

N E D E R L A N D S I N S T I T U U T V O O R
O N D E R Z O E K D E R Z E E

P U B L I C A T I E S E N V E R S L A G E N

nummer 1969-8

Nitraat en nitriet analyses van het
Noordzeewater in augustus en
november 1968.

door

P. Tollenaar Pzn.

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als doctoraal studie
in het tijdvak november 1968 - februari 1969
aan

het NIOZ te Den Helder voor Dr. G.B. Engelen
van het Instituut voor Aardwetenschappen der
Vrije Universiteit te Amsterdam.

onder supervisie van Drs. S.B. Tijssen.

april 1969

[illegible]

Van interne verslagen zijn nadruk of aanhalingen slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming van het NIOZ.

N E D E R L A N D S I N S T I T U U T V O O R
O N D E R Z O E K D E R Z E E

Nitraat en nitriet analyses van het Noordzeewater in augustus
en november 1968.

door

P. Tollenaar Pzn.

(intern verslag)

<u>Inhoud</u>	1. Samenvatting-----p. 1
	2. Inleiding-----p. 1
	3. Methodiek van de analyse-----p. 5
	4. Aantekeningen bij de NO ₃ - N analyse--p. 8
	5. Litteratuur-----p. 9

1. Samenvatting

Voor onderzoek naar $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ gehalten in zeewater, die een nader inzicht kunnen geven in primaire produktie, watervervuiling en watermassa's, bestaan meerdere analysemethoden. De hier toegepaste was die van Wood, Armstrong en Richards, een gemodificeerde methode van Morris en Riley, met verkoperd cadmium als reductor. Aan te bevelen hierbij is het gebruik van gevijlde Cd-krullen boven de in de handel zijn de Cd-korrels, daar met Cd-krullen aanzienlijk betere resultaten werden verkregen.

In plaats van 3 - 4 l oplossing met 60 μg $\text{NO}_3\text{-N/l}$, om de Cd-Cu te prepareren voor de juiste mate van reductie met een constante waarde, moet 8 - 10 l worden gebruikt of een oplossing met groter concentratie $\text{NO}_3\text{-N/l}$. Alvorens te gaan meten moet de optimale doorloopsnelheid worden gezocht en deze moet worden gehandhaafd tijdens de metingen. Bij de Griess diazotering methode is de kleuring enigszins afhankelijk van de tijd.

2. Inleiding

2.1 Algemeen

Eén van de processen, belangrijk voor de produktie van levende organismen in zee is de stikstofcyclus. Van fytoplankton, dat als basis voor alle leven in zee te zien is, zijn enkele organismen in staat om vrije moleculaire opgeloste stikstof te gebruiken voor eiwitvorming. Daarnaast kan fytoplankton ook vrije aminozuren en andere opgeloste N-houdende organische afbraakprodukten gebruiken, maar vooral is het aangewezen op opgeloste anorganische stikstofverbindingen, NO_3 , NO_2 en NH_3 .

De zeer stabiele $\text{NO}_3\text{-N}$ is hiervan kwantitatief verreweg het belangrijkste, hoewel NO_2 en zeker NH_3 veel sneller en

economischer verwerkt kunnen worden. Zij vormen in nauwe samenhang met elkaar drie direkt aaneensluitende stappen in de stikstofcyclus in zee. Zeer schematisch: levend materiaal - dood materiaal - NH_3 - NO_2 - levend materiaal. (von Brand et.al. 1937-1940).

Bepaalt men over een zekere tijd de nitraatconcentraties, dan kan men hieruit conclusies trekken over de planktonproduktie. Maximale concentraties vindt men in januari - februari, daarna geleidelijke daling in het voorjaar, tot in mei - juni een minimum wordt bereikt. (planktonbloei). Dan begint de afbraak van organisch materiaal; de nitraatconcentratie stijgt langzaam, om vaak eind augustus een tweede minimum te vormen door een tweede planktonbloei in de nazomer. Daarna stijgt de concentratie weer geleidelijk naar het winter maximum.

Versterkte stijging omstreeks november, t.g.v. najaarsstormen die de termocline doorbreken, komt in de ondiepe zuidelijke bocht van de Noordzee niet voor.

Nitriet. De positie hiervan is vrij ingewikkeld omdat het instabiel is. Het kan namelijk tot nitraat geoxideerd worden, het kan als nitriet geconsumeerd worden, het kan gereduceerd worden en er kan nitriet gevormd worden uit nitraat. Het algemene verloop over een jaar van de nitrietconcentraties vertoont echter ongeveer hetzelfde beeld als nitraat.

In de Zuidelijke Noordzee wordt het gehele beeld overheerst door de aanvoer van zeer grote hoeveelheden nitraat en nitriet met het rivierwater (Rijn, Schelde, Theems). Volgens Kalle is gebleken dat de zeer hoge nitraat - (en fosfaat) concentraties in kustwateren van grote invloed zijn op de primaire produktie, wat zich o.a. weerspiegelt in een grote visrijkdom (Kalle 1954).

Korringa, van het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek, concludeerde daarentegen dat na de Tweede Wereldoorlog meer vissen

dan nu in de Noordzee leven, voldoende voedsel voor optimale groei konden vinden en dat er van visserij oogpunt gezien geen enkele reden is om een groeiende influx van afval in de Noordzee te verwelkomen. In ondiepe bekkens en estuaria kan te grote concentratie aan deze voedingsstoffen (eutroficatie) via waterbloei en geproduceerde giftig metabolieten leiden tot ziekten onder oesters en andere schelpdieren en dan eventueel gevaar opleveren voor de mensen. (Korringa 1968).

2.2 Doel van het onderzoek

Het doel van dit onderzoek, ingepast in een uitgebreid zeeonderzoek geleid door Drs. S.B. Tijssen, was, een vervolgstudie te maken over de verdeling van $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ gehalten in de Noordzee voor de Nederlandse kust en de processen die hierbij een rol spelen. Het cijfermateriaal van mijn voorganger hierin A. Beintema, student in de Biologie in Groningen, leidde hem, in plaats van tot nadere studie in de primaire produktie, tot hydrochemisch onderscheid van verschillende watermassa's.

Hier is het gekomen tot een nadere bestudering van de toegepaste chemische analysemethoden en tot aflevering van cijfermateriaal en kaarten voor groter onderzoek.

2.3 De vaartochten

Bovengenoemd Noordzeeprogramma liep als volgt: vier maal per jaar werd een vaartocht gehouden van ca. twee weken langs een vast net van monsterpunten, in raaien loodrecht op de kust, van Oostende tot Terschelling.

De tochten vielen meestal in februari, mei, augustus en november.

Hierbij werden de volgende metingen verricht:

1 helderheidsmetingen met de Secchi-schijf

2 temperatuur op drie diepten

3 watermonsters van drie diepten met Nansen-waterscheppers voor

zuurstofbepaling, saliniteitsbepaling van alle diepten en reactief silicaat en pH- monsters van de oppervlakte.

Verder om het andere station een z.g. filterstation waarbij ook met een Postma-waterscheppen van drie diepten werd genomen. Dit voor zwevendestofbepaling, voor $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$, voor $\text{PO}_4\text{-P}$ en tot. P. En op enkele stations ook oppervlakte monsters voor plankton onderzoek en voor produktiemetingen met C-14.

2.4. Het laboratoriumonderzoek.

Wanneer in de litteratuur voorschriften worden gegeven voor een bepaalde analyse kan alles eenvoudig lijken, totdat bij uitvoering blijkt dat de resultaten niet volgens verwachting zijn.

In dit geval gaat het om de analyse van $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ in zeewater, met vrij eenvoudige apparatuur en eventueel uit te voeren aan boord van een onderzoekingsschip.

Bekend was al de methode om nitraat met behulp van geamalgameerd Cd te reduceren tot nitriet, dan te kleuren volgens de Griess diazoteringmethode en de extinctie te meten met een spectrofotometer. (Morris-Riley 1963).

De onderzoekers Wood, Armstrong en Richards nu hadden in 1967 met verkoperd cadmium uitstekende resultaten verkregen, n.l. 99% van de nitraat werd gereduceerd tot nitriet (Wood, Armstrong en Richards. 1967).

Wij kregen echter een wisselend reductie effect van niet hoger dan ongeveer 80% en moesten dus naar de oorzaken gaan zoeken.

Dit heeft tot resultaat gehad dat we tenslotte met een reductieeffect gewerkt hebben, langzaam dalend van $\pm 98\%$ tot $\pm 84\%$.

Wanneer de $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ gehalten berekend zijn en er kaarten van zijn getekend, kunnen later conclusies worden getrokken over bijvoorbeeld primaire produktie of vervuiling van het zeewater, na

vergelijking met dergelijke kaarten van saliniteit-, temperatuur-, zuurstof-, fosfaat-P en organische -P-gehalten.

Ook zijn direkt, met behulp van correlatie berekeningen en bekende rivierwatereigenschappen verschillende watermassa's te onderscheiden, n.l. Kanaalwater, Schelde-Rijn- en Ysselmeerwater.

In de mij ter beschikking staande tijd kon ik hierop echter niet verder in gaan.

3. Methodiek van de analyse

3.1 Vorbereiding en opstelling van de Cd-Cu-kolom volgens de voor- schriften van Wood, Armstrong en Richards (1967).

Onze proefnemingen zijn wij begonnen met Cd.-korrels die voor deze analyse in de handel zijn. Deze hebben het uiterlijk van korrelige conglomeraatjes. Na verkopering en voorbehandeling volgens het voor-schrift van Wood, Armstrong en Richards zijn de glazen reductie-kolommen hiermee gevuld en behandeld met wasvloeistof (1 ml EDTA opl. op 50 ml 0,0015 N-HCL.) en na 24 uur doorgespoeld met 3-4 l. water met 60 $\mu\text{g-at}/\text{l}$ $\text{NO}_3\text{-N}$ en 20ml. EDTA opl./l.

De hiermee gedane metingen met standaardoplossingen waren echter steeds teleurstellend. De 5 kolommen onderling vertoonden grote verschillen en het reductie-effect schommelde tussen 72% 8 83%. Veranderingen in de doorloopsnelheden hadden volkomen willekeurige veranderingen in reductie ten gevolge.

Na een week werd het onderzoek opnieuw gestart. Nu met Cd dat gevijld was met de grofste vijl van de werkplaats. Na voorbehandeling van deze Cd, maar zonder de kolommen te behandelen met een 60 $\mu\text{g-at}$ $\text{NO}_3\text{-N}/\text{l}$ bevattende oplossing, zijn enkele metingen verricht. Reductieeffect voor NO_3 was 65% bij een doorloopsnelheid 5 ml/min., als gevolg van te ver doorgegane reductie. Ook bleek hierbij dat zelfs NO_2 sterk werd gereduceerd.

Na doorspoelen met ruim 5 liter 60 μ gat $\text{NO}_3\text{-N/l.}$ werd $\text{NO}_2\text{-}$ reductie al veel minder en met zeer hoge doorloopsnelheid (30 ml./min.) was dit nog gunstiger, maar nog niet minimaal.

Daarom nogmaals doorgespoeld, nu met 4 l. opl. met 100 μ gat $\text{NO}_3\text{-N/l.}$ Tijdens de daarop volgende proefnemingen gedurende drie dagen, voor de meest gunstige doorloopsnelheid, bleef het gemiddelde reductie-effect nog stijgen van 90% tot 98% en in een rustperiode van drie dagen bleef dit gemiddelde constant. Bij het gebruik van de kolommen gedurende de vijf dagen meten, waarbij gemiddeld 85 monsters per dag (=8,5l) behandeld werden, moesten we echter toch een daling constateren van 3,6% per dag tot een minimum van 83,8% gemiddeld over de vijf kolommen.

3.2 Monsterneming en analyse

Aan boord van het onderzoekingsvaartuig wordt een monsterflesje van 100 ml gevuld met 85 ml water, zodat er bij diepvriezen mogelijkheid tot expansie is. Een genomen monster moet binnen enkele uren geanalyseerd worden of anders tot ongeveer -20° bevroren worden. Het is dan zeer lang houdbaar, zonder dat biologisch leven veranderingen in de concentratie $\text{NO}_3\text{-N}$ en $\text{NO}_2\text{-N}$ teweeg brengt. Na het ontdooien van de monsters in het laboratorium neemt men 50 ml met een maatcilinder voor de $\text{NO}_2\text{-N}$ analyse en 25 ml met een pipet voor de NO_3 analyse.

3.3 De $\text{NO}_2\text{-N}$ analyse. Griess diazoterings-methode

50 ml monstervloeistof wordt gebracht in een erlenmeyer van 100 ml. Toegevoegd wordt: 1 ml sulphonyl-amide oplossing met een dispenser. Na 3 minuten wordt 1 ml N-(1 naphthyl) ethyleendiamine-dihydrochloride toegevoegd. Dan minimaal 10 en maximaal 45 min. wachten op volledige kleuring. Tenslotte volgt extinctiemeting volgens de voorschriften van de gebruikte spectrofotometer, t.o.v. een standaard met bekend $\text{NO}_2\text{-N}$ gehalte.

3.4 De NO_3 -N analyse

25 ml wordt gepipetteerd in een maatkolf van 100 ml, en aangevuld met wasvloeistof. Het aldus verkregen monster wordt in het reservoir van een reduceerkolom gegoten. De eerste 50 ml gebruikt men om de kolom door te spoelen en wasvloeistof of een vorig monster te verwijderen. Zonder onderbreking vangt men nu de tweede 50 ml op in een maatcilinder en giet het over in een erlenmeyer van 100 ml. Zo spoedig mogelijk wordt nu met een dispenser 1 ml sulphonyl-amide oplossing toegevoegd en verder behandeld als bij de nitriet-analyse.

3.5 Berekeningsmethode.

De reductie-efficiëntie K_e wordt bepaald door de gecorrigeerde extinctie, $E_g \text{ NO}_2 \text{ st.}$, van een nitriet standaard te vergelijken met de gecorrigeerde extinctie van een gereduceerde nitraat standaard van dezelfde concentratie.

$$K_e = \frac{E_g \text{ NO}_3 \text{ st}}{E_g \text{ NO}_2 \text{ st}}$$

Blanco's (wasvloeistof) voor de correctie en standaarden behoren iedere dag genomen te worden.

NO_2 concentratie-berekening.

$$C \text{ NO}_2 \text{ -N} = \frac{E_m - E_{\text{NO}_2 \text{ bl}}}{E_g \text{ NO}_2 \text{ st}} \times 10 \text{ in } \mu\text{gat. NO}_2 \text{ -N/l}$$

waarin E = extinctie, E_m = meetwaarde, E_g = gecorrigeerde extinctie en $E_g = E_m - E_{\text{NO}_2 \text{ bl}}$. De factor 10 wordt hier ingevoerd vanwege de gebruikte concentratie van de standaard.

NO_3 -concentratie-berekening.

$$C \text{ NO}_3 \text{ -N} = \frac{4(E_m - E_{\text{NO}_3 \text{ bl}})}{K_e \times E_g \text{ NO}_2 \text{ st}} \times 10 - F C_{\text{NO}_2} \text{ in } \mu\text{gat NO}_3 \text{ -N/l}$$

waar b = kolomefficiëntie t.o.v. NO_2 , 4 is de door ons gebruikte verdunningsfactor en 10 is de hier gebruikte standaard-concentratiefactor.

Aantekeningen bij de NO_3 -N analyse

Het 4 X verdunnen van het monster heeft als prettig gevolg dat, terwijl invloed van wisselende zoutgehaltes miniem blijft ($3,7 \text{ ‰}$) de gemeten uitkomsten zuiverder zijn dan bij een verdunning van 10 x, zoals voorheen werd gedaan.

De extinctiewaarden blijven voor zeewater ruimschoots binnen het meetbereik van de spectrofotometers.

De doorloopsnelheid, dus de tijd waarin het te reduceren monster in aanraking is met de Cd-Cu reductor is sterk van invloed op het reductie-effect. Een bij de voorbereidingen gevonden optimale doorloopsnelheid (in de litteratuur vaak 6 ml/min, in ons geval 25 ml/min) moet men dus niet met een onbepaalde tijd verlengen, door tijdens het reduceren "even" de kraan te sluiten om de doorspoelvloeistof weg te nemen en een lege maatcilinder te plaatsen.

Over de wachttijd na het toevoegen van het eerste reagens zegt de litteratuur 2 - 8 minuten. Wij hebben dit in navolging van A. Beintema gestandaardiseerd op 3 minuten.

Belangrijk was dat, na meer dan een uur wachten na toevoeging van de naphthyl, een vermindering optrad in de extinctie. Meerdere metingen gaven aan dat na 15 minuten een maximum bereikt was. Die tijd hebben wij daarom bij alle metingen aangehouden. (zie bijlage)

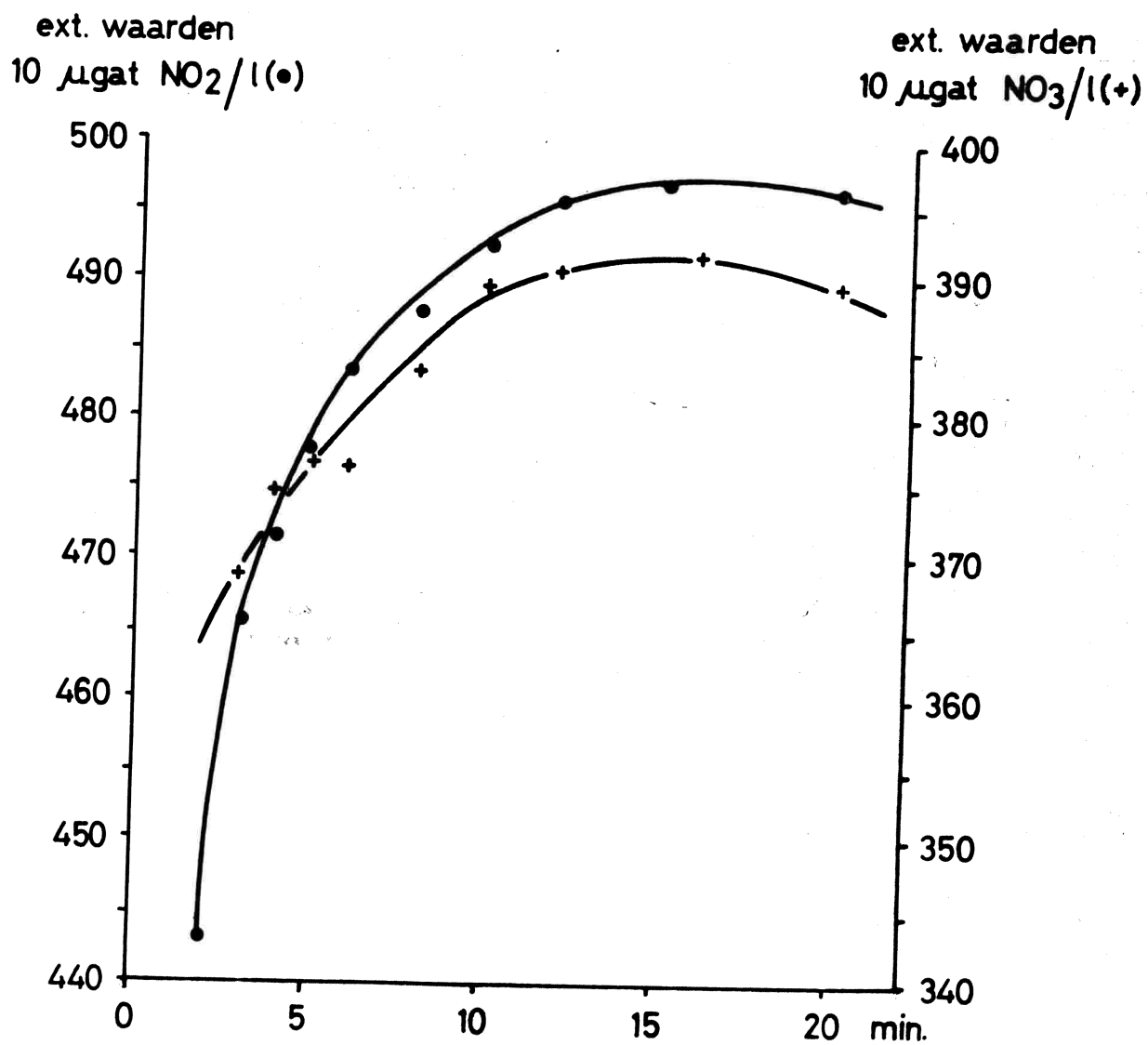
Bij controle met een standaardoplossing is het raadzaam iedere dag een nieuwe standaardoplossing te nemen.

De gevonden waarden en gemaakte kaarten zijn aanwezig op het N.I.O.Z. te den Helder.

De kaarten getekend op grond van de oppervlaktewaarnemingen zijn in
Bijlage toegevoegd.

5. Litteratuur

- Beintema, A., 1968 : Nitraat en nitriet voor de Nederlandse kust. Vonn
doctoraal onderzoek. Intern verslag N.I.O.Z. 1968.
- Brand, T. von, N. Rakestraw & C. Renn, 1937, 1939, 1940 : Decomposition
and regeneration of nitrogenous matter in sea water.
Biol. Bull. Woods Hole 72 : 165; 77 : 285; 79 : 231.
- Kalle, K., 1954: Der Einfluss des Englischen Küstenwassers auf den
Chemismus der Wasserkörper in der südlichen Nordsee.
Ber. Deutsch. Wiss. Komm. Meeresf. 13 (2) : 130.
- Korringa, P., 1968: Biological consequences of marine pollution with
special reference to the North Sea fisheries
Helgoländer wiss. Meeresunters. 17.
- Morris, A.W., J.P. Riley, 1963: The determination of nitrate in sea water.
Anal. Chem. Acta 29 : 272.
- Vaccaro, R.F., 1965: Inorganic Nitrogen in sea water, In: J.P. Riley &
G. Skirrow. Chemical Oceanography.
- Wood, E.D., F.A.J. Armstrong & F.A. Richards, 1967: Determination of
nitrate in sea water by Cadmium-Copper reduction to
nitrite. J.Mar.Biol.Ass. U.K. 47: 23.



Tijdsafhankelijkheid van de extinctie, in
minuten na toevoeging van het tweede reagens.

