principais agentes de transporte do nitrogênio são o vento, a água e a atividade biológica, estando o elemento em contínuo estado de fluxo ou ciclagem.

Nas águas subterrâneas, as concentrações das diferentes espécies nitrogenadas são reguladas fundamentalmente pela heterogeneidade de fontes de N nos corpos d'água e mudanças na dinâmica de transporte e transformação deste elemento em sub-superfície (NIKOLENKO *et al.* 2018).

O ciclo do nitrogênio envolve uma série de reações e processos químicos e bioquímicos complexos mediados pela ação de microrganismos, sob condições aeróbias ou anaeróbias, tais como fixação, mineralização, adsorção, nitrificação, desnitrificação, assimilação, ionização e volatilização e oxidação anaeróbia do amônio (*anammox*), capazes de alterar as concentrações iniciais de nitrogênio e produzir novas espécies (JURADO *et al.* 2017, NIKOLENKO *et al.* 2018).

As reações de transformação das espécies nitrogenadas são fortemente controladas pelo ambiente redox, com o nitrato estável em condições aeróbias e o amônio, em anaeróbias (Tabela 1). Dentre as espécies, o gás nitrogênio (N<sub>2</sub>), amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) são as mais comumente encontradas nas águas subterrâneas (CLARK 2015).

O gás nitrogênio ou dinitrogênio (N<sub>2</sub>) é pouco reativo, composto por uma forte ligação tripla covalente, que carece de grande energia para ser quebrada. A entrada de N<sub>2</sub> nos diferentes compartimentos terrestres ocorre a partir do processo de fixação, que pode ser natural, industrial ou biológica (Tabela 1), onde esse gás é convertido em outras espécies.

A fixação biológica constitui a principal forma de incorporação de N<sub>2</sub> da atmosfera ao ciclo, cuja reação é mediada pela ação de microrganismos diazotróficos (cianobactérias, presente nas raízes de leguminosas, algas azuis e alguns fungos), que possuem uma enzima denominada *nitrogenase*, capaz de converter o N<sub>2</sub> a nitrogênio orgânico (N<sub>org</sub>), NH<sub>3</sub> e H<sup>+</sup> que são então sintetizados em proteínas como o R-NH<sub>2</sub>, e depois, no íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Figura 2) (ZEHR *et al.* 2003, DIALLO *et al.* 2004).

O nitrogênio orgânico (N<sub>org</sub>) é um componente de todas as proteínas e biomassa vegetal e pode ser incorporado aos animais a partir de seus

processos nutricionais. A decomposição e degradação biológica da matéria orgânica, que ocorrem sob condições aeróbia e anaeróbia, são responsáveis pela conversão do N<sub>org</sub> em nitrogênio amoniacal (NH<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), no processo denominado mineralização ou amonificação (Figura 2, Tabela 1). No solo, a amônia reage rapidamente com a água para formar íons amônio. Sob condições de pH elevado (pH>9) a amônia predomina, culminando com o limite do campo de estabilidade para o íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e pode ser lançada para a atmosfera, a partir do processo de volatilização (VIEIRA 2017).

A volatilização está intimamente relacionada ao pH, temperatura e concentração de íons NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Figura 2, Tabela 1, VLEK & STUMPE 1978). A taxa de perda de NH<sub>3</sub> da solução é uma função da diferença de pressão parcial entre NH<sub>3</sub> (aq) e NH<sub>3</sub> na atmosfera (pNH<sub>3</sub>), de acordo com a constante da Lei de Henry (Kh).

A constante da Lei de Henry relativamente alta para amônia permite uma concentração aquosa de 246 mg/L a 25 °C para uma pressão parcial de NH<sub>3</sub> de 1 atm. Como a pressão parcial de NH<sub>3</sub> no ar é desprezível, há perda desse gás por difusão em pilhas de estrume ou pela aplicação de fertilizantes. A volatilização de NH<sub>3</sub> nas águas subterrâneas é minimizada pela lenta taxa de difusão aquosa (CLARK 2015).

O nitrogênio amoniacal pode ainda seguir destinos diferentes no solo, incluindo a geração de formas mais oxidadas (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), transferência para outros compartimentos terrestres ou até mesmo a adsorção de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em argilominerais e matéria orgânica a partir de mecanismos de troca catiônica (Figura 2), cujo coeficiente de seletividade é próximo ao de K<sup>+</sup> (NOMMIK & VAHTRAS 1982, CLARK 2015).

Segundo BUSS *et al.* (2004), embora existam diversas reações microbiológicas responsáveis pela atenuação de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, a adsorção é considerada como o processo-chave que controla o transporte dessa espécie nitrogenada em subsuperfície (Tabela 1).

O NH<sub>4</sub><sup>+</sup> gerado pela fixação biológica ou mesmo o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, produto da oxidação desse cátion, podem ainda tornar-se objetos de intensa competição entre plantas e microrganismos, sendo que as plantas desenvolveram mecanismos para capturar rapidamente esses íons do solo a partir do processo denominado assimilação (Tabela 1). Esse processo abrange reações opostas às da mineralização, convertendo o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em espécies orgânicas e biomassa durante a biossíntese (XU *et al.* 2016).

TABELA 1 – Principais reações/processos do ciclo do nitrogênio (Fonte: ARAVENA & MAYER 2010, GIBLIN *et al.* 2013, CLARK 2015).

Processo		Descrição	Reação
Fixação	Natural	Incorporação do gás nitrogênio (N <sub>2</sub> ) presente na atmosfera pela ação de processos naturais (p. ex. relâmpagos, reações fotoquímicas), sob alta energia. É responsável por 8% do N fixado no solo.	Raios solares + N <sub>2</sub> + O <sub>2</sub> ⇌ 2NO 2NO + O <sub>2</sub> ⇌ 2NO <sub>2</sub> 2NO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O ⇌ HNO <sub>2</sub> + HNO <sub>3</sub> 4NO <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub> ⇌ 4HNO <sub>3</sub> 2HNO <sub>3</sub> + CaCO <sub>3</sub> ⇌ Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O HNO <sub>3</sub> + NH <sub>3</sub> ⇌ NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> HNO <sub>2</sub> + NH <sub>3</sub> ⇌ NH <sub>4</sub> NO <sub>2</sub>
	Industrial (Haber-Bosch)	Conversão do N <sub>2</sub> a amônia (NH <sub>3</sub> ) mediante temperaturas em torno de 400-600°C e pressões de 100-200 atm. É responsável por ~15% do N incorporado ao solo.	N <sub>2</sub> (g) + 3H <sub>2</sub> ⇌ 2NH <sub>3</sub> (síntese da amônia)
	Biológica	Incorporação do N <sub>2</sub> por bactérias fixadoras presentes nas raízes de leguminosas, algas azuis e alguns fungos, que possuem uma enzima denominada <i>nitrogenase</i> . Representa a principal forma de fixação do N <sub>2</sub> (~80%) que é convertido a NH <sub>3</sub> e depois, a amônio (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ).	N <sub>2</sub> + 16ATP + 8e <sup>-</sup> + 8H <sup>+</sup> ⇌ 2NH <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> + 16ADP + 16Pi (e = elétrons; Pi = fosfato inorgânico) NH <sub>3</sub> (aq) + H <sub>2</sub> O ⇌ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + OH <sup>-</sup>
Mineralização		Conversão do nitrogênio orgânico (N <sub>org</sub> ) em NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> pela ação microbiológica (fungos e bactérias).	Nitrogênio orgânico + microorganismos ⇌ NH <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (proteínas, aminoácidos, ureia etc.) NHH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> O ⇌ (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (urease) NH <sub>3</sub> (aq) + H <sub>2</sub> O ⇌ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + OH <sup>-</sup> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O ⇌ 2NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + OH <sup>-</sup> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Adsorção		Fixação do NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> pelos argilominerais presentes no solo, a partir dos processos de troca iônica.	RK <sup>+</sup> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ⇌ RNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + K <sup>+</sup> (R = argilominerais, zeólitas)
Nitrificação		Processo que ocorre em meio aeróbio onde, por ação de bactérias, o NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> é convertido a nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) e depois, a nitrato (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ).	<u>Estágio 1:</u> formação de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( <i>nitrossomas</i> ) a) 2NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 2O <sub>2</sub> (g) ⇌ N <sub>2</sub> O + 2H <sup>+</sup> + 3H <sub>2</sub> O b) N <sub>2</sub> O + 0,5H <sup>+</sup> ⇌ 2NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> <u>Estágio 2:</u> Oxidação do NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> a NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ( <i>nitrobacter</i> ) NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 0,5 O <sub>2</sub> (g) ⇌ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Desnitrificação		Processo inverso que ocorre em meio anaeróbio, mediado por bactérias, onde o NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> é convertido a N <sub>2</sub> O, NO, NO <sub>2</sub> (produtos intermediários) e N <sub>2</sub> (produto final).	5CH <sub>2</sub> O + 4NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 4H <sup>+</sup> ⇌ 5CO <sub>2</sub> + 2N <sub>2</sub> + 7H <sub>2</sub> O (Doador de elétrons: carbono) 2Fe <sup>2+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 12H <sub>2</sub> O ⇌ 5Fe(OH) <sub>3</sub> + 0,5N <sub>2</sub> + 9H <sup>+</sup> (Doador de elétrons: ferro) 5FeS <sub>2</sub> + 14NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 4H <sup>+</sup> ⇌ 7N <sub>2</sub> + 10SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + 5Fe <sup>2+</sup> + 2H <sub>2</sub> O (Doador de elétrons: enxofre)
Assimilação		Mecanismo bioquímico, oposto ao da mineralização, que converte o NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ou NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em espécies orgânicas e biomassa.	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> O (nitrito redutase) NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 8H <sup>+</sup> + 6e <sup>-</sup> ⇌ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 2H <sub>2</sub> O (nitrito redutase) Glutamato + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + ATP → Glutamina + ADP + Pi (assimilação do amônio) Glutamina + 2-oxoglutarato ⇌ 2-glutamato
Ionização e Volatilização		Passagem de NH <sub>3</sub> presente no solo, para atmosfera. A ionização de NH <sub>3</sub> em NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> altamente solúvel ocorre em pH neutro. As duas espécies apresentam mesmas concentrações em pH igual a 9,23.	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ⇌ NH <sub>3</sub> (aq) + H <sup>+</sup> K <sub>1</sub> =10 <sup>-9,23</sup> NH <sub>3</sub> (aq) ⇌ Kh pNH <sub>3</sub> (g) NH <sub>3</sub> (aq) ⇌ NH <sub>3</sub> (g) K <sub>1</sub> =10 <sup>-1,76</sup>
Anammox		Reações mediada por alguns gêneros de bactérias capazes de oxidar NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> em N <sub>2</sub> e água ao utilizarem NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ou NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> como aceptores de elétrons.	3NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 2NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ⇌ 3NO <sub>2</sub> + N <sub>2</sub> + 3H <sub>2</sub> O + 2H <sup>+</sup> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ⇌ N <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> O ΔG° = -362,8 kJ/mol
Redução Dissimilatória de Nitrato a Amônio (DNRA)		Processo anaeróbio responsável pela redução de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> em NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , a partir de bactérias anaeróbias fermentativas autotróficas ou heterotróficas.	CH <sub>2</sub> O + 0,5 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 0,5 H <sub>2</sub> O ⇌ 0,5NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (Doador de elétrons: carbono) HS <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + H <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O ⇌ SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (Doador de elétrons: nitrato)

A nitrificação compreende a etapa do ciclo do nitrogênio na qual o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> que não é adsorvido nos materiais geológicos, é oxidado a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, com a possibilidade de geração das espécies intermediárias, N<sub>2</sub>O e o NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Figura 2, Tabela 1). Esse processo é controlado pelo pH, temperatura, Eh e os conteúdos de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>.

As reações de nitrificação podem ser autotróficas ou heterotróficas. A nitrificação autotrófica é mediada por dois grupos de bactérias assim denominadas: *nitrossomas*, responsáveis pela oxidação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e *nitrobacter*, pela conversão do NO<sub>2</sub><sup>-</sup> em NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Tabela 1). Já a nitrificação heterotrófica ocorre pela ação de



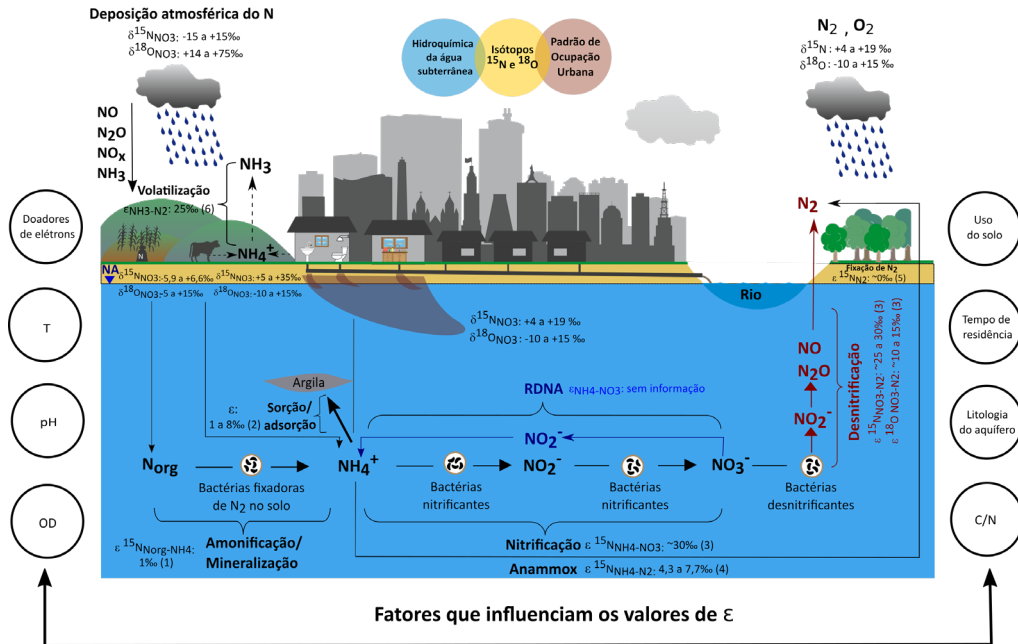


FIGURA 2 – Fontes de nitrogênio, assinaturas isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , fatores de enriquecimento ( $\epsilon$ ) de  $^{15}\text{N}$  e os processos que controlam as espécies nitrogenadas em áreas urbanas e periurbanas (Fontes dos fatores de enriquecimento: 1 - SHARP 2007; 2 - HÜBNER 1986; 3 - KENDALL & ARAVENA 2000; 4 - ROBERTSON *et al.* 2012; 5 - BRANDES & DEVOL 2002; 6 - BEDARD-HAUGHN *et al.* 2003).

algumas bactérias (p. ex. *Paracoccus denitrificans*, *Thiosphaera pantotropha*, *Pseudomonas putida* e *Alcaligenes faecalis*) ou fungos (DE BOER & KOWALCHUK 2001).

Por sua vez, a desnitrificação abrange reações em que o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a  $\text{NO}_2^-$  e, posteriormente, a  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$ , mediante condições anóxicas (Figura 2). Sabe-se que a desnitrificação heterotrófica, em sua forma mais comum, requer quantidades apreciáveis de carbono orgânico como doador de elétrons e  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NO}_2^-$ , como aceptores. Embora o  $\text{N}_2$  seja o produto final da desnitrificação, o processo pode ser interrompido em algum dos estágios intermediários, podendo ser gerados, embora em pequena parcela,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}$  e  $\text{NO}_2$ , emitidos para a atmosfera através da decomposição do nitrito (Tabela 1). Inúmeros são os fatores que propiciam esse fenômeno dos quais destacam-se: concentrações intermediárias ou variáveis de oxigênio, altas concentrações de nitrato ou mesmo baixos valores de pH (BRADY & WEIL 2002).

Ambientes fortemente ácidos ( $\text{pH} < 5$ ) impedem a rápida desnitrificação, com a formação de nitrito ou  $\text{N}_2\text{O}$ . A desnitrificação autotrófica pode também ser processada a partir de outros compostos que atuam como doadores de elétrons como

ferro e enxofre (KOLLE *et al.* 1985, PEDERSEN *et al.* 1991).

Os reflexos da desnitrificação podem ser constatados através da perda dos compostos nitrogenados por processos de volatilização de  $\text{NH}_3$ . Este processo está intimamente relacionado ao pH, temperatura e concentração de íons  $\text{NH}_4^+$  (REDDY *et al.* 1981).

Existem estudos que relatam a ocorrência simultânea de nitrificação e desnitrificação (*coupled nitrification-denitrification*) dentro de um mesmo ambiente, que requer, geralmente, aporte de  $\text{NH}_4^+$ , carbono orgânico, condições aeróbias e anaeróbias e espécies distintas de microrganismos, heterotróficos e autotróficos (STEVENS *et al.* 1997, VARNIER *et al.* 2017, CASCHETTO *et al.* 2018). Como resultado, o controle do processo é mais complexo e as proporções relativas de  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ , e  $\text{N}_2$ , como produtos finais, variam amplamente com as condições ambientais.

Vários fatores podem promover uma redução incompleta de  $\text{NO}_3^-$  em  $\text{N}_2$  no processo de desnitrificação, resultando em reservatórios (*pools*) de  $\text{NO}$  e  $\text{N}_2\text{O}$ . Os reservatórios podem se originar por um excesso de  $\text{NO}_3^-$  em relação ao carbono orgânico, ou mesmo por um desequilíbrio na cinética da reação.

Essas condições favorecem a formação do gás  $N_2O$ , que pode ser produzido simultaneamente pelas reações de nitrificação e desnitrificação (FIRESTONE & DAVIDSON 1989, STEVENS *et al.* 1997).

Semelhante à desnitrificação, a redução dissimilatória de nitrato a amônio (RDNA) também é um processo anaeróbio responsável pela redução de  $NO_3^-$  em  $NH_4^+$ , a partir de bactérias fermentativas (Figura 2, Tabela 1) (KOROM 1992, USSIRI & LAL 2013). Nesse processo, o nitrato é utilizado pelos microrganismos como receptor de elétrons quando a disponibilidade de  $O_2$  é baixa e fontes de C são utilizadas como doadoras de elétrons. Na primeira etapa da RDNA, o nitrato é reduzido a nitrito e, em sequência, para  $NH_4^+$  (VIEIRA 2017). A RDNA é conduzida tanto por bactérias heterotróficas fermentativas, que utilizam o C como doador de elétrons, como as quimiolitotróficas, que usam o  $NO_3^-$  para oxidação de sulfeto ( $S^-$ ) ou outros constituintes inorgânicos (GIBLIN *et al.* 2013).

Existem relatos de que a RDNA produz  $N_2O$ , como subproduto, com o aumento do pH, possivelmente como um mecanismo para reduzir o  $NO_2^-$ , que é prejudicial a muitos microrganismos e que tende a acumular em condições mais básicas (RÜTTING *et al.* 2011).

De acordo com ARAVENA & MAYER (2010), não há muitas evidências que comprovem a ocorrência desse processo nas águas subterrâneas. Uma diferença importante entre RDNA e a desnitrificação é que as bactérias fermentativas, responsáveis pelo primeiro processo, são obrigatoriamente anaeróbias (HILL 1996). Portanto, esses microrganismos têm menos chance de ocorrer do que as bactérias desnitrificantes, anaeróbias facultativas heterotróficas, particularmente no solo e na zona não-saturada. Entretanto, as condições que favorecem um ou outro processo ainda precisam ser melhor determinadas (KRAFT *et al.* 2014).

A partir dos anos 90, alguns estudos relataram a ocorrência de um novo processo que mudou a visão global do ciclo de nitrogênio (MULDER *et al.* 1995, CLARK *et al.* 2008, KUENEN 2008). Este processo, denominado *anammox* (oxidação anaeróbia de amônio), é mediado por alguns gêneros de bactérias (*Brocadia*, *Kuenenia*, *Jettenia*, *Anammoxoglobus* e *Scalindua*) capazes de oxidar  $NH_4^+$  em  $N_2$  ao utilizarem  $NO_2^-$  ou  $NO_3^-$  como aceptores de elétrons (Tabela 1).

LUVIZOTTO (2013) aponta que a desnitrificação e o *anammox* são processos que fecham o ciclo do nitrogênio reciclando  $NO_3^-$  e  $NH_4^+$  a  $N_2$ , enquanto a redução dissimilatória de nitrato a amônio

encerra esse mesmo ciclo efetuando a reciclagem de  $NO_3^-$  em  $NH_4^+$ . Ademais, ao contrário dos dois primeiros processos, a RDNA não remove o nitrogênio do *habitat*, conservando-o no ecossistema como  $NH_4^+$ , uma forma de nitrogênio biologicamente reativa e que pode ser absorvida pelas plantas ou bactérias, ou mesmo oxidada a  $NO_3^-$  (GIBLIN *et al.* 2013).

### 3 APLICAÇÃO DOS ISÓTOPOS $^{15}N_{NO_3}$ E $^{18}O_{NO_3}$ EM ESTUDOS DE AQUÍFEROS URBANOS CONTAMINADOS POR NITRATO

O isótopo de  $^{15}N_{NO_3}$  tem sido utilizado em estudos hidrogeológicos não apenas para distinguir as fontes de contaminação de nitrato, como também para identificar os processos do ciclo do N responsáveis por sua ocorrência nas águas subterrâneas.

O primeiro trabalho sobre a aplicação dessa ferramenta foi publicado por KOHL *et al.* (1971), voltado para águas superficiais. Na ocasião, os autores estimaram a origem do nitrato nas águas do rio Sangamon (EUA) com base nos valores de  $\delta^{15}N_{NO_3}$ . Os resultados indicaram que metade desse contaminante era proveniente do solo, enquanto a outra se originou do  $NO_3^-$  não fracionado, detectado em fertilizantes. Posteriormente, esse estudo foi questionado, uma vez que haviam sido descartados os efeitos potenciais do fracionamento isotópico nos resultados obtidos, bem como as variações naturais nas assinaturas desse isótopo no solo (HAUCK *et al.* 1972).

Quatro anos depois foi a vez de KREITLER (1974) abordar esse tema em um estudo de contaminação das águas subterrâneas por nitrato conduzido em áreas de diversos condados situados em território norte-americano. Esse autor identificou não apenas a origem desse contaminante nos aquíferos, como também testou uma técnica analítica para o cálculo de  $\delta^{15}N_{NO_3}$ , estabelecendo por fim as assinaturas isotópicas de cada fonte.

Segundo ROBINSON (2001), as abundâncias naturais de  $^{15}N$  em aquíferos é função das interações entre as fontes potenciais de nitrato e do fracionamento isotópico que ocorre durante os processos responsáveis pela geração dessa espécie dentro do ciclo do N e de seu transporte ao longo desse reservatório.

Embora o uso do isótopo  $^{15}N_{NO_3}$  permita identificar a origem do nitrato atribuída a inúmeras fontes (p. ex. fertilizantes orgânicos e inorgânicos, solo rico em matéria orgânica, nitrato de origem at-

mosférica), algumas não podem ser diferenciadas, como, por exemplo, o nitrato proveniente de dejetos humanos (esgoto) e animais (esterco), que apresenta uma sobreposição nos valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para essas duas fontes, tornando-se problemático o uso exclusivo desse isótopo (KENDALL 1998, XUE *et al.* 2009, FENECH *et al.* 2012).

Nas últimas décadas, diversos trabalhos optaram pela abordagem isotópica dupla (*dual isotope approach*), neste caso a determinação das composições de  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e do oxigênio em nitrato ( $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ), tanto na identificação das fontes potenciais de nitrato, como também de processos como nitrificação e desnitrificação (WAHLEN & YOSHINARI 1985, ARAVENA *et al.* 1993, WASSENAAR 1995, ARAVENA & ROBERTSON 1998, KENDALL 1998, FUKADA *et al.* 2004, WIDORY *et al.* 2004, JIN *et al.* 2015).

A abordagem isotópica dupla baseia-se na premissa de que o nitrato proveniente de diversas fontes apresentará composições isotópicas distintas, assim como os processos que controlam a sua ocorrência nas águas subterrâneas. Segundo KENDALL *et al.* (2007), o uso combinado desses dois isótopos apresenta três benefícios principais: a) a amplitude nos valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  para algumas fontes é maior que a de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ , permitindo definir com maior precisão a fonte de contaminação, uma vez que são utilizados dois traçadores isotópicos; b) algumas fontes de nitrato, cuja identificação é prejudicada apenas com os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (p. ex. fertilizante vs. solo orgânico ou nitrato atmosférico vs. solo orgânico), podem ser determinadas apenas com a análise de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ; c) os valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  variam sistematicamente durante a desnitrificação.

Conforme DURKA *et al.* (1994),  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  mostrou-se mais útil do que  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para distinguir o nitrato atmosférico daquele produzido por ação microbiológica, já que as composições isotópi-

cas de ambas as fontes diferem significativamente. WASSENAAR (1995) também sugeriu que o  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  pode ser um bom traçador sobre a origem do nitrato, pois as assinaturas isotópicas permitem diferenciar, por exemplo, se esse contaminante provém de fertilizantes sintéticos ou de outra fonte.

Estudos experimentais demonstraram que no nitrato formado a partir de processos biológicos somente um átomo de oxigênio é proveniente do  $\text{O}_2$  atmosférico, enquanto os outros dois provêm da água (HOLLOCHER 1984, WASSENAAR 1995, BÖHLKE *et al.* 1997, KENDALL 1998).

Embora a identificação da origem das espécies de N em aquíferos, na maioria dos casos, seja uma tarefa relativamente simples, distinguir de forma precisa os processos que ocorrem em subsuperfície e responsáveis pelo fracionamento isotópico pode se tornar um grande desafio. Os tópicos a seguir abrangem temas como aspectos gerais sobre  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , fracionamento isotópico e assinaturas isotópicas, levando em consideração a diversidade de fontes de nitrato e os processos do ciclo do nitrogênio responsáveis pela variação na composição desses dois isótopos nas águas subterrâneas. Especial atenção também é dada ao uso de outros indicadores (químicos ou isotópicos), bem como às limitações impostas pela aplicação de  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ .

### 3.1 Aspectos gerais sobre $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ e $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$

O nitrogênio apresenta oito isótopos que variam de  $^{12}\text{N}$  até  $^{19}\text{N}$ , dos quais o  $^{14}\text{N}$  e o  $^{15}\text{N}$  são as formas mais estáveis (Figura 3). O  $^{14}\text{N}$  representa 99,63% do nitrogênio disponível na atmosfera, ao passo que o  $^{15}\text{N}$ , apenas 0,37% (JUNK & SVEC 1958, CLARK & FRITZ 1997).

Por sua vez, o oxigênio possui nove isótopos,  $^{12}\text{O}$  a  $^{20}\text{O}$ , dos quais três são estáveis:  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$  e  $^{18}\text{O}$  (Figura 3). As abundâncias naturais de  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$  e

N →	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8	$^{12}\text{O}$ 26,9s	$^{13}\text{O}$ 26,9s	$^{14}\text{O}$ 70,6s	$^{15}\text{O}$ 122s	$^{16}\text{O}$ 99,76%	$^{17}\text{O}$ 0,04%	$^{18}\text{O}$ 0,20%	$^{19}\text{O}$ 26,9s	$^{20}\text{O}$ 13,5s
↑ Z	7	$^{12}\text{N}$ 11ms	$^{13}\text{N}$ 9,97min	$^{14}\text{N}$ 99,63%	$^{15}\text{N}$ 0,37%	$^{16}\text{N}$ 7,13s	$^{17}\text{N}$ 4,17s	$^{18}\text{N}$ 0,62s	$^{19}\text{N}$ 0,30s

FIGURA 3 – Isótopos estáveis de N e O (em rosa) com seus respectivos percentuais de abundância natural relativa e os radioisótopos desses elementos (em azul) com suas respectivas meias-vidas, expressas em: ms - milissegundos, min - minutos. N: número de nêutrons, Z: número atômico.



$^{18}\text{O}$  são, respectivamente, 99,76%, 0,04% e 0,20% (COOK & LAUER 1968, CLARK & FRITZ 1997, ARAVENA & MAYER 2010).

Os isótopos estáveis de nitrogênio e de oxigênio são, naturalmente, incorporados às espécies nitrogenadas ao longo do ciclo desse elemento entre os diferentes reservatórios terrestres, inclusive nos aquíferos (p. ex.  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{N}_2$ ).

Como a diferença de massa entre os isótopos de cada elemento é muito pequena, muitas vezes na 4ª ou 5ª casa decimal, a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) estabelece o cálculo da razão isotópica aparente para medi-los. As razões isotópicas de nitrogênio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) e oxigênio ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) são reportadas a partir da notação  $\delta$  (delta) e os resultados, expressos em permil (‰), conforme expresso na equação 1:

$$\delta(\text{‰}) = \left[ \frac{R(\text{amostra}) - R(\text{padrão})}{R(\text{padrão})} - 1 \right] \times 1000 \quad (\text{Eq. 1})$$

onde R corresponde à razão entre o isótopo menos abundante (mais pesado) e o mais abundante (mais leve), em particular  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  e  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ , da amostra e do padrão. Os padrões internacionais de referência para esses dois isótopos são, respectivamente, o  $\text{N}_2$  atmosférico (AIR) e o *Vienna Standard Mean Ocean Water* (VSMOW). Valores de  $\delta$  positivos indicam um enriquecimento em isótopos pesados ( $^{15}\text{N}$  ou  $^{18}\text{O}$ ) no substrato, enquanto os valores negativos representam um empobrecimento dos isótopos pesados em detrimento aos mais leves ( $^{14}\text{N}$ ,  $^{16}\text{O}$ ).

As concentrações isotópicas são controladas pela termodinâmica com a mudança na razão isotópica durante as reações geoquímicas (KENDALL & ARAVENA 2000), devido a diferenças nas taxas de reação para as diferentes espécies moleculares. O nitrogênio e oxigênio são submetidos ao fracionamento cinético de seus isótopos durante algumas reações do ciclo do N, mediadas por bactérias que preferem “consumir” os isótopos leves, ao invés dos pesados. Como efeito do fracionamento, o isótopo mais leve é mais rapidamente consumido em uma reação do que o mais pesado, gerando uma concentração desproporcional de um isótopo em relação ao outro entre os produtos e reagentes (CLARK & FRITZ 1997). O substrato (reagente) ou a fase residual torna-se gradualmente mais enriquecida em isótopos pesados ( $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ), enquanto o produto das reações vai se tornando enriquecido em isótopos mais leves ( $^{14}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{16}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ).

O fator de fracionamento isotópico cinético ( $\alpha$ ) associado a uma reação de não-equilíbrio entre o substrato e o produto é definido pela equação 2:

$$\alpha = \frac{R_{\text{reagente}}}{R_{\text{produto}}} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde, R =  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ou  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  e  $\alpha$  é o fator de fracionamento do reagente em relação ao substrato.

Para expressar o fator  $\alpha$  em termos de ‰, o fator de enriquecimento ( $\epsilon$ ) é expresso pela equação 3:

$$\epsilon(\text{‰}) = 1000 \times (\alpha - 1) \quad (\text{Eq. 3})$$

Em um sistema fechado, o enriquecimento isotópico pode ser expresso pela equação de Rayleigh, cujo fenômeno descreve a evolução da composição isotópica do reagente residual, onde os isótopos mais pesados tendem a ficar mais enriquecidos nas fases mais condensadas (p. ex. líquida sobre gasosa; sólida sobre líquida), enquanto os reservatórios são consumidos (Equação 4):

$$\delta_{\text{S}(t)} = \delta_0 + \epsilon \times \ln \quad (\text{Eq. 4})$$

onde  $\delta_{\text{S}(t)}$  e  $\delta_0$  representam a composição isotópica do substrato para tempo igual 0 e t, respectivamente,  $\epsilon$  é o fator de enriquecimento isotópico,  $S_0$  e  $S_t$  correspondem às concentrações do substrato em  $t = 0$  e  $t = t$ .

### 3.2 Valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ e as fontes de nitrato

O ingresso de nitrato nas águas subterrâneas, em áreas rurais e urbanas, pode ser atribuído a diferentes origens, tais como fertilizantes nitrogenados, solo rico em matéria orgânica, dejetos animais, efluentes domésticos e industriais, entre outros. Todas essas fontes tendem a apresentar valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  característicos, e que se encontram compilados em diversas publicações internacionais (KENDALL 1998, KENDALL *et al.* 2007, XUE *et al.* 2009, XU *et al.* 2016, NIKOLENKO *et al.* 2018). A tabela 2 apresenta uma síntese das assinaturas isotópicas para as diferentes fontes de nitrato, incluindo aquelas que são muito comuns em áreas urbanas, tais como os sistemas de saneamento (fugas das redes de esgoto e fossas) e, em menor proporção, os resíduos sólidos (aterros sanitários e lixões) e efluentes industriais.

O nitrato atmosférico é transferido para a superfície terrestre em meio aquoso através da precipitação (chuva, neve, nevoeiro), gases e material particulado. Os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  variam entre  $-15$  a  $+15$ ‰ (KENDALL *et al.* 2007) e são controlados por uma complexa série de reações que ocorrem na atmosfera e a diversas fontes antrópicas, tais como os combustíveis fósseis.

TABELA 2 – Valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  reportados em literatura para as diferentes fontes de nitrato (Fonte: adaptado de XUE *et al.* 2009 e XU *et al.* 2016).

<i>Fontes de nitrato</i>	$\delta^{15}\text{N}$ (‰) <i>espécie</i>	<i>Referência</i>	$\delta^{18}\text{O}$ (‰) <i>espécie</i>	<i>Referência</i>
N <sub>2</sub> e O <sub>2</sub> atmosférico	0 N <sub>2</sub>	JUNK & SVEC (1958)	+23,5 O <sub>2</sub>	KROOPNICK & CRAIG (1972)
Deposição atmosférica (nitrato, amônio, outros)	-15 a +15 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	KENDALL (1998) ELLIOTT <i>et al.</i> (2007) KENDALL <i>et al.</i> (2007)	+14 a +75 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	KENDALL (1998) KENDALL <i>et al.</i> (2007)
Fertilizante amoniacal	-5,9 a +6,6 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	BATEMAN & KELLY (2007) CHOI <i>et al.</i> (2007) KENDALL (2007) LI <i>et al.</i> (2007)	-5 a +15 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	AMBERGER & SCHMIDT (1987) KENDALL <i>et al.</i> (2007)
Fertilizante nítrico	-4 a +5 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	KENDALL <i>et al.</i> (2007) HEATON <i>et al.</i> (2012)	+17 a +25 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	AMBERGER & SCHMIDT (1987) KENDALL <i>et al.</i> (2007)
Ureia	-3,5 a +0,7 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	KREITLER (1974) WASSENAAR (1995) DEUTSCH <i>et al.</i> (2006) CHOI <i>et al.</i> (2007)	---	---
Solo orgânico	0 a +8 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HEATON (1986) ARAVENA <i>et al.</i> (1993) KENDALL (1998) KENDALL <i>et al.</i> (2007)	-10 a +15 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	WASSENAAR (1995) MAYER <i>et al.</i> (2001) KENDALL <i>et al.</i> (2007) UMEZAWA <i>et al.</i> (2008)
Dejetos animais (esterco)	+5 a +35 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HEATON (1986) ARAVENA <i>et al.</i> (1993) WASSENAAR (1995) BATEMAN <i>et al.</i> (2005) WIDORY <i>et al.</i> (2005) KENDALL <i>et al.</i> (2007) XUE <i>et al.</i> (2009)	-10 a +15 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	WASSENAAR (1995) WIDORY <i>et al.</i> (2005) KENDALL <i>et al.</i> (2007) UMEZAWA <i>et al.</i> (2008)
Esgoto	+4 a +19 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	KENDALL (1998) WIDORY <i>et al.</i> (2005) LI <i>et al.</i> (2007) XUE <i>et al.</i> (2009)	-10 a +15 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	KENDALL <i>et al.</i> (2007) UMEZAWA <i>et al.</i> (2008)
Efluente industrial	<10 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	WANG <i>et al.</i> (2013) MA <i>et al.</i> (2015)	---	---
Aterro sanitário (doméstico e industrial)	-3 a +8 (até 22,31) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NORTH <i>et al.</i> (2004) URRUTIA BUSTOS & ARAVENA (2011)	---	---
	-4,54 a +13,5 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NORTH <i>et al.</i> (2004) MOHAMMADZADEH <i>et al.</i> (2006) COSSU <i>et al.</i> (2018)	2,1 O <sub>NO<sub>3</sub></sub>	MOHAMMADZADEH <i>et al.</i> (2006)

--- Sem informação.

Os fertilizantes utilizados na agricultura e em áreas verdes constituem-se também em importantes fontes de nitrato nos aquíferos. A diferença na composição, se orgânica ou inorgânica, reflete em variações de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ , cujas assinaturas são menos enriquecidas para os fertilizantes inorgânicos (-5,9 a + 6,6‰, Tabela 2) do que para os de origem orgânica (+5 a +30‰, KENDALL *et al.* 2007), em vista do baixo fracionamento isotópico decorrente dos processos de fixação do N<sub>2</sub> atmosférico (FLIPSE & BONNER 1985). Por sua vez, nos fertilizantes orgânicos, o relativo enriquecimento

é atribuído aos processos que ocorrem nos dejetos animais (esterco), como a volatilização da NH<sub>3</sub> e a nitrificação, que tornam a fase residual NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mais enriquecida em <sup>15</sup>N (SHARP 2007). Os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  encontram-se entre 0 a +8‰ para solos ricos em matéria orgânica (Tabela 2), embora mais comumente variem entre +2 a +5‰ (KENDALL 1998)

As assinaturas isotópicas para dejetos animais (esterco) e esgoto correspondem aos intervalos de +5 a +35‰ e de +4 a +19‰, respectivamente (Tabela 2), valores muito mais enriquecidos do

que aqueles apresentados pelos fertilizantes e solos orgânicos. Durante o armazenamento e aplicação de esterco na agricultura ou mesmo o tratamento do esgoto, a volatilização de  $\text{NH}_3$  resulta em grande enriquecimento de  $^{15}\text{N}$  no  $\text{NH}_4^+$  residual que, por sua vez, será convertido em nitrato enriquecido em  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (KENDALL 1998, KENDALL *et al.* 2007, XU *et al.* 2016).

Para outra fonte potencial de nitrato nas águas subterrâneas, os aterros sanitários, existem estudos na literatura que utilizaram  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  para avaliar a extensão da contaminação. Os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  variam entre -3 a +8‰ (Tabela 2) (NORTH *et al.* 2004, URRUTIA BUSTOS & ARAVENA 2011) e os de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$ , desde -4,5 a +13,5‰ (Tabela 2) (NORTH *et al.* 2004, MOHAMMADZADEH *et al.* 2006, COSSU *et al.* 2018).

As águas residuais de origem industrial possuem  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  inferiores a 10‰ (Tabela 2), conforme reportado em alguns trabalhos mais recentes (WANG *et al.* 2013, MA *et al.* 2015).

Os dados de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  do nitrato proveniente da precipitação atmosférica, gases e material particulado variam entre +14 a +75‰ (KENDALL 1998), muito maior em relação ao valor de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  (+23,5‰). Esse amplo intervalo é atribuído a uma complexa série de reações que ocorrem na atmosfera (Tabela 2).

AMBERGER & SCHMIDT (1987) e KENDALL *et al.* (2007) relataram que os dados de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  provenientes de fertilizantes à base de amônio encontram-se na faixa de -5 a +15‰, enquanto os fertilizantes nítricos, de +17 a +25‰ (Tabela 2). Os fertilizantes nítricos, provenientes do  $\text{N}_2$  atmosférico, possuem dados de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  próximos aos de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  (+23,5‰) (MOORE *et al.* 2006).

A composição isotópica de  $^{18}\text{ONO}_3$  é muito semelhante para o solo rico em matéria orgânica, esterco e efluente, entre -10 a +15‰, por se tratar dos mesmos processos biológicos responsáveis pela conversão das espécies nitrogenadas em nitrato.

### 3.3 Processos que controlam a composição isotópica das fontes de nitrato

Os principais processos biológicos que afetam a composição isotópica do  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  nas águas subterrâneas incluem: nitrificação, desnitrificação, *anammox*, sem contar os efeitos de mistura com águas subterrâneas de outras origens (Figura 2) (KENDALL & ARAVENA 2000).

#### 3.3.1 Nitrificação

A conversão de  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$  é responsável por grande fracionamento isotópico. Como resultado da nitrificação, o  $\text{NH}_4^+$  residual torna-se enriquecido em  $^{15}\text{N}$  (as bactérias preferem consumir o isótopo mais leve  $^{14}\text{N}$ ). Segundo ARAVENA & MAYER (2010), caso uma massa significativa de  $\text{NH}_4^+$  esteja presente na zona não-saturada e o amônio for parcialmente convertido a nitrato, a primeira fração de nitrato produzida será consideravelmente mais empobrecida em  $^{15}\text{N}$  do que a fonte de amônio. O valor  $\delta^{15}\text{N}$  do nitrato inicialmente produzido é empobrecido em aproximadamente 30‰ em relação a  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  (CLARK 2015). Contudo, tanto  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  como  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  aumentam à medida que o  $\text{NH}_4^+$  é convertido a  $\text{NO}_3^-$ , e o  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  evoluindo em direção à assinatura inicial de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  (WASSENAAR 1995).

Considerando que a nitrificação envolve várias etapas ( $\text{N}_{\text{org}} \rightarrow \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ), cada uma delas apresenta potencial para fracionamento, sendo o grau de enriquecimento e/ou empobrecimento em  $^{15}\text{N}$  altamente determinado pelo número de etapas intermediárias, dimensões do reservatório (*pool*) dos vários compostos envolvidos nas reações (p. ex.  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$ ), pH do solo, taxa de volatilização, atividade microbiológica entre outros (KENDALL & ARAVENA 2000).

O maior fracionamento de nitrogênio ocorre durante a primeira etapa do processo de nitrificação, ou seja, durante a transformação de  $\text{NH}_4^+$  em  $\text{NO}_2^-$  (KENDALL *et al.* 2007, XU *et al.* 2016). Os valores de  $\alpha_{\text{NH}_4\text{-NO}_3}$  variam entre -35 e -5‰ (DELWICHE & STEYN 1970, FREYER & ALY 1975, MARIOTTI *et al.* 1981). O fator de enriquecimento  $\epsilon^{15}\text{N}_{\text{NH}_4\text{-NO}_3}$ , conforme apontado por KENDALL & ARAVENA (2000), é de aproximadamente 30‰ (Figura 2).

A nitrificação do amônio pode ser rastreada a partir dos valores de  $\delta^{18}\text{O}$ , uma vez que diferencia o  $\text{NO}_3^-$  resultante de fertilizante sintético. Nesse processo, geralmente um átomo de oxigênio é proveniente do ar ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2} = +23\text{‰}$ ) e os outros dois, da água do solo (Equação 5) (HOLLOCHER 1984):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3} = \delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}} + \delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2} \quad (\text{Eq. 5})$$

Assim, o  $\text{NO}_3^-$  apresentará uma assinatura isotópica equivalente a  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$ , caso não ocorra nenhum fracionamento cinético.

O oxigênio atmosférico possui valor de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  igual +23,5‰ (KROOPNICK & CRAIG 1972). Para valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  em torno de -10‰,

$\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  produzido a partir da nitrificação será cerca de -1‰ (ARAVENA & MAYER 2010). Conforme WASSENAAR (1995), assinaturas ligeiramente mais enriquecidas de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  em comparação a esses dados teóricos foram observadas em campo e atribuídas aos enriquecimentos de: i)  $^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  ocasionado pelo processo de evaporação, ii)  $^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  devido à respiração, ou iii) efeitos isotópicos desconhecidos que ocorrem durante a nitrificação.

Estudos mais recentes têm demonstrado que os valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  associados à nitrificação variam entre -2‰ a +6‰ (LIU *et al.* 2006, NIKOLENKO *et al.* 2018) ou aproximadamente 0‰ (BÖHLKE *et al.* 2006).

Porém, deve-se enfatizar que a composição isotópica de  $\text{NO}_3^-$  produzido pela nitrificação depende de uma série de fatores, conforme descrito por NIKOLENKO *et al.* (2018), tais como: i) água mais enriquecida em  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  em função da evaporação; ii) valores mais enriquecidos de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  no solo gerados pela respiração das plantas quando comparados ao  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  atmosférico; iii) a proporção de incorporação de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  não é exatamente 2:1; iv) processos microbiológicos desencadeados pelos ambientes redutores (baixo pH e Eh) que consomem o  $\text{O}_2$  atmosférico de forma mais intensiva do que a nitrificação e; v) troca entre os isótopos das espécies intermediárias de nitrogênio (especialmente  $\text{NO}_2^-$ ) com a água.

### 3.3.2 Desnitrificação

Embora a mineralização (ou amonificação) seguida da nitrificação sejam processos que ocasionam o enriquecimento isotópico do nitrogênio no solo e águas subterrâneas, outros processos podem produzir aumento nos valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  como a desnitrificação.

De acordo com ARAVENA & MAYER (2010), nesse processo, que é dividido em várias etapas intermediárias, o  $^{14}\text{N}_{\text{NO}_3}$  é consumido mais rapidamente do que o  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e, portanto, o  $\text{NO}_3^-$  residual apresenta valores mais enriquecidos de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (MARIOTTI 1986, ARAVENA & ROBERTSON 1998).

Assim como acontece com o  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ , a desnitrificação é responsável pelo aumento nos valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  do nitrato residual. Este forte enriquecimento é característico desta reação, sendo utilizado para distinguir a desnitrificação de outros processos como a diluição ou dispersão em aquíferos, nos quais não haverá fracionamento (CLARK 2015).

É possível, também, diferenciar a desnitrificação de mistura de fontes de nitrato distintas mediante a análise da relação entre os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  ou  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e as concentrações de  $\text{NO}_3^-$  (KENDALL *et al.* 2007, CLARK 2015). De acordo com a equação de Rayleigh (Equação 4), a ocorrência da desnitrificação leva ao comportamento exponencial entre as assinaturas desses isótopos e as concentrações de nitrato. Por sua vez, o comportamento linear entre os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\text{NO}_3^-$  indica a ocorrência de mistura de água de distintas fontes. Se as concentrações desse contaminante, proveniente de duas fontes, são idênticas, a linha de mistura é uma reta, caso contrário, a linha de mistura será uma hipérbole (XU *et al.* 2016).

Portanto, caso haja mistura de duas fontes distintas de nitrato, os dados de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (ou  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ) e o logaritmo das concentrações de nitrato apresentarão correlação linear positiva (WONG *et al.* 2015, XU *et al.* 2016). Em contraste, se a desnitrificação ocorre, as assinaturas desses dois isótopos possuirão correlação linear negativa ao logaritmo da concentração de nitrato.

Diversos estudos sobre desnitrificação em aquíferos indicam que existe uma relação linear entre  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  (BÖTTCHER *et al.* 1990, ARAVENA & ROBERTSON 1998, MENGIS *et al.* 1999, FUKADA *et al.* 2004). BÖTTCHER *et al.* (1990) estudaram o fracionamento dos isótopos de  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  durante a desnitrificação em aquífero arenoso em Fuhrberg Feld (Alemanha) e concluíram, a partir da análise por regressão, que o valor da inclinação da reta foi de 0,48. Valor similar foi determinado por ARAVENA & ROBERTSON (1998), que utilizaram múltiplos isótopos estáveis para avaliar a ocorrência de desnitrificação em uma pluma de contaminação de um aquífero arenoso, situado na costa norte do Lago Erie (Ontário, Canadá), cuja fonte atribuiu-se a um tanque séptico. MENGIS *et al.* (1999) reportaram uma significativa correlação linear entre  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  obtendo um valor de razão de fracionamento equivalente a 0,67. Essa linearidade, na maioria dos casos, reflete que os isótopos de nitrogênio e oxigênio fracionam a uma razão constante durante a desnitrificação.

KENDALL & ARAVENA (2000) relatam que os fatores de enriquecimento  $\epsilon^{15}\text{N}_{\text{NO}_3-\text{N}_2}$  variam entre ~25 a 30‰ e  $\epsilon^{18}\text{O}_{\text{NO}_3-\text{N}_2}$ , ~10 a 15‰ (Figura 2). Os fatores mais importantes que influenciam a magnitude do fracionamento durante a desnitrificação e que, por conseguinte, contro-



lam as taxas de desnitrificação, incluem a temperatura e os conteúdos de O<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e carbono orgânico. A complexa interação entre esses fatores explicaria o amplo intervalo de enriquecimento para <sup>15</sup>N<sub>NO3</sub>, conforme apontado por esses autores.

### 3.3.3 Anammox

Poucos estudos têm reportado o fracionamento dos isótopos de <sup>15</sup>N durante o processo de *anammox* (ROBERTSON *et al.* 2012, CLARK 2015). Assim como na nitrificação e desnitrificação, durante o processo supracitado, o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> residuais presentes nas águas subterrâneas apresentarão valores δ<sup>15</sup>N mais positivos. ROBERTSON *et al.* (2012) observaram um fator de enriquecimento isotópico de 4,3 a 7,7 ‰ (Figura 2) em um estudo de contaminação de aquíferos por nitrato proveniente de uma fossa séptica. O baixo fracionamento constatado nos trabalhos publicados na literatura internacional está provavelmente relacionado aos reservatórios (*pools*) de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no aquífero, que detêm os valores δ<sup>15</sup>N<sub>NH4</sub> mais enriquecidos.

## 4 OUTROS TRAÇADORES COMBINADOS

A definição de fontes de nitrato em águas subterrâneas assim como o entendimento das transformações das espécies nitrogenadas no ciclo, sobretudo as reações de nitrificação e desnitrificação, podem não ser plenamente atendidos apenas com o uso dos isótopos δ<sup>15</sup>N<sub>NO3</sub> e δ<sup>18</sup>O<sub>NO3</sub>. Um dos problemas comuns em trabalhos dessa natureza, por exemplo, é conseguir separar excretas de animais (esterco) de efluente doméstico, ainda mais quando há a sobreposição do processo de desnitrificação (WIDORY *et al.* 2004, FENECH *et al.* 2012, NIKOLENKO *et al.* 2018).

A análise conjunta do comportamento de parâmetros físico-químicos, químicos e isotópicos afetados ou não pelas reações redox mediadas por microrganismos ajuda a traçar de forma mais robusta um modelo conceitual da hidroquímica do nitrogênio que se processa no interior de aquíferos. Além do estudo da variação dos tradicionais parâmetros físico-químicos, como Eh, pH, sólidos totais dissolvidos (STD), condutividade elétrica (CE) e alcalinidade, e das concentrações de íons maiores e de espécies de N e seus isótopos dissolvidos em água, há alguns traçadores ou indicadores que podem ser empregados complementarmente para identificar fontes e processos envolvidos na dinâmica do nitrogênio, inclusive em correlações com δ<sup>15</sup>N<sub>NO3</sub> e δ<sup>18</sup>O<sub>NO3</sub>, dentre os quais citam-se concen-

trações dissolvidas de Cl<sup>-</sup>, a razão NO<sub>3</sub>/Cl, os isótopos δ<sup>11</sup>B, δ<sup>34</sup>S<sub>SO4</sub> e δ<sup>18</sup>O<sub>SO4</sub>, <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr, concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) e δ<sup>13</sup>C<sub>CID</sub>, concentrações de gases como O<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O e seus isótopos δ<sup>18</sup>O<sub>O2</sub>, δ<sup>18</sup>O<sub>CO2</sub>, δ<sup>18</sup>O<sub>N2O</sub>, δ<sup>13</sup>C<sub>CH4</sub>, δ<sup>13</sup>C<sub>CO2</sub>, δ<sup>15</sup>N<sub>N2O</sub>, e até mesmo fármacos.

O cloreto (Cl<sup>-</sup>) é um íon conservativo, que não perde massa ao longo de seu transporte pelo aquífero. Juntamente com o sódio, é comum encontrá-lo em aquíferos urbanos contaminados por efluentes, dada a presença significativa de sal em alimentos consumidos. Variações nas razões iônicas NO<sub>3</sub>/Cl ou mesmo correlações entre os isótopos de δ<sup>15</sup>N<sub>NO3</sub>, <sup>18</sup>O<sub>NO3</sub> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> ou NO<sub>3</sub>/Cl podem indicar misturas de águas ou tendências de reações, como por exemplo a ocorrência de nitrificação com o incremento de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em relação à concentração constante de Cl<sup>-</sup>, ou de desnitrificação com a diminuição de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em relação a Cl<sup>-</sup> (MENGIS *et al.* 1999, VITÒRIA *et al.* 2008, MURGULET & TICK 2013, XU *et al.* 2016).

O boro (B) é um elemento menor ou traço em sistemas aquáticos naturais, oriundo da interação de fluidos com rochas da crosta ou entre fluidos de distintos reservatórios e de intemperismo de materiais geológicos com minerais contendo esse elemento (p. ex. depósitos de sais) (NISI *et al.* 2014). A água do mar e consequentemente aerossol marinho são fontes naturais mais enriquecidas nesse elemento. Fontes antrópicas, no entanto, podem alterar significativamente o reservatório de boro nos sistemas aquáticos (NISI *et al.* 2014) e são principalmente representadas por efluentes de agentes alvejantes e fertilizantes contendo B como micronutriente (HASENMÜLLER & CRISS 2013). O boro é um elemento conservativo e altamente solúvel em água, possuindo dois isótopos estáveis, <sup>11</sup>B (80%) e <sup>10</sup>B (20%), que fracionam quase que inteiramente entre as espécies dissolvidas B(OH)<sub>3</sub> e B(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>, cujas abundâncias relativas são controladas pelo pH (VENGOSH *et al.* 1994, 1998; NISI *et al.* 2014). Intervalos de assinaturas de δ<sup>11</sup>B relativamente distintos são encontrados para fontes antrópicas: esterco (+6,9 a +42,1‰), fertilizantes sintéticos (+8 a +17‰) e esgotos (-10 a +13‰) (VENGOSH *et al.* 1994; BASSETT *et al.* 1995; KOMOR 1997; VENGOSH *et al.* 1998; WIDORY *et al.* 2004, 2005; PETELET-GIRAUD *et al.* 2009; XUE *et al.* 2009; CLARK 2015). O uso combinado de δ<sup>11</sup>B com δ<sup>15</sup>N<sub>NO3</sub> e δ<sup>18</sup>O<sub>NO3</sub> pode auxiliar também em casos de contaminação de múltiplas fontes acompanhadas de desnitrificação (WIDORY *et al.* 2004, 2005, 2013). Um ponto a assinalar é que, em



aquíferos com pH acima de 8, pode ocorrer sorção de  $B(OH)_4^-$  em argilominerais e óxidos de ferro e alumínio, levando ao enriquecimento de  $\delta^{11}B$  dissolvido nas águas subterrâneas (BASSETT *et al.* 1990, CLARK 2015). A pH próximo do neutro, no entanto, KLOPPMANN *et al.* (2009) mostraram que o transporte de B em um aquífero durante um experimento de injeção de efluente tratado, embora sofresse certa retardação em relação ao brometo (Br) devido à sorção reversível, não apresentou fracionamento, sendo considerado, portanto, um bom traçador de fontes e processos de mistura.

O estrôncio (Sr) também é classificado como um elemento traço e, em ambientes aquáticos, ocorre como  $Sr^{2+}$ , que faz troca catiônica com o  $Ca^{2+}$  em sulfatos, feldspatos, carbonatos, entre outros minerais (NISI *et al.* 2014). Com quatro isótopos estáveis naturais ( $^{88}Sr$ ,  $^{87}Sr$ ,  $^{86}Sr$  e  $^{84}Sr$ ), a abundância relativa é variável, já que o decaimento de  $^{87}Rb$  gera  $^{87}Sr$  como isótopo radiogênico (CLARK & FRITZ 1997, NISI *et al.* 2014). Assim, rochas ricas em Rb e águas que interagem com essas rochas terão razões  $^{87}Sr/^{86}Sr$  maiores (CLARK & FRITZ 1997). Em sistemas aquáticos, o tempo de residência das águas é suficientemente curto (de dias a  $10^3$  anos) quando comparado com a meia-vida de  $^{87}Rb$  ( $4,88 \times 10^{10}$  anos), o que permite desprezar o decaimento desse elemento (NISI *et al.* 2014). Com fracionamento insignificante, a razão  $^{87}Sr/^{86}Sr$  vem sendo aplicada como um traçador em estudos de interação rocha-água com o rastreamento de fontes de Sr bem como de Ca (FROST & TONER 2004). E nas últimas décadas, essa abordagem tem sido aplicada também para identificar fontes de contaminação antrópicas em águas subterrâneas como efluentes domésticos e industriais e fertilizantes, que alteram significativamente as assinaturas naturais (BÖHLKE & HORAN 2000, SOLER *et al.* 2002, NÉGREL *et al.* 2004, WIDORY *et al.* 2004, JIANG 2011, NISI *et al.* 2014). NÉGREL *et al.* (2004) encontraram razões de 0,7079 a 0,7115 para fertilizantes, de 0,7089 a 0,7103 para esterco e de 0,7106 a 0,7109 para esgotos, valores semelhantes aos observados por WIDORY *et al.* (2004), que, por sua vez, determinaram para as águas contaminadas razões entre 0,7079 e 0,7124, com os menores valores correspondentes a fertilizantes inorgânicos e os maiores a esterco animal. JIANG (2011), comparando distintos aquíferos, conseguiu observar para um deles alterações na razão  $^{87}Sr/^{86}Sr$  de águas subterrâneas impactadas por esgotos (0,7080 – 0,7200) e fertilizantes (0,7080 – 0,8352), que de

outra forma mostrariam apenas a interação rocha-água (0,7075 – 0,7100).

O enxofre (S) é um nutriente essencial para as plantas e um elemento maior presente na água do mar e em sedimentos marinhos. Ocorre nas formas minerais de sulfatos e sulfetos, sulfato dissolvido ( $SO_4^{2-}$ ), sulfeto dissolvido ( $HS^-$ ) e gás sulfídrico ( $H_2S$ ) (NISI *et al.* 2014). Fontes aéreas de S incluem  $SO_2$  natural (aerossol marinho e particulados) e antrópico (gases industriais e queima de combustíveis fósseis). As principais fontes potenciais de sulfato para as águas podem ser naturais (dissolução de evaporitos, sulfato derivado de solos, oxidação de compostos de S reduzidos e águas termais) e antropogênicas (fertilizantes, esterco e esgotos) (PUIG *et al.* 2013, URRESTI-ESTALA *et al.* 2015). O enxofre possui quatro isótopos estáveis ( $^{32}S$ ,  $^{33}S$ ,  $^{34}S$  e  $^{36}S$ ), sendo que os mais aplicados em estudos ambientais são  $^{32}S$  (95,02%) e o  $^{34}S$  (4,21%) (CLARK & FRITZ 1997, NISI *et al.* 2014).

Os diversos compostos de enxofre participam da evolução geoquímica das águas subterrâneas. A grande variedade de composições isotópicas do S é um reflexo do seu amplo espectro de estados de valência (+6 a -2) e seu elevado fracionamento de  $\delta^{34}S$  decorre em grande parte da ciclagem biológica imprimida nas reações redox (KROUSE & MAYER 2000). Águas que interagem com fontes naturais de sulfato apresentam intervalos de assinatura isotópica de  $\delta^{34}S_{SO_4}$  e  $\delta^{18}O_{SO_4}$  de +12,5 a +16,6‰ e +8,9 a +16,9‰, respectivamente, para águas em contato com evaporitos (ORTÍ *et al.* 2014, URRESTI-ESTALA *et al.* 2015) e de 0 a +6‰ e de 0 a +6‰, respectivamente, para sulfato derivado de solos (KROUSE & MAYER 2000).

Dentre as fontes antrópicas, distinguem-se assinaturas distintas: fertilizantes sintéticos simples ou compostos ( $\delta^{34}S_{SO_4}$ : -6,5 a +21,4‰, mediana: +6‰ e  $\delta^{18}O_{SO_4}$ : +7,7 a +16,5‰, mediana: +12,7‰), detergentes químicos ( $\delta^{34}S_{SO_4}$ : +8,5 a +12,6‰ e  $\delta^{18}O_{SO_4}$ : +14,7 a +16,9‰), esterco de porcos ( $\delta^{34}S_{SO_4}$ : 0 a +5‰ e  $\delta^{18}O_{SO_4}$ : +3,8 a +6‰) e esgotos ( $\delta^{34}S_{SO_4}$ : +7,1 a +13,5‰; mediana: +9,6‰ e  $\delta^{18}O_{SO_4}$ : +8,2 a +12,5‰, mediana: +10‰) (VITÒRIA *et al.* 2004; OTERO *et al.* 2007, 2008; WANG & ZHANG 2019). URRESTI-ESTALA *et al.* (2015) encontraram fontes naturais, derivadas de dissolução de gipsita (evaporito) com assinaturas de  $\delta^{34}S_{SO_4}$  mais enriquecidas (+9,6 a +14,5‰) e de fertilizantes e esterco mais empobrecidas (-4,2 a +7‰). PUIG *et al.* (2013) também mediram assinaturas de  $\delta^{34}S_{SO_4}$  em águas subterrâneas

as contaminadas por nitrato entre +5 e +9‰, dentro dos valores esperados para fertilizantes e esterco de porcos. HOSONO *et al.* (2011) analisaram os isótopos combinados  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$ , obtendo, respectivamente, os intervalos -5,0 a +14,4‰ e +13,1 a +25,7‰ para águas contaminadas por fertilizantes sintéticos, e os intervalos -3,7 a +24,4‰ e +11,6 a +20,6‰, para águas impactadas por detergentes químicos. As médias calculadas para  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$  são próximas aos valores encontrados pelos trabalhos anteriores. SOLER *et al.* (2002) aplicaram  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$  em um rio na Espanha e a jusante observaram que a assinatura era mais baixa do que a montante, derivada da contaminação por fertilizantes (+2 a +11,3‰) e detergentes (+10,6 a +13‰). Adicionalmente, esses autores analisaram concentrações de Sr e a razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ , constando seu incremento para o mesmo contexto. Como a correlação entre  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  e  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$  foi positiva e a presença de sulfato naquele trecho do rio não poderia ser explicada por entrada natural, então atividades antrópicas seriam responsáveis por aportar mais estrôncio nas águas além do *background*. Já HOUHOU *et al.* (2010) aplicaram os isótopos de sulfato para distintas fontes de água fluindo através de um sistema de esgotamento sanitário urbano e observaram assinaturas específicas para urina humana, com  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4} \sim 4,5\%$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{SO}_4}$  entre +5,9 e +7,5‰.

A combinação de isótopos de enxofre com os de nitrato é bastante efetiva para a distinção de fontes antrópicas, como a indicação de vazamentos de rede de esgoto em áreas urbanas ou contribuições de fertilizantes orgânicos ou sintéticos em áreas periurbanas (IRIARTE *et al.* 2006, XU *et al.* 2016). Além disso, a abordagem isotópica combinada permite um melhor entendimento dos processos de transformação do nitrogênio, já que as espécies de ambos os elementos estão intimamente ligadas a reações redox. Se, por exemplo, existirem minerais contendo  $\text{Fe}^0$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou sulfetos disseminados em um aquífero contaminado por nitrato, ocorrerá a oxidação desses elementos e a desnitrificação autotrófica, e assim será observado o aumento de  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e a diminuição de  $\text{NO}_3^-$  e de  $\delta^{34}\text{S}_{\text{SO}_4}$  (ARAVENA & ROBERTSON 1998, KNÖLLER *et al.* 2005, VITÒRIA *et al.* 2008, OTERO *et al.* 2009, PAUWELS *et al.* 2010).

O carbono (C) possui dois isótopos estáveis:  $^{12}\text{C}$  (98,1%) e  $^{13}\text{C}$  (1,1%). Análises de concentração de carbono inorgânico dissolvido (CID) e  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}} = \delta^{13}\text{C} [\text{CO}_{2\text{aq}} + \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}]$ ) são comumente aplicadas em estudos de sistemas aquáticos

e hidrogeológicos em contato com  $\text{CO}_2$ . A principal geração de CID relaciona-se ao intemperismo de minerais silicáticos e carbonáticos por chuva ácida ou levemente ácida gerada na atmosfera, por ácido carbônico formado pela dissolução de  $\text{CO}_2$  biogênico em solos e por dissolução de  $\text{CO}_2$  profundo (em áreas tectonicamente ativas) (NISI *et al.* 2014). No entanto, o reservatório de CID pode ser afetado por contribuições de água subterrânea e superficial, atividades biológicas com consumo e liberação de  $\text{CO}_2$ , degradação de matéria orgânica, e balanço de  $\text{CO}_2$  na atmosfera (NISI *et al.* 2014). Embora a origem do CID remonte principalmente a fontes inorgânicas (intemperismo de minerais), a matéria orgânica lábil na forma de carbono orgânico dissolvido (COD) é passível de ser oxidada a  $\text{CO}_2$  por aceptores de elétrons contidos no meio por intermédio de microrganismos (CLARK & FRITZ 1997). As espécies contidas no CID dependem da pressão parcial do  $\text{CO}_2$ , e à medida que a acidez de carbonato (ácido carbônico) é consumida na alteração de minerais a distribuição das espécies de carbono inorgânico é direcionada para as espécies aniônicas bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (CLARK & FRITZ 1997). O ciclo do carbono é, portanto, permeado por reações ácido-base e redox, que, em sua maior parte, são mediadas por bactérias. Estas atuam como catalisadoras, acelerando as reações e, por serem isotopicamente seletivas, preferindo quebrar ligações de isótopos mais leves, são responsáveis por fracionamentos de grande amplitude (CLARK & FRITZ 1997). Tomando o  $\text{CO}_2$  atmosférico como referência, os processos de fracionamento causam um enriquecimento relativo em minerais carbonáticos (~8‰) e empobrecimento nas plantas (~17‰) (VOGEL & EHHALT 1963). Enquanto o sistema  $\text{CO}_2$  atmosférico–bicarbonato–carbonato sólido é governado pelo equilíbrio, a assimilação de  $\text{CO}_2$  pelas plantas corresponde a um efeito cinético resultante da maior mobilidade e reatividade do isótopo mais leve e que causa um fracionamento maior (VOGEL & EHHALT 1963). Dessa forma, fontes orgânicas de C são mais empobrecidas isotopicamente em  $\delta^{13}\text{C}$  do que aquelas inorgânicas (VOGEL & EHHALT 1963). As águas subterrâneas apresentam assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  de -17 a -5‰ (VOGEL & EHHALT 1963, VITÒRIA *et al.* 2008). Já valores de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  originados de carbono orgânico através de sua degradação/oxidação variam entre -29 a -25‰ (ARAVENA & ROBERTSON 1998). Assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  são especialmente interessantes para identificação de desnitrificação

heterotrófica, que é marcada pela diminuição desse isótopo e o incremento em  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (ARAVENA & ROBERTSON 1998, NIKOLENKO *et al.* 2018). No entanto, as assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$  originariamente produzidas pela desnitrificação heterotrófica podem sofrer tamponamento pela dissolução de carbonatos presente em aquíferos, que possuem uma assinatura maior de  $\delta^{13}\text{C}$  (ARAVENA & ROBERTSON 1998). Por conta dessa influência, trabalhos como os de VITÓRIA *et al.* (2008) e OTERO *et al.* (2009), desenvolvidos em aquífero sedimentar na região de Osona (Espanha), não conseguiram afirmar categoricamente, utilizando apenas  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ , se ocorria desnitrificação heterotrófica. Além disso, o incremento de CID (bicarbonato) nas águas poderia ser oriundo tanto da oxidação de matéria orgânica (desnitrificação heterotrófica), como da oxidação de pirita (desnitrificação autotrófica), ainda mais que isótopos de sulfato também suportavam essa hipótese.

Outros elementos que auxiliam no entendimento da contaminação das águas subterrâneas por efluentes e, por conseguinte, na hidroquímica do próprio nitrogênio, são os gases como  $\text{O}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  e seus isótopos  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$ ,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{CO}_2}$ ,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{N}_2\text{O}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$  e  $\delta^{15}\text{N}_{\text{N}_2\text{O}}$ . Na evolução da degradação de matéria orgânica, oriunda de fontes antrópicas, nos solos e águas subterrâneas, diversas reações redox mediadas por microrganismos processam-se de acordo com a quantidade de aceptores e doadores de elétrons disponíveis no meio. O oxigênio será preferencialmente consumido na oxidação de matéria orgânica (respiração aeróbica), sendo seguido pela redução de nitrato (desnitrificação), ferro, sulfato e por último de gás carbônico (fermentação e respiração anaeróbica). Próximo à fonte, onde condições anaeróbicas tendem a preponderar, ocorre a hidrólise das moléculas orgânicas, amonificação, fermentação e metanogênese. A jusante da fonte e com seu distanciamento, na zona não-saturada, o meio vai ficando progressivamente aeróbio, com a ocorrência da oxidação da matéria orgânica, nitrificação, oxidação de sulfetos e tamponamento de acidez pelo sistema carbonato. A água rica em nitrato infiltra-se até atingir a zona saturada, onde o meio é mais anaeróbio em vista da baixa difusão de  $\text{O}_2$  nas águas subterrâneas. Havendo matéria orgânica ou minerais ricos em  $\text{Fe}^0$  ou  $\text{Fe}^{2+}$  ou sulfetos no aquífero, pode ocorrer a desnitrificação heterotrófica ou autotrófica, respectivamente, a uma extensão e intensidade que dependerá das quantidades dos pares redox. Todas essas reações podem ser rastreadas pela evolução das concentrações de

gases e espécies químicas dissolvidas (p. ex. série nitrogenada, cátions, ânions e COD), variação dos parâmetros físico-químicos (pH, Eh, alcalinidade) e tendências de enriquecimento ou empobrecimento dos isótopos pesados de gases e de espécies dissolvidas nas fases residuais e produtos, respectivamente, compondo zonas redox características.

VARNIER (2007) e VARNIER *et al.* (2017) aplicaram os gases  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  e os isótopos  $\delta^{15}\text{N}_{\text{N}_2\text{O}}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{N}_2\text{O}}$  e  $^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ , além da abordagem consagrada  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , no estudo da geoquímica do nitrogênio ao longo de uma fossa desativada em zona não-saturada no município de Urânia (SP) e observaram a complexidade das transformações devido à coexistência de microcosmos anaeróbios e aeróbios em porções mais e menos saturadas. Os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{N}_2\text{O}}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{N}_2\text{O}}$  associados às elevadas concentrações de nitrato e amônio foram atribuídos à nitrificação, embora a presença desse gás pudesse em parte ser resultante de desnitrificação conforme tendências apontadas pelos isótopos de nitrato.

SUHOGUSOFF (2010) e SUHOGUSOFF *et al.* (2019), por sua vez, utilizaram  $\text{NO}_3/\text{Cl}$ ,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  em íons dissolvidos e os gases/isótopos  $\text{CO}_2/\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$ ,  $\text{CH}_4/\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ ,  $\text{N}_2\text{O}/\delta^{15}\text{N}_{\text{N}_2\text{O}}$ - $\delta^{18}\text{O}_{\text{N}_2\text{O}}$  e  $\text{O}_2$  em duas fossas em operação no município de São Paulo (SP).

A interpretação combinada desses elementos, além das espécies químicas dissolvidas e parâmetros físico-químicos já comentados, permitiu o estabelecimento de zoneamentos geoquímicos entre a fonte, onde ocorriam reações em condições anaeróbicas, e suas porções distais aeróbia (zona não-saturada) e anaeróbica (zona saturada). Além da constatação das reações de amonificação, nitrificação e desnitrificação em uma das fossas, a presença de baixas concentrações de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_2^-$  associada ao enriquecimento  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4}$  com aumento da profundidade foram indicativos da ocorrência de *anammox*. Essa mesma reação e comportamento de parâmetros foram constatados por ROBERTSON *et al.* (2012) em um aquífero impactado por sistema séptico em Ontário (Canadá).

Por fim, marcadores químicos como fármacos (antibióticos, hormônios, parasiticidas, antifúngicos, metais) e aditivos alimentares vêm sendo utilizados como traçadores de microcontaminantes emergentes na última década, embora sua presença no ambiente tenha sido notada pela primeira vez há cerca de 30 anos (FENECH *et al.* 2012). A análise dessas substâncias em estudos de contaminação de nitrato pode auxiliar na diferenciação de fon-

tes como esterco e esgoto doméstico, desde que os marcadores escolhidos não sejam consumidos por humanos e animais, como agentes antimicrobianos como tetraciclina e sulfoamidas (FENECH *et al.* 2012).

## 5 ESTUDOS DE CASO NA AMÉRICA LATINA

Existem poucos trabalhos publicados na América Latina e no Brasil que versam sobre o uso dos isótopos ambientais  $^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  em aquíferos urbanos contaminados por nitrogênio. Na busca por trabalhos em periódicos indexados, foram encontrados apenas cinco estudos na América Latina, conduzidos na Argentina (MARTÍNEZ *et al.* 2014, BLARASIN *et al.* 2020), Costa Rica (REYNOLDS-VARGAS *et al.* 2006), México (TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020) e Chile (IRIARTE *et al.* 2006) e oito trabalhos no Brasil, em municípios do Estado de São Paulo (VIVIANI-LIMA 2007; VARNIER *et al.* 2013, 2017; LEITE 2019; SUHOGUSOFF *et al.* 2019; HIRATA & MALDANER não publicado) e na cidade de Natal e Região Metropolitana (MELO *et al.* 1998, PSP/SEMARH/SERVMAR 2012). Os trabalhos de VARNIER *et al.* (2017) e SUHOGUSOFF *et al.* (2019) analisaram a hidroquímica de efluentes domésticos em perfis de fossas negras desativada e em operação nas zonas não-saturadas dos Sistemas Aquíferos Bauru e Cristalino, respectivamente.

O Apêndice 1 apresenta as características gerais de todos os artigos consultados, publicados entre 2006 e 2020.

Os aquíferos em questão são majoritariamente sedimentares, de comportamento hidráulico variando entre livre e confinado, espessuras desde dezenas a poucas centenas de metros, e que estão sujeitos a impactos de atividades antrópicas tanto em meio urbano, como também em periurbano, onde práticas agrícolas desempenham certa influência (Apêndice 1). As fontes potenciais de contaminação reportadas pelos autores desses estudos correspondem, principalmente, a efluentes domésticos, lançados em solos e aquíferos por meio do vazamento de redes coletoras de esgoto ou infiltração de fossas negras e sépticas, e a fertilizantes orgânicos (esterco) e sintéticos aplicados em lavouras ou parques urbanos.

### 5.1 Concentrações de nitrato

Guardadas as particularidades de cada área de estudo, as concentrações de nitrato nas águas

subterrâneas encontram-se em um intervalo absoluto de 0,4 a 250 mg/L  $\text{N-NO}_3^-$  (Figura 4, Tabela 3), sendo que cerca de 40% das amostras analisadas estão acima do padrão de potabilidade de 10 mg/L  $\text{N-NO}_3^-$  (WHO 2011).

A observação das concentrações de nitrato nos trabalhos consultados mostra que os centros e as distribuições dos dados de MELO *et al.* (1998), MARTÍNEZ *et al.* (2014), VARNIER *et al.* (2017), SUHOGUSOFF *et al.* (2019) e BLARASIN *et al.* (2020) estão consistentemente acima do padrão de potabilidade. As medianas encontram-se entre 15,8 mg/L (MELO *et al.* 1998) e 167,6 mg/L  $\text{N-NO}_3^-$  (VARNIER *et al.* 2017) e as dispersões, variando de simétricas (VARNIER *et al.* 2017, SUHOGUSOFF *et al.* 2019) a assimétricas (MELO *et al.* 1998, MARTÍNEZ *et al.* 2014, BLARASIN

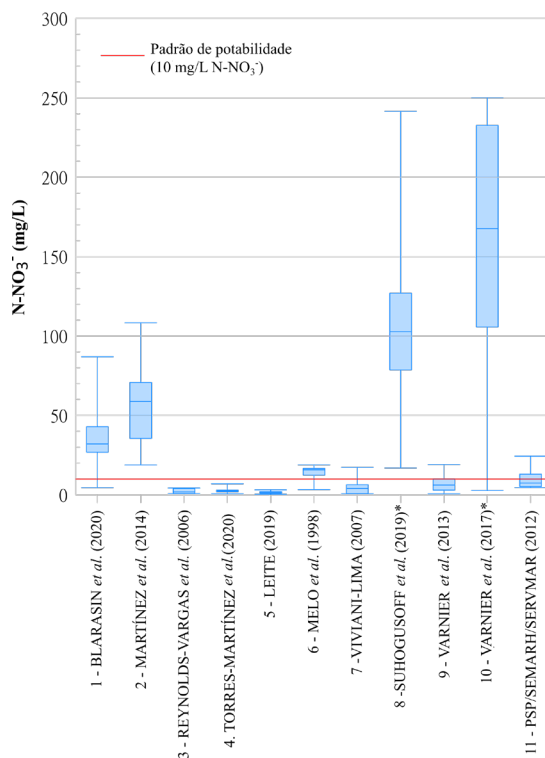


FIGURA 4 – Box-plots das concentrações de nitrato detectadas em amostras de água para os trabalhos consultados. Localidades: 1 - Del Campillo (Argentina); 2 - Mar del Plata (Argentina); 3 - Vale Central (Costa Rica); 4 - Monterrey (México); 5 - São Carlos (Brasil); 6,11 - Região Metropolitana de Natal (Brasil); 7,8 - Região Metropolitana de São Paulo (Brasil); 9 - Bauru, Marília e Presidente Prudente (Brasil); 10 - Urânia (Brasil). \* Amostras coletadas na zona não-saturada do aquífero.



TABELA 3 – Estatística dos dados de concentração de nitrato para os trabalhos consultados.

<i>Autor</i>	<i>Mediana</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>1º Quartil</i>	<i>3º Quartil</i>	<i>Dispersão interquartil absoluta</i>	<i>Coefficiente de dispersão interquartil</i>
MELO <i>et al.</i> (1998)	15,76	3,32	18,89	12,42	16,64	4,22	0,15
REYNOLDS-VARGAS <i>et al.</i> (2006)	1,85	0,80	4,30	0,80	4,03	3,23	0,67
VIVIANI-LIMA (2007)	4,00	0,70	17,30	0,80	6,40	5,60	0,78
PSP/SEMARH/SERVMAR (2012)	7,44	4,59	24,35	5,20	13,02	7,82	0,43
VARNIER <i>et al.</i> (2013)	6,18	0,64	19,07	2,99	10,05	7,05	0,54
MARTÍNEZ <i>et al.</i> (2014)	58,79	18,86	108,36	35,59	70,76	35,17	0,33
VARNIER <i>et al.</i> (2017)	167,59	2,71	250,00	105,68	232,69	127,01	0,38
LEITE (2019)	1,30	0,36	3,16	0,97	1,99	1,02	0,34
SUHOGUSOFF <i>et al.</i> (2019)	102,75	16,91	241,50	65,13	121,00	55,88	0,30
BLARASIN <i>et al.</i> (2020)	32,05	4,51	86,91	26,86	42,89	16,03	0,23
TORRES-MARTÍNEZ <i>et al.</i> (2020)	2,45	0,69	6,95	1,99	2,99	0,99	0,20

*et al.* 2020), são relativamente elevadas, com amplitudes absolutas entre 4,2 mg/L (MELO *et al.* 1998) e 127 mg/L N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (VARNIER *et al.* 2017) (Tabela 3, Figura 4). Já para os demais trabalhos (REYNOLDS-VARGAS *et al.* 2006, VIVIANI-LIMA 2007, PSP/SEMARH/SERVMAR 2012, VARNIER *et al.* 2013, LEITE 2019, TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020), os centros e as distribuições concentram-se abaixo do padrão de potabilidade, com medianas entre 1,3 mg/L (LEITE 2019) e 7,4 mg/L N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (PSP/SEMARH/SERVMAR 2012) e as dispersões são predominantemente assimétricas e com amplitudes absolutas mais baixas, entre 1 mg/L (TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020) e 7,8 mg/L N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (PSP/SEMARH/SERVMAR 2012) (Tabela 3, Figura 4). Como há uma diferença significativa em escala (magnitude) entre os agrupamentos das medianas em relação ao padrão de potabilidade, a análise da dispersão relativa por meio dos coeficientes de dispersão interquartil revela-se uma medida mais adequada para comparação. No caso, ela indica que, na verdade, os trabalhos com distribuições abaixo da potabilidade apresentam variabilidade maior, entre 0,2 (TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020) e 0,8 (VIVIANI-LIMA 2007), do que aqueles com distribuições acima da potabilidade, entre 0,2 (MELO *et al.* 1998) e 0,4 (VARNIER *et al.* 2017).

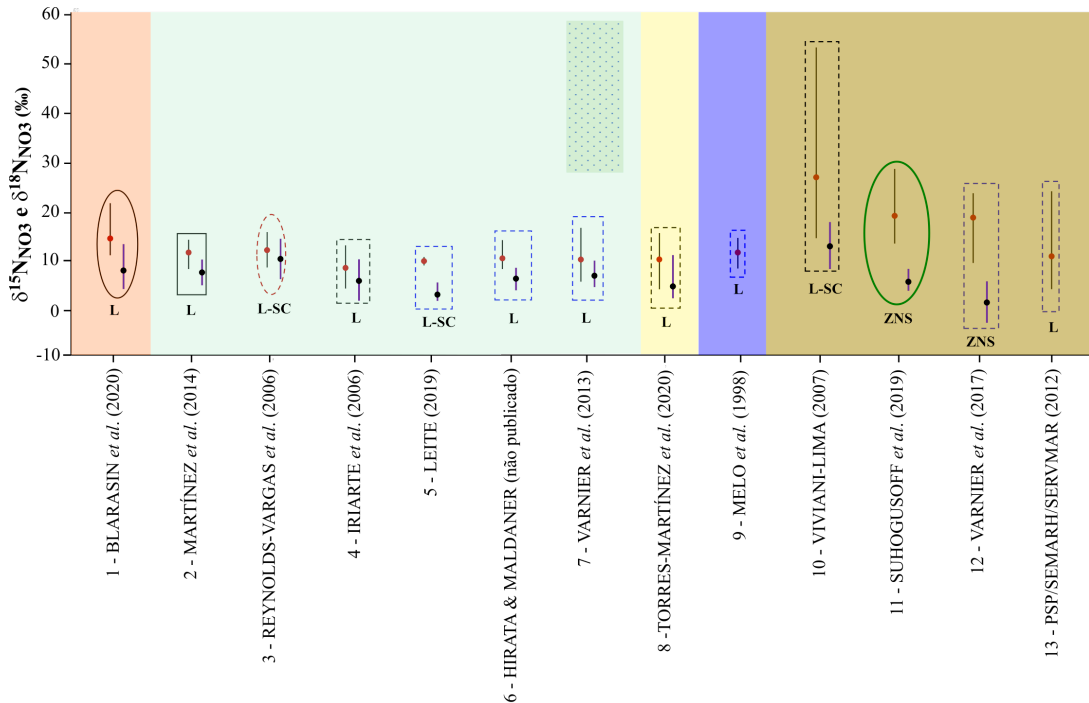
## 5.2 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ e $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$

De acordo com os estudos em análise, as assinaturas isotópicas nas águas subterrâneas sob áreas urbanas e periurbanas mostram uma ampla variação de valores para  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ , de +3,5 a +52,7‰, e para  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , de -3,6 a +16,6‰, resultantes da heterogeneidade das fontes de N, da hidrogeoquímica e dos padrões de fluxo das águas subterrâneas, do tipo de aquífero e das características do meio poroso (Figura 5).

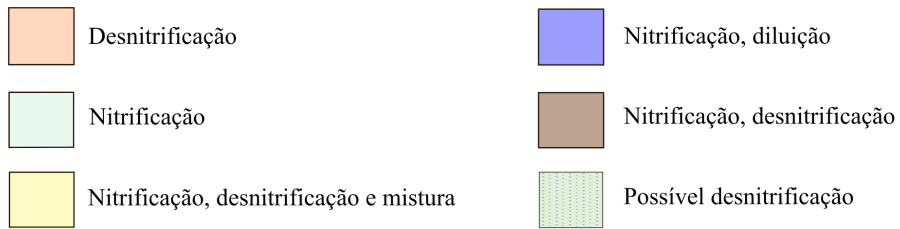
Os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  das amostras de água para esses estudos foram correlacionados aos de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e dispostos no gráfico da figura 6, cujos campos das fontes de nitrato foram definidos por KENDALL *et al.* (2007). Por sua vez, a figura 5 ilustra o intervalo de valores das assinaturas isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ , bem como suas médias aritméticas, para cada trabalho.

Observa-se, de uma forma geral, que a maior parte dos dados se encontra no campo exclusivo de esterco e esgoto (+8‰ <  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  < +29‰), e que uma parcela poderia ser oriunda dessa mesma fonte como também de fertilizantes amoniacais ou solos orgânicos (+3‰ <  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  < +8‰), cujas assinaturas corroboram com aquelas reportadas por outros autores, apresentadas na tabela 2. Valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  que estão na região de intersecção dessas três fontes, como os obtidos por TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020), que relacionam ester-

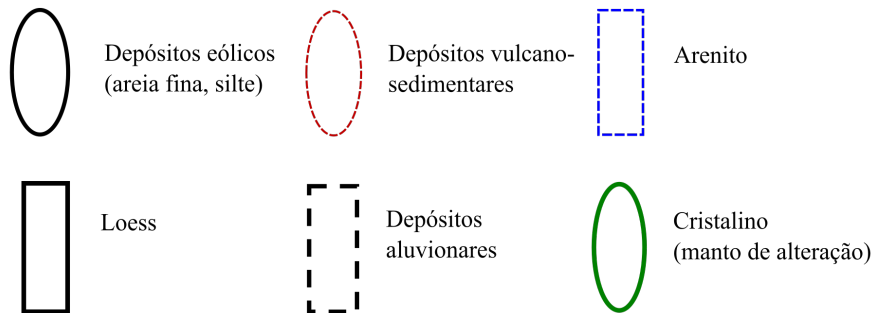




**Principais processos que afetam os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$**



**Geologia**



**Tipo de Aquífero**

L - Livre      SC - Semi-confinado      C - Confinado      ZNS - Zona não-saturada

FIGURA 5 – Intervalos de valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (em vermelho) e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  (em preto): resumo dos estudos de caso em áreas urbanas e periurbanas na América Latina e Brasil. Localidades: 1 - Del Campillo (Argentina); 2 - Mar del Plata (Argentina); 3 - Vale Central (Costa Rica); 4 - Santiago (Chile); 5 - São Carlos (Brasil); 6, 12 - Urânia (Brasil); 7 - Bauru, Marília e Presidente Prudente (Brasil); 8 - Monterrey (México); 9, 13 - Região Metropolitana de Natal (Brasil); 10, 11 - Região Metropolitana de São Paulo (Brasil).

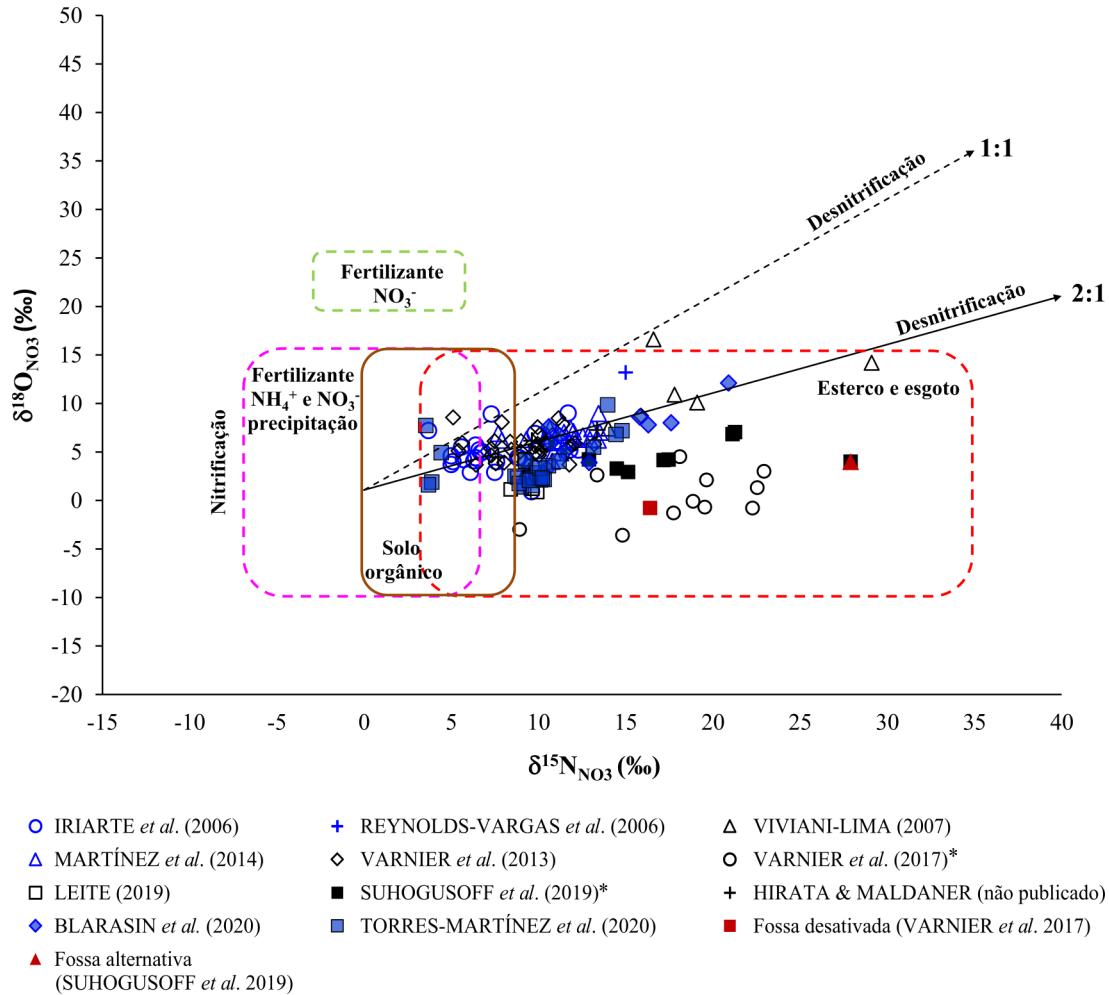


FIGURA 6 – Composição isotópica das amostras de água coletadas em trabalhos realizados em áreas urbanas e periurbanas na América Latina e Brasil. \* Estudo conduzido na zona não-saturada do aquífero.

co e fertilizantes sintéticos como fontes potenciais em sua área de estudo (Apêndice 1, Tabela 3). Cabe também salientar dados de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  muito enriquecidos, superiores a +15‰, identificados, por exemplo, nos trabalhos de VIVIANI-LIMA (2007), BLARASIN *et al.* (2020), TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020) e que indicam a ocorrência de desnitrificação em algumas porções dos aquíferos nas áreas estudadas. Esse processo também foi observado nas zonas não-saturadas dos sistemas aquíferos Bauru e Cristalino, respectivamente, conforme atestam VARNIER *et al.* (2017) e SUHOGUSOFF *et al.* (2019).

Com o objetivo de avaliar se os resultados de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  variavam de acordo com a magnitude de concentração de nitrato nas águas, avaliaram-se as medidas centrais e de dispersão desses

isótopos, respectivamente, para os seguintes intervalos:  $\text{N-NO}_3^- \leq 3 \text{ mg/L}$ ,  $3 < \text{N-NO}_3^- \leq 10 \text{ mg/L}$  e  $\text{N-NO}_3^- > 10 \text{ mg/L}$  (Figuras 7 e 8).

Considerando-se os dados de todos os trabalhos, os valores de mediana de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para os três intervalos de concentração de nitrato são muito próximos entre si, embora se note um leve enriquecimento de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para amostras cujas concentrações de nitrato excedem a  $10 \text{ mg/L N-NO}_3^-$  (+9,5‰, para  $\text{N-NO}_3^- \leq 3 \text{ mg/L}$ , +12‰ para  $\text{N-NO}_3^- > 10 \text{ mg/L}$ ; Figura 7a). A dispersão é baixa, com amplitude entre +2,9 e +5,3‰ (Figura 7a). A análise individualizada das medianas de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para os grupos América Latina e Brasil mostra a mesma tendência de enriquecimento para esse isótopo, que aumenta de +9,6 para +11,6‰ no primei-

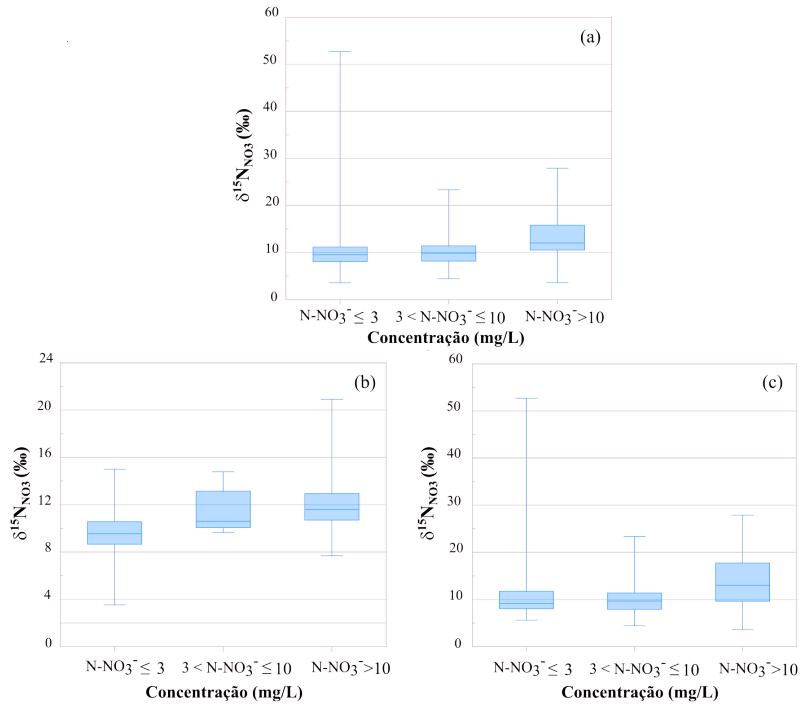


FIGURA 7 – Box-plots de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  para os intervalos de concentração:  $\text{N-NO}_3^- \leq 3$  mg/L,  $3 < \text{N-NO}_3^- \leq 10$  mg/L e  $\text{N-NO}_3^- > 10$  mg/L, considerando: (a) todos os trabalhos consultados; (b) trabalhos desenvolvidos na América Latina (exceto Brasil); e (c) trabalhos desenvolvidos somente no Brasil.

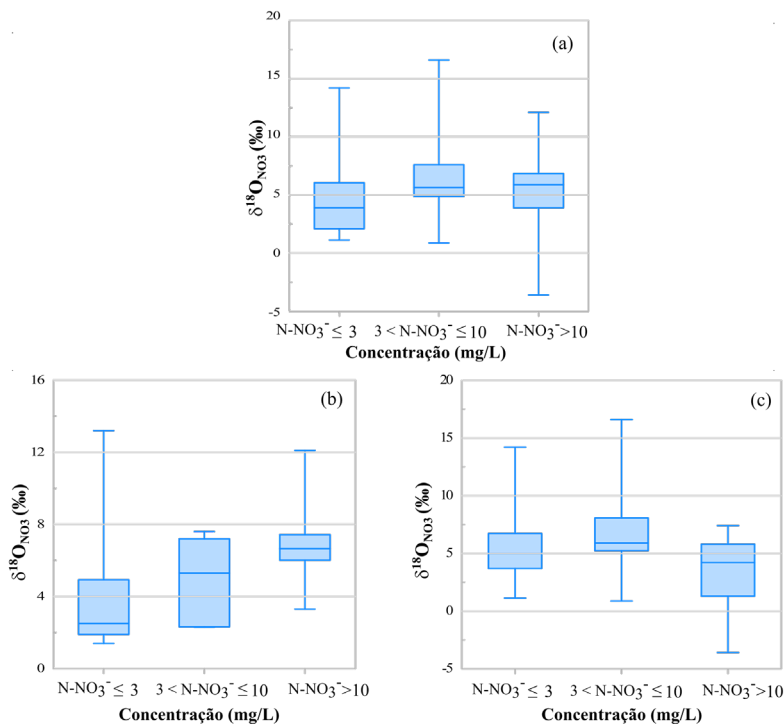


FIGURA 8 – Box-plots de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  para os intervalos de concentração:  $\text{N-NO}_3^- \leq 3$  mg/L,  $3 < \text{N-NO}_3^- \leq 10$  mg/L e  $\text{N-NO}_3^- > 10$  mg/L, considerando: (a) todos os trabalhos consultados; (b) trabalhos desenvolvidos na América Latina (exceto Brasil); e (c) trabalhos desenvolvidos somente no Brasil.

ro caso (Figura 7b) e de +9,2 para +13,0‰, no segundo (Figura 7c).

Na avaliação do isótopo  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  para todos os trabalhos, os valores das medianas também apresentam um leve enriquecimento, aumentando de +3,9‰ para águas com  $\text{N-NO}_3^- \leq 3$  mg/L para +5,9‰ para águas com  $\text{N-NO}_3^- > 10$  mg/L (Figura 8a). A dispersão é baixa, com amplitude entre +2,7 e +3,9‰ (Figura 8a). Analisando-se separadamente as medianas de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  entre América Latina e Brasil, a tendência de enriquecimento desse isótopo só é constatada no primeiro grupo, com o incremento de +2,5 para +6,6‰ (Figura 8b). Nos trabalhos brasileiros, os valores decrescem de +5,0 para +4,2‰ (Figura 8c). As diferenças de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  entre as diversas regiões poderiam ser explicadas pela própria natureza de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$ , que no final contribui na assinatura de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ . O fracionamento  $^2\text{H}$  e  $^{18}\text{O}$  no ciclo hidrológico depende da temperatura, um parâmetro de grande variabilidade temporal e regional, influenciado principalmente por efeitos regionais continentais e de latitude e locais de altitude (CLARK & FRITZ 1997).

### 5.3 Processos hidroquímicos atuantes

Os trabalhos publicados na América Latina e Brasil além de abordarem a origem das contaminações de nitrato (Apêndice 1), também procuraram avaliar os processos hidroquímicos atuantes no comportamento desse contaminante nos aquíferos estudados. Dentre os principais processos e suas combinações identificados, listam-se nitrificação, desnitrificação, mistura de águas e fontes de contaminação e diluição (Figura 5).

Os autores REYNOLDS-VARGAS *et al.* (2006), MARTÍNEZ *et al.* (2014) e LEITE (2019) observaram apenas a influência da nitrificação em aquíferos urbanos situados no Vale Central (Costa Rica), Mar del Plata (Argentina) e São Carlos (Brasil), respectivamente, ao passo que MELO *et al.* (1998) verificaram adicionalmente a diluição na cidade de Natal (Brasil) (Figura 5). VARNIER *et al.* (2013) também identificaram a nitrificação como principal processo que controla a ocorrência de nitrato nas águas subterrâneas nas áreas urbanas de Bauru, Marília e Presidente Prudente, embora para o último município tenham encontrado indicações de uma potencial desnitrificação (VARNIER *et al. em preparação*; Figuras 5 e 6).

Para os trabalhos supramencionados, as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  estiveram dentro do intervalo absoluto de +2 a +16‰ e de -0,3 a +13,2‰, respectivamente (Figuras 5 e 6). O pro-

cesso de nitrificação teria ocorrido a partir da oxidação de nitrogênio orgânico/amoniaco de efluentes domésticos, seja de fossas (MELO *et al.* 1998, REYNOLDS-VARGAS *et al.* 2006 e LEITE 2019), seja de fugas de redes coletoras de esgoto e esterco (VARNIER *et al.* 2013 e MARTÍNEZ *et al.* 2014) (Apêndice 1, Figuras 5 e 6).

BLARASIN *et al.* (2020) identificaram a presença de desnitrificação em amostras do aquífero de Del Campillo (Figura 5), cujos intervalos de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  corresponderam de +10,5 a +20,9‰ e de +3,3 a +12,1‰, respectivamente (Apêndice 1, Figura 6), e um fator de enriquecimento ( $\epsilon$ ) de 2,2.

Já os estudos conduzidos nas zonas não-saturadas (VARNIER *et al.* 2017 e SUHOGUSOFF *et al.* 2019) e saturadas (VIVIANI-LIMA 2007 e PSP/SEMARH/SERVMAR 2012) de aquíferos urbanos situados no estado de São Paulo e Região Metropolitana de Natal conseguiram distinguir a ocorrência tanto de nitrificação como de desnitrificação, enquanto TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020) também notaram, além desses dois processos, a contribuição de misturas de água proveniente de diferentes fontes de contaminação para um aquífero urbano em Monterrey (México) (Figura 5). Para a maior parte dos trabalhos, a nitrificação atuou durante a degradação de esgotos oriundos de vazamento de redes coletoras (VIVIANI-LIMA 2007), de fossas (VARNIER *et al.* 2017, SUHOGUSOFF *et al.* 2019), de uma combinação dessas duas fontes, aterros sanitários e fertilizantes (TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020) ou ainda para uma mistura entre efluentes de fossas e fertilizantes orgânicos (PSP/SEMARH/SERVMAR 2012) (Apêndice 1). Os intervalos encontrados de assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  corresponderam a +2 a +52,7‰ e -3,6 a +16,6‰, respectivamente (Apêndice 1, Figura 5).

Os valores teóricos de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teórico}}$ ) produzidos por nitrificação bacteriana foram calculados com o intuito de estimar a contribuição do nitrato proveniente do processo de nitrificação do amônio, utilizando-se os valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  medidos para as águas nos estudos consultados e assumindo-se que  $\delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2}$  atmosférico é igual a +23,5‰ (KROOPNICK & CRAIG 1972), conforme Equação 5 (HOLLOCHER 1984) (Figuras 9 e 10). Os resultados mostram que para todos os trabalhos consultados os valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  estiveram entre -16,6 a -2,2‰. Os dados de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teórico}}$  esperados para a nitrificação do amônio deveriam estar entre -2,9 a +6,4‰ (Figura 10).

As figuras 9 e 10 mostram que apenas algumas amostras pontuais nas zonas saturadas (VARNIER *et al.* 2013, MARTÍNEZ *et al.* 2014, LEITE 2019, BLARASIN *et al.* 2020, TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020) e não-saturada (VARNIER *et al.* 2017)

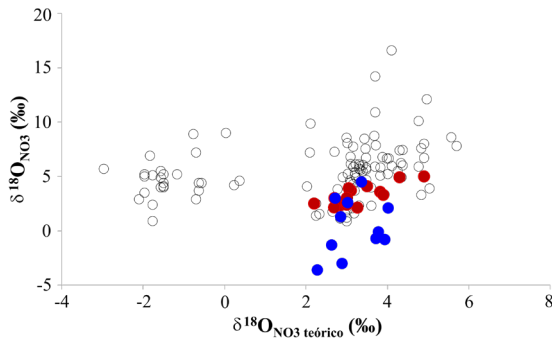


FIGURA 9 – Gráfico de correlação entre  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teóricico}}$ . Os pontos em vermelho indicam os valores teóricos ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teóricico}}$ ) que se aproximam daqueles medidos em laboratório ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ ), seguindo a tendência da nitrificação na proporção 2:1. Os pontos azuis representam amostras coletadas na zona não-saturada por VARNIER *et al.* (2017). O distanciamento da maior parte dos dados em relação ao  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teóricico}}$  revela a ocorrência de outros processos que controlam as espécies nitrogenadas.

apresentam valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  próximos à tendência teórica da nitrificação. Por outro lado, o distanciamento da maior parte dos dados em relação ao  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teóricico}}$  revela a ocorrência de outros processos que controlam as espécies nitrogenadas e que, portanto, mascaram a nitrificação nos trabalhos consultados.

De acordo com a figura 10, nota-se que, salvo algumas exceções, na maioria dos pontos, os dados de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  são muito maiores que os teoricamente esperados ( $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3\text{teóricico}}$ ), indicando que há processos de atenuação desse contaminante nos aquíferos como a desnitrificação.

A indicação de ocorrência de desnitrificação também pode ser visualizada na figura 6 para os trabalhos de VIVIANI-LIMA (2007), VARNIER *et al.* (2017), SUHOGUSOFF *et al.* (2019), BLARASIN *et al.* (2020), em vista da tendência de enriquecimento linear de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  (valores  $\geq +15\text{‰}$ ) e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  entre amostras de um mesmo conjunto.

Sabe-se que a desnitrificação é um processo que resulta no aumento exponencial dos valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  (Equação 4), à medida em que as concentrações de nitrato diminuem (KENDALL *et al.* 2007, CLARK 2015, YANG & TOOR 2016). A figura 11 permite dividir esse comportamento, en-

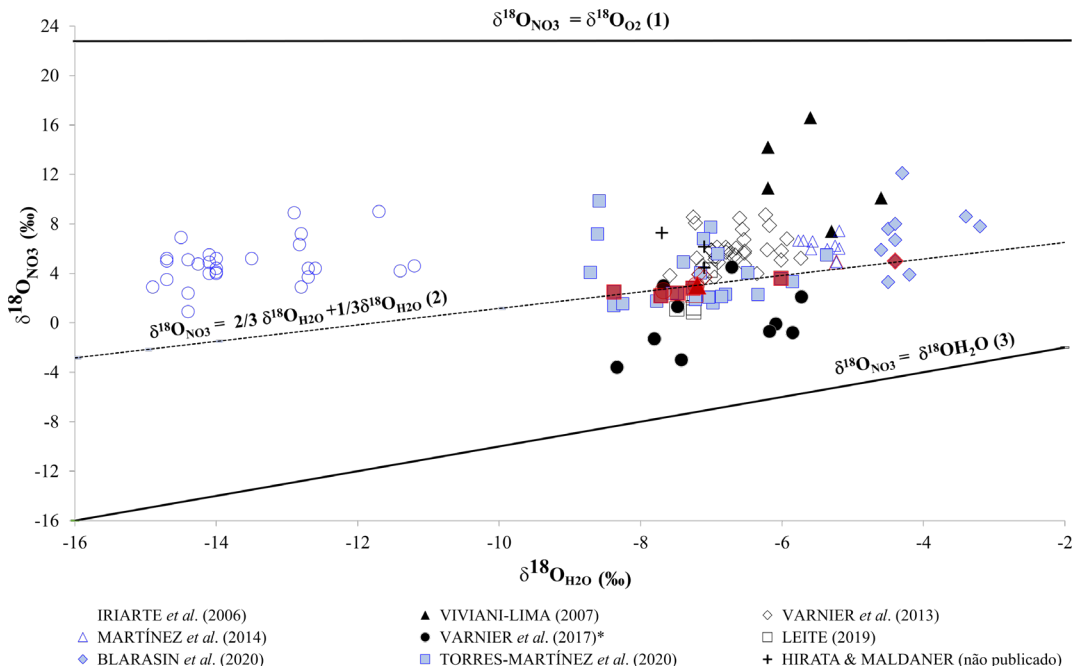


FIGURA 10 –  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  versus  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  com tendências teóricas previstas sob diferentes condições: (1) limite de troca com  $\text{O}_2$ , (2) limite do processo de nitrificação, e (3) troca com  $\text{H}_2\text{O}$ . Os pontos assinalados em vermelhos representam amostras cujos valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  estão próximos à tendência teórica da nitrificação. \* Amostras coletadas na zona não-saturada.



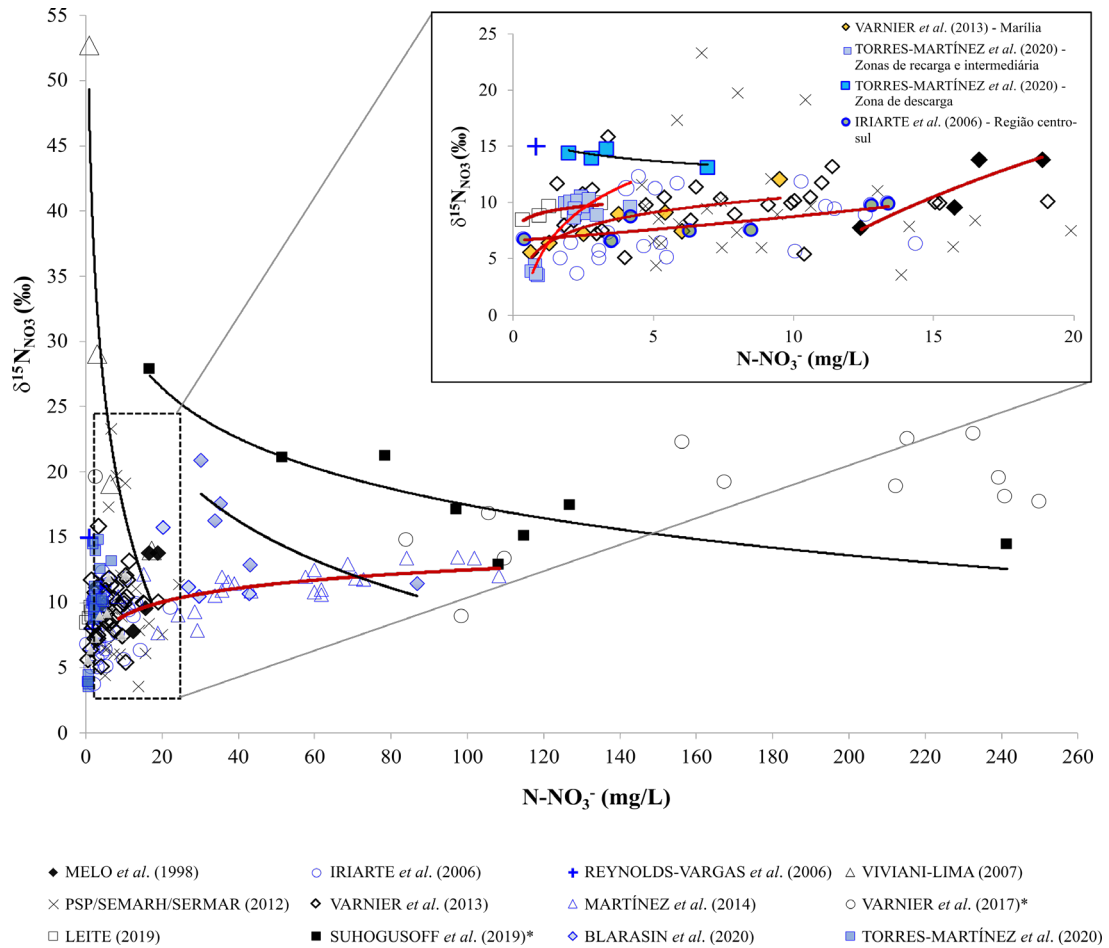


FIGURA 11 – Correlação entre os valores de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e as concentrações de nitrato. \* Amostras coletadas na zona não-saturada.

tre os resultados de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e de  $\text{N-NO}_3^-$ , sobretudo para os trabalhos de VIVIANI-LIMA, (2007), SUHOGUSOFF *et al.* (2019), BLARASIN *et al.* (2020) e TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020), neste último a desnitrificação foi observada, sobretudo, na zona de descarga do aquífero que abastece a cidade de Monterrey (México).

Contudo, essa condição não está presente nos dados obtidos por MELO *et al.* (1998), IRIARTE *et al.* (2006), VARNIER *et al.* (2013) – município de Marília, MARTÍNEZ *et al.* (2014), TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020) – zonas de recarga e intermediária e LEITE (2019), uma vez que se observa um enriquecimento de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  com o aumento nas concentrações de nitrato. Tal padrão indica que a desnitrificação não atua na ocorrência e transporte do nitrato nas águas subterrâneas dessas localidades, ao contrário de outros processos como a mistura de águas de diferentes fontes, ou mesmo há aporte contínuo desse conta-

minante, aliados à nitrificação, corroborando as informações apresentadas na figura 5 e apêndice 1. Segundo XU *et al.* (2016), quando as concentrações de nitrato proveniente de duas fontes distintas são idênticas, a linha de mistura é uma reta (MELO *et al.* 1998, IRIARTE *et al.* 2006 – região centro-sul de Santiago), caso contrário, a linha de mistura será uma hipérbole (VARNIER *et al.* 2013, MARTÍNEZ *et al.* 2014, LEITE 2019, TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2020).

Para os estudos que identificaram desnitrificação e que também apresentaram medidas de concentração de cloreto, tornou-se possível analisar a correlação entre a razão molar  $\text{N-NO}_3^-/\text{Cl}$  e as concentrações de Cl, expressas em mmol/L, como uma ferramenta complementar à abordagem de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  e  $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$  (Figura 12). Essa razão é usada em estudos hidrogeológicos como um indicador de mistura ou processos biológicos que afetam a distribuição das espécies de nitrogênio em

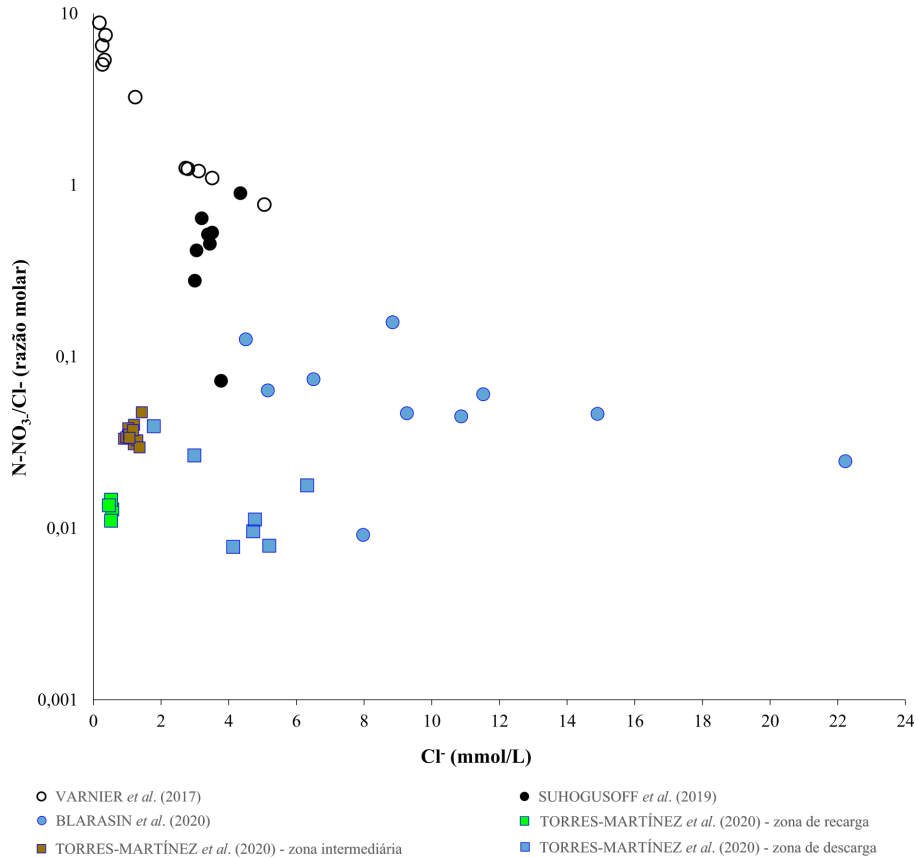


FIGURA 12 – Relação entre a razão molar  $N-NO_3/Cl^-$  e as concentrações de cloreto.

aquíferos, dado ao comportamento conservativo do cloreto. Considerado como traçador, esse parâmetro é muito útil também na identificação de fontes de contaminação antrópicas (p. ex. vazamento de esgoto, fertilizantes e esterco) e naturais (p. ex. chuva ou dissolução de minerais contendo Cl), responsáveis pelo aumento em suas concentrações (WIDORY *et al.* 2005, HINKLE *et al.* 2008, LI *et al.* 2010, GRIMMEISEN *et al.* 2017, TORRES-MARTÍNEZ *et al.* 2021).

Partindo-se de concentrações iniciais de nitrato e de cloreto da fonte de contaminação, a desnitrificação causa a diminuição de nitrato, dada à transformação para  $N_2$  ou  $N_2O$ , mas não afeta o cloreto. Em relação às fontes antrópicas, os fertilizantes, em geral, contêm alta proporção de  $N-NO_3/Cl^-$  comparativamente àquelas computadas para os esgotos/esterços que, por sua vez, apresentam altas concentrações de cloreto e baixa razão entre esses íons. À medida que o efluente percola nas zonas não-saturada e saturada, a conversão de nitrogênio amoniacal a nitrato, promovida pelos proces-

sos de nitrificação, é responsável pelo aumento na razão de  $N-NO_3/Cl^-$ .

TORRES-MARTÍNEZ *et al.* (2020) conseguiram identificar diferentes fontes potenciais de contaminação de nitrato para as amostras de águas subterrâneas coletadas na área urbana da cidade de Monterrey (México), entre as zonas de recarga, intermediária e de descarga, e classificadas pelos autores por grupos 3, 4 e 5. As amostras coletadas nas zonas de recarga (Grupo 3) possuem as menores concentrações cloreto (0,46 a 0,56 mmol/L ou 16,3 a 19,8 mg/L) e razões  $N-NO_3/Cl^-$  (0,021 a 0,030) e a ocorrência de nitrato atribuída pelos autores é natural (N do solo), compatível com a localidade e com limitado impacto antrópico (áreas de mata, residências dispersas). Por outro lado, os pontos coletados nas zonas intermediária (Grupo 4) e de descarga (Grupo 5) apresentam valores mais elevados de cloreto que variam, respectivamente, de 0,91 a 1,43 (32,2 a 50,8 mg/L) e 1,79 a 6,32 mmol/L (63,4 a 224,3 mg/L). As amostras dos grupos 4 e 5 caem no campo de composição isotópica

atribuída ao esterco e esgoto (Figura 6), consistente com o uso do solo (área urbana e periurbana, a nordeste). As razões  $N-NO_3/Cl$  oscilam entre 0,030 e 0,047 (Grupo 4) e 0,008 e 0,039 (Grupo 5), sendo superiores na zona intermediária. Nessas duas áreas, a relação entre as concentrações de nitrato e cloreto reforçam que as águas subterrâneas locais são significativamente influenciadas pela ação antrópica e que a desnitrificação é um processo que controla as espécies nitrogenadas (Figura 12).

Situação semelhante é observada no estudo efetuado por BLARASIN *et al.* (2020). Na área urbana de Del Campillo (Argentina), as concentrações molares de cloreto variam de 4,51 a 22,23 mmol/L (160 a 789 mg/L) e  $N-NO_3/Cl$ , de 0,009 a 0,158, denotando uma discreta correlação negativa entre os dois parâmetros (Figura 12).

As razões molares calculadas para os dois trabalhos supracitados são muito menores quando comparadas às de VARNIER *et al.* (2017) e SUHOGUSOFF *et al.* (2019), conforme ilustrado na figura 12. Nas amostras coletadas por VARNIER *et al.* (2017) ao longo da zona não-saturada do Sistema Aquífero Bauru, abaixo de uma fossa negra desativada situada na área urbana do município de Urânia (Brasil), os dados de  $N-NO_3/Cl$  variam de 0,77 a 8,83 e as concentrações molares de cloreto, entre 0,18 e 5,05 mmol/L. Os valores médios de nitrato oscilam entre 1,59 e 4,03 mmol/L (98,5 a 250,0 mg/L  $N-NO_3^-$ ), demonstrando que mesmo após algum tempo de desativação, uma grande quantidade de nitrato ainda é gerada. Nos primeiros metros da zona não-saturada (até 3,0 m), as razões molares alcançam os maiores resultados (3,25 a 8,83), em virtude das baixas concentrações de cloreto e aos processos de nitrificação, aliás, incompletos. A partir daí, as concentrações molares de cloreto aumentam significativamente, seguido do decréscimo acentuado de  $N-NO_3/Cl$ , demonstrando a coexistência de desnitrificação.

Por fim, os resultados apresentados por SUHOGUSOFF *et al.* (2019), em estudo sobre a eficiência de uma fossa séptica melhorada com uso de barreiras reativas na atenuação de nitrato, implantada na zona não-saturada do Sistema Aquífero Cristalino, Região Metropolitana de São Paulo (Brasil), demonstram que para concentrações relativamente constantes de cloreto (3,00 a 4,35 mmol/L) as razões de molares variam desde 0,07 a 0,90. A relação entre as razões molares e os valores de cloreto mostrou-se distinta daquelas obtidas por outros trabalhos. Isto se deve ao fato das diferentes composições das barreiras instaladas na fossa:

a primeira delas é composta por resíduos de fundição siderúrgica implantada abaixo da fossa, ricos em óxido de ferro e cálcio, e a outra, preenchida com serragem. Tal configuração e as condições hidrogeoquímicas possibilitaram a coexistência de nitrificação e desnitrificação nesse local.

## 6 CONCLUSÕES

Aquíferos situados sob áreas urbanizadas normalmente mostram sinais de impactos de qualidade decorrentes dos distintos usos e ocupação do solo. O nitrato é um contaminante bastante comum em águas subterrâneas, configurando um sério problema de saúde pública a ser sanado. Por essa razão, o entendimento da dinâmica do nitrogênio torna-se de grande importância para a gestão de recursos hídricos em áreas urbanas.

O uso dos isótopos  $^{15}N_{NO_3}$  e  $^{18}O_{NO_3}$  em estudos de aquíferos urbanos impactados por nitrato permite obter uma visão assertiva acerca dos mecanismos de transporte e dos processos responsáveis pela transformação do nitrogênio em subsuperfície, além de auxiliar na definição de fontes de contaminação. Embora essa abordagem isotópica dual apresente como limitação a sobreposição de assinaturas isotópicas para algumas fontes de contaminação e processos de transformação de espécies nitrogenadas, sua associação com outros dados, como hidrogeológicos, hidroquímicos, isotópicos e microbiológicos permite delinear o comportamento do contaminante com mais exatidão, com ganhos superiores a qualquer ferramenta empregada isoladamente.

Esses isótopos vêm sendo sistematicamente aplicados em aquíferos localizados na América do Norte, Europa, Ásia e Oceania nas últimas décadas, ao passo que na América Latina ainda são escassos. A análise dos dados dos poucos trabalhos da América Latina encontrados em literatura mostra que os aquíferos urbanos em grande parte estão contaminados por efluentes domésticos e, secundariamente, por fertilizantes orgânicos e sintéticos e que os principais processos de transformação de nitrogênio observados correspondem à nitrificação e desnitrificação.

O pequeno número de casos que abordam o uso de isótopos ambientais em estudos de contaminação das águas subterrâneas por nitrato na América Latina deve-se, provavelmente, à ausência de infraestrutura de técnicas analíticas na região, à falta de financiamento para a execução das análises isotópicas em laboratórios comerciais, e

ao conhecimento ainda restrito dessa técnica pelos hidrogeólogos da região. Outra hipótese plausível seria a de que a contaminação das águas subterrâneas por nitrato ainda tem sido pouco estudada ou não ganhou a atenção necessária dos órgãos de controle ambiental, que não têm exigido estudos sistemáticos ou introduzido financiamentos a estes estudos no continente.

## 7 AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento de projetos de pesquisa (Processos nºs 2002/07202-3, 2004/15394-5, 2005/00315-5, 2009/05840-1, 2020/09991-3 e 2020/15434-0), cujos resultados obtidos foram apresentados neste artigo, e aos revisores por suas contribuições.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIRIGA, D.; VESTGARDEN, L.S.; KLEMPE, H. 2020. Groundwater contamination from a municipal landfill: Effect of age, landfill closure, and season on groundwater chemistry. *Science of the Total Environment*, 737: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140307>
- AMBERGER, A.; SCHMIDT, H.L. 1987. The natural isotope content of nitrate as an indicator of its origin. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 51(10): 2699-2705. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(87\)90150-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(87)90150-5)
- ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. 2007. *Panorama do enquadramento dos corpos d'água do Brasil e panorama da qualidade das águas subterrâneas no Brasil*. Brasília, ANA, 124 p. (Caderno de Recursos Hídricos, 5). Disponível em [http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/PANORAMA\\_DO\\_ENQUADRAMENTO.pdf](http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/PANORAMA_DO_ENQUADRAMENTO.pdf). Acessado em 12 jul. 2021.
- ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. 2010. *Atlas Brasil: abastecimento urbano de água: panorama nacional*. ANA, ENGEORPS/COBRAPE, 72 p. (Volume 1). Disponível em <https://www.aris.sc.gov.br/uploads/revista/2735/YXwFOHqcDQSDQEA2bJfi2KfS2Pt-Binw.pdf>. Acessado em 12 jul. 2021.
- ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. 2017. *Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas*. Brasília, ANA, 92 p. Disponível em: [https://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/ATLASESGO\\_TOSDespoluicaoodeBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo\\_livro.pdf](https://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/ATLASESGO_TOSDespoluicaoodeBaciasHidrograficas-ResumoExecutivo_livro.pdf). Acessado em 12 jul. 2021.
- ARAVENA, R.; MAYER, B. 2010. Isotopes and processes in the nitrogen and sulfur cycles. In: C. Marjorie Aelion; P. Höhener; D. Hunkeler; R. Aravena (ed.) *Environmental isotopes in biodegradation and bioremediation*. Boca Raton, CRC Press, p. 203-246.
- ARAVENA, R.; ROBERTSON, W.D. 1998. Use of multiple isotope tracers to evaluate denitrification in groundwater: study of nitrate from a large-flux septic system plume. *Ground Water*, 36(6): 975-982. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1998.tb02104.x>
- ARAVENA, R.; EVANS, M.L.; CHERRY, J.A. 1993. Stable isotopes of oxygen and nitrogen in source identification of nitrate from septic systems. *Ground Water*, 31(2): 180-186. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1993.tb01809.x>
- ARAVENA, R.; AUGÉ, M.; BUCICH, N.; NAGY, M.I. 1999. Evaluation of the origin of groundwater nitrate in the city of La Plata, Arg., using isotope techniques. In: IAH, THE INTERNATIONAL ASSOCIATION OF HYDROGEOLOGISTS CONGRESS, 29. Bratislava, *Proceeding*.
- ASADI, P.; ATAIE-ASHTIANI, B.; BEHESHTI, A. 2017. Vulnerability assessment of urban groundwater resources to nitrate: the case study of Mashhad, Iran. *Environmental Earth Sciences*, 76(41): 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12665-016-6357-z>
- BARBOSA, C.F. 2005. *Hidrogeoquímica e a contaminação por nitrato em água subterrânea no bairro Piranema, Seropédica-RJ*. Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Dissertação de Mestrado, 82 p. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/286819>

- BASSETT, R.L. 1990. A critical evaluation of the available measurements for the stable isotopes of boron. *Applied Geochemistry*, 5(5-6): 541-554. [https://doi.org/10.1016/0883-2927\(90\)90054-9](https://doi.org/10.1016/0883-2927(90)90054-9)
- BASSETT, R.L.; BUSZKA, P.M.; DAVIDSON, G.R.; CHONG-DIAZ, D. 1995. Identification of groundwater solute sources using boron isotopic composition. *Environmental Science and Technology*, 29(12): 2915-2922. <https://doi.org/10.1021/es00012a005>
- BATEMAN, A.S.; KELLY, S.D. 2007. Fertilizer nitrogen isotope signatures. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 43(3): 237-247. <https://doi.org/10.1080/10256010701550732>
- BATEMAN, A.S.; KELLY, S.D.; JICKELLS, T.D. 2005. Nitrogen isotope relationships between crops and fertilizer: Implications for using nitrogen isotope analysis as an indicator of agricultural regime. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5760-5765. <https://doi.org/10.1021/jf050374h>
- BEDARD-HAUGHN, A.A.; VAN GROENIGEN, J.W.; VAN KESSEL, C.; 2003. Tracing  $^{15}\text{N}$  through the landscapes: Potential uses and precautions. *Journal of Hydrology*, 272: 175-190. [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(02\)00263-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(02)00263-9)
- BLARASIN, M.; CABRERA, A.; MATIATOS, I.; QUINODÓZ, F.B.; ALBO, J.G.; LUTRI, V.; MATTEODA, E.; PANARELLO, H. 2020. Comparative evaluation of urban versus agricultural nitrate sources and sinks in an unconfined aquifer by isotopic and multivariate analyses. *Science of the Total Environment*, 741: 140374. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140374>
- BOCANEGRA, E.; MASSONE, H.; MARTÍNEZ, D.; CIVIT, E.; FARENGA, M. 2001. Groundwater contamination: risk management and assessment for landfills in Mar del Plata, Argentina. *Environmental Geology*, 40(6):732-741. <https://doi.org/10.1007/s002540000240>
- BÖHLKE, J.K.; HORAN, M. 2000. Strontium isotope geochemistry of groundwaters and streams affected by agriculture, Locust Grove, MD. *Applied Geochemistry*, 15(5): 599-609. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(99\)00075-X](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00075-X)
- BÖHLKE, J.K.; ERIKSEN, G.E.; REVESZ, K. 1997. Stable isotope evidence for an atmospheric origin of desert nitrate deposits in northern Chile and southern California, U.S.A. *Chemical Geology*, 136(1-2): 135-152. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(96\)00124-6](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(96)00124-6)
- BÖHLKE, J.K.; SMITH, R.L.; MILLER, D.N. 2006. Ammonium transport and reaction in contaminated groundwater: Application of isotope tracers and isotope fractionation studies. *Water Resources Research*, 42(5): W05411. <https://doi.org/10.1029/2005WR004349>
- BÖTTCHER, J.O.; STREBEL, O.; VOERKELIUS, S.; SCHMIDT, H.L. 1990. Using isotope fractionation of nitrate-nitrogen and nitrate-oxygen for evaluation of microbial denitrification in a sandy aquifer. *Journal of Hydrology*, 114(3-4): 413-424. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(90\)90068-9](https://doi.org/10.1016/0022-1694(90)90068-9)
- BRADY, N.C.; WEIL, R.R. 2002. *The nature and properties of soils*. Upper Saddle River, Prentice Hall, 14<sup>th</sup> ed., 980 p.
- BRANDES, J.A.; DEVOL, A.H. 2002. A global marine-fixed nitrogen isotopic budget: Implications for Holocene nitrogen cycling. *Global Biogeochemical Cycles*, 16(4): 1120. <https://doi.org/10.1029/2001GB001856>
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria GM/MS Nº 888, de 04 de maio de 2021. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da União: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 85, 07.mai.2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acessado em 12 jun. 2021.
- BUSS, S.R.; HERBERT, A.W.; MORGAN, P.; THORNTON, S.F.; SMITH, J.W.N. 2004. A review of ammonium attenuation in soil



- and groundwater. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 37(4): 347-359. <https://doi.org/10.1144/1470-9236/04-005>
- CASCHETTO, M.; ROBERTSON, W.; PETITTA, M.; ARAVENA, R. 2018. Partial nitrification enhances natural attenuation of nitrogen in a septic system plume. *Science of the Total Environment*, 625: 801-808. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.329>
- CLARK, I. 2015. Contaminant geochemistry and isotopes. In: *Groundwater geochemistry and isotopes*, Boca Raton, CRC Press, p. 303-379.
- CLARK, I.; FRITZ, P. 1997. *Environmental isotopes in hydrogeology*. CRC Press, Taylor & Francis Group, 342 p.
- CLARK, I. D.; TIMLIN, R.; BOURBONNAIS, A.; JONES, K.; LAFLEUR, D.; WICKENS, K. 2008. Origin and fate of industrial ammonium in anoxic ground water – <sup>15</sup>N Evidence for anaerobic oxidation (Anammox). *Ground Water Monitoring and Remediation*, 28: 73-82. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2008.00206.x>
- CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. 2004. *Qualidade das águas subterrâneas do Estado de São Paulo 2001-2003*. São Paulo, CETESB, 103 p. (Série Relatórios). Disponível em <http://cetesb.sp.gov.br/aguassubterraneas/publicacoes-e-relatorios/>. Acessado em 12 jul. 2021.
- CHOI, W.J.; HAN, G.H.; LEE, S.M.; LEE, G.T.; YOON, K.S.; CHOI, S.M.; RO, H.M. 2007. Impact of land-use types on nitrate concentration and  $\delta^{15}\text{N}$  in unconfined ground water in rural areas of Korea. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 120(2-4): 259-268. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.10.002>
- COOK, G.A.; LAUER, C.M. 1968. Oxygen. In: C.A. Hampel (ed.) *The encyclopedia of the chemical elements*. New York, Reinhold Book Corporation, p 499-512.
- CORNIELLO, A.; DUCCI, D.; RUGGIER, G. 2007. Areal identification of groundwater nitrate contamination sources in periurban areas. *Journal of Soils and Sediments*, 7(3): 159-166. <https://doi.org/10.1065/jss2007.03.213>
- COSSU, R. 2013. Groundwater contamination from landfill leachate: When appearances are deceiving! *Waste Management*, 33(9): 1793-1794. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.07.002>
- COSSU, R.; ZUFFIANÒ, L.E.; LIMONI, P.P.; DE GIORGIO, G.; PIZZARDINI, P.; MIANO, T.; MONDELLI, D.; GARAVAGLIA, R.; CARELLA, C.; POLEMIO, M. 2018. How can the role of leachate on nitrate concentration and groundwater quality be clarified? An approach for landfills in operation (Southern Italy). *Waste Management*, 77: 156-165. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.05.014>
- CRONIN, A.A.; HOADLEY, A.W.; GIBSON, J.; BRESLIN, N.; KOMOU, F.K.; HALDIN, L.; PEDLEY, S. 2007. Urbanisation effects on groundwater chemical quality: findings focusing on the nitrate problem from 2 African cities reliant on on-site sanitation. *Journal of Water & Health*, 5(3): 441-454. <https://doi.org/10.2166/wh.2007.040>
- DE BOER, W.; KOWALCHUK, G.A. 2001. Nitrification in acid soils: Micro-organisms and mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7-8): 853-866. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00247-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00247-9)
- DELWICHE, C.C.; STEYN, P.L. 1970. Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions. *Environmental Science and Technology*, 4 (11): 929-935. <https://doi.org/10.1021/es60046a004>
- DEUTSCH, B.; MEWES, M.; LISKOW, I.; VOSS, M. 2006. Quantification of diffuse nitrate inputs into a small river system using stable isotopes of oxygen and nitrogen in nitrate. *Organic Geochemistry*, 37(10): 1333-1342. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.04.012>
- DIALLO, M.D; WILLEMS, A.; VLOEMANS, N.; COUSIN, S.; VANDEKERCKHOVE, T.T.; DE LAJUDIE, P.; NEYRA, M.; VYVERMAN, W.; GILLIS, M.; VAN DER GUCHT, K. 2004. Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis

- analysis of the N<sub>2</sub>-fixing bacterial diversity in soil under *Acacia tortilis ssp. raddiana* and *Balanites aegyptiaca* in the dryland part of Senegal. *Environmental Microbiology*, 6(4): 400-415. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00577.x>
- DIÉDHIOU, M.; CISSÉ FAYE, S.; DIOUF, O.C.; FAYE, S.; FAYE, A.; RE, V.; WOHNLICH, S.; WISOTZKY, F.; SCHULTE, U.; MALOSZEWSKI, P. 2012. Tracing groundwater nitrate sources in the Dakar suburban area: an isotopic multi-tracer approach. *Hydrological Processes*, 26: 760-770. <https://doi.org/10.1002/hyp.8172>
- DRAKE, V.M.; BAUDER, J.W. 2005. Ground water nitrate-nitrogen trends in relation to urban development, Helena, Montana, 1971-2003. *Groundwater Monitoring and Remediation*, 25(2): 118-130. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2005.0017.x>
- DUCCI, D.; DELLA MORTE, R.; MOTTOLA, A.; ONORATI, G.; PUGLIANO, G. 2019. Nitrate trends in groundwater of the Campania region (southern Italy). *Environmental Science and Pollution Research* 26: 2120-2131. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0978-y>
- DURKA, W.; SCHULZE, E.D.; GEBAUER, G.; VOERKELIUS, S. 1994. Effects of forest decline on uptake and leaching of deposited nitrate determined from <sup>15</sup>N and <sup>18</sup>O measurements. *Nature*, 372: 765-767. <https://doi.org/10.1038/372765a0>
- ELISANTE, E.; MUZUKA, A.N.N. 2017. Occurrence of nitrate in Tanzanian groundwater aquifers: A review. *Applied Water Science*, 7: 71-87. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0269-z>
- FATTA, D.; PAPADOPOULOS, A.; LOIZIDOU, M. 1999. A study on the landfill leachate and its impact on the groundwater quality of the greater area. *Environmental Geochemistry and Health*, 21(2): 175-190. <https://doi.org/10.1023/A:1006613530137>
- FENECH, C.; ROCK, L.; NOLAN K.; TOBIN, J.; MORRISSEY, A. 2012. The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review. *Water Research*, 46: 2023-2041. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.044>
- FIRESTONE, M.K.; DAVIDSON, E.A. 1989. Microbiological basis of NO and N<sub>2</sub>O production and consumption in soil. In: M.O. Andreae & D.S. Schimel (ed.) *Exchange of trace gases between ecosystems and the atmosphere*. Chichester, John Wiley and Sons, p. 7-21.
- FLIPSE, W.J.; BONNER, F.T. 1985. Nitrogen-isotope ratios of nitrate in ground water under fertilized fields, Long Island, New York. *Ground Water* 23: 59-67. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1985.tb02780.x>
- FREDDO FILHO, V.J. 2018. *Qualidade das águas subterrâneas rasas do Aquífero Barreiras: Estudo de caso em Benevides – PA*. Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará, Belém, Dissertação de Mestrado, 112 p.
- FREYER, H.D.; ALY, A.I.M. 1975. Nitrogen-15 studies on identifying fertilizer excess in environmental systems. In: IAEA, SYMPOSIUM ON ISOTOPE RATIOS AS POLLUTANT SOURCE AND BEHAVIOUR INDICATORS, Vienna, *Proceedings series*: 21-32.
- FROST, C.D.; TONER, R.N. 2004. Strontium isotopic identification of water-rock interaction and ground water mixing. *Ground Water*, 42(3): 418-432. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2004.tb02689.x>
- FUKADA, T.; HISCOCK, K.M.; DENNIS, P.F. 2004. A dual-isotope approach to the nitrogen hydrochemistry of an urban aquifer. *Applied Geochemistry*, 19(5): 709-719. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2003.11.001>
- GIBLIN, A.E.; TOBIAS, C.R.; SONG, B.; WESTON, N.; BANTA, G.T.; RIVERA-MONROY, V.H. 2013. The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography* 26(3):124-131. <http://dx.doi.org/10.5670/oceanog.2013.54>
- GRIMMEISEN, F.; LEHMANN, M.F.; LIESCH, T.; GOEPPERT, N.; KLINGER, J.; ZOPFI, J.; GOLDSCHIEDER, N. 2017. Isotopic constraints on water source mixing, network leakage and contamination in an urban groundwater system. *Science of the Total Environment*, 583: 202-213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.054>

- GU, B.; G.E., Y.; CHANG, S.X.; LUO, W.; CHANG, J. 2013. Nitrate in groundwater of China: Sources and driving forces. *Global Environmental Change*, 23(5): 1112-1121. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2013.05.004>
- HASENMÜELLER, E.A.; CRISS, R.E. 2013. Multiple sources of boron in urban surface waters and groundwaters. *Science of the Total Environment*, 447: 235-247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.001>
- HAUCK, R.D.; BARTHOLOMEW, W.; BREMNER, J.M.; BROADBENT, F.E.; CHENG, H.H.; EDWARDS, A.P.; KEENEY, D.R.; LEGG, J.O.; OLSEN, S.R.; PORTER, L.K.; KOHL, D.H.; SHEARER, G.B.; COMMONER, B. 1972. Use of variations in natural nitrogen isotope abundance for environmental studies: A questionable approach. *Science*, 177(4047): 453-456. <https://doi.org/10.1126/science.177.4047.453>
- HEATON, T.H.E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: A review. *Chemical Geology: Isotope Geoscience Section*, 59: 87-102. [https://doi.org/10.1016/0168-9622\(86\)90059-X](https://doi.org/10.1016/0168-9622(86)90059-X)
- HEATON, T.H.E.; STUART, M.E.; SAPIANO, M.; SULTANA, M.M. 2012. An isotope study of the sources of nitrate in Malta's groundwater. *Journal of Hydrology*, 414-415: 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.10.037>
- HILL, A.R. 1996. Nitrate removal in stream riparian zones. *Journal of Environmental Quality*, 25(4): 743-755. <https://doi.org/10.2134/jeq1996.00472425002500040014x>
- HINKLE, S.R.; BOHLKE, J.K.; FISHER, L.H. 2008. Mass balance and isotope effects during nitrogen transport through septic tank systems with packed-bed (sand) filters. *Science of the Total Environment*, 407: 324-332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.08.036>
- HIRATA, R.; FOSTER, S.; OLIVEIRA, F. 2015. *Águas subterrâneas urbanas no Brasil: avaliação para uma gestão sustentável*. São Paulo, IGc-USP, FAPESP, 112 p.
- HIRATA, R.; SUHOGUSOFF, A.V.; MARCELLINI, S.S.; VILLAR, P.C.; MARCELLINI, L. 2019. *As águas subterrâneas e sua importância ambiental e socioeconômica para o Brasil*. São Paulo, IGc-USP, 64 p.
- HIRATA, R.; CAGNON, F.; BERNICE, A.; MALDANER, C.H.; GALVÃO, P.; MARQUES, C.; TERADA, R.; VARNIER, C.; RYAN, M.C.; BERTOLO, R. 2020. Nitrate contamination in Brazilian urban aquifers: A tenacious problem. *Water*, 12(10): 2709. <https://doi.org/10.3390/w12102709>
- HOLLOCHER, T.C. 1984. Source of the oxygen atoms of nitrate in the oxidation of nitrite by *Nitrobacter agilis* and evidence against a P-O-N anhydride mechanism in oxidative phosphorylation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 233(2): 721-727. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(84\)90499-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(84)90499-5)
- HOSONO, T.; WANG, C.H.; UMEZAWA, Y.; NAKANO, T.; ONODERA, S.; NAGATA, T.; YOSHIMIZU, C.; TAYASU, I.; TANIGUCHI, M. 2011. Multiple isotope (H, O, N, S and Sr) approach elucidates complex pollution causes in the shallow groundwaters of the Taipei urban area. *Journal of Hydrology*, 397(1-2): 23-36. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2010.11.025>
- HOUHOU, J.; LARTIGES, B.S.; FRANCE-LANORD, C.; GUILMETTE, C.; POIX, S.; MUSTIN, C. 2010. Isotopic tracing of clear water sources in an urban sewer: A combined water and dissolved sulfate stable isotope approach. *Water Research*, 44(1): 256-266. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.024>
- HÜBNER, H. 1986. Isotope effects of nitrogen in the soil and biosphere. In: P. Fritz & J.C. Fontes (ed.) *Handbook of environmental isotope geochemistry, Volume 2: The terrestrial environment*, Amsterdam, Elsevier, p. 361-425.
- IRIARTE, S.; ATENAS, M.; AGUIRRE, E.; TORE, C. 2006. Aquifer recharge and contamination determination using environmental isotopes: Santiago basin, Chile. A study case. In: IAEA (ed.) *Estudios de Hidrología Isotópica en América Latina 2006*, Vienna, IAEA, p. 97-112.

- JIANG, Y. 2011 Strontium isotope geochemistry of groundwater affected by human activities in Nandong underground river system, China. *Applied Geochemistry*, 26(3): 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2010.12.010>
- JIN, Z.; QIN, X.; CHEN, L.X.; JIN, M.; LI, F. 2015. Using dual isotopes to evaluate sources and transformations of nitrate in the West Lake watershed, eastern China. *Journal of Contaminant Hydrology*, 177-178: 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2015.02.008>
- JUNK, G.; SVEC, H.J. 1958. The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 14(3): 234-243. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(58\)90082-6](https://doi.org/10.1016/0016-7037(58)90082-6)
- JURADO, A.; BORGES, A.V.; BROUYÈRE, S. 2017. Dynamics and emissions of N<sub>2</sub>O in groundwater: A review. *Science of the Total Environment*, 584-585: 207-218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.127>
- KENDALL, C. 1998. Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. In: C. Kendall & J.J. McDonne (ed.) *Isotope tracers in catchment hydrology*, Amsterdam, Elsevier Science, p. 519-576. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-81546-0.50023-9>
- KENDALL, C.; ARAVENA, R. 2000. Nitrate isotopes in groundwater systems. In: P. Cook & A.L. Herczeg (ed.) *Environmental tracers in subsurface hydrology*, Boston, Springer Science + Business Media, p. 261-297. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4557-6\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4557-6_9)
- KENDALL, C.; ELLIOTT, E.M.; WANKEL, S.D. 2007. Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems. In: R.H. Michener & K. Lajtha (ed.) *Stable isotopes in ecology and environmental science*, 2<sup>a</sup> ed., Hoboken, Blackwell Publishing, p. 375-449. <https://doi.org/10.1002/9780470691854.ch12>
- KLOPPMANN, W.; CHIKUREL, H.; PICOT, G.; GUTTMAN, J.; PETTENATI, M.; AHARONI, A.; GUERROT, C.; MILLOT, R.; GAUS, I.; WINTGENS, T. 2009. B and Li isotopes as intrinsic tracers for injection tests in aquifer storage and recovery systems. *Applied Geochemistry*, 24(7): 1214-1223. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.03.006>
- KNÖLLER, K.; TRETTIN, R.; STRAUCH, G. 2005. Sulphur cycling in the drinking water catchment area of Torgau–Mockritz (Germany): Insights from hydrochemical and stable isotope investigations. *Hydrological Processes* 19(17): 3445-3465. <https://doi.org/10.1002/hyp.5980>
- KOHL, D.H.; SHEARER, G.B.; COMMONER, B. 1971. Fertilizer nitrogen: Contribution to nitrate in surface water in a corn belt watershed. *Science*, 174(4016): 1331-1334. <https://doi.org/10.1126/science.174.4016.1331>
- KOLLE, W.; STREBEL, O.; BÖETTCHE, J. 1985. Formation of sulfate by microbial denitrification in a reducing aquifer. *Water Supply*, 3(1): 35-40.
- KOMOR, S.C. 1997. Boron contents and isotopic compositions of hog manure, selected fertilizers, and water in Minnesota. *Journal of Environment Quality*, 26(5): 1212-1222. <https://doi.org/10.2134/jeq1997.00472425002600050004x>
- KOROM, S.F. 1992. Natural denitrification in the saturated zone: A review. *Water Resources Research*, 28(6): 1657-1668. <https://doi.org/10.1029/92WR00252>
- KRAFT, B.; TEGETMEYER, H.E.; SHARMA, R.; KLOTZ, M.G.; FERDELMAN, T.G.; HETTICH, R.L.; GEELHOED, J.S.; STROUS, M. 2014. The environmental controls that govern the end product of bacterial nitrate respiration. *Science*, 345(6197): 676-679. <https://doi.org/10.1126/science.1254070>
- KREITLER, C.W. 1974. *Determining the source of nitrate in ground water by nitrogen isotope studies*. Department of Geological Sciences, University of Texas, Austin, Tese de Doutorado, 155 p.
- KROOPNICK, P.; CRAIG, H. 1972. Atmospheric oxygen: Isotopic composition and solubility fractionation. *Science*, 175(4017): 54-55. <https://doi.org/10.1126/science.175.4017.54>



- KROUSE, H.R.; MAYER, B. 2000. Sulphur and oxygen isotopes in sulphate. In: P.G. Cook & A.L. Herczeg (ed.) *Environmental tracers in subsurface hydrology*, Boston, Springer, p. 195-231. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4557-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4557-6_7)
- KUENEN, J.G. 2008. Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature Reviews Microbiology*, 6: 320-326. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1857>
- LAPWORTH, D.J.; NKHUWA, D.C.W.; OKOTTO-OKOTTO, J.; PEDLEY, S.; STUART, M.E.; TIJANI, M.N.; WRIGHT, J. 2017. Urban groundwater quality in sub-Saharan Africa: Current status and implications for water security and public health. *Hydrogeology Journal*, 25:1093-1116. <https://doi.org/10.1007/s10040-016-1516-6>
- LEITE, C.M.C. 2019. *Traçadores ambientais como ferramentas de identificação da origem e idade das águas subterrâneas do sistema de abastecimento público no município de São Carlos*. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Tese de Doutorado, 223 p. <https://doi.org/10.11606/T.18.2020.tde-13022020-171557>
- LI, S.L.; LIU, C.Q.; LANG, Y.C.; ZHAO, Z.Q.; ZHOU, Z.H. 2010. Tracing the sources of nitrate in karstic groundwater in Zunyi, Southwest China: a combined nitrogen isotope and water chemistry approach. *Environmental Earth Sciences*, 60: 1415-1423. <https://doi.org/10.1007/s12665-009-0277-0>
- LI, X.D.; MASUDA, H.; KOBAYASHI, K.; ZENG, H. 2007. Nitrogen isotope study on nitrate contaminated groundwater in the Sichuan Basin, China. *Water, Air, and Soil Pollution*, 178: 145-156. <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9186-y>
- LIMA, J.C. 2008. *Avaliação da concentração de nitrato nas águas subterrâneas do Bairro do Farol, em Maceió, Alagoas*. Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Dissertação de Mestrado, 95 p.
- LIU, C.Q.; LI, S.L.; LANG, Y.C.; XIAO, H.Y. 2006. Using  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  values to identify nitrate sources in karst ground water, Guiyang, Southwest China. *Environmental Science and Technology*, 40(22): 6928-6933. <https://doi.org/10.1021/es0610129>
- LUVIZOTTO, D.M. 2013. *Transformações do nitrogênio e diversidade de Planctomycetes em sedimentos de manguezais*. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Tese de Doutorado, 107 p.
- MA, G.; WANG, Y.; BAO, X.; HU, Y.; LIU, Y.; HE, L.; WANG, T.; MENG, F. 2015. Nitrogen pollution characteristics and source analysis using the stable isotope tracing method in Ashi River, northeast China. *Environmental Earth Sciences*, 73: 4831-4839. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3786-4>
- MACFARLANE, D.S.; CHERRY, J.A.; GILLHAM, R.W.; SUDICKY, E.A. 1983. Migration of contaminants in groundwater at a landfill: A case study: 1. Groundwater flow and plume delineation. *Journal of Hydrology*, 63(1-2): 1-29. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(83\)90221-4](https://doi.org/10.1016/0022-1694(83)90221-4)
- MANASSARAM, D.M.; BACKER, L.C.; MOLL, D.M. 2006. A review of nitrates in drinking water: Maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 114(3): 320-327. <https://doi.org/10.1289/ehp.8407>
- MARIOTTI, A. 1986. La dénitrification dans les eaux souterraines, principes et méthodes de son identification: Une revue (Denitrification in groundwaters, principles and methods for its identification: A review). *Journal of Hydrology*, 88: 1-23. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(86\)90194-0](https://doi.org/10.1016/0022-1694(86)90194-0)
- MARIOTTI, A.; GERMON, J.C.; HUBERT, P.; KAISER, P.; LETOLLE, R.; TARDIEUX, A.; TARDIEUX, P. 1981. Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: Some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes. *Plant and Soil*, 62: 413-430. <https://doi.org/10.1007/BF02374138>
- MARTÍNEZ, D.; MOSCHIONE, E.; BOCANEGRA, E.; GLOK GALLI, M.; ARAVENA, R. 2014. Distribution and origin of nitrate in groundwater in an urban and suburban aquifer in Mar del Plata, Argentina.



- Environmental Earth Sciences*, 72: 1877-1886. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3096-x>
- MAYER, B.; BOLLWERK, S.M.; MANSFELDT, T.; HÜTTER, B.; VEIZER, J. 2001. The oxygen isotopic composition of nitrate generated by nitrification in acid forest floors. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65(16): 2743-2756. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00612-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00612-3)
- MELO, J.G.; QUEIROZ, M.A.; HUNZIKER, J. 1998. Mecanismos e fontes de contaminação das águas subterrâneas de Natal/RN por nitrato. In: ABAS, CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS, 10, Natal, *Anais*: 1-8 (CD-ROM). Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22293>
- MENGIS, M.; SCHIFF, S.L.; HARRIS, M.; ENGLISH, M.C.; ARAVENA, R.; ELGOOD, R.J.; MACLEAN, A. 1999. Multiple geochemical and isotopic approaches for assessing ground water NO<sub>3</sub><sup>-</sup> elimination in riparian zone. *Ground Water*, 37(3): 448-457. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1999.tb01124.x>
- MOHAMMADZADEH, H.; CLARK, I.D.; ARAVENA, R.; BOURBONNAIS, A.; LUE, I.; MIDDLESTEAD, P. 2006. Isotopic analysis of ammonium ( $\delta^{15}\text{N}$ ), Nitrate ( $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) and dissolved carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) in landfill leachate plume. In: AAS, INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2, Houston, *Proceedings*: 145-150.
- MONTANHEIRO, F.; CHANG, H.K. 2016. Nitrato no Aquífero Adamantina: O caso do município de Monte Azul Paulista. *Revista do Instituto Geológico*, 37(2): 25-44. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-929X.20160007>
- MOORE, K.B.; EKWURZEL, B.; ESSER, B.K.; HUDSON, G.B.; MORAN, J.E. 2006. Sources of groundwater nitrate revealed using residence time and isotope methods. *Applied Geochemistry*, 21(6): 1016-1029. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.03.008>
- MULDER, A.; VAN DE GRAAF, A.A.; ROBERTSON, L.A.; KUENEN, J.G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology and Ecology*, 16(3): 177-183. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1995.tb00281.x>
- MURGULET, D.; TICK, G.R. 2013. Understanding the sources and fate of nitrate in a highly developed aquifer system. *Journal of Contaminant Hydrology*, 155: 69-81. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2013.09.004>
- NAVARRO, A.; CARBONELL, M. 2007. Evaluation of groundwater contamination beneath an urban environment: The Besòs river basin (Barcelona, Spain). *Journal of Environmental Management*, 85(2): 259-269. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.08.021>
- NÉGREL, P.; PETELET-GIRAUD, E.; WIDORY, D. 2004. Strontium isotope geochemistry of alluvial groundwater: A tracer for groundwater resources characterization. *Hydrology and Earth System Sciences*, 8(5): 959-972. <https://doi.org/10.5194/hess-8-959-2004>
- NIKOLENKO, O.; JURADO, A.; BORGES, A.V.; KNÖLLER, K.; BROUYÈRE, S. 2018. Isotopic composition of nitrogen species in groundwater under agricultural areas: A review. *Science of the Total Environment*, 621: 1415-1432. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.086>
- NISI, B.; RACO, B.; DOTSIKA, E. 2014. Groundwater contamination studies by environmental isotopes: A review. In: A. Scozzari & E. Dotsika (ed.) *Threats to the quality of groundwater resources. The handbook of environmental chemistry*, Berlin, Springer, p. 115-150. [https://doi.org/10.1007/698\\_2014\\_281](https://doi.org/10.1007/698_2014_281)
- NOMMIK, H.; VAHTRAS, K. 1982. Retention and fixation of ammonium and ammonia in soils. In: F.J. Stevenson; J.M. Bremmer; R.D., D.R. Hauck (ed.) *Nitrogen in agricultural soils*, Wisconsin, American Society of Agronomy Inc., p. 123-166. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr22.c4>
- NORTH, J.C.; FREW, R.D.; PEAKE, B.M. 2004. The use of carbon and nitrogen isotope ratios to identify landfill leachate contamination: Green Island landfill, Dunedin, New

- Zealand. *Environment International*, 30 (2004) 631-637. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.12.006>
- ORTÍ F.; PÉREZ-LÓPEZ, A; GARCÍA-VEIGAS, J.; ROSELL, L.; CENDÓN, D.I.; PÉREZ-VALERA, F. 2014. Sulfate isotope compositions ( $\delta^{34}\text{S}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ) and strontium isotopic ratios ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) of Triassic evaporites in the Betic cordillera (SE Spain). *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 27(1): 79-89.
- OTERO, N.; CANALS, S.A.; SOLER, A. 2007. Using dual-isotope data to trace the origin and processes of dissolved sulphate: A case study in Calders stream (Llobregat basin, Spain). *Aquatic Geochemistry*, 13: 109-126. <https://doi.org/10.1007/s10498-007-9010-3>
- OTERO, N.; SOLER, A.; CANALS, A. 2008. Controls of  $\delta^{34}\text{S}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  in dissolved sulphate: Learning from a detailed survey in the Llobregat River (Spain). *Applied Geochemistry*, 23(5): 1166-1185. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.11.009>
- OTERO, N.; TORRENTÓ, C.; SOLER, A.; MENCÍO, A.; MAS-PLA, J. 2009. Monitoring groundwater nitrate attenuation in a regional system coupling hydrogeology with multi-isotopic methods: The case of Plana de Vic (Osona, Spain). *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 133(1-2): 103-113. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.05.007>
- OUEDRAOGO, I; DEFOURNY, P.; VANCLOOSTER, M. 2016. Mapping the groundwater vulnerability for pollution at the pan African scale. *Science of the Total Environment*, 544: 939-953. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.135>
- PAUWELS, H.; AYRAUD-VERGNAUD, V.; AQUILINA, L.; MOLÉNAT, J. 2010. The fate of nitrogen and sulfur in hard-rock aquifers as shown by sulfate-isotope tracing. *Applied Geochemistry*, 25: 105-115. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.apgeochem.2009.11.001>
- PEDERSEN, J.; BJERG, P.; CHRISTENSEN, T. 1991. Correlation of nitrate profiles with groundwater and sediment characteristics in a shallow sandy aquifer. *Journal of Hydrology*, 124(3-4): 263-277. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(91\)90018-D](https://doi.org/10.1016/0022-1694(91)90018-D)
- PEIXOTO, F.S. 2020. Groundwater contamination risk mapping in urban watershed. *Mercator*, 19: 1-18. <https://doi.org/10.4215/rm2020.e19013>
- PENNINO, M.J.; COMPTON, J.E; LEIBOWITZ, S.G. 2017. Trends in drinking water nitrate violations across the United States. *Environmental Science and Technology*, 51: 13450-13460. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.7b04269>
- PETELET-GIRAUD, E.; KLAVER, G.; NÉGREL, P. 2009. Natural versus anthropogenic sources in the surface- and groundwater dissolved load of the Dommel river (Meuse basin): Constraints by boron and strontium isotopes and gadolinium anomaly. *Journal of Hydrology*, 369(3-4): 336-349. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.02.029>
- PSP/SEMARH/SERVMAR – PROGRAMA DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E CONVIVÊNCIA COM O SEMIÁRIDO POTIGUAR/ SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS HÍDRICOS DO RIO GRANDE DO NORTE/ SERVMAR SERVIÇOS TÉCNICOS AMBIENTAIS LTDA. 2012. *Estudos hidrogeológicos para a orientação do manejo das águas subterrâneas do Litoral Norte e Sul da Região Metropolitana de Natal (Blocos Litoral Norte e Sul)*. PSP/SEMARH/SERVMAR, Natal, 4 v. (Relatório Técnico).
- PUIG, R.; FOLCH, A.; MENCÍO, A.; SOLER, A.; MAS-PLA, J. 2013. Multi-isotopic study ( $^{15}\text{N}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) to identify processes affecting nitrate and sulfate in response to local and regional groundwater mixing in a large-scale flow system. *Applied Geochemistry*, 32: 129-141. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2012.10.014>
- REDDY, K.R.; PATRIC, W.H.; BROADBENT, F.E. 1981. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 13(4): 273-309.
- REYNOLDS-VARGAS, J.; FRAILE-MERINO, J.; HIRATA, R. 2006. Trends in nitrate

- concentrations and determination of its origin using stable isotopes ( $^{18}\text{O}$  and  $^{15}\text{N}$ ) in groundwater of the western Central Valley, Costa Rica. *Ambio: A Journal of the Human Environment*, 35(5): 229-236. <https://doi.org/10.1579/05-R-046R1.1>
- ROBERTSON, W.D.; MOORE, T.A.; SPOELSTRA, J.; LI, L.; ELGOOD, R.J.; CLARK, I.D.; SCHIFF, S.L.; ARAVENA, R.; NEUFELD, J.D. 2012. Natural attenuation of septic system nitrogen by anammox. *Groundwater*, 50(4): 541-553. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2011.00857.x>
- ROBINSON, D. 2001.  $\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(3): 153-162. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02098-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02098-X)
- RÜTTING, T.; BOECKX, P.; MÜLLER, C.; KLEMEDTSSON, L. 2011. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle. *Biogeosciences*, 8(7): 1779-1791. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1779-2011>
- SHARP, Z. 2007. *Principles of stable isotope geochemistry*. Upper Saddle River, Pearson Prentice Hal, 344 p.
- SOLER, A.; CANALS, A.; GOLDSTEIN, S.L.; OTERO, N.; ANTICH, N.; SPANGENBERG, J. 2002. Sulfur and strontium isotope composition of the Llobregat River (NE Spain): Tracers of natural and anthropogenic chemicals in stream waters. *Water, Air and Soil Pollution*, 136: 207-224. <https://doi.org/10.1023/A:1015231810548>
- STEVENS, R.J.; LAUGHLIN, R.J.; BURNS, L.C.; ARAH, J.R.M.; HOOD, R.C. 1997. Measuring the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from soil. *Soil, Biology and Biochemistry*, 29(2): 139-151. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00303-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00303-3)
- STRADIOTO, M.R.; TERAMOTO, E.H.; CHANG, H.K. 2019. Nitrato em águas subterrâneas do Estado de São Paulo. *Revista do Instituto Geológico*, 40(3): 1-12. <http://dx.doi.org/10.33958/revig.v40i3.672>
- SUHOGUSOFF, A.V. 2010. *Minimização de impactos nos recursos hídricos causados por sistemas de saneamento in situ: Estudo piloto em Parelheiros - São Paulo (SP)*. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 119 p + anexos.
- SUHOGUSOFF, A.V.; HIRATA, R.; FERRARI, L.C.K.M. 2013. Water quality and risk assessment of dug wells: A case study for a poor community in the city of São Paulo, Brazil. *Environmental Earth Sciences*, 68: 899-910. <https://doi.org/10.1007%2Fs12665-012-1971-x>
- SUHOGUSOFF, A.V.; HIRATA, R.; FERRARI, L.C.K.M.; ROBERTSON, W.D.; STIMSON, J.; FORBES, D.; BLOWES, D. 2019. Field performance of two on-site wastewater treatment systems using reactive media layers for nutrient and pathogen removal. *Journal of Water Process Engineering*, 32: 100905. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100905>
- TORRES-MARTÍNEZ, J.A.; MORA, A.; KNAPPETT, P.S.K.; ORNELAS-SOTO, N.; MAHLKNECHT, J. 2020. Tracking nitrate and sulfate sources in groundwater of an urbanized valley using a multi-tracer approach combined with a Bayesian isotope mixing model. *Water Research*, 182: 115962. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115962>
- TORRES-MARTÍNEZ, J.A.; MORA, A.; MAHLKNECHT, J.; DAESSLÉ, L.W.; CERVANTES-AVILÉS, P.A.; LEDESMA-RUIZ, R. 2021. Estimation of nitrate pollution sources and transformations in groundwater of an intensive livestock-agricultural area (Comarca Lagunera), combining major ions, stable isotopes and MixSIAR model. *Environmental Pollution*, 269: 115445. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115445>
- UMEZAWA, Y.; HOSONO, T.; ONODERA, S.; SIRIGAN, F.; BUAPENG, S.; DELINOM, R.; YOSHIMIZU, C.; TAYASU, I.; NAGATA, T.; TANIGUCHI, M. 2008. Sources of nitrate and ammonium contamination in ground water under developing Asian megacities. *Science of the Total Environment*, 404(2-3): 361-376. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.04.021>

- UNESCO–UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION. 2009. *The United Nations World water development. Report 3: Water in a changing world*. Paris, UNESCO, 349 p. (Relatório Técnico). Disponível em: <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/water/wwap/wwdr/wwdr3-2009/downloads-wwdr3/>
- URRESTI-ESTALA, B.; VADILLO-PÉREZ, I.; JIMÉNEZ-GAVILÁN, P.; SOLER, A.; SÁNCHEZ-GARCÍA, D.; CARRASCO-CANTOS, F. 2015. Application of stable isotopes ( $\delta^{34}\text{S-SO}_4$ ,  $\delta^{18}\text{O-SO}_4$ ,  $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ ,  $\delta^{18}\text{O-NO}_3$ ) to determine natural background and contamination sources in the Guadalhorce River Basin (southern Spain). *Science of the Total Environment*, 506–507: 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.090>
- URRUTIA BUSTOS, A.U.; ARAVENA, R. 2011.  $^{15}\text{N}$  characterization of landfill nitrogen and its application to fingerprint landfill-leachate in contaminated groundwater and surface water. In: ABAS, CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEIO AMBIENTE SUBTERRÂNEO, 2, São Paulo, *Anais*: 1-4. Disponível em <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/28185>. Acessado em 14 jul. 2021.
- USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1995. *Drinking water regulations and health advisors*. Disponível em <http://www.epa.gov>. Acessado em 12 jul. 2021.
- USSIRI, D.A.N.; LAL, R. 2013. Formation and release of nitrous oxide from terrestrial and aquatic ecosystems. In: *Soil emission of nitrous oxide and its mitigation*. Dordrecht, Springer Science + Business Media, p. 63-96. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5364-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5364-8_3)
- VARNIER, C.L. 2007. *Avaliação da contaminação de uma fossa negra desativada na zona não-saturada do Aquífero Adamantina em Urânia (SP)*. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 144 p. <https://doi.org/10.11606/T.44.2007.tde-29062007-095438>
- VARNIER, C.; IRITANI, M.A.; VIOTTI, M.; ODA, G.H.; FERREIRA, L.M.R. 2010. Nitrato nas águas subterrâneas do Sistema Aquífero Bauru, área urbana do município de Marília (SP). *Revista do Instituto Geológico*, 31(1-2): 1-21. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-929X.20100001>
- VARNIER, C.; IRITANI, M.; ODA, G.; FERREIRA, L.; HIRATA, R.; ARAVENA, R.; PROCEL, S. 2013. Land urban occupation and groundwater contamination by nitrate: A complex relationship in the mid-western region of the São Paulo State (Brazil). In: IAH, INTERNATIONAL ASSOCIATION OF HYDROGEOLOGISTS CONGRESS, 40, Perth, *Proceedings*: 222.
- VARNIER, C.; HIRATA, R.; ARAVENA, R. 2017. Examining nitrogen dynamics in the unsaturated zone under an inactive cesspit using chemical tracers and environmental isotopes. *Applied Geochemistry*, 78: 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2016.12.022>
- VARNIER, C.; ROCHA, G.A.; CAMPOS, J.E.; ALBUQUERQUE FILHO, J.L.; SIMONATO, M.; HIRATA, R. 2019. *Nitrato nas águas subterrâneas: desafios frente ao panorama atual*. São Paulo, SIMA/IG, 99 p.
- VENGOSH, A.; HEUMANN, K.G.; JURASKE, S.; KASHER, R. 1994. Boron isotope application for tracing sources of contamination in groundwater. *Environmental Science and Technology*, 28(11): 1968-1974. <https://doi.org/10.1021/es00060a030>
- VENGOSH, A.; KOLODNY, Y.; SPIVACK, A.J. 1998. Ground-water pollution determined by boron isotope systematics. In: IAEA (ed.) *Application of isotope techniques to investigate groundwater pollution*, Vienna, IAEA, p. 17-38.
- VIEIRA, R.F. 2017. *Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas*. Embrapa, Brasília, 163 p.
- VILLARREAL, J.P.; OLIVERA, J.A.A.; ALCÁNTARA, I.I.; DELGADO, O.B. 2019. Nitrate as a parameter for differentiating groundwater flow systems in urban and agricultural areas: The case of Morelia-Capula area, Mexico. *Hydrogeology Journal*, 27:1767-1778. <https://doi.org/10.1007/s10040-019-01933-0>



- VITÒRIA, L.; OTERO, N.; SOLER, A. 2004. Fertilizer characterization: isotopic data (N, S, O, C and Sr). *Environmental Science and Technology*, 38(12): 3254-3262. <https://doi.org/10.1021/es0348187>
- VITÒRIA, 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). *Applied Geochemistry*, 23(12): 3597-3611. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.07.018>
- VIVIANI-LIMA, J.B. 2007. *Estimativa de recarga em áreas urbanizadas: Estudo de caso na bacia do Alto Tietê (SP)*. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 220 p.
- VLEK, P.L.G.; STUMPE, J.M. 1978. Effect of solution chemistry and environmental conditions on ammonia volatilization losses from aqueous systems. *Soil Science Society of America Journal*, 42: 416-421. <https://doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030036x>
- VOGEL, J.C.; EHHALT, D.H. 1963. The use of carbon isotopes in groundwater studies. In: IAEA (ed.) *Radioisotopes in Hydrology*, Vienna, IAEA, p. 383-395.
- VRBA, J. 2008. Human impact on groundwater quality. In: J. Vrba & B. Adams (ed.). *Groundwater early warning monitoring strategy: A methodological guide*. Paris, UNESCO, p. 20-32.
- VYSTAVNA, Y.; DIADIN, D.; YAKOVLEV, V.; HEJZLAR, J.; VADILLO, I.; HUNEAU, F.; LEHMANN, M.F. 2017. Nitrate contamination in a shallow urban aquifer in East Ukraine: Evidence from hydrochemical, stable isotopes of nitrate and land use analysis. *Environmental Earth Sciences*, 76: 463. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6796-1>
- WAHLEN, M.; YOSHINARI, T. 1985. Oxygen isotope ratios in N<sub>2</sub>O from different environments. *Nature*, 313: 780-782. <https://doi.org/10.1038/313780a0>
- WAKIDA, F.T.; LERNER, D.N. 2005. Non-agricultural sources of groundwater nitrate: A review and case study. *Water Research*, 39(1): 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.07.026>
- WANG, H.; ZHANG, Q. 2019. Research advances in identifying sulfate contamination sources of water environment by using stable isotopes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(11): 1914. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111914>
- WANG S.; TANG C.; SONG, X.; YUAN, R.; WANG, Q.; ZHANG, Y. 2013. Using major ions and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$  to identify nitrate sources and fate in an alluvial aquifer of the Baiyangdian lake watershed, North China Plain. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 15: 1430-1443. <https://doi.org/10.1039/C3EM00058C>
- WASSENAAR, L.I. 1995. Evaluation of the origin and fate of nitrate in the Abbotsford Aquifer using the isotopes of <sup>15</sup>N and <sup>18</sup>O in nitrate. *Applied Geochemistry*, 10(4): 391-405. [https://doi.org/10.1016/0883-2927\(95\)00013-A](https://doi.org/10.1016/0883-2927(95)00013-A)
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2011. *Guidelines for drinking-water quality*. Disponível em [http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151\\_eng.pdf?ua¼1](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf?ua¼1). Acessado em 12 jul. 2021.
- WIDORY, D.; KLOPPMANN, W.; CHERY, L.; BONNIN, J.; ROCHDI, H.; GUINAMANT, J.L. 2004. Nitrate in groundwater: An isotopic multi-tracer approach. *Journal of Contaminant Hydrology*, 72(1-4): 165-188. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2003.10.010>
- WIDORY, D., PETELET-GIRAUD, E., NÉGREL, P., LADOUCHE, B. 2005. Tracking the sources of nitrate in groundwater using coupled nitrogen and boron isotopes: A synthesis. *Environmental Science and Technology*, 39(2): 539-548. <https://doi.org/10.1021/es0493897>
- WIDORY, D.; PETELET-GIRAUD, E.; BRENOT, A.; BRONDERS, J.; TIREZ, K.; BOECKX, P. 2013. Improving the management of nitrate pollution in water by the use of



- isotope monitoring: the  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{11}\text{B}$  triptych. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 49(1): 29-47. <https://doi.org/10.1080/10256016.2012.666540>
- WONG, W.W.; GRACE, M.R.; CARTWRIGHT, I.; COOK, P.L.M. 2015. Unravelling the origin and fate of nitrate in an agricultural-urban coastal aquifer. *Biogeochemistry*, 122: 343-360. <https://doi.org/10.1007/s10533-014-0045-4>
- XU, S.; KANG, P.; SUN, Y. 2016. A stable isotope approach and its application for identifying nitrate source and transformation process in water. *Environmental Science and Pollution Research*, 23:1133-1148. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5309-6>
- XUE, D.M.; BOTTE, J.; DE BAETS, B.; ACCOE, F.; NESTLER, A.; TAYLOR, P.; VAN CLEEMPUT, O.; BERGLUND, M.; BOECKX, P. 2009. Present limitations and future prospects of stable isotope methods for nitrate source identification in surface- and groundwater. *Water Research*, 43(5): 1159-1170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.12.048>
- YAN, B.; XIAO, C.; LIANG, X.; FANG, Z. 2016. Impacts of urban land use on nitrate contamination in groundwater, Jilin City, Northeast China. *Arabian Journal of Geosciences*, 9: 105. <https://doi.org/10.1007/s12517-015-2052-8>
- YANG, Y.Y.; TOOR, G.S. 2016.  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  Reveal the Sources of nitrate-nitrogen in urban residential stormwater runoff. *Environmental Science and Technology*, 50(6): 2881-2889. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b05353>
- ZEHR, J.P.; JENKINS, B.D.; SHORT, S.M.; STEWARD, G.F. 2003. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environmental Biology*, 5(7): 539-554. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00451.x>
- ZENDEHBAD, M.; CEPUDER, P.; LOISKANDL, W.; STUMPP, C. 2019. Source identification of nitrate contamination in the urban aquifer of Mashhad, Iran. *Journal of Hydrology: Regional Studies*, 25: 100618. <https://doi.org/10.1016/j.ejrh.2019.100618>
- ZHANG, Q.; SUN, J.; LIU, J. HUANG, G.; LU, C.; ZHANG, Y. 2015. Driving mechanism and sources of groundwater nitrate contamination in the rapidly urbanized region of south China. *Journal of Contaminant Hydrology*, 182: 221-230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconhyd.2015.09.009>

*Endereço dos autores:*

Claudia Varnier – Instituto Geológico, Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, Rua Joaquim Távora, 822, CEP 04015-011, São Paulo, SP, Brasil. *E-mail:* claudia.varnier@sp.gov.br

Alexandra Vieira Suhogusoff e Ricardo Hirata – Centro de Pesquisas de Águas Subterrâneas (CEPAS|USP), Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, Rua do Lago, 562, Cidade Universitária, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil. *E-mails:* suhogusoff@usp.br, rhirata@usp.br

Ramón Aravena – Department of Earth and Environmental Sciences, University of Waterloo, 200 University Avenue West, N2L3G1, Waterloo, Canada. *E-mail:* roaravena@uwaterloo.ca

*Artigo submetido em 15 de abril de 2021, aceito em 24 de junho de 2021.*