

Frakcjonowanie trwałych izotopów azotu w obiegu naturalnym — implikacje dla badań zanieczyszczeń wód podziemnych

Paweł M. Leśniak*



Stable isotope fractionation of nitrogen in the natural cycle — implication for the studies of groundwater pollution. Prz. Geol., 54: 594–596.

Summary. Changes of the $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic composition in the natural nitrogen cycle have been described. As the nitrogen natural cycle is heavily perturbed by humans, one of the isotopic method of identification of manures and fertilizers in groundwaters is provided.

Key words: nitrate, isotopes, nitrogen cycle, pollution

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie możliwości wykorzystania trwałych izotopów azotu w szeroko pojętych badaniach ochrony wód. Przedstawiono uogólniony obieg azotu w przyrodzie ze szczególnym uwzględnieniem naturalnych zmian składu izotopowego i tych wymuszonych przez człowieka. Należy mieć nadzieję, że również w Polsce badania składu izotopowego azotu posłużą do wykrywania źródeł zanieczyszczeń i identyfikacji procesów modyfikujących związki azotowe.

Trwale izotopy azotu

W przyrodzie występują dwa trwałe izotopy azotu: ^{14}N (99,63%) i ^{15}N (0,37%). Skład izotopowy związków azotu mierzy się za pomocą spektrometru masowego do którego azot wprowadza się w postaci gazowej. Konieczne jest więc poddanie związków azotu preparatyce chemicznej tak, aby dany związek azotu występujący w próbce (np. NO_3^-) został zamieniony w azot gazowy o składzie izotopowym reprezentatywnym dla próbki. Wyniki są przedstawiane jako wartości w odniesieniu do międzynarodowego wzorca, którym jest azot atmosferyczny:

$$\delta(\text{‰}) = \left(\frac{R_p}{R_w} - 1 \right) \cdot 10^3 \quad [1]$$

gdzie: R_p jest stosunkiem izotopów $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ w próbce, a R_w jest wzorcem (N_2 -AIR), którego dystrybucję prowadzi Międzynarodowa Agencja Atomowa w Wiedniu.

Współczynnik frakcjonowania izotopowego zdefiniowany jest jako:

$$\alpha = \frac{R_a}{R_b} \quad [2]$$

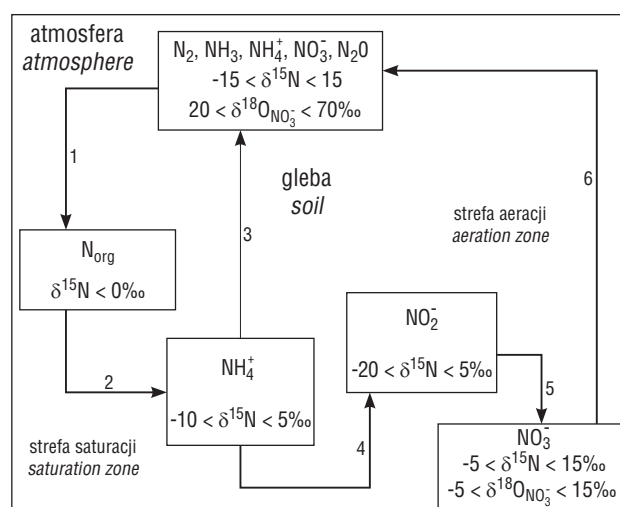
gdzie: R_a i R_b w przypadku azotu są stosunkami izotopów $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ w a i b, np. NO_3^- i N_2 . Współczynnik frakcjonowania izotopowego jest miarą różnicowania izotopowego zachodzącego w procesach fizycznych lub reakcjach chemicznych. W przypadku związków azotu są to zwykle reakcje kinetyczne, nie zaś równowagowe. Lekki izotop jest zawsze preferowany przez enzymy bakteryjne prowadzące reakcje chemiczne, stąd substrat takich

reakcji enzymatycznych jest zawsze wzbogacony w ciężki izotop ($\delta^{15}\text{N}$), a produkt zubożony w ciężki izotop.

Często współczynnik frakcjonowania izotopowego jest zastępowany przez frakcjonowanie Δ wyrażane w promilach, będące różnicą wartości $\delta(\text{‰})$ dwóch składników, np. NO_3^- i N_2 uczestniczących w procesie.

Związki azotu w przyrodzie występują na wielu stopniach utlenienia od -3 w NH_4 do +5 w NO_3^- , co powoduje, że wielkość frakcjonowania izotopowego jest znacząca. Obok składu izotopowego azotu ($\delta^{15}\text{N}$) mierzonego w związkach azotu istnieje możliwość poznania składu izotopowego tlenu ($\delta^{18}\text{O}$) w azotanach, co umożliwia bardziej wszechstronną interpretację i zrozumienie skąd pochodzą związki azotu i jakim procesom podporządkowane były zmiany ich składu izotopowego. Skład izotopowy rozszerza zatem w znacznej mierze informacje otrzymane dzięki pomiarom stężeń związków azotu w wodach (Kendall, 1999).

Jak wynika z tab. 1, głównym zbiornikiem azotu na Ziemi jest atmosfera. Inne zbiorniki azotu są o kilka rzędów wielkości mniej zasobne, ale średni skład izotopowy azotu głównych zbiorników nie odzwierciedla znacznie większego różnicowania izotopowego występującego w różnych indywidualach chemicznych w obrębie zbiorników (ryc. 1).



Ryc. 1. Uproszczony schemat obiegu azotu i składów izotopowych azotu i tlenu

Fig. 1. Simplified scheme of nitrogen cycle and resulting isotopic composition

*Instytut Nauk Geologicznych, Polska Akademia Nauk, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa; lesniak@twarda.pan.pl

Tab. 1. Zasobność i skład izotopowy azotu głównych zbiorników azotu na Ziemi

Tab. 1. Abundance and isotope composition of main nitrogen pools in the Earth

Zbiornik <i>reservoir</i>	N(g)	(%)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Atmosfera <i>atmosphere</i>	$4 \cdot 10^{21}$	90	0
Ocean <i>ocean</i>	$3 \cdot 10^{19}$	<1	5
Gleby (organiczny azot) <i>soil (organic nitrogen)</i>	10^7	<1	-4 do 2
Biosfera <i>biosphere</i>	10^{15}	<1	-2 do 2

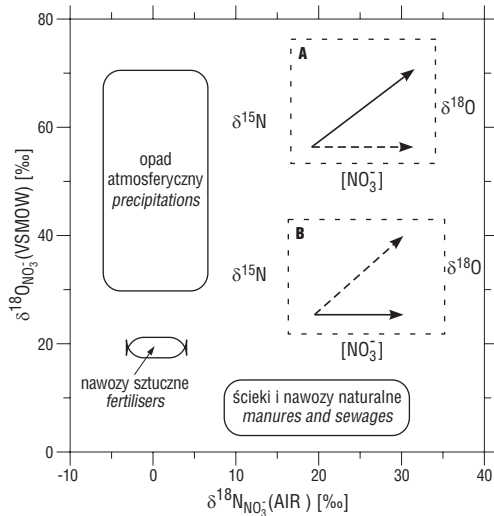
Obieg związków azotu w przyrodzie oraz frakcjonowanie izotopów azotu i tlenu

Podstawowe procesy przemiany związków azotu i towarzyszące im zmiany składu izotopowego (ryc. 1) odbywają się w glebie i płytkich warstwach wodonośnych. Wody podziemne strefy aeracji stanowią więc główną drogę przenoszenia związków azotu poprzez etapy nityfikacji i denityfikacji. Bardzo ważnym etapem obiegu azotu jest wiązanie azotu z powietrza przy udziale niektórych bakterii i jego transformacja w amoniak.

W wyniku reakcji wiązania i metabolizmu bakteryjnego:



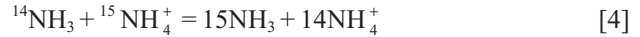
powstaje amoniak, który jest hydrolizowany w środowisku glebowym. Reakcja hydrolizy $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4^+ +$



Ryc. 2. Zakresy składów izotopowych azotu i tlenu w azotanach. Wkładka A pokazuje kierunek ewolucji stężeń i składu izotopowego tlenu i azotu w NO_3^- w procesie mieszania NO_3^- wód podziemnych NO_3^- z pochodzącym z nawozów sztucznych (strzałka przerywana $\delta^{18}\text{O}$, strzałka ciągła $\delta^{15}\text{N}$). Wkładka B pokazuje kierunek ewolucji stężeń i składu izotopowego tlenu i azotu w NO_3^- w procesie mieszania wód NO_3^- podziemnych z NO_3^- pochodzącym ze ścieków (strzałka ciągła — $\delta^{15}\text{N}$, strzałka przerywana — $\delta^{18}\text{O}$)

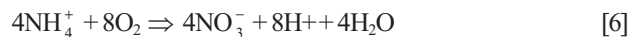
Fig. 2. Range of isotopic compositions of nitrogen and oxygen in nitrates. Insert A shows the direction of changes in concentration and isotopic composition of NO_3^- in the proces of mixing of groundwater NO_3^- with that derived from artificial fertilisers (broken line — $\delta^{18}\text{O}$, continuous line — $\delta^{15}\text{N}$). Insert B indicates the direction of changes in concentration and isotopic composition of NO_3^- in the proces of mixing of groundwater NO_3^- with that derived from manure or sewage (broken line — $\delta^{15}\text{N}$, continuous line — $\delta^{18}\text{O}$)

OH^- jako jedyna z reakcji transformujących związki azotu jest odwracalna i frakcjonowanie izotopowe azotu pomiędzy jodem amonowym, a amoniakiem może osiągać 35‰:



W strefie aeracji część zredukowanego azotu, nie asymilowanego przez rośliny i nie podlegającego nityfikacji trafia wprost do atmosfery jako NH_3 . Przystawanie jonu amonowego przez systemy korzeniowe roślin może powodować wzbogacenie pozostającego w glebie w ciężki izotop azotu ($\delta^{15}\text{N}$) nawet o 13‰ (tab. 2).

Proces nityfikacji polega na utlenieniu amoniaku lub jonu amonowego do jonu azotanowego i odbywa się w dwóch etapach. Frakcjonowanie azotu powoduje zubożenie NO_3^- w ^{15}N do 35‰.



Część azotanów z procesu nityfikacji jest pobierana przez do korzenie roślin. Te same procesy powodują frakcjonowanie tlenu w azotanach (Böttcher i in., 1990). Dwa atomy tlenu w procesie nityfikacji pochodzą z wód gruntowych ($\delta^{18}\text{O} \approx -10\text{‰}$ na obszarze Polski) i jeden z tlenu atmosferycznego ($\delta^{18}\text{O} = 23\text{‰}$). Nityfikacja zgodnie ze wzorami [5] i [6], następuje dwustopniowo, najpierw pod wpływem bakterii utleniających *Nitrosomonas*, a później *Nitrobacter*.

Końcowym etapem, zamykającym cykl obiegu azotu, jest denityfikacja przy udziale bakterii, tj. powstawanie N_2 w słabo napowietrzonych glebach i anaerobowych izolowanych poziomach wodonośnych oraz innych stratyfikowanych ciałach wodnych, jak niektóre jeziora. Przypuszcza się, że denityfikacja bilansowała wiązanie azotu do okresu industrialnego kiedy człowiek zaburzył naturalny obieg azotu. Podczas denityfikacji przy udziale bakterii *Thiobacillus denitrificans* ciężkie izotopy ^{15}N i ^{18}O są wybiórczo zatrzymywane w jonach NO_3^- (NO_2^-) zawartych w wodach podziemnych i powierzchniowych, a frakcjonowanie pomiędzy NO_3^- i N_2 wynosi od 25 do 35‰ (Mariotti i in., 1981), tzn. powstający azot może być zubożony nawet o 35‰ względem początkowego azotanu:

**Tab. 2. Przybliżone wielkości frakcjonowania izotopowego związków azotu**

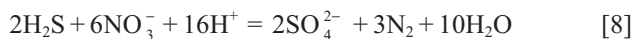
Tab. 2. Approximate isotope fractionation of nitrogen compounds

Proces <i>process</i>	Δ (‰)
Wiązanie <i>fixation</i> : $\text{N}_2 \Rightarrow \text{NH}_4^+$	-3 do 1
Pobieranie: <i>assimilation</i> $\text{NH}_4^+ \Rightarrow$ komórka <i>cell</i>	-13 do 1
Wolatylicacja <i>volatilisation</i> : $\text{NH}_4^+ \Rightarrow \text{NH}_3$	-35*
Amonifikacja <i>manification</i> : komórka <i>cell</i> $\Rightarrow \text{NH}_4^+$	-1
Pobieranie <i>assimilation</i> : $\text{NO}_3^- \Rightarrow$ komórka <i>cell</i>	-23 do -11
Nityfikacja <i>nitrification</i> : $\text{NH}_4^+ \Rightarrow \text{NO}_3^-$	-35 do -12
Denityfikacja <i>denitrification</i> : $\text{NO}_3^- \Rightarrow \text{N}_2$	-35 do -25

*oznacza wartość w stanie równowagi dla 25°C, *is an equilibrium value at 25°C*, frakcjonowanie podano według konwencji: $\Delta = \delta_{\text{produkt}} - \delta_{\text{substrat}}$, dane według różnych autorów, *fractionation is given in terms $\Delta = \delta_{\text{produkt}} - \delta_{\text{substrat}}$, data according to different authors*

W pewnych środowiskach pobieranie polegające na przyswajaniu jonu przez rośliny i ich system korzeniowy jest procesem konkurencyjnym do denitryfikacji (Buzek i in., 1998).

Znane są przykłady, gdy przyroda do redukcji za pośrednictwem bakterii *Thiobacillus denitrificans* wykorzystuje siarczki (Böttcher i in., 1990):



W takich przypadkach modyfikowany będzie także skład siarki w reakcji [8] co stwarza dodatkowe możliwości interpretacji izotopowej jeżeli zostaną zmierzone składy izotopowe H_2S i SO_4^{2-}

Wpływ nawozów naturalnych i ścieków na skład izotopowy azotanów w wodach podziemnych

Wymywanie nawozów sztucznych i ścieków prowadzi do zwiększenia zawartości NO_3^- w wodach podziemnych. Jednakże odróżnienie, na podstawie podwyższonych stężeń NO_3^- , wpływu nawozów sztucznych od ścieków nie jest na ogół możliwe. Takie możliwości oferuje poznanie charakterystycznego składu izotopowego ($\delta^{15}\text{N}$ i $\delta^{18}\text{O}$) azotanów wód podziemnych, nawozów sztucznych i ścieków (ryc. 2). W przypadku ścieków i nawozów naturalnych wartości $\delta^{15}\text{N}$ azotanów wzrastają wraz ze wzrostem stężenia w wodach podziemnych, a wartości $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ pozostają niezmiennie (ryc. 2). Sytuacja jest odwrotna w przypadku powstawania NO_3^- z rozkładu nawozów sztucznych, gdy ze wzrostem stężenia azotanów wartości $\delta^{18}\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ pozostają stałe, a wartości $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3^-}$ wzrastają. W części A pokazano, jak skład izotopowy tlenu i azotu w NO_3^- w wodach podziemnych zmienia się wskutek mieszania z azotanami ze ścieków i nawozów naturalnych: linią ciągłą oznaczono zmiany wartości $\delta^{15}\text{N}$, linią przerywaną $\delta^{18}\text{O}$, (NO_3^-) oznacza stężenie jonu azotanowego. W części B pokazano jak skład izotopowy tlenu i azotu w NO_3^- zmienia się wskutek mieszania z azotanami z nawozów sztucznych: linią ciągłą oznaczono ewolucję wartości $\delta^{15}\text{N}$, linią przerywaną $\delta^{18}\text{O}$.

W ramach projektu PHARE i wdrażania dyrektywy azotanowej EU we współpracy z Ministerstwem Ochrony

Środowiska i Państwowym Instytutem Geologicznym, w Instytucie Nauk Geologicznych PAN zaadaptowano metodę oznaczania składu izotopowego azotu w azotanach i jonie amonowym (Leśniak & Zawidzki, 2005). Zastosowana metoda wykorzystuje metodę redukcji azotanów stopem Devarda do jonu amonowego i jego strącenia jako soli NH_4Cl , a następnie zredukowanie jonu amonowego roztworem bromianu litowego do gazowego azotu, którego skład izotopowy oznaczany jest na spektrometrze masowym Finnigan Delta+.

W obliczu wzrastającego zagrożenia możliwość wskazania źródła zanieczyszczeń azotanami lub jonem amonowym wód podziemnych lub odróżnienia zanieczyszczeń pochodzących z nawozów sztucznych od nawozów naturalnych jest nie do przecenienia.

Niniejsze opracowanie zostało częściowo wsparte grantem przez Ministerstwo Środowiska w ramach zawartej umowy (Analysis of water samples for isotopes of nitrogen under the Twinning Covenant "Water resources protection vis-à-vis agricultural impacts") finansowanej przez projekt PHARE PL 0105.01.

Literatura

- BÖTTCHER J., STREBEL O., VOERKELIUS S. & SCHMIDT H.L. 1992 — Using isotope fractionation of nitrate-nitrogen and nitrate-oxygen for evaluation of microbial denitrification. *Jour. Hydrol.*, 114: 413–424.
- BUZEK F., ČERNÝ J. & PAČES T. 1998 — The behavior of nitrogen isotopes in acidified forest soils in the Czech Republic. *Water, Air and Soil Pollution*, 105: 155–164.
- KENDALL C. 1998 — Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. [In:] Kendall C. & McDonnell J.J. (eds.), *Isotope Tracers in Catchment Hydrology*: Elsevier Science, Amsterdam: 519–576.
- LEŚNIAK P. M. & ZAWIDZKI P. 2005 — Preliminary results of measurements of nitrogen isotope composition ($\delta^{15}\text{N}$) in some fertilizers and manures. VI Międz. Konf. pt. Obieg pierwiastków w przyrodzie ... Inst. Ochr. Środ.
- LETOLLE R. 1980 — Nitrogen-15 in the natural environment. [In:] Fritz P. & Fontes J.C. (eds.), *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry*, v. 1: 407–433. Amsterdam.
- MARIOTTI A., GERMON J.C., HUBERT P., KAISER P., LETOLLE R., TARDIEUX A. & TARDIEUX P. 1981 — Experimental Determination of Nitrogen Kinetic Isotope Fractionation. *Plant Soil.*, 62: 413–430.

Praca wpłynęła do redakcji 05.10.2005 r.
Akceptowano do druku 09.11.2005 r.