Titel: **Næringsstoffer i sediment**			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA nr.: M23	Version: 2.1	Oprettet: 19.12.2017
Forfatter: Henrik Fossing	Gyldig fra: 17.11.2022		
	Sider: 14		
	Sidst ændret: 17.11.2022		
TA henvisninger			

Indhold

1 Indledning 1
2 Metode 2
2.1 Tid, sted og periode 2
2.2 Udstyr 2
2.3 Procedure 3
2.3.1 Opskæring og homogenisering af sediment og bestemmelse af vægtfylde 4
2.3.2 Ekstraktion og analyse af jernbundet fosfor (Fe-P) 4
2.3.3 Bestemmelse af tørstofindhold 5
2.3.4 Bestemmelse af total kvælstof (TN) 6
2.3.5 Bestemmelse af glødetab 6
2.3.6 Bestemmelse af total fosfor (TP) 6
2.4 Særlige forholdsregler – faldgruber 7
3 Databehandling 8
3.1 Beregninger 8
3.1.1 Beregning af vægtfylde, tørstof og glødetab 8
3.1.2 Beregning af den jernbundne fosforkoncentration (Fe-P) 8
3.1.3 Beregning af totale kvælstofkoncentration (TN) 9
3.1.4 Beregning total fosfor (TP) 9
3.1.5 Beregning af kumuleret næringsstofindhold (TN og TP) 9
3.2 Data og koder 10
4 Kvalitetssikring 11
4.1 Kvalitetssikring af metode 11
4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering 11
5 Referencer 12
6 Bilag 13
6.1 Kemikalier og opløsninger 13
6.1.1 Opløsninger til brug ved ekstraktion af jernbundet fosfat 13
6.1.2 Opløsninger til brug ved ekstraktion af TP 13
7 Oversigt over versionsændringer 14

1 Indledning

Denne TA anviser en metode til bestemmelse af næringsstofpuljerne total kvælstof (TN), total fosfor (TP) og jernbundet fosfor (Fe-P) samt organisk stof (angivet som glødetab; eng. loss of ignition) i marine sedimenter og dertil knyttede følgeparametre: vægtfylde og tørstofindhold.

2 Metode

Næringsstofpuljer, organisk indhold og følgeparametre analyseres i flg. dybdeintervaller: 0-½, ½-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-7 og 7-10 cm.

For hvert dybdeinterval (bortset fra 1-2 cm) puljes sediment fra tre sedimentkerner, som homogeniseres og analyseres. I dybdeintervallet 1-2 cm gennemføres analyserne på hver sin homogeniserede sedimentprøve fra hver af de 3 sedimentkerner.

Usikkerheden (angivet i %) på den tredobbelte analyse i dybdeintervallet 1-2 cm bruges som proxy for usikkerheden på måleresultaterne i alle dybdeintervaller.

2.1 Tid, sted og periode

Sedimentkerner indsamles på det tidspunkt af året, hvor sedimentet er mest oxideret, dvs. i januar og februar måned eller i tilfælde af isdække, umiddelbart efter at isen er brudt op.

2.2 Udstyr

Større udstyr:

- Kajak-prøvetager, HAPS-corer, Box-corer eller lignende prøvetagningsudstyr til indsamling af uforstyrret sediment.
- Kar til sedimentkerner samt luftpumpe m/brusesten (til evt. præinkubation)
- Vægte (1, 0,1 og 0,01 mg nøjagtighed)
- Rystebord eller lign. til ekstraktion af Fe-P
- Centrifuge
- Tørreskab
- Muffelovn (til forbrænding)
- CN-analysator
- Varmplader eller sandbad
- Spektrofotometer

Mindre udstyr:

- Plexiglasrør (diameter ≥36 mm, fx Kajak-rør (diameter = 52 mm)) med propper i top og bund
- Transportkasse til sedimentkerner m/kølelementer
- 25 l vanddunk
- Stempler til justering af sedimentoverfladen i plexiglasrør
- Udstyr til opskæring af sediment
- Spatler eller skeer
- 100 ml konisk kolbe m/kogesten og ”koldfinger” (9 stk./station)

Engangsudstyr:

- Bægerglas eller lign. (9 stk./station) til opbevaring af sediment
- 50 ml centrifugeglas m/tætsluttende låg (9 stk./station)
- Glasflasker til ekstraheret Fe-P (min. 200 ml; 9 stk./station)
- Foliebakker eller lign. varmebestandigt/forbrændingsbestandigt materiale
- Små plastposer eller lign. til opbevaring af både tørret og glødet sediment
- Tinkapsler til TN-analyse

2.3 Procedure

Fra hver station indsamles 5 sedimentkerner (dvs. 2 i reserve) med en minimumslængde på mindst 12 cm i plexiglasrør, tilproppet i top og bund og fuldstændigt fyldt med vand over sedimentoverfladen – altså uden luftbobler under proppen. Sedimentkernerne skal indsamles uforstyrret, hvilket betyder, at overfladen skal fremstå intakt uden ophvirvling af sediment og uden revner eller sprækker i hele sedimentkernens udstrækning.

Sedimentkernerne kan indsamles med Kajak-prøvetager, HAPS-corer eller Box-corer. Benyttes HAPS- eller Box-corer subsamles sediment i plexiglasrør efter, at sedimentprøven i prøvetagningsinstrumentet er anbragt på dækket. Ved denne subsampling skal sedimentrøret, når proppen er isat, være fuldstændigt fyldt med vand over sedimentoverfladen – altså uden luftbobler under proppen. Sedimentkernerne kan også indsamles af dykker.

De tilproppede sedimentkerner anbringes i transportkasse (i mørke ved *in situ* temperatur ±2½ °C eller koldere).

Der indsamles 25 l vand fra stationen til evt. præinkubation af sedimentkernerne inden analyse.

Sedimentkernerne skal transporteres til analyselaboratoriet så hurtigt som muligt (dvs. senest samme dag, som prøverne er indsamlet) sammen med information om *in situ*-temperatur på stationen.

Umiddelbart efter modtagelsen af sedimentkernerne præinkuberes de i vand fra lokaliteten ved *in situ*-temperatur ± 2½ °C natten over og uden prop over vandfasen. Vandet skal beluftes, og sedimentkernen skal justeres i plexiglasrøret, så sedimentoverfladen ikke står lavere end 2 cm under overkanten af røret for at sikre en tilstrækkelig iltning af de øverste millimeter af sedimentet.

Analysen af sedimentkernerne indledes ved forsigtigt af fjerne overfladevandet over de tre sedimentkerne (ud af 5 indsamlede), der vurderes bedst egnede til brug for næringsstofanalyserne.

Herefter gennemføres flg. arbejdsgange:

- opskæring og homogenisering af sediment og bestemmelse af vægtfylde
- ekstraktion og analyse af jernbundet fosfor (Fe-P)
- bestemmelse af tørstofindhold
- bestemmelse af total kvælstof (TN)
- bestemmelse af glødetab
- bestemmelse af total fosfor (TP).

2.3.1 Opskæring og homogenisering af sediment og bestemmelse af vægtfylde

De tre sedimentkerner opskæres i flg. dybdeintervaller: 0-½, ½-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-7 og 7-10 cm.

- Sediment fra hvert dybdeinterval overføres til hvert sit forvejede bægerglas med en nøjagtighed på 1 mg. Sediment fra de forskellige dybdeintervaller puljes på nær sediment fra dybdeintervallet 1-2 cm, som overføres til hvert sit bægerglas. Ved denne opskærings- og analyseprocedure behandles i alt (6 x 1 + 1 x 3 =) 9 prøver pr. station.

- Vægten af sediment bestemmes ved vejning med en nøjagtighed på 1 mg, og vægtfylden (g/cm^3) beregnes ud fra kendskabet til rumfanget af det overførte sediment (se tabel 1 og afsnit 3.1.1).

- Sediment homogeniseres ved brug af ske eller lign., så der kan tages en repræsentativ sedimentprøve til de øvrige analyser.

***Tabel 1**. Rumfang af homogeniserede sedimentprøver.*

	areal (cm^2)	dybde-interval:	Volumen cm^3 0-½, ½-1 cm	1-2 cm[1)]	2-3, 3-4 cm	4-7, 7-10 cm
36 mm rør	10		15	10	30	92
52 mm (Kajak-rør)	21		32	21	64	191

[1)]dybdeinterval med tredobbelt bestemmelse

2.3.2 Ekstraktion og analyse af jernbundet fosfor (Fe-P)

Sediment til Fe-P-analysen skal ekstraheres hurtigst muligt efter, at sedimentet er homogeniseret, så påvirkningen af sedimentets Fe-P-pulje med luftens ilt bliver så kortvarig som mulig. Dette opnås bedst, hvis opskæring og homogenisering foretages for én sedimentdybde ad gangen.

- Ca. 1 g homogeniseret sediment fra hvert dybdeinterval overføres til hvert sit forvejede ubrugte centrifugeglas m/tætsluttende låg.

- Den præcise vægt af den homogeniserede sediment bestemmes ved genvejning med en nøjagtighed på 0,1 mg.

- 25,0 ml dithionit-opløsning tilsættes (se afsnit 6.1.1) og låget påsættes.
- Sedimentet ekstraheres i 1 time ved jævn omblanding (anbring centrifugeglas på rystebord eller lign.).

- Sediment/dithionit-opløsningen centrifugeres indtil supernatanten er klar.

- Supernatanten dekanteres (uden at overføre sediment) til en 200 ml glasflaske, og volumen bestemmes (ved vejning) med en nøjagtighed på 0,1 mg.

- I stinkskab fjernes den overskydende dithionit ved at belufte opløsningen med atmosfærisk luft i ca. 1 time.

- Tilsæt 75 ml demineraliseret vand efter at overskydende dithionit er fjernet ved beluftning.

- Tilsæt 1 ml 4 M svovlsyre til fosfatprøven.

Efter ekstraktionen af det jernbundne fosfat bestemmes PO_4^{3-}-koncentrationen i opløsningen spektrofotometrisk (se fx Fossing et al. 1998). Koncentrationen af Fe-P (mg P/g tørvægt) beregnes herefter, som beskrevet i afsnit 3.1.2.

2.3.3 Bestemmelse af tørstofindhold

Tørstofindholdet (mg tørvægt/g vådvægt) beregnes efter tørring ud fra vægttabet af det homogeniserede sediment (se afsnit 3.1.1).

- Omkring 15-20 g homogeniseret sediment overføres til en forvejet foliebakke eller lignende varmebestandigt materiale.

- Vådvægten bestemmes med en nøjagtighed på 1 mg.

- Sedimentprøven tørres ved 105 °C til konstant vægt (opnås efter ca. 1 døgns opvarmning).

- Den tørrede prøve genvejes og vægttabet beregnes.

- Det tørrede materiale opbevares i plastpose eller lign. til videre analyse.

2.3.4 Bestemmelse af total kvælstof (TN)

Koncentrationen af TN i sedimentet bestemmes på en CN-analysator.

- En tinkapsel anbringes på vægt. Vægten nulstilles og ca. 5 mg tørret og findelt/knust (dvs. homogeniseret) sediment overføres til tinkapslen. Den præcise vægt af sedimentet bestemmes med en nøjagtighed på 0,01 mg.

- TN-indholdet i prøven bestemmes ved CN-analyse.

Laboratoriet kan også benytte anden analysemetode, hvis det kan dokumenteres, at den valgte metode sikrer mindst den analysekvalitet, som opnås gennem CN-analysen.

Ved sammenligning med fx tidligere TN-bestemmelse på en given station, skal samme analysemetode benyttes gennem hele perioden.

2.3.5 Bestemmelse af glødetab

Glødetabet (mg glødetab/g tørvægt) beregnes ud fra vægttabet efter, at sedimentet er glødet (se afsnit 3.1.1).

- Omkring 10 g tørret og findelt/knust (dvs. homogeniseret) sediment overføres til en forvejet foliebakke eller lignende forbrændingsbestandigt materiale.

- Vægten af det tørrede sediment bestemmes ved genvejning med en nøjagtighed på 0,1 g.

- Sedimentprøven glødes ved 550 °C i ca. 1 døgn.

- Den glødede prøve genvejes, og vægttabet beregnes.

- Det glødede materiale opbevares i plastpose eller lign. til videre analyse.

2.3.6 Bestemmelse af total fosfor (TP)

Koncentrationen af TP i sedimentet (mg P/g tørvægt) bestemmes spektrofotometrisk efter syrekogning af glødet sediment.

- Omkring 0,2 g glødet og findelt/knust (dvs. homogeniseret) sediment overføres til en forvejet 100 ml konisk kolbe m/kogesten. Vægten af gløderesten bestemmes ved genvejning med en nøjagtighed på 0,01 mg.

- Der tilsættes 25 ml 1 M HCl, og gløderesten koger i saltsyren i 15 minutter på varmeplade eller i sandbad. Tidtagningen starter, når væsken er kommet i kog. Kondensér vanddampen vha. ”koldfinger”.

- Efter afkøling tilsættes 75 ml demineraliseret vand.

- En delprøve af den svovlsure opløsning fortyndes herefter mindst 2x, før PO_4^{3-}-koncentrationen i delprøven måles spektrofotometrisk (se fx Fossing et al. 1998). Fortyndingen skal sikre, at delprøven ikke er for sur til, at farvereaktionen kan forløbe.

Koncentrationen af TP (mg P/g tørvægt) beregnes herefter som beskrevet i afsnit 3.1.4.

2.4 Særlige forholdsregler – faldgruber

Der er særligt vigtigt, at vandet over sedimentet i de tilproppede plexiglasrør ikke bliver iltfrie, fordi det jernbundne fosfor ellers frigives og kan diffundere op i vandet og dermed tabes fra analysen. Sedimentkernerne skal derfor altid præinkuberes "natten over" i vand fra stationen, ved *in situ*-temperatur og med god beluftning af vandet for at sikre, at vandet over sedimenter har været grundigt iltet, og den jernbunde fosforpulje er gendannet, inden analysen igangsættes.

Kontaminering er altid en alvorlig fejlkilde ved kvælstof- og fosforanalyser. Nyt udstyr skal derfor altid syrevaskes og efterskylles grundigt med demineraliseret vand før anvendelse.

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller renset demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q eller Elgastat Maxima anlæg. Om nødvendigt skal vandets og reagensernes kvælstof- og fosforindhold kontrolleres.

3 Databehandling

3.1 Beregninger

3.1.1 Beregning af vægtfylde, tørstof og glødetab

Sedimentets vægtfylde (σ; g/cm^3) beregnes:

$$\sigma = \frac{Sed_{VV}}{Sed_{VOL}}$$

hvor *Sed$_{VV}$* er vægten (g), og *Sed$_{VOL}$* er volumen (cm^3) af det våde sediment.

Sedimentets tørstofindhold (*Sed$_{TSI}$*; mg tørvægt/g vådvægt) beregnes:

$$Sed_{TSI} = \frac{Sed_{TV} \cdot 1000}{Sed_{VV}}$$

hvor *Sed$_{TV}$* og *Sed$_{VV}$* er vægten (g) af hhv. det tørrede og våde sediment.

Sedimentets glødetab (Sed$_{GT}$; mg/g tørvægt) beregnes:

$$Sed_{GT} = \frac{(Sed_{TV} - Sed_{GV}) \cdot 1000}{Sed_{TV}}$$

hvor *Sed$_{TV}$* og *Sed$_{GV}$* er vægten af hhv. det tørrede og glødede sediment.

3.1.2 Beregning af den jernbundne fosforkoncentration (Fe-P)

Den jernbundne fosforkoncentration i sedimentet ([Fe-P]; mg P/g tørvægt) beregnes:

$$Fe\text{-}P = [PO_4^{3-}] \cdot \frac{Vol_{DEL}+75}{1000} \cdot \frac{PW+25}{Vol_{DEL}} \cdot \frac{1}{Sed_{VÆGT}} \cdot \frac{1}{Sed_{TSI}} \cdot 30{,}97 \cdot 10^{-3}$$

hvor *[PO$_4^{3-}$]* er koncentrationen af orthofosfat (µM) i den fortyndede og beluftede opløsning, der er resultatet af dithionit-ekstraktionen af det våde og homogeniserede sediment (se 2.3.2), *Vol$_{DEL}$* er delvolumen (ml) af denne opløsning, *PW* er volumen af porevandet (ml) i det ekstraherede sediment, *Sed$_{VÆGT}$* er det ekstraherede sediments vægt (g), *Sed$_{TSI}$* er sedimentets tørstofindhold (mg tørvægt/g vådvægt) og *30,97·10^{-3}* er omregningsfaktor fra µmol til mg P.

Indholdet af porevand i det ekstraherede sediment beregnes ud fra sedimentets tørstofindhold (Sed_{TSI}; mg tørvægt/g vådvægt):

$$PW = \left(1 - \frac{Sed_{TSI}}{1000}\right) \cdot Sed_V$$

hvor Sed_V er vådvægten (g) af det ekstraherede sediment.

3.1.3 Beregning af totale kvælstofkoncentration (TN)

Koncentrationen af TN i sedimentet (mg N/g tørvægt) beregnes:

$$TN = \frac{[N]}{Sed_{TV}}$$

hvor *[N]* er indholdet af total kvælstof (mg N) i den tørrede sedimentprøve, og Sed_{TV} er tørvægten (g) af den analyserede prøve.

3.1.4 Beregning total fosfor (TP)

Koncentrationen af TP i sedimentet (mg P/g tørvægt) beregnes:

$$TP = \left(PO_4^{3-}\right) \cdot \frac{1}{10} \cdot \frac{1}{Sed_{GV}} \cdot \left(1 - \frac{Sed_{GT}}{1000}\right) \cdot 30{,}97 \cdot 10^{-3}$$

hvor $[PO_4^{3-}]$ er koncentrationen af orthofosfat (µM) i den fortyndede opløsning, der er resultatet af syrekogningen af det glødede og findelte/knuste sediment (se 2.3.6), *1/10* er en omregningsfaktor, Sed_{GV} er vægten (g) af det glødede og syrekogte sediment, Sed_{GT} er sedimentets glødetab (mg/g tørvægt) og $30{,}97 \cdot 10^{-3}$ er omregningsfaktor fra µmol til mg P.

3.1.5 Beregning af kumuleret næringsstofindhold (TN og TP)

Det kumulerede indhold af næringsstofferne TN og TP i sedimentets øverste 10 cm beregnes ved at addere næringsstofindholdet i de enkelte dybdeintervaller ud fra deres vægtede bidrag. Det kumulerede næringsstofindhold af TN og TP udtrykkes i hhv. g N/cm^2 og g P/cm^2.

I hvert dybdeinterval omregnes koncentrationen af næringsstofferne TN og TP fra mg/g tørvægt til mg/cm^3 ved multiplikation med:

$$\frac{Sed_{TV}}{Sed_{VV}} = \frac{Sed_{VV}}{SEd_{VOL}} \cdot \frac{Sed_{TV}}{Sed_{VV}} = \sigma \cdot Sed_{TSI}$$

hvor σ er sediments vægtfylde (g/ cm^3 vådvægt), og Sed_{TSI} udtrykker tørstofindholdet (g/g vådvægt). Herefter beregnes indholdet af næringsstofferne ved:

$$\Sigma TS = 0{,}5(TS_{0\text{-}½} + TS_{½\text{-}1}) + GnsTS_{1\text{-}2} + TS_{2\text{-}3} + TS_{3\text{-}4} + 3(TS_{4\text{-}7} + TS_{7\text{-}10})$$

hvor TS_i er næringsstofkoncentrationen (g S/cm^3) i intervallet *i*, $GnsTS_{1-2}$ er middelværdien på den tredobbelte bestemmelse i dybdeintervallet 1-2 cm. *S* angiver enten N eller P.

Næringsstofkoncentrationen kan omregnes fra g/cm^2 til kg/m^2 eller tons/ha ved multiplikation med hhv. 10 eller 100.

3.2 Data og koder

Liste over de data, der skal indlæses i database, vil blive beskrevet i en særskilt DataTA vedr. næringsstoffer i sediment.

4 Kvalitetssikring

4.1 Kvalitetssikring af metode

Analyserne gennemføres under iagttagelse af god laboratoriepraksis (GLP) og ved at følge analyseanvisningerne præcist, som beskrevet i denne TA.

Kvalitetssikringen af metoden omfatter derudover også de arbejdsrutiner, der indgår i håndteringen af sedimentprøverne:

- Planlægning
- Tilknyttede profilmålinger (er beskrevet i Teknisk anvisning *M03 CTD-måling*)
- Prøvetagning og prøvehåndtering (subsampling fra HAPS- eller Box-corer)
- Transport
- Præinkubation
- Opskæringsprocedure

Hver delproces skal derfor kvalitetssikres, hvilket foregår ved, at de kritiske processer identificeres og evt. beskrives, fx i en manual til brug for prøvetagerne.

De indsamlede sedimentkerner skal opfylde de kvalitetskrav, der er opstillet ovenfor, hvad angår antal sedimentkerner og uforstyrrethed, herunder at sedimentet fragtes til analyselaboratoriet under forhold, der sikrer, at iltkoncentrationen i vandfasen over sedimentkernerne ændrer sig mindst muligt; dvs. ved kortest muligt tidsspænd mellem indsamlingen og modtagelsen på laboratoriet kombineret med præinkubation af sediment i beluftet havvand før analyse.

4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

Data kvalitetssikres primært ved at sammenligne analyseresultaterne mellem forskellige stationer. En grafisk sammenstilling af analysedata – både dybdeprofiler og kumulerede data – giver en god fornemmelse af kvaliteten af de indsamlede data og kan afsløre evt. over- eller underestimering af næringsstofpuljerne.

5 Referencer

Fossing H., Christensen PB, Dalsgaard T & Rysgaard S (1998). Bilag 14.4: Fotometrisk bestemmelse af orthofosfat (PO_4^{3-}) i vand. I: Teknisk anvisning for marin overvågning - Bentiske parametre 14. Sediment - ilt og næringsstoffer.
https://ecos.au.dk/fileadmin/ecos/Fagdatacentre/Marin/TA_NOVA_1998/Kap14_Bilag1-8.doc

6 Bilag

6.1 Kemikalier og opløsninger

6.1.1 Opløsninger til brug ved ekstraktion af jernbundet fosfat

Iltfrit vand: 1 liter vand gøres iltfrit ved kraftigt at udgasse vandet med kvælstof (N_2) i >½ 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 demineraliseret vand. Afkøl til stuetemperatur og fortynd til 1000 ml.

6.1.2 Opløsninger til brug ved ekstraktion af TP

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

7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne	Ændring
2	14.06.2018	2.2. Udstyr	Varmeovn erstattet af tørre-skab
2	14.06.2018	2.3.4 Bestemmelse af total kvælstof (TN)	Tinkapsler forvejes ikke – tekst omformuleret
2	14.06.2018	2.3.6 Bestemmelse af total fosfor (TP)	1 ml 4 M svovlsyre skal ikke tilsættes – derfor slettet
2	14.06.2018	6.1.2 Opløsninger til brug ved ekstraktion af TP	4 M svovlsyre anvendes ikke – derfor slettet
2.1	17.11.2022	2.1 tide sted periode	Prøvetagningsperiode ændret til januar og februar