

NOVA

Teknisk anvisning for marin overvågning

14 Sediment - ilt og næringsstoffer

**Henrik Fossing, Peter Bondo Christensen,
Tage Dalsgaard & Søren Rysgaard**
Afd. for Sø- og Fjordøkologi

**Miljø- og Energiministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser**

14	Sediment - ilt og næringsstoffer	14-5
14.1	Indledning	14-5
14.2	Formål	14-5
14.3	Kriterier for fastlæggelse af stationer	14-6
14.4	Principper for stofomsætning i havbunden	14-6
14.4.1	Mineralisering af organisk stof	14-7
14.4.2	Næringssaltenes mobilisering	14-8
14.4.2.1	Kvælstof	14-10
14.4.2.2	Fosfor	14-11
14.4.2.3	Silicium	14-12
14.4.3	Jern i sedimentet	14-12
14.4.3.1	Jern og svovlbrinte	14-12
14.4.3.2	Jern og fosfat	14-14
14.4.4	Det Nationale Overvågningsprogram for Vandmiljøet - Sedimentovervågningen	14-14
14.4.4.1	Deponeringen af næringssalte i sedimentet - næringsstofpuljer	14-14
14.4.4.2	Sedimentets svovlbrintebufferkapacitet	14-14
14.4.4.3	Stofomsætning og næringsfluxe af N, P og Si mellem vandsøjlen og havbunden	14-15
14.5	Prøvetagning	14-16
14.5.1	Indsamling, transport og opbevaring af vand og sediment	14-17
14.5.1.1	<i>In situ</i> måling af ilt, temperatur, salinitet og lys	14-18
14.5.1.2	Præinkubation	14-19
14.5.2	Prøvetagningsfrekvens	14-21
14.5.2.1	Næringsstofpuljer (Tabel 14.6)	14-21
14.5.2.2	Svovlbrintebufferkapacitet (Tabel 14.6)	14-21
14.5.2.3	Ilt- og næringsstoffluxe (Tabel 14.6)	14-22
14.6	Analysemetoder: Bestemmelse af næringsstofpuljer	14-22
14.6.1	Analysen	14-23
14.6.1.1	Jernbundet fosfor	14-23
14.6.1.2	Total kvælstof	14-23
14.6.1.3	Tørstof, glødetab (organisk stof) og total fosfor	14-23
14.7	Analysemetoder: Svovlbrintebuffer-kapacitet	14-25
14.7.1	Analysen	14-25
14.7.1.1	Registrering af svovlbrintefronten ved brug af sølvplade	14-25
14.7.1.2	Måling af sedimentets svovlbrintebufferkapacitet	14-26
14.7.1.3	Måling af sedimentets oxiderede jernindhold i H ₂ S-buffer-zonen	14-29
14.8	Analysemetoder: Ilt- og næringsstoffluxe	14-30
14.8.1	Præ-inkubation ved <i>in situ</i> temperatur, lys og ilt	14-30
14.8.1.1	Vurdering af inkubationstiden	14-31
14.8.1.2	Inkubation og prøvetagning i lys	14-34
14.8.2	Inkubation og prøvetagning i mørke	14-35
14.8.3	Analysen	14-36
14.8.3.1	Ilt	14-36
14.8.3.2	Ortho-fosfat	14-36
14.8.3.3	Nitrat og nitrit	14-36
14.8.3.4	Ammonium	14-36

14.8.3.5	Urea	14-36
14.8.3.6	Opløst silikat	14-37
14.8.3.7	Opbevaring af næringsaltprøver	14-37
14.8.4	Beregninger af ilt- og næringsstofkoncentrationer til brug for fluxberegning	14-37
14.9	Kvalitetssikring og dataindberetning	14-38
14.9.1	Kvalitetssikring	14-38
14.9.2	Indberetning af observationer og data	14-40
14.9.2.1	Side 1 - Station og Generelle oplysninger i forbindelse med prøvetagningen	14-40
14.9.2.2	Side 2 - Beskrivelse af sedimentoverfladen	14-41
14.9.2.3	Side 3 - Sedimentzoner	14-41
14.9.2.4	Side 4 - Næringsstofpuljer	14-42
14.9.2.5	Side 5 - Sedimentets bufferkapacitet	14-42
14.9.2.6	Side 6 og 7 - Ilt- og næringsstofflux (1) og (2)	14-42
14.9.2.7	Omregning mellem mg stof/g tørvægt, $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ og mmol/m^2	14-43
14.10	Referencer	14-43
Bilag 14.1	Titrimetrisk bestemmelse af opløst ilt (O_2) i vand (Winkler titrering)	14-47
Bilag 14.2	Fotometrisk bestemmelse af svovlbrinte (H_2S) i vand	14-53
Bilag 14.3	Fotometrisk bestemmelse af ferro-jern (Fe^{2+}) i vand	14-59
Bilag 14.4	Fotometrisk bestemmelse af orthofosfat (PO_4^{3-}) i vand	14-63
Bilag 14.5	Fotometrisk bestemmelse af nitrit (NO_2^-) og nitrat (NO_3^-) i saltvand	14-69
Bilag 14.6	Fotometrisk bestemmelse af ammonium (NH_4^+) i saltvand	14-75
Bilag 14.7	Fotometrisk bestemmelse af urea (H_2NCONH_2) i saltvand	14-79
Bilag 14.8	Fotometrisk bestemmelse af opløst silicium (Si) i vand	14-83
Bilag 14.9		14-87

14 Sediment - ilt og næringsstoffer

14.1 Indledning

Planternes produktion af organisk stof, primærproduktionen, er grundlaget for livet i havet. Ved fotosyntese assimilerer planterne kuldioxid (CO₂), samtidig med at de optager og indbygger uorganiske næringsalte (kvælstof, fosfor, silicium og andre) i organiske forbindelser.

Det organiske stof "vandrør" gennem fødekæderne. Og i havet vil en stor del af stofproduktionen før eller siden havne på havbunden enten som levende eller dødt materiale. Her bliver det organiske materiale omsat gennem en række stofskifteprocesser, hvorved de bundne næringsalte frigives. Næringsaltene kan nu give ophav til en ny primærproduktion enten i vandsøjlen eller på sedimentets overflade. Nedbrydningen af det organiske stof sker under forbrug af ilt. Jo større stofmængde, der tilføres havbunden, jo større mængder ilt går der til nedbrydningen. En stor stoftilførsel kan derfor medføre dårlige iltforhold i bundvandet og reducerede forhold i sedimentet.

I modsætning til vandsøjlen er sedimentet områdespecifikt, dvs., at det samme stykke fjord- eller havbund kan studeres år efter år. Da sedimentet reflekterer de produktionsforhold, der eksisterer i vandsøjlen, kan man få et billede af forandringerne i havmiljøet ved at følge sedimentets tilstand gennem flere år. I sedimentationsbassiner er det endvidere muligt at bestemme, hvor meget materiale der sedimenteres på og akkumuleres i havbunden. På den måde kan man bestemme, hvor mange næringsstoffer der forsvinder ud af kredsløbet og deponeres i havbunden.

Hav- og fjordbunden er altså et særdeles vigtigt element i de marine økosystemer, og målingerne af de vigtigste processer i sedimentet og sedimentets tilstand kan give værdifulde supplerende oplysninger til en samlet vurdering af de marine systemer.

14.2 Formål

Ved at inddrage sedimentet i overvågningsprogrammet er det målet at eftervise ændringer i belastningsforhold samt biologiske og fysiske forhold i vandsøjlen ved at måle på sedimentets sundhedstilstand. Gennem en langsigtet planlægning, hvor målinger i sedimentet over en årrække sammenholdes med ændringer i belastningsforholdene, er det målet at skabe et tilstrækkeligt statistisk grundlag til at forudsige den kvantitative respons på ændringer i næringsstofbelastningen. En sådan vurdering styrkes betydeligt i det omfang, at en model for sedimentets iltoptagelse og næringsstofudveksling bliver udviklet. På kortere sigt vil overvågningen af sedimentets miljøtilstand give en kvalitativ vurdering af sæsonændringerne i et givet område, med den "støj", som varierende meteorologiske og hydrografiske forhold i øvrigt må påføre målingerne. Data fra områder med forskellig

belastningsforhold og hydrografi vil gøre det muligt at vurdere forandringer i sedimentets oxidative tilstand, betydningen af stofmineraliseringen for iltforholdene i bundvandet og for sedimentet som intern næringskilde i kystnære danske farvande.

14.3 Kriterier for fastlæggelse af stationer

For at få et tilstrækkeligt udbytte af det omfattende analyseprogram, der indgår i overvågningen af de marine og estuarine sedimenter, skal sedimentindsamlingen i de repræsentative områder og på de intensive havstationer foretages i et akkumulationsområde/sedimentationsbassin.

I det omfang at der kun skal placeres én station i det repræsentative område/på den intensive havstation, vælges det størst udbredte/mest typiske sedimentationsbassin. Skal der placeres flere stationer i området, vælges forskellige typer af sedimentationsbassiner, der er karakteristiske for området. På landsplan bør stationsvalget i de repræsentative områder også tilgodese, at så mange forskelligartede sedimenttyper som muligt repræsenteres, for på den måde at opnå et bredt billede af de forskellige sedimenters respons på ændringer i miljøtilstanden. Stationsudvælgelsen foretages i samarbejde mellem amterne og DMU's fagudvalg.

I typeområdet skal placeringen af stationerne vælges sådan, at det ud fra mindst tre stationer er muligt af beskrive evt. ændringer for en betydende del typeområdet, ud fra de variationer i ilt- og næringsstof-fluxe der evt. observeres i løbet af undersøgelsens 6-årige periode (8 fluxmålinger hvert andet år). I typeområderne foretages stationsvalget derfor sådan, at de arealmæssigt mest udbredte sedimenttyper indgår i overvågningen. I typeområdet kan det derfor forekomme, at ikke alle stationerne placeres i sedimentationsbassiner.

I forbindelse med indsamlingen af sedimentet er det af stor vigtighed at føre en log-bog over prøvetagningen, hvor man udover en beskrivelse af sedimentet også noterer meteorologiske observationer samt vandsøjlets fysik (se afsnit 14.9.2 og bilag 14.9).

14.4 Principper for stofomsætning i havbunden

Mængden af kulstof (C), kvælstof (N) og fosfor (P) i de organiske molekyler varierer naturligvis; men oftest kan man angive CNP-forholdet i et "gennemsnitsmolekyle" ved Redfield's ratio: 106:16:1, og sammensætningen af det organiske stof kan derfor beskrives som $(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4)$. Tilgængeligheden af henholdsvis fosfor og kvælstof bestemmer derfor, hvilket af de to næringsalte der begrænser produktionen.

Tilgængeligheden af silicium eller silikat (H_4SiO_4 , eller $\text{Si}(\text{OH})_4$) spiller også en vigtig regulerende rolle for, hvilke planktonalger der dominerer primærproduktionen. Diatomeer kræver silikatkoncentrationer højere end 2-5 μM i vandsøjlen. Er silikatkoncentrationen mindre, bliver diatomeerne erstattet af andre algegrupper, eksempelvis

dinoflagellater og blågrønne bakterier. Det kan medføre opblomstringer af giftige alger og kan påvirke hele fødekæden, da diatomeer er den fortrukne føde for flere højere trofiske niveauer, eksempelvis muslinger og fiskelarver.

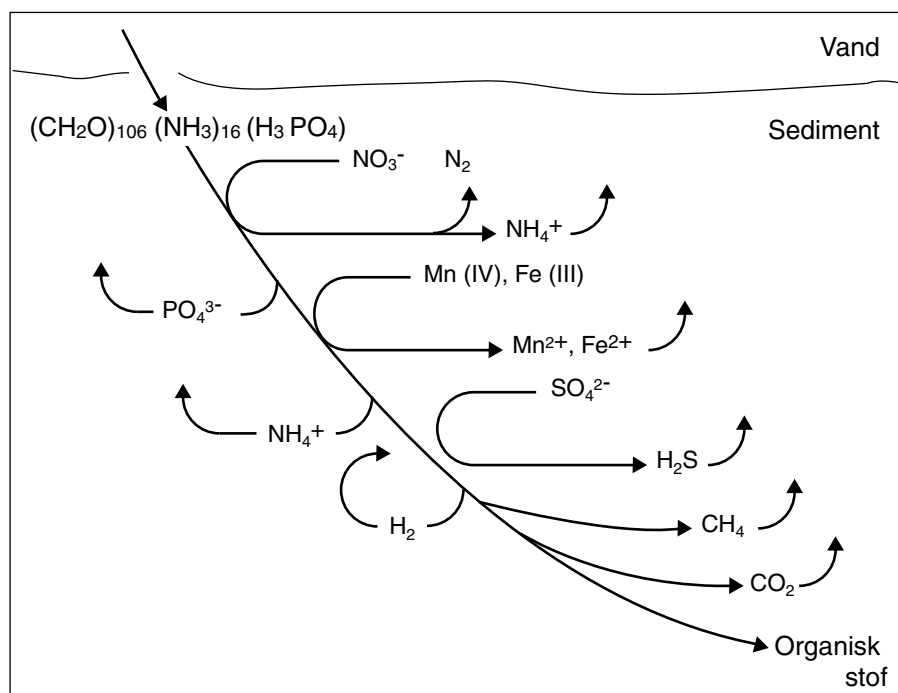
I de følgende afsnit beskrives, hvordan mineraliseringen af organisk stof og mobiliseringen af næringssalte varierer gennem året. I tilknytning hertil diskuteres, hvordan puljestørrelser, sedimentprocesser og næringsstoffluxer indgår i sedimentovervågningen.

14.4.1 Mineralisering af organisk stof

Allerede mens det organiske stof synker gennem vandsøjlen, begynder omsætningen af det organiske materiale. Hydrolytiske enzymer, der udskilles fra mikroorganismer, nedbryder de organiske makromolekyler, og C-, N- og P-forbindelserne frigøres i form af mindre organiske forbindelser. Bakterierne kan optage de små forbindelser over deres cellemembran og bruge dem i cellens stofskifte. I de lavvandede, kystnære farvande foregår den største del af omsætningen dog i sedimentet.

Så længe der er ilt tilstede, foregår nedbrydningen af det organiske materiale ved en respiration med ilt. Der er typisk ilt til stede i vandsøjlen og i de øverste mm af sedimentet og når ilten forsvinder, fortsætter mineraliseringen ved anoxiske respirationsprocesser (dvs. ånding uden ilt). I sedimentet er der en karakteristisk dybdefordeling af respirationsprocesserne, hvor åndingen med ilt sker i de øverste få mm; herefter følger respirationen med henholdsvis nitrat, oxideret jern og mangan, sulfat og længst nede i sedimentet sker omsætningen af organisk materiale som en forgæring, hvorved der dannes metan (Figur 14.1). Ved respirationsprocesserne opbruges de enkelt respirationsmidler, og det er årsagen til, at de findes i afgrænsede dybdeintervaller i sedimentet. Om vinteren, hvor stofomsætningen er lav, kan ilt nedtrængningen i sedimentet være op til 10 mm. Om sommeren trænger ilt typisk kun 2-3 mm ned i sedimentet. Nitrat når ganske få mm dybere ned i sedimentet end ilt og forsvinder altså også inden for den øverste cm. I modsætning hertil trænger sulfat så langt ned som 1 - 4 m i sedimentet (afhængig af den organiske belastning).

Op til halvdelen af det organiske materiale omsættes i sedimentet ved en respiration med ilt. Den øvrige del omsættes ved anaerob respiration. Den bakterielle respiration med sulfat (sulfatreduktionen) er den kvantitativt vigtigste anaerobe respirationsproces, og sulfatreduktionen kan oxidere 40-90% af det organiske materiale i danske farvande. Sulfatreduktionens store kvantitative betydning skyldes de høje sulfatkoncentrationer i havvandet, hvor koncentrationen af sulfat typisk er 150 gange højere end koncentrationen af ilt. I sammenligning med ilt- og sulfat-respirationen er respirationen med NO_3^- (denitrifikation) i hav- og brakvandsområder uden større kvantitativ betydning for mineraliseringen af det organiske stof. Denitrifikationsprocessen har derimod stor betydning for fjernelsen af kvælstof fra systemet.



Figur 14.1 Kaskaden af mikrobielle nedbrydningsprocesser i sedimentet, hvor organisk stof omsættes ved aerob og anaerob respiration samt forgæring. Bemærk at Mn(IV) og Fe(III) er partikulære forbindelser, mens de øvrige uorganiske forbindelser er gasser eller ioner (se også Tabel 14.1).

Den anoxiske mineralisering sker altså uden et forbrug af ilt. Men de reducerede produkter, der er et resultat af de anaerobe processer, forbruger imidlertid ilt, når de atter oxideres (Tabel 14.2). Eksempelvis bruges der meget ilt til at oxidere svovlbrinte (H_2S), der er slutproduktet ved sulfatreduktionen. Men dette iltforbrug kan forsinkes i måneder eller år på grund af forskellige kemiske og fysiske forhold i havbunden. Svovlbrinte binder sig fx til jernforbindelser i sedimentet og kan i lang tid ligge bundet som jernsulfider, før det atter en dag oxideres.

Det organiske stof bliver sjældent fuldstændigt omsat i sedimentet. Afhængig af tilførslen til overfladelaget, nedbrydeligheden af det organiske stof samt tilgængeligheden af åndingsmidlerne, mineraliseres en varierende mængde af det organiske materiale. Det organiske materiale, der ikke mineraliseres fuldstændigt, begravnes eller deponeres i sedimentet og forsvinder på den måde ud af stofkredsløbene sammen med de indbyggede næringsstoffer.

14.4.2 Næringssaltenes mobilisering

Ved nedbrydningen af det organiske stof i vandsøjlen og havbunden frigives næringsstofferne atter, hvorved de kan understøtte ny alge- og planktonproduktion (Tabel 14.1). Benthiske alger, der lever på sedimentoverfladen og dyr, der lever i de øverste cm af sedimentet, har stor indflydelse på stofomsætningen og på den mængde næringsalte, der frigives fra havbunden.

Tabel 14.1 Støkiometrisk sammenhæng ved nedbrydningen (mineraliseringen) af organisk stof $(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4)$ ved respiration og forgæring.

aerob mineraliseringsproces		
respiration med ilt		
1	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 106\text{O}_2 + 13\text{H}^+ \rightarrow$ $106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + 106\text{H}_2\text{O}$	Eq.
anaerobe mineraliseringsprocesser		
respiration med nitrat (denitrifikation)		
2	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 84^{4/5}\text{NO}_3^- + 84^{4/5}\text{H}^+ \rightarrow$ $106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + 42^{2/5}\text{N}_2 + 148^{2/5}\text{H}_2\text{O}$	Eq.
respiration med jern(hydr)oxid (jernreduktion)		
3	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 424\text{FeOOH} + 848\text{H}^+ \rightarrow$ $106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + 424\text{Fe}^{2+} + 742\text{H}_2\text{O}$	Eq.
respiration med manganoxid (manganreduktion)		
	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 212\text{MnO}_2 + 242\text{H}^+ \rightarrow$ $106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + 212\text{Mn}^{2+} + 318\text{H}_2\text{O}$	Eq. 4
respiration med sulfat (sulfatreduktion)		
	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 53\text{SO}_4^{2-} + 119\text{H}^+ \rightarrow$ $106\text{CO}_2 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + 53\text{H}_2\text{S} + 106\text{H}_2\text{O}$	Eq. 5
forgæring (metandannelse)		
	$(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}(\text{H}_3\text{PO}_4) + 13\text{H}^+ \rightarrow$ $53\text{CO}_2 + 53\text{CH}_4 + 16\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-}$	Eq. 6

Bentiske mikro- og makroalger på sedimentoverfladen påvirker iltforholdene og dermed stofomsætningen gennem deres fotosynteseaktivitet. Mikroalger kan danne tætte bevoksninger ud på store vanddybder (ned til 20 m), hvor de selv ved små lysintensiteter kan producere organisk stof. Iltproduktionen i lys giver en dybere ilt- nedtrængning i dagtimerne og dermed mulighed for en større stofomsætning med ilt. Samtidig opsuger algerne næringssalte (N, P og Si), der diffunderer op fra de underliggende sedimentlag. Algerne fungerer dermed som et effektivt filter, der reducerer eller stopper næringsstoffrigivelsen fra sedimentet. Algernes assimilering af næringssalte under primærproduktionen betyder, at sedimentet kan udvise en nettooptagelse af næringssalte. Selv om der er en stor mineralisering af næringssalte i sedimentet, kan algerne altså også optage næringssalte fra vandsøjlen, når de er mest aktive.

Måtter af makroalger har samme effekt på næringsstoffluxen, men makroalgerne er ofte mere ustabile samfund, der giver store fluktuationer i iltforhold og dermed næringsstoffdynamikken i bundvandet. I

de tykke måtter er der ofte iltfrie forhold i bunden af måtten. Det betyder, at sedimentoverfladen ofte er reduceret, og at svovlbrintefronten (se senere) dermed kan nå helt op til sedimentoverfladen. Når måtten forsvinder eller falder sammen, forsvinder filtereffekten også, og svovlbrinte og næringssalte kan momentant frigives til vandsøjlen.

Dyr, der graver i sedimentet (bioturbation), har ligeledes stor indflydelse på stofomsætningen og næringsstoffrigivelsen. Dyrene pumper iltrigt vand dybt ned i sedimentet og forøger dermed iltrespirationen i sedimentet. Deres graveaktivitet betyder også, at reducerede forbindelser bringes op til sedimentoverfladen, hvor de bliver oxideret. Endelig har en stor population af infauna indflydelse på fluxen af ammonium og urea, da deres ekskretionsprodukter er rig på disse forbindelser.

14.4.2.1 Kvælstof

Kvælstof mobiliseres fra den partikulære organiske stofpulje i form af urea (NH_2CONH_2) og ammonium (NH_4^+) og frigøres relativt hurtigt fra sedimentet. Meget tyder på, at netop urea er et væsentligt mellemprodukt i den bakterielle produktion af ammonium. Ammonium kan frigives til vandsøjlen eller blive oxideret til nitrat (NO_3^-) af nitrificerende bakterier afhængig af iltforholdene i de øverste mm af sedimentet. Tilsvarende kan nitrat frigives til vandsøjlen eller være oxidationsmiddel for denitrifikationsprocessen, som finder sted i lagene lige under den iltede overfladezone (Figur 14.2). Både urea, ammonium og nitrat kan endvidere assimileres af bentiske mikroalger, der lever på sedimentoverfladen.

I forårsperioden stimulerer de gode iltforhold i sedimentet nitrifikationsprocessen ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$), samtidig med at ammoniumproduktionen fra urea hæmmes. På denne årstid øges eksporten af nitrat og urea fra sedimentet. Med tiltagende forringelse af sedimentets iltindhold i løbet af sommeren øges ammoniumfluxen fra sedimentet, og NH_4^+ er på dette tidspunkt den mest betydende kvælstofforbindelse, der eksporteres til vandfasen. I vinterperioden er mineraliseringen karakteristisk lav, og iltindholdet øges atter i sedimentet og ureafluxen bliver igen en betydende kvælstofkilde fra sediment til vandfasen. Kvælstofudvekslingen mellem sedimentet og vandsøjlen er derfor resultatet af en kompleks ligevægt, der er bestemt af en række faktorer bl.a. tilførslen af organisk materiale til sedimentet, temperaturen, lysforholdene ved sedimentoverfladen og vandsøjlets indhold af ilt, urea, ammonium og nitrat.

Tabel 14.2 Iltforbrugende oxidationsprocesser, der følger nedbrydningen af organisk stof.

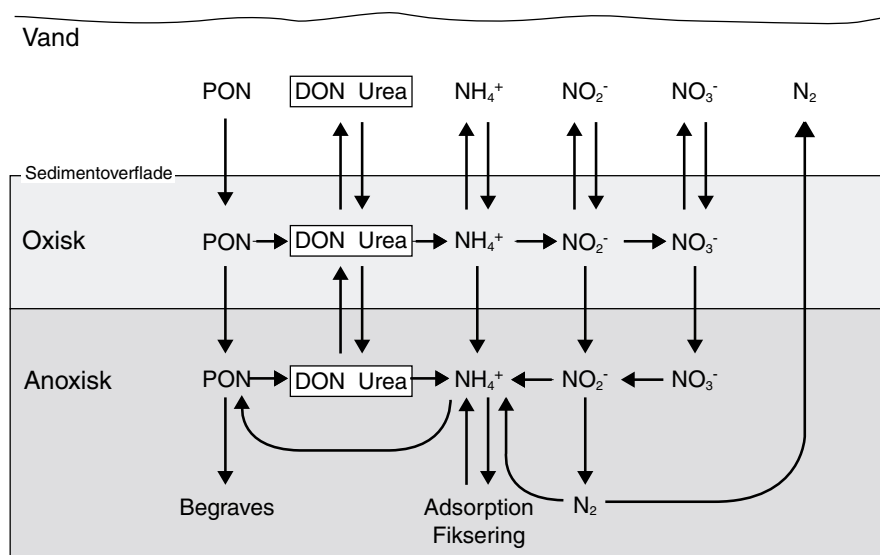
jærnoxidation		
7	$\text{Fe}^{2+} + \frac{1}{4}\text{O}_2 + 1\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeOOH} + 2\text{H}^+$	Eq.
manganoxidation		
	$\text{Mn}^{2+} + \frac{1}{2}\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MnO}_2 + 2\text{H}^+$	Eq. 8
ammoniumoxidation (nitrifikation)		
	$\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$	Eq. 9
svovlbrinteoxidation		
	$\text{H}_2\text{S} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$	Eq. 10
metanoxidation		
	$\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	Eq. 11

14.4.2.2 Fosfor

Ved mineraliseringen frigives fosfor som uorganisk fosfor, orthofosfat (PO_4^{3-}). Ligesom urea og ammonium optages fosfat direkte af alge- og planktonorganismerne; men modsat kvælstofsaltene kan fosfat bindes mere eller mindre fast i sedimentet. Frigivelsen af fosfor kan derved forsinkes i op til flere måneder eller år.

Langt den overvejende del af sedimentets fosforindhold udgøres af orthofosfat, der enten er let bundet til oxiderede jern- eller manganforbindelser eller fast bundet til fx aluminiumoxider, lermineraller, magnesium eller calcium, hvorfra orthofosfat praktisk talt ikke frigives igen. Kun en kvantitativ ubetydelig del af det uorganiske fosfat findes opløst i porevandet i de øverste få mm-cm af sedimentet. De miljømæssige forhold og reaktionsmekanismer, der påvirker mobili-

Figur 14.2 Sedimentets kvælstofkredsløb. PON og DON er henholdsvis partikulært og opløst organisk kvælstof (efter Lomstein og Blackburn 1992).



seringen af det jernbundne fosfat, omtales i afsnit 14.4.3.2. I organisk form findes fosfor bundet i plantemateriale o.lign., hvorfra det enten ved nedbrydningen frigives som orthofosfat eller begravnes permanent i sedimentet som uomsætteligt organisk-P.

Iltforholdene i bundvandet har stor indflydelse på frigivelsen af kvælstof og fosfor. Dårlige iltforhold eller iltsvind giver en stærkt forøget frigivelse af næringssaltene. Specielt ser man i de lavvandede danske fjorde og kystvande typisk en markant fosforfrigivelse fra sedimentet i de varmeste sommermåneder. Det skyldes, at jernforbindelserne reduceres (se afsnit 14.4.3.2). Den forhøjede fosforfrigivelse afspejles ofte i forhøjede fosforkoncentrationer i vandsøjlen om sommeren.

14.4.2.3 Silicium

Silicium stammer hovedsageligt fra nedbrydning af mineraler på land. Når det tilføres de marine områder, findes ca. 70% af silicium opløst i form af silikat (kiseltsyre), mens resten udgøres af organisk bundet silicium. Kiselalgerne optager store mængder silikat under opbygningen af deres cellevægge, og under forårsopblomstringen kan koncentrationen af silikat blive så lav, at det begrænser kiselalgerens vækst.

Det organisk bundne silicium synker sammen med algecellerne til havbunden. Her mineraliseres det og afgives igen til vandsøjlen som opløst silikat. Frigivelsen fra sedimentet er derfor en vigtig silikatkilde for diatomeerne i vandsøjlen. Bidraget fra sedimentet er specielt højt gennem de perioder af året, hvor afstrømningen fra land er lav. Frigivelsen af silikat er primært en kemisk og ikke en mikrobiologisk proces; men bioturbation og græsning af amphipoder stimulerer dog silikatfrigivelsen. I modsætning til kvælstof- og fosforfrigivelsen er frigivelsen af silikat ikke påvirket af iltforholdene i bundvandet eller i sedimentet. Det, der er afgørende for fluxen af silikat fra havbunden, er derfor sedimentationen af organisk bundet silikat og temperaturen. Bentiske alger på sedimentoverfladen indbygger silikat i cellerne og kan derfor, som det er tilfældet med N og P, reducere frigivelsen af silikat til vandsøjlen.

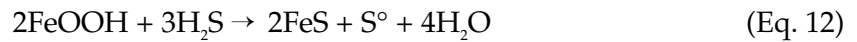
14.4.3 Jern i sedimentet

Sedimentets indhold af oxiderede jernforbindelser kan, som nævnt ovenfor, bruges af bakterier som åndingsmiddel ved mineraliseringsprocesserne på linie med mangan, ilt, nitrat og sulfat (Tabel 14.1 og Figur 14.1). De oxiderede jernforbindelser spiller imidlertid økologisk en væsentlig støtterolle i tilbageholdelsen af svovlbrinte og fosfat i havbunden. Oxiderede jernforbindelser findes i partikulær (immobil) form i havbundens øverste få cm, dvs. i og umiddelbart under havbundens iltede zone. Den brunlige farve, som ofte kendetegner sedimentets overfladelag, skyldes de oxiderede jernforbindelser.

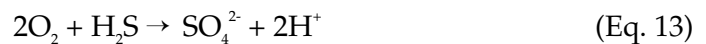
14.4.3.1 Jern og svovlbrinte

Svovlbrinte, som dannes ved sulfatreduktionen i den reducerede del af sedimentet (Eq. 5; Tabel 14.1), diffunderer op mod sedimentoverfladen. Inden svovlbrinte når den iltede zone i sedimentet, reagerer

det med det oxiderede jern og bindes derved (midlertidig) i sedimentet som jernsulfid (FeS). Disse partikulære jernsulfid-udfældninger farver sedimentet sort.

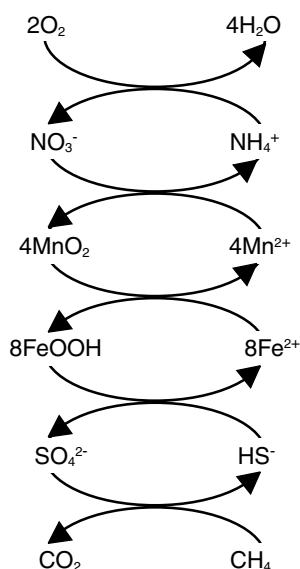


Sulfatreduktionen, og dermed svovlbrinte-produktionen, stiger gennem sommerhalvåret og toppe i sensommeren og det tidlige efterår, hvor den samlede mineralisering af organisk materiale er størst. Gennem sommeren binder svovlbrinte derfor en stadig større mængde af havbundens oxiderede jernforbindelser, og udstrækningen af sedimentets brune (oxiderede) zone bliver stadig tyndere. Først når sedimentets samlede oxiderede jern er bundet af svovlbrinte, vil svovlbrintefronten nå helt op til det iltholdige sediment. På det tidspunkt vil det medføre et betydeligt iltforbrug:



Svovlbrintes binding til jern kan altså modsvare flere måneders iltforbrug. Sedimentets evne til at tilbageholde reducerede forbindelser, specielt svovlbrinte, kaldes for sedimentets svovlbrintebufferkapacitet (eller sulfidbufferkapacitet, eller ilttingsreserve).

Efterhånden som mineraliseringen aftager i løbet af vinterhalvåret pga. lavere temperaturer og en mindre stoftilførsel til havbunden, forbedres iltforholdene igen i havbunden. Samtidig vil en intensiv vindpåvirkning af vandmasserne i det sene efterår øge bølgepåvirkning af bunden i de kystnære områder. De øverste mm af sedimentet kan ved sådanne hændelser hvirvle op i vandsøjlen (resuspension). De forbedrede iltforhold ved bunden og resuspensionen af overfladesedimentet medfører, at det reducerede partikulære jernsulfid (FeS) og det reducerede opløste jern (Fe^{2+}) oxideres under et forbrug af ilt. Først på dette tidspunkt af året indfries altså den væsentligste del af det iltforbrug, der blev skabt gennem sommeren. Man kan populært sige, at det oxiderede jern udskyder det reelle iltforbrug ved at tilbageholde den producerede svovlbrinte. Den oxiderede jernpulje lægger sig så at sige som et "låg" eller "jernetæppe" oven på det reducerede sediment og "sluger" i første omgang det iltforbrug, som oxidationen af de reducerede forbindelser (især svovlbrinte) kræver. Den kaskade af oxidations- og reduktionsprocesser, som igangsættes ved oxidationen af svovlbrinte, bremses altså i første omgang af det oxiderede jern og udløses først, når de reducerede jernforbindelser oxideres under resuspensionen af sedimentet i forbindelse med de kraftige efterårsstorme (Figur 14.3). Eller sagt med andre ord: Sedimentets svovlbrintebufferkapacitet (eller ilttingsreserve) udskyder tidspunktet for det faktiske iltforbrug.

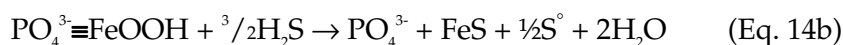


Figur 14.3 Den støkiometriske sammenhæng mellem kaskaden af oxidations- og reduktionsprocesser, der i sidste ende er iltforbrugende.

I sommerperioden, hvor svovlbrinteproduktionen er særlig stor, er størrelsen af den oxiderede jernpulje kritisk for, hvor længe et kraftigt iltforbrug ved oxidation af svovlbrinte kan forsinkes. Om jernpuljen er stor nok til at binde hele sommerproduktionen af svovlbrinte, afhænger som nævnt af den organiske belastning, af iltforholdene ved bunden, og i hvilket omfang den foregående sæsons reducerede jernpulje blev oxideret i løbet af vinteren.

14.4.3.2 Jern og fosfat

Tilstedeværelsen af oxideret jern i sedimentet påvirker også frigivelsen af det orthofosfat, der mobiliseres ved mineraliseringsprocesserne. Fosfat binder sig nemlig til oxideret jern (Eq. 14a) og frigives først til den ovenstående vandfase, når det oxiderede jern reduceres (Eq. 14b). Fosfor afgives derfor primært i sensommeren og efteråret, hvor den oxiderede Fe-pulje er lavest pga. bindingen til svovlbrinte.



14.4.4 Det Nationale Overvågningsprogram for Vandmiljøet - Sedimentovervågningen

Sedimentovervågningen inden for NOVA omfatter både estuarine og marine sedimenter (se afsnit 14.5) og fokuserer på puljer og deponering af næringsalte i sedimentet, sedimentets svovlbrintebufferkapacitet og stofomsætning, samt den interne belastning med næringsalte fra bunden.

14.4.4.1 Deponeringen af næringsalte i sedimentet - næringsstofpuljer

Inden for nogle sedimentprogrammer har sedimentanalyser omfatter måling af total kvælstof (TN), total fosfor (TP), tørstof og glødetab, sidstnævnte som mål for indholdet af organisk stof. Der er ikke umiddelbart nogen sammenhæng mellem omsætningen af organisk stof og glødetabet, da uomsætteligt organisk stof udgør hovedparten af sedimentets glødetab. Tilsvarende giver data om sedimentets indhold af TN og TP ikke oplysninger om, hvor stor en del af det kvælstof og fosfor der forekommer i sedimentet, der aktivt indgår i stofomsætningen. Der bør derfor foretages en tværgående analyse af tidligere indsamlede værdier for at vurdere sammenhængen mellem ændringer i glødetab, TN og TP i sedimenterne og ændringer i belastningsforhold. I NOVA-programmet vil der også blive indsamlet sediment til bestemmelse af TN, TP, tørstof og glødetab, men med reduceret intensitet i forhold til andre tidligere programmer (se afsnit 14.5 og 14.6).

Som ny sedimentparameter inden for næringsstofpuljer, i forhold til andre programmer, måles jernbundet fosfor (Fe-P). Denne pulje er den mest betydende fosforpulje for en potentiel intern belastning af det kystnære marine miljø, hvor fosfor i det tidlige forår kan optræde som begrænsende faktor for primærproduktionen. Det jernbundne fosfor er den pulje, der lettest frigives fra sedimentet til vandfasen i situationer med dårlige iltforhold i bundvandet og hurtigst optages af primærproducenterne.

14.4.4.2 Sedimentets svovlbrintebufferkapacitet

Sedimentets svovlbrintebufferkapacitet, eller dets iltreserver, beskriver sedimentets evne til at tilbageholde reducerede forbindelser, specielt svovlbrinte, der ellers ved en umiddelbar oxidation ville kræve et øjeblikkeligt forbrug af ilt. Sedimentets svovlbrintebuffer-

kapacitet er afhængig af dets indhold af oxideret jern og påvirkes af belastningen med organisk stof, de mikrobielle og kemiske processer i havbunden, meteorologien og de hydrografiske forhold.

Sedimentets svovlbrintebufferkapacitet er størst i det tidlige forår og aftager i takt med en øget stofomsætning i løbet af sommeren. Svovlbrintebufferkapaciteten er mindst i begyndelsen af efteråret, umiddelbart før vandtemperaturen falder, og efterårets storme sætter ind. Målinger af svovlbrintebufferkapaciteten i forårs- og efterårssæsonen og over en længere tidshorisont er derfor en god parameter til at beskrive udviklingen i det kystnære vandmiljø tilstand, bl.a. i relation til ændrede belastningsforhold (se afsnit 14.5 og 14.7).

Sedimentets indhold af oxideret jern måles samtidig med svovlbrintebufferkapaciteten. På den måde kan man relatere svovlbrintebufferkapaciteten til sedimentets indhold af oxideret jern.

14.4.4.3 Stofomsætning og næringsfluxe af N, P og Si mellem vandsøjlen og havbunden

Iltflux og stofomsætning

Sedimentets iltforbrug er helt afhængig af den mængde organisk stof, der sedimenterer og omsættes i havbunden. Ved at måle sedimentets iltoptagelse (iltflux) kan der derfor opnås værdifuld information om variationer af den organiske belastning i det pågældende sedimentområde.

Sedimentets iltoptagelse bliver ofte brugt til at beskrive omsætningen af organisk stof i sedimentet. Sammenhængen er imidlertid ikke helt simpel. Iltfluxen går både til den egentlige aerobe mineralisering (Eq. 1; Tabel 14.1) samt til oxidation af reducerede forbindelser dannet ved den anaerobe mineralisering; eksempelvis oxidationen af svovlbrinte til sulfat (Tabel 14.2). Sedimentets iltoptagelse beskriver altså både den aerobe og den anaerobe respiration. Sulfatrespirationen kan i flere tilfælde være den mest udbredte respirationsproces. Denne respiration efterfulgt af oxidationen af svovlbrinte kan udtrykkes som sumprocessen af Eq. 5 (Tabel 14.1) og Eq. 10 (Tabel 14.2). Man kan let se, at denne sum præcis svarer til støkiometrien for respirationen med ilt Eq. 1 (Tabel 14.1; se også Figur 14.3), og stofomsætningen ved brug af sulfat vil derfor også være beskrevet ved en måling af iltoptagelsen i dette tilfælde.

Havbundens totale iltoptagelse beskriver imidlertid kun sedimentets stofomsætning, hvis nedbrydningsprocesserne er i "steady state", dvs., at produktionen af de reducerede forbindelser balanceres af et tilsvarende iltforbrug. Man må imidlertid være opmærksom på, at oxidationsprocesserne (Tabel 14.2) kan være tidsforskudt i forhold til produktionen, med andre ord oparbejdes der i perioder af året (somerhalvåret) en "iltgæld" i sedimentet, som det er beskrevet ovenfor. Ved at anvende målinger af sedimentets iltoptagelse kan man derfor fejlestimere stofomsætningen. I den periode, hvor svovlbrinte bindes til sedimentets oxiderede jern, underestimeres mineraliseringen. Omvendt overestimeres mineraliseringen ved målinger af iltoptagelse i perioder, hvor reducerede forbindelser oxideres ved fx opblanding i vandsøjlen (resuspension). Angives den årlige stofomsætning som en middelværdi af hyppigt målte iltfluxe fordelt over

året, kan fejlen på den beregnede værdi begrænses (afsnit 14.5 og 14.8).

Alternativt til at måle havbundens iltoptagelse kan man måle den totale omsætning af organisk stof ved at måle den samlede kuldio-
xid- eller ammoniumproduktion (se Tabel 14.1). Endvidere vil en
måling af sedimentets sulfatreduktionsrate være et godt alternativ til
målingerne af sedimentets iltoptagelse, når det drejer sig om at do-
kumentere ændringer i sedimentets stofomsætning. På nuværende
tidspunkt er det imidlertid ikke hensigtsmæssigt at introducere de
nævnte procesmålinger i overvågningsprogrammet, da der ikke eksis-
terer tilstrækkeligt anvendelsesorienterede metoder, hvorfor det
nødvendige erfaringsgrundlag ikke er tilstede.

Næringsstofflux (frigivelse af næringsalte)

Næringsalte, som frigives fra sedimentoverfladen, kan øge nærings-
stofbelastningen i vandsøjlen. Ved en vurdering af sedimentets be-
tydning som næringskilde eksempelvis efter en reduktion af den
eksterne belastning, kan man inddrage målinger af næringsstoffluxen
mellem sediment og vandsøjlen. Da næringsstoffluxen ligesom ilt-
forbruget er årstidsafhængig, må næringsstoffluxene måles med en
frekvens, der er bestemt af omsætningshastigheden og dynamikken i
det pågældende område (afsnit 14.5 og 14.8). Den målte frigivelse fra
sedimentet må relateres til massebalancer for næringsstofferne im-
port og eksport til og fra området.

14.5 Prøvetagning

I det Nationale Overvågningsprogram for Vandmiljøet (NOVA) ind-
går overvågning af sedimenter i marine og estuarine områder. Denne
overvågning omfatter

- næringsstofpuljer
- svovlbrintebufferkapacitet
- ilt- og næringsstofflux

De overvågningsparametre, der indgår under de tre temaer, er anført
i Tabel 14.3.

Tabel 14.3 Overvågningsparametre.

Næringsstofpuljer	Svovlbrinte-bufferkapacitet	Ilt- og næringsstofflux
total kvælstof (TN)	H ₂ S front	nitrat
total fosfor (TP)	H ₂ S-bufferkapacitet	nitrit
jernbundet fosfor (Fe-P)	Fe-ox indhold	ammonium
tørstof		urea
glødetab		ortho-fosfat
(dvs. mål for organisk stof)		opløst silikat
		<u>sedimentets metabolisme</u>
		O ₂ optag

Prøvetagningsprogrammet varierer mellem undersøgelsesområderne. På stationerne i de repræsentative områder, på de intensive havstationer og i typeområderne bestemmes sædvanligvis både næringsstofpuljer og svovlbrintebufferkapacitet, mens ilt- og næringsstoffluxe kun måles i typeområderne.

14.5.1 Indsamling, transport og opbevaring af vand og sediment

Sedimentkernerne indsamles i rengjorte (syrevaskede) plexiglasrør (se Tabel 14.4) direkte fra hav/fjordbunden af dykker eller i lavvandede områder (f. eks. vadeflader) til fods. Hvor prøvetagningen ikke kan udføres af dykker, kan sedimentet indsamles fra skib/båd ved brug af Kajakbundhenter, "Haps", Boxcorer eller lignende, hvorfra de egentlige sedimentprøver udtages.

Tabel 14.4 Sedimentkernernes dimensioner.

Plexiglasrør "Kajakrør"	Næringsstofpuljer	Svovlbrintebuffer- kapacitet	ilt- og næringsstoffluxe
diameter (indre)	52 mm		
vægtykkelse	4 mm		
længde	300 mm		
sedimentkerne (længde)	min. 10 cm	min. 10 cm	max. 8 cm
vandsøjle v/(præ-)inkubation	max. 3 cm*	max. 3 cm*	12- 20 cm (≈ 255 - 425 ml)**
magnet til omrøring (30 mm x 5 mm, ID)	± magnet	± magnet	placeres 5 cm over sediment
	Ved prøvetagning fra "Haps", Boxcorer eller ved hjælp af dykker kan der med fordel benyttes mindre plexiglasrør - ned til 36 mm (I.D). I dette tilfælde må vandsøjlehøjden v/(præ-)inkubationen højst være 1½ cm.		Til ilt- og næringsstoffluxe benyttes rør af samme dimension som Kajak-rør.

* se afsnit 14.5.1.2

** se afsnit 14.8.1.1

Ved håndteringen af plexiglasrør til ilt- og fluxmålinger skal der anvendes gummihandsker eller lign., således at urea og ammonium fra huden ikke forurener sedimentprøverne. Der udtages et tilstrækkeligt stort antal sedimentkerner, så det er muligt at fravælge "forstyrrede" sedimentprøver, dvs. sedimentkerner, der indeholder større dyr, sten, skaller eller lignende. Ved stationsvalget skal man undgå områder med makrofytbevoksninger, der virker forstyrrende på især ilt- og fluxmålingerne. Sker det, at stationen alligevel i løbet af sommerhalvåret bevokses med makrofytter, skal man finde "en bar plet" og tage sedimentprøverne der.

Det er vigtigt, at sedimentet indsamles så uforstyrret som muligt, særligt skal det undgås, at overfladesedimentet hvirvles op under prøvetagningen og den efterfølgende transport. For at mindske opblanding af sedimentet under transporten fyldes plexiglasrøret over sedimentkernen helt op med bundvand og tillukkes med gummi-

prop, uden at der fanges luftbobler under proppen. Placér evt. en flaminco-plade på vand- eller sedimentoverfladen inden plexiglasrøret fyldes med vand, herved hindres sedimentet i at blive hvirvlet op ved påfyldningen. Sedimentkerner, der indsamles "til fods" fra tørlagte områder, kan sædvanligvis transporteres uden ovenstående vandsøjle, blot det sikres, at den naturlige vandhinde over det blotlagte sediment ikke fordamper. Sedimentkernerne skal transporteres i en termokasse, hvor temperaturen holdes nær (evt. lidt lavere end) *in situ* temperaturen, for ikke at øge hastigheden af de metaboliske og kemiske processer i sedimentet.

På stationen indsamles tilstrækkeligt med bundvand, hvori prøverne kan opbevares/præ-inkuberes, før analyseprogrammet startes. Ved bundvand forstås i denne sammenhæng vand med samme iltkoncentration og næringssaltindhold som umiddelbart over bunden, således at sedimentkernerne kan (præ)inkuberes i vand ved *in situ* ilt- og næringssaltkoncentration. Vandet indsamles med vandhenter, pumpe, med dykker eller "til fods", så tæt ved bunden som muligt uden at få sediment i vandet. Tørlagte sedimenter skal ikke præ-inkuberes under vand, da der ikke skal måles ilt- og næringsstoffluxe på denne sedimenttype i NOVA-programmet (se afsnit 14.5.1.2).

14.5.1.1 *In situ* måling af ilt, temperatur, salinitet og lys

For at kunne opbevare sedimentkernerne ved *in situ* lignende betingelser er det nødvendigt at kende iltkoncentration og temperatur i det bundnære vand. Sediment til ilt- og næringsstoffluxe skal endvidere inkuberes ved *in situ* lyspåvirkning.

Iltkoncentrationen udtrykkes ved gennemsnittet af tre vandprøver, bestemt ved Winkler-titrering. I "feltet" tilsættes Winkler-reagens I og II til vandprøverne, som efterfølgende titreres hjemme i laboratoriet (se bilag 14.1. Titrimetrisk bestemmelse af opløst ilt (O₂) i vand). Alternativt kan iltkoncentrationen måles med en iltelektrode evt. monteret på en CTD-sonde. På blotlagte sedimentoverflader måles iltkoncentrationen ikke.

Temperaturen i bundvandet måles *in situ* med et almindeligt termometer ($\pm 1/2$ °C) eller ved at måle temperaturen i det bundvand, der indsamles med Kajakbundhenter eller vandhenter. Alternativt kan temperaturen måles med CTD-sonde. På blotlagte sedimentoverflader måles *in situ* temperaturen ca. 1-2 cm nede i sedimentet. Herved undgås det, at *in situ* temperaturen sættes for højt ved præ-inkubationen, idet sedimentets øverste få mm kan være betydeligt opvarmet pga. solindstrålingen.

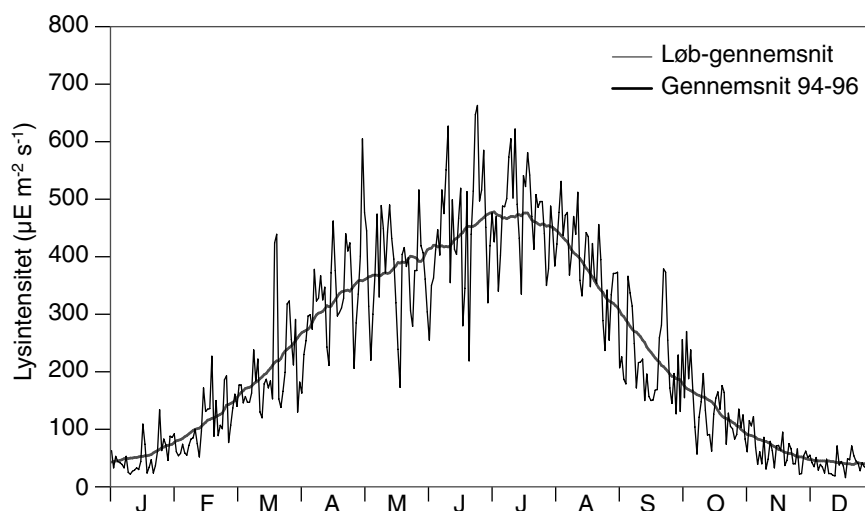
Salinitet beregnes ud fra vandets ledningsevne og temperatur og måles med CTD-sonde eller ved ledningsevnebestemmelse i en bundvandsprøve hentet op med sedimentkernen eller vandhenter. Alternativt kan salinitet i bundvandet bestemmes ved brug af et refraktometer. På blotlagte sedimentoverflader måles saliniteten ikke.

Lysintensiteten, udtrykt i $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (= $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), måles samtidig ved både sedimentoverfladen og lige over havoverfladen, i de tilfælde hvor sedimentkerner indsamles til måling af ilt- og næringsstoffluxe. Den gennemsnitlige lysintensitet bestemmes over et

tilpas langt tidsrum, så både sol- og skyggeperioder indgår i beregningen. Ud fra lysmålingerne beregnes den procentuelle lyssvækkelse i vandsøjlen på prøvetagningsdagen (se også Kap. 3, Lyssvækkelse i "Tekniske Anvisninger for Pelagiale Parametre"). Lysforholdene på stationen er imidlertid meget afhængige af "vejr og vind" og derfor anvendes en standard "in situ" lysintensitet ved inkubationerne, der afhænger af den målte lyssvækkelse og den gennemsnitlige solindstråling den pågældende uge. Lysintensiteten, der skal anvendes ved inkubationerne, beregnes ved at multiplicere den målte procentuelle lyssvækkelse med den i Tabel 14.5 angivne lysintensitet for den pågældende uge. Den egentlige lysintensitet, der er opført i Tabel 14.5, er midlet ud fra timeobservationer af solindstrålingen ved Forsøgscenter Foulum for perioden 1.1.94 til 31.12.96 (Figur 14.3).

14.5.1.2 Præinkubation

Tillukningen under transporten har formodentlig medført, at iltindholdet i både vand og overfladesediment er blevet reduceret i forhold til *in situ*. Af hensyn til det efterfølgende analyseprogram er det derfor vigtigt, at sedimentkernerne umiddelbart efter transporten får lov til at "falde til ro" i inkubationskammeret, mens iltforholdene genoprettes - denne periode kaldes præinkubationen og skal påbegyndes hurtigst muligt (senest 3-5 timer), efter at sedimentkernerne er indsamlet.



Figur 14.4 Den daglige lysintensitet, $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (kraftig linie) beregnet fra solopgang til solnedgang som "løbende gennemsnit" af 30 dagobservationer. Dagobservationerne (tynde linie) er beregnet som middelværdien af timeobservationer af solindstrålingen ved Forsøgscenter Foulum i perioden 1.1.94 til 31.12.96.

Tabel 14.5 Standardlysintensiten, $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for årets uger beregnet ved at midle indstrålingen opgjort på dag- og timebasis over en tre-årig periode ved Forsøgscenter Foulum for perioden 1.1.94 til 31.12.96 (se Figur 14.4).

uge nr.	$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	uge nr.	$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	uge nr.	$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	uge nr.	$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$
1	45	14	277	27	472	40	170
2	50	15	307	28	470	41	156
3	55	16	329	29	471	42	133
4	67	17	347	30	456	43	112
5	79	18	363	31	444	44	93
6	95	19	369	32	414	45	81
7	111	20	383	33	381	46	68
8	128	21	397	34	342	47	57
9	152	22	404	35	314	48	49
10	174	23	418	36	280	49	45
11	195	24	428	37	250	50	43
12	222	25	451	38	216	51	40
13	250	26	468	39	192	52	40

Inden sedimentkerner med ovenstående vandfase anbringes i inkubationskammeret, rengøres ydersiden af røret forsigtigt med vandhanevand. Herefter fjernes den øverste gummiprop. Sedimentet, der skal bruges til måling af næringsstofpuljer og svovlbrintebufferkapacitet, positioneres vha. et stempel indsat i bunden af røret, så sedimentetoverfladen højest er 2-3 cm fra den øverste kant af plexiglasrøret, derved tillades en tilstrækkelig vandudskiftning over sedimentet. Hvis det ikke er hensigtsmæssigt at positionere sedimentkernen, kan vandsøjlen i plexiglasrøret også udskiftes ved hjælp af kontinuert omrøring med en magnet ophængt ca. 5 cm over sedimentoverfladen. Sedimentkernerne til ilt- og fluxmåling anbringes i inkubationskammeret (se afsnit 14.8) på samme måde som det øvrige sediment, blot positioneres sedimentoverfladen 20 cm fra den øverste kant af plexi-glasrøret af hensyn til de efterfølgende fluxmålinger. For at tillade en tilstrækkelig udveksling af vandet over sedimentoverfladen i disse fluxrør er det nødvendigt at indsætte en lille magnet i et ophæng i hvert rør til omrøring og udskiftning af vandfasen mellem rør og inkubationskammer. Sediment til ilt- og fluxmålingerne anbringes endvidere under *in situ* lysbetingelser (se afsnit 14.8.1). De egentlige fluxmålinger, bestemmelsen af svovlbrintebufferkapaciteten og næringsstofpuljerne startes dagen efter indsamlingen.

Vandet i inkubationskammeret skal have *in situ* temperatur og en "passende" *in situ* iltkoncentration før sedimentkernerne anbringes. Den "passende" iltkoncentration opnås i praksis ved at gennemboble bundvandet ved hjælp af en eller flere luftsten med standardblandinger af luft, der fortyndes med N_2 indeholdende 0,03% CO_2 . Inkubationerne foretages ved 100%, 50%, 20% eller 0% luftmætning eller ved den "sande" *in situ* luftmætning ved brug af en gasblander (se afsnit 14.8). Hvis iltindholdet i vandet er under atmosfærisk mætning, placeres et flydelåg på inkubationskammerets vandoverflade for at mindske udvekslingen mellem luft og vand.

Sedimentkerner, der er indsamlet uden ovenstående vandfase, præ-inkuberes blot med en millimeter tynd vandhinde, der tillader luften at diffundere ned i sedimentet. Da der på denne type sedimenter ikke skal måles ilt- og næringsstoffluxe, er det ikke nødvendigt at placere sedimentrørerne i et inkubationskammer. Sedimentets position i ple-xiglasrøret er derfor også uden betydning.

Tabel 14.6 Prøvetagning - frekvens og antal.

	Næringsstofpuljer	Svovlbrinte-bufferkapacitet	Ilt- og næringsstoffluxe
	Bestemmes på typeområder, repræsentative områder intensive havstationer		Bestemmes <u>kun</u> på typeområder
Frekvens	To gange i løbet af den seksårige prøvetagningsperiode	2 gange årligt	3 gange i løbet af 6 år, 8 gange årligt.
Prøvetagningstids-punkt	Februar	Februar primo september	Fordeles gennem året, så sedimentomsætningen i det pågældende område repræsenteres bedst muligt.
Mindste antal kerner pr. station	3	3	6 (heraf én kerne til test-inkubation)
Bemærkninger til prøvetagning	Dybde interval: 0-½, ½-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-7 og 7-10 cm. 3 kerner fra hver dybde puljes, undtaget 1-2 cm, hvor der laves tre-dobbelt bestemmelse på alle overvågningsparametre.	H ₂ S-fronten bestemmer, til hvilken dybde svovlbrinte-bufferkapaciteten og Fe-ox skal måles.	Der udvælges 3 eller flere stationer, der repræsenterer området. Sedimentsøjlerne inkuberes ved <i>in situ</i> temperatur, lysforhold og ilt. Sedimentkerner, der <i>in situ</i> modtager lys, skal også inkuberes i mørke.

14.5.2 Prøvetagningsfrekvens

14.5.2.1 Næringsstofpuljer (Tabel 14.6)

Næringsstofpuljerne bestemmes 2 gange over den 6-årige prøvetagningsperiode (i starten og mod slutningen af perioden) og på det tidspunkt af året, hvor sedimentet er mest oxideret, dvs. februar måned eller i tilfælde af isdække, umiddelbart efter at isen er brudt op. Tre sedimentkerner indsamles og opskæres i 7 dybdeintervaller: 0-½, ½-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-7 og 7-10 cm, der bortset fra ét dybdeinterval "puljes". På det udvalgte dybdeinterval, som ikke "puljes" (1-2 cm), laves der tredobbelt bestemmelse på alle overvågningsparametre (Tabel 14.3). Ved den tredobbelte analyse fås et (om end kunstigt) mål for heterogeniteten. Med den valgte opskærings- og analyseprocedure skal der behandles (6 x 1 + 1 x 3 =) 9 prøver pr. station.

14.5.2.2 Svovlbrintebufferkapacitet (Tabel 14.6)

Svovlbrintebufferkapaciteten, som også omfatter en bestemmelse af H₂S-frontens afstand fra sedimentoverfladen samt en analyse af sedimentets oxiderede jernindhold, måles 2 gange årligt, på de tidspunkter af året hvor sedimentet forventeligt er mest oxideret, hhv. reduceret. På hver station analyseres 3 sedimentkerner. Sedimentprøven, der repræsenterer den veloxiderede hav/fjordbund, indsam-

les i februar eller umiddelbart efter isens opbrud, og om muligt inden forårsopblomstringen når at påvirke overfladesedimentets redoxstatus. Det ideelle tidspunkt for den anden svovlbrintebufferkapacitetsmåling ville være, umiddelbart inden de første efterårsstorme når at resuspendere det reducerede sediment. Da det imidlertid kan være vanskeligt at forudsige en resuspensionshændelse tidnok til at kunne nå at indsamle en reduceret sedimentprøve, fastsættes prøvetagningen for den reducerede sedimentprøve til primo september. Ved de to buffermålinger i hhv. februar og september fås et mål for to ekstremer i sedimentets oxidative miljøtilstand.

14.5.2.3 Ilt- og næringsstofflux (Tabel 14.6)

Ilt- og næringsstofflux, som kun måles på typeområderne, udføres 8 gange hvert andet år. Prøvetagningen foretages ikke nødvendigvis "jævnt fordelt" over året, men således, at sedimentomsætningen i det pågældende område repræsenteres bedst muligt. På hver station indsamles 6 sedimentkerner, hvoraf de 5 inkuberes ved *in situ* temperatur, lys og ilt, den sjette sedimentkerne testinkuberes ved *in situ* temperatur og ilt, men i mørke med henblik på at bestemme længden for den egentlige inkubation (se afsnit 14.8.1.1). Det skal bemærkes, at sediment, der *in situ* påvirkes af lys, først skal inkuberes i lys og derefter i mørke (fluxmålingerne udføres altså på samme sedimentkerner).

14.6 Analysemetoder: Bestemmelse af næringsstofpuljer

Ved beskrivelsen af sedimentets næringsstofpuljer indgår flg. målinger: total kvælstof (TN), total fosfor (TP), jernbundet fosfor (Fe-P), organisk stof (dvs. glødetab) samt tørstofindhold. Næringsstofpuljerne bestemmes i flg. dybdeintervaller: 0-½, ½-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-7, 7-10 cm på sediment, der indsamles i februar måned. Af hensyn til fosforanalyserne skal alle glas- og plasticvarer, der benyttes ved bestemmelse af næringsstofpuljer, syrevaskes i 2M HCl.

Efter at sedimentkernerne har præinkuberet natten over, opskæres og puljes tre sedimentkerner fra hvert sit dybdeinterval (undtaget 1-2 cm). De tre sedimentprøver fra 1-2 cm intervallet overføres til hvert sit bægerglas! Sedimentet vejes efter opskæringen og homogeniseres. Opskæringen af sedimentkernerne resulterer i 9 sedimentprøver (Tabel 14.7).

Sedimentets vægtfylde beregnes for hvert af de 7 prøveintervaller ud fra sedimentets vægt og volumen i den pågældende dybde (Tabel 14.7). Vægtfylden bruges til at omregne koncentrationer fra gram stof/g tørstof til mol stof/cm³ og omvendt (se afsnit 14.9.2.7).

Tabel 14.7 Volumen af homogeniserede sedimentprøver.

	areal	dybdeinterval (cm)			
		0-½, ½-1	1-2*	2-3, 3-4	4-7, 7-10
sediment i 36 mm rør	10,2 cm ²	15 cm ³	10 cm ³ x 3	30 cm ³	92 cm ³

sediment i 52 mm rør 21,2 cm² 32 cm³ 21 cm³ x 3 64 cm³ 191 cm³

Kajak-rør

*dybdeinterval med tredobbelt bestemmelse.

14.6.1 Analyser

14.6.1.1 Jernbundet fosfor

Fosfor adsorberet til overfladen af jern- (og mangan)hydroxider frigøres ved reduktion af jern- og manganoxiderne. Reduktionen udføres ved tilsætning af en kraftig reduktant (dithionit, S₂O₄²⁻) i en opløsning, som er bufferet til pH ca. 7 ved hjælp af bikarbonat (Anvisning 14.1). Ved denne ekstraktion frigøres også ortho-fosfat opløst i porevandet, men denne fraktion er kvantitativ ubetydelig i forhold til Fe-P puljen.

Koncentrationen af jernbundet fosfor (Fe-P) angives i mg P/g tørvægt for hvert af de 7 dybdeintervaller.

14.6.1.2 Total kvælstof

Den mest nøjagtige og hurtigste bestemmelse af sedimentets indhold af total kvælstof fås ved analyse af tørrede, homogeniserede sedimentprøver på en CN-analysator. Med god tilnærmelse kan total kvælstof også bestemmes ved hjælp af Kjeldahl-metoden (se Dansk Standard 242 eller NORDFORSK Publikation 1975:6¹). Ved denne metode bestemmes reelt kun summen af organisk bundet kvælstof og ammonium-kvælstof (dvs. Kjeldahl-nitrogen), men da kystnære sedimentter indeholder relativt lidt NO₃⁻ og NO₂⁻, svarer Kjeldahl-nitrogen tilnærmelsesvis til indholdet af total kvælstof. I overvågningsprogrammet kan total kvælstof bestemmes ved begge metoder, blot skal den samme metode benyttes gennem hele overvågningsperioden.

Koncentrationen af total kvælstof (TN) angives i mg N/g tørvægt for hvert af de 7 dybdeintervaller.

14.6.1.3 Tørstof, glødetab (organisk stof) og total fosfor

Analyserne af disse tre parametre udføres på samme sedimentprøve og i nævnte rækkefølge (Anvisning 14.2). Tørstofindholdet bestemmes som væggtab efter tørring ved 105°C til konstant vægt, hvorefter prøvens tørstof glødes ved 550°C, og glødetabet bestemmes. Ved at gløde sedimentet bringes al sedimentets fosfat på en syreopløselig form, der efterfølgende kan ekstraheres og bestemmes fotometrisk som ortho-fosfat.

For hvert af de 7 dybdeintervaller angives tørstofindholdet i mg tørvægt/g vådvægt, glødetabet ved mg glødetab/g tørvægt og koncentrationen af total fosfor (TP) angives i mg P/g tørvægt.

¹ Interkalibrering af sedimentkemiske analysemetoder II (Miljövärdsskretariatet)

Anvisning 14.1 Bestemmelse af jernbundet fosfor.

Reagenser

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller rensat demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q eller Elgastat Maxima anlæg. Om nødvendigt skal vandets og reagensernes fosforindhold kontrolleres. (Se også bemærkninger til rengøring af analyseudstyr bilag 14.4.2). Alle reagenser skal være af analysekvalitet.

Iltfrit vand: 1 liter vand gøres iltfri ved kraftigt at udgasse vandet med N_2 i $>1/2$ time.

Dithionit-opløsning; bufferet ved pH 7,0: Opløs 23,1 g natriumdithionit, $Na_2S_2O_4$, $2H_2O$, og 9,2 g natriumbikarbonat, $NaHCO_3$, i 1 liter iltfrit vand. Opløsningen laves frisk før hver ekstraktion, for ikke at forbruges ved reaktionen med luftens ilt.

Svovlsyre, 4 M: Tilsæt forsigtigt og under omrøring 223 ml koncentreret svovlsyre, H_2SO_4 (densitet = 1,84 g/ml), til ca. 600 ml dest. vand. Afkøl til stuetemperatur og fortynd til 1000 ml.

Fremgangsmåde

1. Umiddelbart efter at sedimentkernerne er puljet og homogeniseret, overføres ca. 1 g sediment fra hvert dybdeinterval til hvert sit forvejede ubrugte centrifugeglas m/tætssluttende låg indeholdende 25,0 ml dithionit-opløsning. Den nøjagtige sedimentvægt bestemmes ved efterfølgende vejning. For at begrænse sedimentets eksponering for luftens ilt skal opskæring og homogenisering foretages så hurtigt som muligt. Dette opnås bedst, hvis opskæring, homogenisering og overførsel af sediment til dithionit-opløsningen foretages for én sedimentdybde ad gangen.
2. Sedimentet ekstraheres i 1 time ved jævn omblending (anbring centrifugeglas på rystebord eller lign.).
3. Sediment/dithionit-opløsningen centrifugeres indtil supernatanten er klar.
4. Supernatanten dekanteres til en 200 ml glasflaske, og volumen bestemmes inden prøven fortyndes til 100 ml med vand.
5. I stinkskaab fjernes den overskydende dithionit ved at belufte opløsningen med atmosfærisk luft i ca. 60 min. Kontrollér, at prøvevolumen ikke har ændret sig væsentligt pga. af væskefordampning under beluftningen. Tilsæt om nødvendigt vand til 100 ml.
6. Tilsæt 1 ml 4 M svovlsyre til fosfatprøven inden, ortho-fosfatkoncentrationen bestemmes fotometrisk iflg. bilag 14.4: Fotometrisk bestemmelse af ortho-fosfat (PO_4^{3-}) i vand.

Reagenser

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller rensat demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q eller Elgastat Maxima anlæg. Om nødvendigt skal vandets og reagensernes fosforindhold kontrolleres. (Se også bemærkninger til rengøring af analyseudstyr bilag 14.4.2). Alle reagenser skal være af analysekvalitet.

Saltsyre; 1 M: Tilsæt 83 ml koncentreret saltsyre, HCl (densitet=1,19 g/ml), til ca. 500 ml dest. vand og fortynd til 1 liter.

Svovlsyre, 4 M: Tilsæt forsigtigt og under omrøring 223 ml koncentreret svovlsyre, H₂SO₄ (densitet = 1,84 g/ml), til ca. 600 ml dest. vand. Afkøl til stuetemperatur og fortynd til 1000 ml.

Fremgangsmåde

1. Tørstof og glødetab bestemmes iflg. Dansk Standard 204 på en kendt prøvemængde udtaget fra det homogeniserede sediment.
 2. Gløderesten findeles, og ca. 0,2 g overføres til en forvejet 100 ml konisk kolbe m/ kogesten. Den samlede vægt af gløderest og kolbe bestemmes efterfølgende.
 3. Tilsæt 25 ml 1 M HCl og kog gløderesten i saltsyren i 15 min på varmeplade eller i sandbad. Tidtagningen starter, når væsken er kommet i kog. Kondensér vanddampen vha. "koldfinger".
 4. Efter afkøling fortyndes prøven med vand til 100 ml (\approx 100 g), og der tilsættes 1 ml 4 M svovlsyre, inden ortho-fosfatkoncentrationen bestemmes fotometrisk iflg. bilag 14.4: Fotometrisk bestemmelse af ortho-fosfat (PO₄³⁻) i vand.
- Bemærk at den prøven skal fortyndes mindst 2x, da den ellers er for sur til, at farvareaktionen kan forløbe.

14.7 Analysemetoder: Svovlbrintebuffer-kapacitet

Målingen af sedimentets svovlbrintebufferkapacitet foretages på det svovlbrintefrie overfladesediment ved en H₂S-titrering. Udstrækningen af den H₂S frie zone bestemmes ved at stikke en sølvplade ned i sedimentet. I den del af sedimentet, hvor der findes svovlbrinte, sortfarves sølvpladen (Ag₂S), mens den ikke farves i det H₂S-frie sediment. For også at kunne relatere svovlbrintebufferkapaciteten til sedimentets indhold af oxideret jern (Fe-ox) i H₂S-bufferzonen bestemmes koncentrationen af Fe-ox i overfladesedimentet.

14.7.1 Analyser

14.7.1.1 Registrering af svovlbrintefronten ved brug af sølvplade

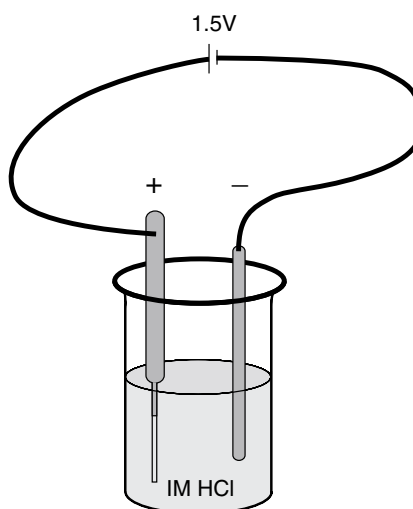
Efter at sedimentkernen er indsamlet, under hjemtransporten eller i inkubationskammeret, stikkes en eller flere sølvplader (ca. 80 x 5 mm) påmonteret et plexiglasskaft (håndtag) ned i de 3 sedimentkerner, der skal bruges til svovlbrintebufferkapacitet- og Fe-ox målingerne. Husk inden sølvpladerne stikkes ned i sedimentet at markere, hvor på sølvpladen sedimentoverfladen skal positioneres (brug fx en vandfast tusch). Cirka 1 cm af sølvpladen skal stikke op i vandfasen.

I løbet af én til flere timer (afhængig af H_2S koncentrationen) bliver den del af sølvpladen, der har været i kontakt med frit sulfid, farvet sort eller brunlig. Ved aflæsning af sølvelektroderne bestemmes svovlbrintefrontens dybdeudbredelse som den dybde, hvor sølvpladen farves.

For at få en hurtig og bedre Ag_2S udfældning anbefales det at belægge den del af sølvpladen, der skal stikke op over sedimentoverfladen, med sølvklorid ($AgCl$). Kloridpålægningen kan foretages ved at forbinde sølvpladen til den positive pol på et 1,5 V batteri og stikke den øvre ende ned i en ca. 1 M HCl -opløsning i 10-15 min. Batteriets negative pol forbindes til saltsyreopløsningen via en anden sølvplade (Figur 14.5). Sølvpladerne kan bruges flere gange, idet Ag_2S -belægningen let kan fjernes ved hjælp af ståluld eller lidt skurepulver.

14.7.1.2 Måling af sedimentets svovlbrintebufferkapacitet

Svovlbrintebufferkapaciteten af det H_2S -frie sediment bestemmes ved at tilsætte sedimentet til en svovlbrinteopløsning med kendt koncentration og bestemme svovlbrinteoptaget efter en given inkubationstid (Anvisning 14.3). Sedimentprøven udtages fra prøvetagningsrøret med en afskåret 2 ml plasticsprøjte. På basis af plasticsprøjtes tværsnitsareal udtrykkes svovlbrintebufferkapaciteten som $\mu\text{mol } H_2S\text{-forbrug}/\text{cm}^2$ for hver kerne ved gennemsnittet af tre målinger (dvs. forskellen mellem 3 start-værdier og 3 slut-værdier).



Figur 14.5 Belægning af sølvplade med klorid. Til venstre i bægerglasset (+pol) ses sølvpladen med den del af sølvet, der skal belægges med $AgCl$, stikkende ca. 1 cm ned i saltsyren - der under ses plexiglashåndtaget. Til højre i bægerglasset ses den negative Ag -pol (se tekst).

Bemærkninger til svovlbrintebufferkapacitetsmålingen

I sediment med stor dybdeudbredelse af den oxidative zone kan svovlbrintebufferkapaciteten blive så stor, at det tilsatte sediment forbruger al H_2S ($\approx 100 \mu\text{mol}$). I sådanne tilfælde udtrykkes svovlbrintebufferkapaciteten som $>x \mu\text{mol cm}^{-2}$, hvor x beregnes ud fra svovlbrinteforbruget og tværsnitsarealet af plasticsprøjten, hvormed sedimentkernen blev udtaget.

Den maximale dybde af det sediment, der skal indgå i målingen af svovlbrintebufferkapaciteten, sættes af praktiske grunde til 7-8 cm svarende til den dybde, hvor H₂S vil kunne detekteres på sølvpladerne. Dette svarer til et sedimentvolumen på 5-6 cm³ afhængig af dimensionen på den afskårne 2 ml plasticsprøjte.

Det mindste sedimentvolumen, der skal tilsættes H₂S-opløsningen for at kompensere for det prøvevolumen, der udtages til H₂S-koncentrationsbestemmelsen, er 1,5 cm³ (= 3 x 500 µl). I praksis tilsættes derfor sediment svarende til længden af en 2 ml plasticsprøjte (≈ 3 cm³) for at fortrænge så meget af H₂S-opløsningen, at Winklerflaskens glasprop kan sættes på, uden at der fanges luftbobler i flasken. Selvom sedimentet skulle indeholde frit H₂S, er den mængde H₂S, der tilføres svovlbrinteopløsningen, ubetydelig. Er H₂S-koncentrationen i sedimentets porevand fx 1 mM, tilføres der < 3 µmol H₂S til Winklerflaskens indhold på ca. 100 µmol H₂S ved tilsætning af 3 cm³ sediment.

Anvisning 14.3 Bestemmelse af sedimentets svovlbrintebufferkapacitet.

Reagenser

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller rensat demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q eller Elgastat Maxima anlæg. Alle reagenser skal være af analysekvalitet.

Iltfrit havvand v/pH 7 - 8: 1-2 liter filtreret (0,22 µm eller 0,45 µm) havvand fra stationen gøres iltfri ved kraftigt at udgasse vandet med N₂ i >½ time. Herefter indstilles pH til 7-8 ved at fortsætte gennemboblingen med ca. 2% CO₂ i N₂. Falder pH til under pH 7 ved CO₂ udgasningen, kan pH hæves ved igen at udgasse vandet med N₂. Bemærk at 2% CO₂ i N₂ er en "specialgas", men gassen behøver ikke at være "certificeret".

Iltfrit vand: 1 liter vand gøres iltfri ved kraftigt at udgasse vandet med N₂ i >½ time.

Svovlbrinteopløsning, 0,25 M: 0,60 g Na₂S·xH₂O (en eller flere krystaller) renses i O₂-frit vand og aftørres forsigtigt før, de(n) opløses i 10,0 ml iltfrit vand. Den nøjagtige H₂S-koncentration kan om ønskeligt bestemmes ved fotometrisk måling.

Saltsyre, 0,25 M: Tilsæt 21 ml koncentreret saltsyre, HCl (densitet = 1,19 g/l) til ca. 500 ml vand og fortynd til 1 liter.

Zinkacetat-opløsning, 5%: Tilsæt 50 g zinkacetat, Zn(C₂H₃O₂)₂·2H₂O, til 1 liter vand tilsat 1 ml koncentreret eddikesyre, CH₃COOH (100% ≈ densitet = 1,05 g/ml).

fortsætter næste side ►

(Anvisning 14.3 fortsat)

Fremgangsmåde

1. Overfør gennem en gennemsigtig diffusionstæt slange (fx Tygon®) det iltfrie havvand til en Winkler-flaske med kendt volumen (ca. 100 ml) indeholdende 2-3 små glaskugler. Slangen føres ned i bunden af Winkler-flasken, og vandprøven overføres med overløb svarende til 1-2 x flaskens volumen. Fyld flasken helt op, samtidig med at slangen trækkes langsomt ud. Undgå luftbobler i vandprøven.
2. Tilsæt - nogle få cm under overfladen - 400 µl 0,25 M H₂S-opløsning og 400 µl 0,25 M HCl. Slutkoncentration: 1 mM H₂S.
3. Luk Winklerflasken hurtigt med glasprop, uden at fange luftbobler i flasken. Ryst kraftigt og lad opløsningen hvile ca. en time.
 - Det kan være praktisk at fylde alle Winklerflaskerne med det iltfrie havvand, inden svovlbrinte-opløsningen tilsættes. Husk blot at tilproppe Winklerflaskerne i tidsrummet mellem vandpåfyldningen og svovlbrinte-tilsætningen for at modvirke, at havvandet iltes.
4. Overfladevandet dekanteres forsigtigt fra sedimentkernerne.
5. Med en afskåren 2 ml plastiksprøjte udtages en lille sedimentkerne svarende til længden af plastic sprøjten. Strækker den H₂S-frie zone sig dybere ned end plastiksprøjten kan nå, presses overfladesedimentet ud af prøvetagningsrøret, indtil sedimentet fra det dybereliggende lag kan indsamles i en ny plastiksprøjte. (Se *Bemærkninger til svovlbrintebufferkapacitetsmålingen*).
6. 3 prøver á 500 µl udtages fra svovlbrinteopløsningen i Winklerflasken med Eppendorfpipette eller lign. og konserveres direkte i hver sin 5,0 ml 5% ZnAc (i alt 3 start-prøver pr. Winklerflaske). Undgå at svovlbrinteopløsningen kommer i kontakt med atmosfærisk luft. For ikke at overføre ZnAc til svovlbrinteopløsningen fornyes pipettespidsen mellem hver prøvetagning.
7. Sedimentprøven (\approx mindst 3 cm³) tilsættes hurtigt til svovlbrinteopløsningen, og Winklerflasken lukkes uden at fange luftbobler i flasken. (Se *Bemærkninger til svovlbrintebufferkapacitetsmålingen*).
8. Flasken rystes kraftigt og stilles ved stuetemperatur i 3 døgn, i mørke.
9. Flasken rystes 2 eller flere gange dagligt - kontinuerlig omrystning er ikke påkrævet. Det vil i mange tilfælde kunne ses, at sedimentet gradvist sortfarves i takt med, at sedimentets jern forbinder sig med H₂S fra opløsningen, og der dannes FeS.
10. Efter tre døgn henstand udtages 3 prøver á 1000 µl fra den klare H₂S-opløsning i Winklerflasken (ingen omrystning før prøvetagningen). Prøverne konserveres direkte i hver sin 5,0 ml 5% ZnAc (i alt 3 stop-prøver pr. Winklerflaske). Undgå at svovlbrinteopløsningen kommer i kontakt med atmosfærisk luft.
11. Indholdet af H₂S i start- og stop-prøverne bestemmes fotometrisk efter fortynding af de konserverede prøver iflg. bilag 14.2: "Fotometrisk bestemmelse af svovlbrinte (H₂S) i vand" (3-dobbelt bestemmelse).

Kontrol af svovlbrintebufferkapacitetsmålingen

Glaskugler tilsættes svovlbrinteopløsningen i Winklerflasken i stedet for sediment, og H₂S forbruget efter tre døgn bestemmes efter samme fremgangsmåde som anført ovenfor.

Anvisning 14.4 Bestemmelse af sedimentets Fe-ox indhold.

Reagenser

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller rensat demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q eller Elgastat Maxima anlæg. Om nødvendigt skal vandets og reagensernes jern-indhold kontrolleres. Alle reagenser skal være af analysekvalitet.

Eddikesyre, 0,35 M: Tilsæt 2 ml koncentreret eddikesyre, CH_3COOH (100% \approx densitet = 1,05 g/ml), til ca. 80 ml vand under omrøring og fortynd til 100 ml.

Citrat-opløsning, 0,2 M, bufferet ved pH 4,8: Opløs 5,9 g tri-natriumcitrat, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, i 80 ml 0,35 M eddikesyre og fortynd til 100 ml. Opløsningen har en pH på 4,8.

Dithionit-opløsning, 50 g/l: Opløs 5 g natriumdithionit, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, i 100 ml af den bufferede citrat-opløsning. Skal fremstilles frisk umiddelbart inden brug for ikke at forbruges ved reaktionen med luftens ilt.

Saltsyre, 0,5 M: Tilsæt 42 ml koncentreret saltsyre, HCl (densitet = 1,19 g/ml), til ca. 500 ml vand under omrøring og fortynd til 1 liter.

Fremgangsmåde

1. Med en afskåren plastiksprøjte af passende volumen indsamles de øverste 1½ cm af sedimentet fra den samme kerne og samtidig med sediment til svovlbrintebufferkapacitetsbestemmelsen.
2. Sedimentet vejes og overføres til et lille bægerglas, hvor det hurtigt blandes. (Sedimentets indhold af Fe^{2+} , som ved blandingen oxideres til Fe-ox, er ubetydelig. Oxidationen af FeS til Fe-ox er også uden betydning, hvis blot sedimentet kun kortvarigt eksponeres for luftens ilt).
3. To ca. 500 mg portioner af det homogeniserede sediment overføres til hvert sit forvejede 50 ml centrifugeglas med låg indeholdende: A) 25 ml dithionitopløsning og B) 25 ml 0,5 M HCl opløsning.
4. Centrifugeglassene lukkes og vejes.
5. Begge sedimentopløsninger ekstraheres 1 time ved stuetemperatur (anbring centrifugeglas på rystebord eller lign.) og afslut ekstraktionen ved centrifugering og dekantering.
6. Indholdet af Fe^{2+} bestemmes fotometrisk efter evt. fortynding af de konserverede prøver iflg. bilag 14.3: "Fotometrisk bestemmelse af ferro-jern (Fe^{2+}) i vand" (3-dobbelt bestemmelse).

14.7.1.3 Måling af sedimentets oxiderede jernindhold i H_2S -bufferzonen

Koncentrationen af Fe-ox i det H_2S -frie sediment bestemmes i samme sedimentkerne som svovlbrintebufferkapaciteten. Sedimentprøven indsamles fra sedimentets øverste 1½ cm samtidig med sediment til svovlbrintebufferkapacitetsmålingen. Sedimentet indsamles med afskåren plasticsprøjte af passende volumen. Koncentrationsbestemmelsen af Fe-ox foretages i to trin. Først foretages en dithionitreduktion af sedimentets oxiderede jernpulje, som efter reduktionen måles (3-dobbelt bestemmelse) som opløst Fe^{2+} iflg. bilag 14.3: Fotometrisk bestemmelse af ferro-jern (Fe^{2+}) i vand. Da reducerede jernforbindel-

ser, især FeS, også frigøres ved dithionitekstraktionen, bestemmes i andet trin koncentrationen af det reducerede jern ved en HCl ekstraktion efterfulgt af en fotometrisk måling (3-dobbelt bestemmelse) af det frigjorte Fe²⁺ (Anvisning 14.4). Sedimentets "sande" Fe-ox koncentration kan herefter beregnes ved

$$[\text{Fe-ox}] = [\text{Fe}^{2+}]_{\text{dithionit}} - [\text{Fe}^{2+}]_{\text{HCl}}$$

På basis af plasticsprøjtens tværsnitsareal udtrykkes Fe-ox koncentrationen som $\mu\text{mol Fe-ox}/\text{cm}^2$ for hver kerne ved gennemsnittet af tre målinger (dvs. forskellen mellem 3 $[\text{Fe}^{2+}]_{\text{dithionit}}$ -værdier og 3 $[\text{Fe}^{2+}]_{\text{HCl}}$ -værdier).

14.8 Analysemetoder: Ilt- og næringsstoffluxe

På de valgte stationer i typeområderne bestemmes fluxe af orthofosfat, nitrat, nitrit, ammonium, urea og opløst silikat ved at måle den tidsafhængige koncentrationsændring i et "lukket" vandvolumen over et veldefineret sedimentareal. På samme måde måles sedimentets metabolisme udtrykt ved iltoptaget. På sedimenter, der *in situ* påvirkes af lys, skal ilt- og næringsstoffluxe måles i de samme sedimentkerner, først i lys og derefter i mørke. Hvert typeområde repræsenteres ved mindst tre stationer. For at kunne sammenligne observationer inden for selve typeområdet og typeområderne imellem, bør det tilstræbes, at alle ilt- og fluxmålingerne i typeområdet foretages samme dag, og at alle typeområder undersøges indenfor samme år.

14.8.1 Præ-inkubation ved *in situ* temperatur, lys og ilt

Fra hver station indsamles 6 sedimentkerner i Kajak-rør, som straks efter ankomsten til laboratoriet anbringes i bundvand fra stationen i inkubationskammer (Figur 14.6) sammen med 3 vandfyldte rør (kontrol-rør) ved *in situ* temperatur, lys og ilt. Vandet overføres fra transportbeholderne til inkubationskammeret vha. en hævert, som stikkes helt ned til bunden af inkubationskammeret. Herved undgås unødigt beluftning af bundvandet, som vil påvirke iltindholdet, specielt i de tilfælde, hvor bundvandet er undermættet med luft. Ved håndteringen af rør, inkubationskammer og inkubationsvand skal der anvendes gummihandsker eller lign., således at urea og ammonium fra huden ikke forurener vandprøverne.

Ydersiden af de tilproppede sedimentkerner rengøres omhyggeligt med vandhanevand og den øverste gummiprop fjernes. Af hensyn til den efterfølgende fluxmåling positioneres sedimentoverfladen 20 cm fra den øverste kant af plexiglasrøret, hvilket giver ca. 425 ml vand i Kajak-røret over sedimentet. I kontrolrørene anbringes en falsk bund (fx et stempel) i samme position som sedimentoverfladen. En lille Teflon-coated magnet (30 mm x 5 mm, ID) til omrøring og udskiftning af vandfasen mellem rør og inkubationskammer ophænges i hvert rør, 5 cm fra sedimentoverfladen (Figur 14.7). Sedimentrørene sænkes helt ned under vandoverfladen i inkubationskammeret.

Vandet i plexiglasrøret skal omrøres med en hastighed på 60 omdr. min^{-1} , hvilket resulterer i en tilstrækkelig blanding af vandvolumenet, uden at sedimentet hvirvles op. Ved brug af en eller flere luftsten gennembobles vandet i inkubationskammeret med luft med et passende iltindhold svarende den nærmeste *in situ* luftmætningsværdi: 100%, 50%, 20% eller 0% luftmætning (Tabel 14.8). Inkubationsvandet kan også gennembobles med den sande *in situ* luftmætning ved brug af en gasblander, der er istand til at opretholde et stabilt gasblandingsforhold over mindst et døgn. I dette tilfælde blandes to komprimerede gasser: atmosfærisk luft og N_2 indeholdende 0,03% CO_2 .

Tabel 14.8 Valg af gasblanding til beluftning af inkubationsvand. Bemærk at inkubationsvandet også kan beluftes ved *in situ* luftmætning vha. gasblander.

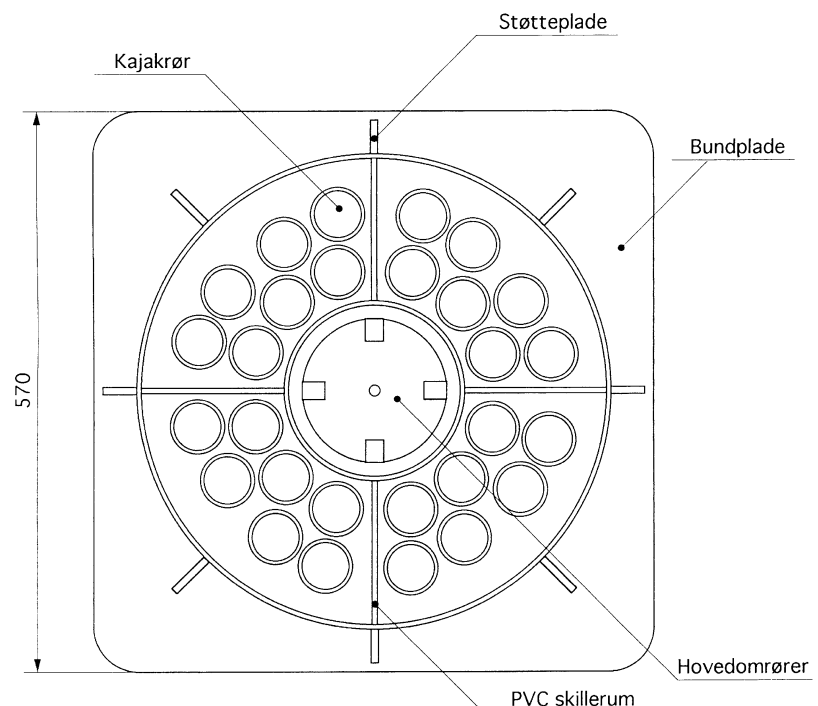
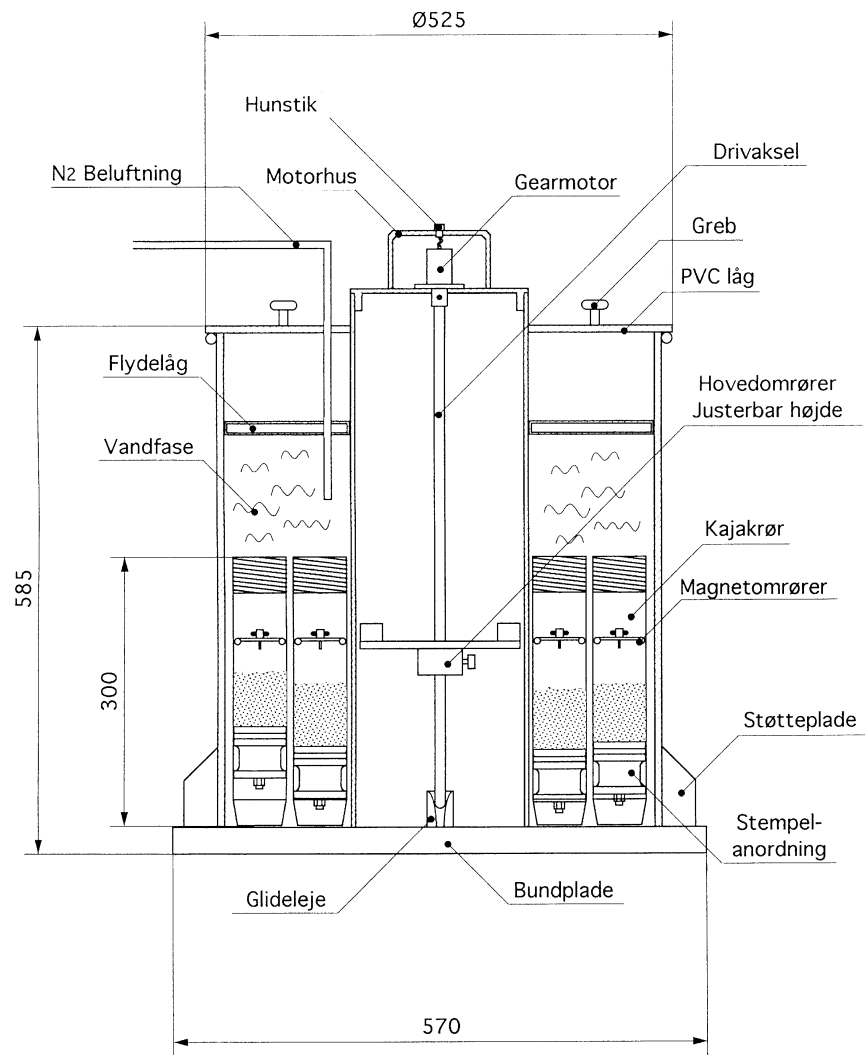
% luftmætning		gasblanding		
<i>in situ</i> interval	inkubation	CO_2	O_2	N_2
0 - 10%	0%	0,03%	0%	rest N_2 ($\approx 99.97\%$)
10 - 35%	20%	0,03%	4,2%	rest N_2 ($\approx 95.77\%$)
35 - 75%	50%	0,03%	10,5%	rest N_2 ($\approx 89.47\%$)
75 - 100%	100%	akvariepumpe		

For at mindske O_2 -udvekslingen mellem laboratorieluften og vandet, når luftmætningen i vandet er $<100\%$, placeres yderligere et gennemsigtigt flydelåg på vandoverfladen i inkubationskammeret. I enkeltstående tilfælde, hvor luftmætningen i bundvandet overstiger 100% (i forbindelse med fotosyntese) præ-inkuberes sedimentkernerne ved 100% luftmætning uden flydelåg. Sediment, der *in situ* påvirkes af sollys, belyses "resten af dagen" med "koldtlys"lampe m/dagslysspektrum (fx Osram HQI-T 400 W/D) ved *in situ* lysintensitet (se afsnit 14.5.1 og Tabel 14.5), dvs. et slukur afbryder lyspåvirkningen af sedimentet på det tidspunkt af dagen, hvor solen går ned. Sedimentkernerne inkuberes ved *in situ* temperatur i kølerum. For at undgå at varmestrålingen fra lyskilden opvarmer sediment og vand, er det nødvendigt at placere en vandkølet hærdet glasplade mellem lampen og forsøgsopstillingen.

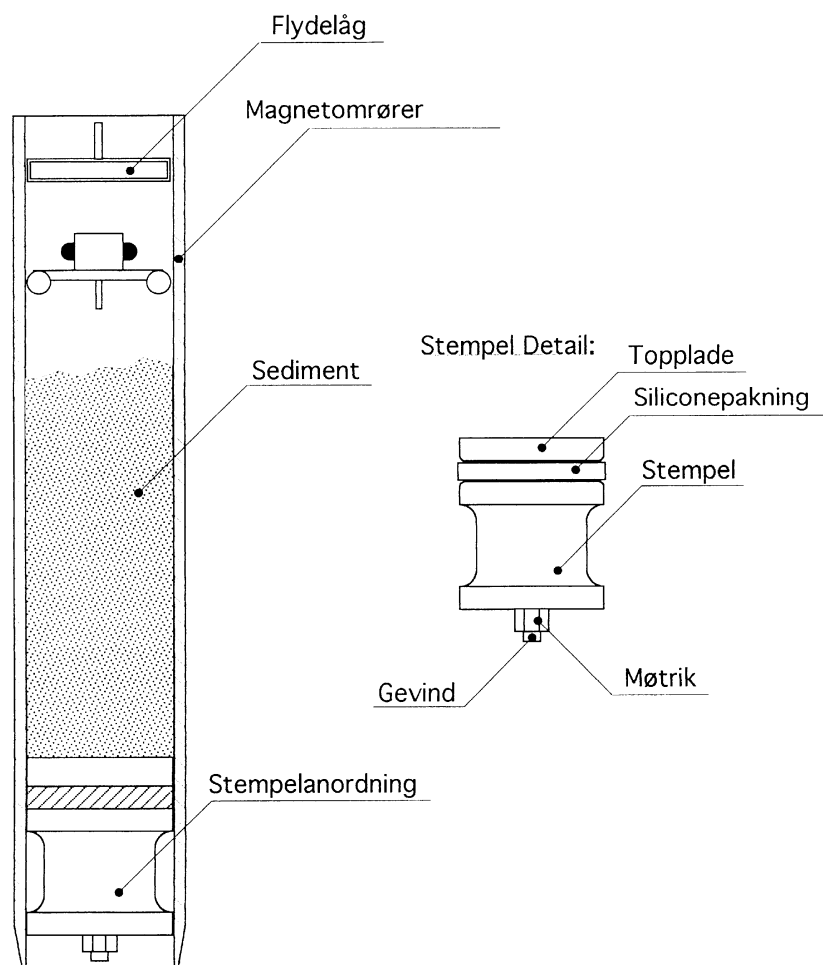
14.8.1.1 Vurdering af inkubationstiden

Længden af inkubationen skal afpasses således, at det er muligt at måle en signifikant ændring af ilt- og næringsstofkoncentrationen i løbet af inkubationen. Den valgte inkubationslængde vil derfor afhænge både af forholdene på den pågældende station (fx mængden af organisk stof), årstiden (temperaturen) og vandvolumenet over sedimentet.

Figur 14.6 Kajakrør med monteret magnet om flydelåg til brug ved ilt- og fluxmålinger. Stemplet, der monteres i bunden af plexiglasrøret, bruges til at justere sedimentoverfladens position i røret. Stemplet fastholdes i positionen ved kontraspænding, hvorved siliconepakningen presses fast mod rørets væg (gengivet med tilladelse fra KC-Denmark Research Equipment).



Figur 14.7 Inkubationskammer til ilt- og fluxmålinger set hhv. fra siden og fra oven. Inkubationskammeret er opdelt i 4 rum, der hver kan rumme 7 Kajak-rør. På figuren ses de gennemsigtige flydelåg, der placeres på vandoverfladen i inkubationskammeret, hvis bundvandet ved præinkubationen skal have <100% luftmætning. Under mørkeinkubationen placeres et sort låg øverst på inkubationskammeret. De små magneter i sedimentrørerne bevæges af den centralt placerede hovedomrører. Alle mål er angivet i mm (gengivet med tilladelse fra KC-Denmark Research Equipment).



Ud over erfaring og data fra tidligere målinger af iltfluxe på stationen, vil en test-inkubation af én sedimentkerne oftest vise sig at være nødvendig for at kunne bestemme længden af den egentlige inkubation. Testinkubationen udføres i mørke dagen før eller evt. samtidig med den egenlige inkubation. Under test-inkubationen følges iltkoncentrationen i det tillukkede sedimentrør, som beskrevet nedenfor (14.8.1.2). Der udtages én vandprøve til iltkoncentrationsbestemmelse efter 2 timer og endnu én efter 4 timer. På basis af de to målinger samt iltkoncentrationen ved forinkubationens start beregnes iltoptaget per time. Tiden for den egentlige inkubation af de øvrige 5 sedimentrør kan på denne måde afpasses sådan, at inkubationen kan stoppes, efter at iltkoncentrationen er faldet til ca. 80% af startværdien. Det vil sige, inkuberes sedimentkernerne ved 100% luftmætning ved starten, skal inkubationen stoppes, når iltindholdet er faldet til 80% luftmætning, ved 50% luftmætning stoppes inkubationen ved 40%, og ved en startværdi på 20% luftmætning stoppes inkubationen ved 10-15%. Inkubationstiden kan i øvrigt påvirkes ved at ændre på højden af vandsøjlen. Reduceres fx vandsøjlen fra 20 cm til 10 cm, idet sedimentsøjlen og magneten skubbes 10 cm højere op i røret, inden det lukkes, halveres også inkubationstiden. Ved denne justering af inkubationstiden skal højden af vandsøjlen være mindst 10 cm \approx 210 ml vand. Husk også at justere den falske bund i kontrolrørerne tilsvarende.

Søjler, der inkuberes under total iltsvind (0% luftmætning), skal maksimalt inkubere ligeså længe, som tilfældet var for den forrige fluxmåling, hvor luftmætningen var >0%.

14.8.1.2 Inkubation og prøvetagning i lys

Tabel 14.9 Prøvetagning til ilt- og næringsstoffluxe.

sprøjte	analyse	prøve volumen	konservering	tåler opbevaring
glas	ilt	ca. 40 ml*	Winkler-I og -II	≤ 3 dage
	ortho-fosfat	ca. 10 ml	4 M svovlsyre køleskab ved 4°C	
	nitrat + nitrit	ca. 10 ml	fryses straks <-18°C	
glas- eller plast	ammonium	ca. 10 ml	fryses straks <-18°C	se tekst 14.8.2.7
	urea	ca. 10 ml	fryses straks <-18°C	
plast	opløst silikat	ca. 10 ml	fryses straks <-18°C	

* vandprøve + 2 x overløb

Først inkuberes sedimentet i lys. Sedimentet skal belyses en time før ilt- og fluxmålinger startes. Hvis inkubationen foretages med flydelåg, skal så meget vand tappes af inkubationskammeret, at alle Kajakrørerne stikker nogle få cm op over vandoverfladen eller også løftes rørene blot en smule op over vandet. Rørerne lukkes forsigtigt, ved at placere et gennemsigtigt flydelåg i hvert rør. Inkubationen starter. Bemærk, at der ikke udtages vandprøver fra inkubationsrørene ved inkubationens start. Hvis inkubationen foretages med tætsluttende prop (dvs. med gennemsigtigt låg) kan inkubationen gennemføres under vand. Husk, at der ikke må samle sig luftbobler under lågene.

Når inkubationen er slut (inkubationslængden beregnet ved testinkubation i mørke, se 14.8.1.1), stoppes omrøringen, (flyde)låget fjernes, og der udtages iflg. Anvisning 14.5 vandprøver fra alle rør til koncentrationsbestemmelse af ilt, ortho-fosfat, nitrit og nitrat, ammonium, urea og silikat (Tabel 14.9).

På overfladen af lyseksponerede sediment produceres oftest O₂ ved fotosyntese, hvilket ses i form af bobledannelse. En del af den producerede ilt undslipper på denne måde vandfasen i form af iltbobler, og iltproduktionen kan derfor undervurderes. For at imødegå en sådan fejlregning er det derfor nødvendigt at stoppe inkubationen inden bobledannelsen bliver for iøjenfaldende. Det betyder i praksis, at når de første iltbobler løsriver sig fra sedimentoverfladen og samler sig under (flyde)låget, afbrydes inkubationen.

Efter at alle vandprøver er udtaget, fyldes plexiglasrøret forsigtigt med vand fra inkubationskammeret, uden at sedimentet hvirvles op. Al vandet i inkubationskammeret udskiftes med så meget friskt bundvand, at sedimentrørerne kan stå under vand (som ved præinkubationen) indtil den efterfølgende mørkeinkubation starter. I denne periode fortsættes belysningen af sedimentet, indtil et slukur afbryder lyset på det tidspunkt, hvor solen går ned. Mørkeinkubationen starter den følgende dag.

Som startværdier for ilt, ortho-fosfat, nitrat, nitrit, ammonium, urea og silikat bruges de koncentrationer, der måles i de tre kontrolrør efter inkubationen er stoppet. På denne måde er der taget højde for de koncentrationsændringer, som opstår i vandsøjlen i løbet af inkubationen uden sedimentets påvirkning, fx vandsøjlen egenrespiration, diffusion gennem plexiglasvæggen og lignende. Startværdierne angives som middelværdien af de tre kontrolrør. Beregningen af ilt- og næringsstoffluxene omtales i afsnit 14.8.3.

14.8.2 Inkubation og prøvetagning i mørke

De sedimenter, der skal inkuberes i mørke, skal præ-inkuberes (i mørke) natten over, før ilt- og fluxmålingerne startes. Ud fra test-inkubationen tilpasses længden af mørkeinkubation. Fremgangsmåden ved inkubation- og prøvetagning er identisk for lys og mørkeinkubationer (Anvisning 14.5 og Tabel 14.9).

Anvisning 14.5 Prøvetagningsprocedure ved måling af ilt- og næringsstofflux i lys- og mørke (dvs., prøver til koncentrationsbetemmelse af ilt, ortho-fosfat, nitrat, nitrit, ammonium, urea, og silikat).

Fremgangsmåde

1. Med en glassprøjte påmonteret en gastæt, gennemsigtig slange (fx Tygon®) udtages midt i vandsøjlen ca. 40 ml vandprøve til iltmåling (undgå at suge sediment med op i sprøjten).
2. Før slangen ned i bunden af en glasvial m/glaskugle (Exetainer®). Glas- set fyldes helt op, med overløb af vandprøven svarende til det dobbelte volumen, samtidig med at slangen trækkes langsomt ud. Undgå luftbobler i vandprøven. Vandprøven konserveres straks ved at tilsætte Winkler-reagens I og II som anført i bilag 14.1: Titrimetrisk bestemmelse af opløst ilt (O₂) i vand. Prøven opbevares ved *in situ* temperatur, og ilt-koncentrationen bestemmes indenfor 3 dage.
3. Herefter udtages på samme måde ca. 50 ml vand til koncentrationsbestemmelse af ortho-fosfat, nitrat og nitrit, ammonium og urea. Brug en rengjort, syreskyllet, glas- eller plastic sprøjte påmonteret en diffusionstæt slange.
4. Sprøjten monteres med et glasfiberfilter (f.eks Whatman® GF/F i Swin-nex-filterholder) eller celluloseacetatfilter. Lad ca. 10 ml vand skylle gennem filteret inden det resterende vand fordeles på 4 syreskyllede reagensglas af polystyrol-, polyethylen- eller polypropylen. Ortho-fosfat prøven konserveres ved at tilsætte 10 µl 4 M svovlsyre per ml vandprøve og opbevares i køleskab ved 4°C. De øvrige tre vandprøver konserveres straks ved dybfrysning (min. -18°C).
- Der skal ikke nødvendigvis tages tre særskilte vandprøver til nitrat og nitrit, ammonium samt urea, der kan også udtages én fælles vandprøve, som dybfryses. Ved én fælles vandprøve er det vigtigt, at alle næringsstofanalyserne udføres på vandprøven, umiddelbart efter at den er tøet op, idet vandprøven ikke kan fryses igen uden at påvirke næringsstoff-koncentrationerne.

fortsætter næste side >

(Anvisning 14.5 fortsat)

5. Til sidst udtages med plastic-sprøjte ca. 20 ml vand til silikat bestem-melse.
6. Plastic-sprøjten monteres med 0,45 µm Nucleopore membranfilter.

7. Lad ca. 10 ml vandprøve løbe gennem filteret inden det resterende vand opsamles til et plast-reagensglas. Prøven dybfryses straks ved min. -18°C .

14.8.3 Analyser

14.8.3.1 Ilt

Se bilag 14.1: Titrimerisk bestemmelse af opløst ilt (O_2) i vand.

14.8.3.2 Ortho-fosfat

Vandprøven konserveres med 10 μl 4 M svovlsyre pr. ml og opbevares i køleskab ved 4°C . Tilsætning af svovlsyrer fører ikke til en betydende ændring af ortho-fosfat koncentrationen. Koncentrationsbestemmelsen af ortho-fosfat (PO_4^{3-}) fremgår af bilag 14.4: Fotometrisk bestemmelse af ortho-fosfat (PO_4^{3-}) i vand.

14.8.3.3 Nitrat og nitrit

Vedrørende bestemmelsen af NO_3^- og NO_2^- koncentrationer er det tilstrækkeligt at indrapportere summen af de målte koncentrationer. Man skal dog være opmærksom på, at det af hensyn til analysepræcisionen oftest vil være nødvendigt at bestemme NO_3^- og NO_2^- separat.

Den gængse metode til bestemmelse af nitrit og nitrat er beskrevet i bilag 14.5: Fotometrisk bestemmelse af nitrat og nitrit i havvand. Ved denne metode bestemmes summen af NO_3^- og NO_2^- ved at reducere nitrat til nitrit efterfulgt af måling af nitrit koncentrationen. Sumkoncentration ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) vil da udgøres af den NO_2^- , der er i prøven, og den nitrit, der dannes ved reduktionen af nitrat. Bestemmelsen af sumkoncentrationen ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) efter ovenstående princip afhænger dog af, om reduktionen af nitrat til nitrit er 100% effektiv. Hvis dette ikke kan er tilfældet, skal effektiviteten af nitratreduktionen først bestemmes, hvorefter koncentrationen af NO_3^- og NO_2^- bestemmes separat og efterfølgende summeres.

14.8.3.4 Ammonium

Prøverne til bestemmelse af ammonium (NH_4^+) skal behandles meget omhyggeligt for at undgå kontamination med NH_4^+ . Brug derfor handsker og en ny pakning af reagensglas og propper hver gang et forsøg indledes. Reagensglas lukkes med prop, så snart de fjernes fra pakningen for at undgå forurening, og ammoniumprøverne eksponeres kortest muligt til luft for at minimere udvekslingen af NH_3 mellem laboratorieluft og prøve. Forskriften til ammoniumanalysen fremgår af bilag 14.6: Fotometrisk bestemmelse af ammonium (NH_4^+) i saltvand.

14.8.3.5 Urea

Reagensglas og propper til opbevaring af urea prøverne skal, for at nedsætte risikoen for forurening med urea fra huden, også håndteres med brug af handsker. Forskriften til urea analysen fremgår af af bilag 14.7: Fotometrisk bestemmelse af urea (H_2NCONH_2) i saltvand.

14.8.3.6 Opløst silikat

Se bilag 14.8: Fotometrisk bestemmelse af opløst silicium (Si) i vand.

14.8.3.7 Opbevaring af næringsaltprøver

Igangværende undersøgelser vedr. langtidsholdbarheden af nedfrosne næringsaltprøver udføres p.t. (1998/99) ved Danmarks Miljøundersøgelser, Afd. for Sø- og Fjordøkologi. Det viser sig allerede nu, at næringsaltprøver har en væsentlig længere holdbarhed (op til 3 mdr. eller mere) end angivet i første udgave af *Teknisk anvisning til overvågning af sediment* (< 3 uger; se Tabel 7.2 i 1. udgave). Holdbarhedsundersøgelserne forventes afsluttet i begyndelsen af 1999 for alle næringsaltene (ekskl. urea, afsluttes ultimo 1999), hvorefter resultatet meddeles de i NOVA-overvågningsprogrammet involverede amter og analyselaboratorier.

14.8.4 Beregninger af ilt- og næringsstofkoncentrationer til brug for fluxberegning

Både efter lys- og mørkeinkubationen bestemmes koncentrationen af den kemiske forbindelse *S* (dvs. ilt, ortho-fosfat, nitrat, nitrit, ammonium, urea og silikat) i de tre kontrol-rør og i vandfasen over hver af de 5 sedimentrør. Koncentrationen af *S* udtrykkes i μM .

Lys- og mørkefluxen af ilt- og næringsstofferne kan beregnes for hvert af de 5 sedimentrør ($i = 1-5$):

$$S_{\text{flux}}(i) = \frac{([S]_{t,i} - [S]_0) \times h_i}{T} \times 10$$

hvor

$S_{\text{flux}}(i)$ er lys eller mørkefluxen af *S* i rør *i* ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{time}^{-1}$)

$[S]_{t,i}$ er koncentrationen af *S* i vandfasen over sedimentet i rør *i* (μM) efter inkubationen

$[S]_0$ er gennemsnits-koncentrationen ($n = 3$) af *S* i kontrolrørerne (μM)

T er varigheden af inkubationen, timer

h_i er højden af vandsøjlen over sedimentet i rør *i* (cm).

Ved denne beregning udtrykker positive værdier en produktion (dvs. fotosyntese, hvad angår ilt) eller en udadrettet flux af næringsstoffer (efflux), mens negative værdier udtrykker et forbrug af ilt (iltoptag) eller en indadrettet flux (influx) af næringsstoffer, dvs. at sedimentet optager næringsstoffer.

For at udtrykke døgnfluxen af ilt- og næringsstofferne vægtes lys og mørkefluxene for hvert af de 5 sedimentrør

$$DS_{\text{flux},i} = [LS_{\text{flux},i} \cdot t + MS_{\text{flux},i} \cdot (24 - t)] \times 10^{-3}$$

hvor

$DS_{flux, i}$ er døgnfluxen af S i rør i ($\text{mmol m}^{-2} \text{døgn}^{-1}$).

$LS_{flux, i}$ og $MS_{flux, i}$ er hhv. lys- og mørkefluxen af S i rør i ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{time}^{-1}$)

t er tidrummet mellem solopgang og solnedgang den pågældende dag (timer).

14.9 Kvalitetssikring og dataindberetning

Resultaterne af den estuarine og marine sedimentovervågning skal indberettes i STANDAT-format til Danmarks Miljøundersøgelser, Afd. for Havmiljø og Mikrobiologi. Disse data kan overføres fra bilag 14.9: Indberetningsskema, som består af 7 nummererede sider. Rapporteringen skal efter hver eneste prøvetagning omfatte en skematisk beskrivelse af 1) selve prøvetagningen, 2) de fysiske forhold i vandsøjlen og meteorologiske observationer på prøvetagningstidspunktet, 3) visuelle observationer af sedimentets overflade og zoner, 4) en oversigt over inkubationsbetingelserne mht. temperatur, luftmætning og lys samt 5) data over de analyser, der er resultatet af sedimentundersøgelserne.

Sammen med de data, der opnås ved de egentlige sedimentanalyser, er en grundig visuel beskrivelse af de uforstyrrede sedimentkerner af stor betydning ved dokumentationen af variationen i sedimentets miljøtilstand, idet fysiske, kemiske og biologiske variable oftest kan ses (fx farve) eller lugtes (fx H_2S). For at opnå en vis kontinuitet i beskrivelsen af sedimentet fra gang til gang, bør man nok "skæve" til det sidst udfyldte skema fra samme station, også selvom det vil påvirke "objektiviteten" en smule, for at få et indtryk af hvilke parametre, der især skal lægges mærke til. For at kunne tolke eventuelle variationer over tid er det af stor vigtighed også at registrere vandsøjlenes kemiske og fysiske tilstand på prøvetagningstidspunktet, samtidig med at de meteorologiske forhold beskrives.

14.9.1 Kvalitetssikring

Det overordnede formål med kvalitetskontrollen er at sikre, at:

- undersøgelsesmetoderne løbende optimeres samtidig med, at sammenligneligheden til tidligere undersøgelser sikres,
- sedimentundersøgelser og kemiske analyser gennemføres efter de metoder, der er foreskrevet i denne anvisning eller ved metoder, der er dokumenteret at være lige så gode eller bedre med hensyn til detektionsgrænser og præcision.
- sedimentundersøgelserne gennemføres i de områder og med den frekvens, der er aftalt mellem amterne og Miljøstyrelsen,
- resultaterne af feltundersøgelserne når frem til databasen og rapporterne i fejlfri form.

Derfor skal der foretages kvalitetskontrol af de forskellige delopgaver i overvågningsprogrammet:

- Planlægning - på landsplan og lokalt
- Feltarbejde
- Laboratoriearbejde
- Databehandling - på landsplan og lokalt
- Dataoverførsel
- Rapportering - på landsplan og lokalt

Det er vigtigt, at der for hver delopgave er en person, som er hovedansvarlig for, at delopgaven løses korrekt. Kvaliteten af den enkelte delopgave skal først kontrolleres gennem en egenkontrol og dernæst kontrolleres af personale, der ikke har været direkte involveret i den pågældende delopgave.

De indsamlede data kvalitetssikres ved

- præcise anvisninger til indsamling, behandling og inkubation af sedimentprøver (afsnit 14.3 og 14.5)
- præcise anvisninger til bestemmelse af næringsstofpuljer (se afsnit 14.6), svovlbrintebufferkapacitet (se afsnit 14.7) samt ilt- og næringsstoffluxer (afsnit 14.8)
- præcise metodebeskrivelser til koncentrationsbestemmelse af ilt (bilag 14.1), svovlbrinte (bilag 14.2), ferro-jern (bilag 14.3), ortho-fosfat (bilag 14.4), nitrit og nitrat (bilag 14.5), ammonium (bilag 14.6), urea (bilag 14.7) og silicium (bilag 14.8)
- sammen med indberetningen af data i STANDAT-format at anføre navnet på de personer, der er ansvarlige for
 - ◆ prøvetagningen
 - ◆ sedimentbeskrivelsen
 - ◆ analysernes gennemførelse
 - ◆ beregninger og indberetning af data
- at afholde workshop med fokus på praktiske aspekter i forbindelse med sedimentprøvetagningsprogrammet (arrangeres af Danmarks Miljøundersøgelser, Afd. for Sø- og Fjordøkologi)
- at interkalibrere koncentrationsmålinger af ilt, svovlbrinte, ferro-jern, ortho-fosfat, nitrit og nitrat, ammonium, urea og silicium (arrangeres af Danmarks Miljøundersøgelser, Afd. for Sø- og Fjordøkologi).

Kvaliteten af overvågningsprocessen højnes yderligere, hvis hele processen fra prøvetagningen, observation af sedimentet til analyse, da-

taberegning og rapportering udføres hurtigt og fordeles på så få personer som muligt.

14.9.2 Indberetning af observationer og data

Sedimentet skal beskrives kortest mulig tid efter indsamlingen (i felten!) ud fra det samlede visuelle indtryk, der fås ved at betragte alle de kerner, der skal hjembringes til laboratoriet. I de tilfælde, hvor det ikke er muligt at indsamle uforstyrrede sedimentkerner, skal disse stå så længe det tager sedimentet at bundfældes, så overfladesedimentet kan ses og beskrives gennem den klare vandsøjle.

Nedenfor kommenteres de 7 sider i Indberetningsskemaet (bilag 14.9).

14.9.2.1 Side 1 - Station og Generelle oplysninger i forbindelse med prøvetagningen

“**Station**” indeholder oplysninger om navn på den prøvetagende institution (sædvanligvis amt), stations nummer, lokalitet, position (anført i WGS 84) og officielle vanddybde.

For at kunne sammenholde oplysningerne i rapporten (i tilfælde af at siderne adskilles) overføres oplysninger om institution og stationsnummer, samt dato for selve prøvetagningen til rapportens øvrige 6 sider.

“**Generelle oplysninger i forbindelse med prøvetagningen**” indeholder oplysninger vedr. stationsdata, indsamling af sediment og bundvand samt resultatet af de vandkemiske analyser.

Stationsdata: her anføres dato og klokkeslæt (GMT) for prøvetagning, den aktuelle position samt (institutions)navn på observatør. Endvidere anføres oplysninger om vejret (herunder vindstyrke, vindretning og skydække) samt vandet: aktuelle vanddybde, bølgehøjde, Secchi-dybde, og lysintensitet ved vandoverflade og bund.

Indsamling af sediment og bundvand: her anføres (institutions)navn på prøvetager og ved afkrydsning angives brug af prøvetagningsudstyr.

Forstyrrelse ved prøvetagningen: Sedimentkerner skal indsamles så uforstyrrede som muligt, om nødvendigt ved gentagen prøvetagning. Sediment, der kan indsamles uden, at det hvirvles op i vandfasen, betegnes ved 00: ingen forstyrrelse. Er sedimentet trods alt blevet forstyrret ved prøvetagningen, noteres 10: lidt forstyrret, hvis vandfasen indeholder en del sedimentpartikler, men dog er delvis klar, mens 20 udtrykker et meget forstyrret sediment (dvs. vandfasen er uklar). HUSK AT sedimentkerner, hvor vandfasen indeholder store mængder af sediment, eller hvor sedimentet indeholder større sten, skaller, dyr og lignende, ikke kan bruges til sedimentanalyser og skal kasseres. Disse sedimentkerner medtages ikke ved vurderingen af, i hvor høj grad de indsamlede kerner, der benyttes ved sedimentanalyserne, blev forstyrret ved prøvetagningen.

Bundvandet skal, så vidt det overhovedet er muligt, indsamles så man undgår sediment i vandet - om nødvendigt ved gentagen prø-

vetagning. Bundvand uden sediment betegnes ved 00: ingen sediment i bundvandet, mens 10 anføres ved lidt sediment i vandfasen og 20 ved meget sediment (dvs. vandfasen er næsten ugenomsigtig). HUSK at lade sedimentet i bundvandet sedimentere før vandet overføres til inkubationskammeret. Vandet må ikke filtreres!

Vandkemiske analyser: Til brug for (præ)inkubation af de indsamlede sedimentkerner anføres her temperatur, salinitet, iltindhold (i mg O₂ liter⁻¹ eller µM) og bundvandets luftmætning.

14.9.2.2 Side 2 - Beskrivelse af sedimentoverfladen

På denne side beskrives de visuelle observationer, der gøres af sedimentoverfladen. Denne beskrivelse kan foretages, mens sedimentet endnu opholder sig i fx HAPSen, eller efter at det er indsamlet i det gennemsigtige Plexiglasrør. Ikke al prøvetagning af sediment foretages af dykker, og derfor skal sedimentoverfladen først beskrives, efter at det er indsamlet - udseendet af sedimentoverfladen skal altså ikke beskrives af dykkeren *in situ*.

Overflade: her anføres, hvem der er observationsansvarlig (vha. initialer) og fra hvilken *institution*.

Tidspunkt for observationen: noteres, idet der kan ske væsentlige forandringer i de mere reducerede sedimentsøjler, hvis de henstår mere end 1 time efter optagning af sedimentet.

farve: anføres ved X for mest dominerende farveindtryk (højst X i 2 felter).

struktur: anføres ved X for mest dominerende indtryk (højst X i 2 felter).

tekstur: anføres ved X (kun X i ét felt).

største mineral partikel: angives i mm.

Sedimentbelægning: her anføres ved X, om der observeres diatoméer, blå-grønne alger eller *Beggiatoa* på sedimentoverfladen og deres dækningsgrad noteres. Diatoméer og blågrønne alger ses ofte på overfladen af lyspåvirket sediment, mens *Beggiatoa* kan observeres på sedimentoverfladen som hvide belægninger efter længere tids iltsvind.

Sedimentmakrofauna: her anføres ved X, hvilke typer af makrofauna der observeres på sedimentoverfladen samt dækningsgrad.

14.9.2.3 Side 3 - Sedimentzoner

De indsamlede sedimentkerner beskrives fra sedimentoverfladen ned til 10 cm dybde, efter at de er indsamlet i gennemsigtige plexiglasrør. I hovedtræk beskrives samme parametre som på sedimentoverfladen (se 14.9.2.2). I indberetningsskemaet markeres med en lodret streg dybdeudbredelsen af den pågældende parameter. Disse observationer overføres senere til STANDAT-format, og derfor anføres i hver dybde kun den mest dominerende parameter inden for hver gruppe: farve, struktur, tekstur, lejring og biologi.

farve: viser især de forskellige jernforbindelsers fordeling.

struktur: et sammenhængende sediment kan skubbes mindst 1 cm ud af plexiglasrøret, mens et flydende sediment vil løbe ned langs siderne af røret, når det forsøges skubbet ud.

tekstur og lejrning: disse observationer vil afspejle udviklingen i sedimentationsforholdene og indikere, om forholdene hidtil har været konstante. Ved en løbende sedimentbeskrivelse foretages en hurtig omend grov registrering af eventuelle forandringer i sedimentationsforholdene. Synlig lagdeling viser varierende sedimentation uden bioturbation og/eller resuspension af betydning. Skrålejring kan skyldes bølgeribber eller pålejninger omkring lokale lægiverer eller sedimenttilstrømninger. Gradvise overgange kan skyldes bioturbation, mens mere bratte overgange kan opstå ved resuspension.

biologi: heterogenitet i sedimentets farve og strukturer skyldes ofte nylige oprodninger af sedimentet ved faunaens graveaktivitet. I så fald angives udbredelsen af denne oprodning. Ligeledes kan åbne gange fra ventilerende dyr ofte observeres. Horisonter med skaller af muslinger og andre dyr kan ved sammenligning med den aktuelle levende fauna give et fingerpeg om faunaændringer gennem længere tid. *Beggiatoa* forekommer normalt kun på grænsen mellem iltholdigt og svovlbrinteholdigt sediment - kan være vanskelig at se i sedimentet. Observeres oftest (under iltsvind) på sedimentoverfladen.

14.9.2.4 Side 4 - Næringsstofpuljer

Her skrives resultatet af analyserne, og det anføres, hvem der er ansvarlig for rapporteringen af de beregnede data, (*Dataansvarlig*, vha. initialer), fra hvilken *institution* samt (præ)inkubationsbetingelserne (beluftning og inkubationstemperatur).

Endvidere rapporteres analyseansvarlige for de enkelte analyser, dvs. analyselaboratorium, analytiker (vha. initialer) og dato for analysens udførelse (tjener til identifikation af det enkelte analyseresultat) samt analysemetode.

14.9.2.5 Side 5 - Sedimentets bufferkapacitet

Her skrives resultatet af analyserne, og det anføres, hvem der er ansvarlig for rapporteringen af de beregnede data, (*Dataansvarlig*, vha. initialer), fra hvilken *institution* samt (præ)inkubationsbetingelserne (beluftning og inkubationstemperatur).

Endvidere rapporteres analyseansvarlige for de enkelte analyser, dvs. analytiker (vha. initialer), institution, og dato for analysens udførelse (tjener til identifikation af det enkelte analyseresultat).

14.9.2.6 Side 6 og 7 - Ilt- og næringsstofflux (1) og (2)

Side 6: Her anføres, hvem der er ansvarlig udførelsen af fluxinkubationerne (*Analyselaboratorium*) og ved hvilke inkubationsbetingelser fluxmålingerne er udført: luftmætning, temperatur, lys/ mørke samt anvendt lysintensitet ved sedimentoverfladen. Dato for fluxinkubationen og initialer for ansvarlige person noteres.

Endvidere rapporteres analyseansvarlige for de enkelte analyser, dvs. analyselaboratorium, analytiker (vha. initialer) og dato for analysens

udførelse (tjener til identifikation af det enkelte analyseresultat) samt analysemetode.

Side 7: Her skrives resultatet af analyserne, og det anføres, hvem der er ansvarlig for rapporteringen af de beregnede data, (*Dataansvarlig*, vha. initialer) og fra hvilken *institution*.

14.9.2.7 Omregning mellem mg stof/g tørvægt, $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ og mmol/m^2

Koncentrationen af den kemiske forbindelse S kan udtrykkes både i mg S /g tørvægt og $\mu\text{mol } S/\text{cm}^3$. Der gælder følgende sammenhæng mellem de to koncentrationsangivelser:

$$[S]_{\text{cm}} = \frac{[S]_{\text{tør}} \times T \times \sigma}{M_S}$$

og

$$[S]_{\text{tør}} = \frac{[S]_{\text{cm}} \times M_S}{T \times \sigma}$$

hvor

$[S]_{\text{cm}}$ er mængden af S pr. cm^3 sediment angivet i $\mu\text{mol } S/\text{cm}^3$,

$[S]_{\text{tør}}$ er mængden af S pr. g tørt sediment angivet i mg S /g tørvægt,

T er mængden af tørstof pr. g vådvægt angivet i mg tørvægt/g vådvægt,

σ er densiteten af vådt sediment angivet i g/cm^3 ,

M_S er molekylvægten af den kemiske forbindelse S , for $P = 30,97$ og for $N = 14,01$.

Med kendskab til koncentrationen af den kemiske forbindelse, S , i hvert enkelt dybdeinterval fra 0-10 cm kan sedimentkernens totale S -indhold fra 0-10 cm, $[S]_{T(0-10)}$, udtrykkes i $\text{mmol } S \text{ m}^{-2}$ ved

$$[S]_{T(0-10)} = 5 \cdot [S]_{\text{cm}(0-1/2)} + 5 \cdot [S]_{\text{cm}(1-1/2)} + 10 \cdot [S]_{\text{cm}(1-2)} + 10 \cdot [S]_{\text{cm}(2-3)} \\ + 10 \cdot [S]_{\text{cm}(3-4)} + 30 \cdot [S]_{\text{cm}(4-7)} + 30 \cdot [S]_{\text{cm}(7-10)}$$

hvor

$[S]_{\text{cm}(i)}$ udtrykker koncentrationen af S i $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ i dybdeintervallet i , hhv. 0-1/2 cm, 1/2-1 cm, 1-2 cm, 2-3 cm, 3-4 cm, 4-7 cm og 7-10 cm.

14.10 Referencer

Canfield, D.E., Jørgensen, B.B., Fossing, H., Glud, R., Gundersen, J., Ramsing, N.B., Thamdrup, B., Hansen, J.W., Nielsen, L.P. & Hall, P.O.J (1993): Pathways of organic carbon in three continental margin sediments. *Marine Geology* 113, 27-40.

Christensen, P.B. (Ed.), Møhlenberg, F., Krause-Jensen, D., Jensen, H.S., Clausen, P., Sortkjær, O., Schlüter, L., Josefsen, S.B., Jørgensen, C., Andersen, F.Ø., Thomassen, J., Thomsen, M.S. & Nielsen, L.P. (1994): Stoftransport og stofomsætning i Kertinge Nor/Kerteminde Fjord. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 43.

Christensen, P.B. (Ed.), Møhlenberg, F., Lund-Hansen, L.C., Borum, J., Christiansen, C., Larsen, S.E., Hansen, M.E., Andersen, J. & Kirkegaard, J. (1996): Havmiljøet under forandring? Havforskning fra Miljøstyrelsen, 61.

Fossing, H., Thamdrup, B. & Jørgensen, B.B. (1992): Havbundens svovl-, jern- og mangankredsløb i Århus Bugt. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 15.

Gundersen, J.K., Glud, R.N. & Jørgensen, B.B. (1995): Havbundens iltomsætning. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 57.

Hansen, J.W., Thamdrup, B., Fossing, H. & Jørgensen, B.B. (1994): Redoxbalancen og mineraliseringens temperaturafhængighed i Århus Bugt. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 36.

Howarth, R.W. & Jørgensen, B.B. (1984): Formation of ^{35}S -labeled elemental sulfur and pyrite in coastal marine sediments (Limfjorden and Kysing Fjord, Denmark) during short term $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ reduction measurements. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 1807-1818.

Iversen, N. & Jørgensen, B.B. (1985): Anaerobic methane oxidation rates at the sulfate-methane transition in marine sediments from Kattegat and Skagerrak (Denmark). *Limnology and Oceanography* 30, 944-955.

Jørgensen, B.B. (1982): Mineralization of organic matter in the sea bed - the role of sulphate reduction. *Nature* 296, 643-645.

Jørgensen, B.B. (Ed.) (1995): Stoftransport og stofomsætning i Århus Bugt. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 59.

Jørgensen, B.B. & Revsbech (1989): Oxygen uptake, bacterial distribution, and carbon-nitrogen-sulfur cycling in the sediments from the Baltic Sea - North Sea transition. *Ophelia* 31, 29-49.

Lomstein, B.Aa & Blackburn, T.H. (1992): Havbundens kvælstofomsætning i Århus Bugt. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 16.

Mortensen, P.B., Jensen, H.S., Rasmussen, E.K. & Andersen, F.Ø. (1992): Fosforomsætning i sedimentet i Århus Bugt. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 17.

Nielsen, L.P., Christensen, P.B. & Rysgaard, S. (1994): Denitrifikation i fjorde og kystnære farvande. Havforskning fra Miljøstyrelsen, 50.

Nielsen, L.P., Jensen, M.H., Andersen, P. & Rasmussen, B. (1990): Overvågning af sedimenter i Limfjorden; redegørelse om sedimentomsætningen og forslag til metoder. Limfjordskomiteen.

Sørensen, J., Jørgensen, B.B. (1987): Early diagenesis in sediments from Danish coastal waters: Microbial activity and Mn-Fe-S geochemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 1583-5129.

Thode-Andersen, S. & Jørgensen, B.B. (1989): Sulfate reduction and the formation of ^{35}S -labelled FeS, FeS₂ and S⁰, in coastal marine sediments. *Limnology and Oceanography* 34, 793-806.

