

Natuurlijke fluorescentie in de zuidelijke bocht van de Noordzee
in 1969 en in het Rijnwater in de jaren 1967 t/m 1969.

door

T. van 't Hof

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als doctorale studie

in het tijdvak van januari - juli 1969

aan

NIOZ te Texel

voor

Prof. Dr. H. Postma

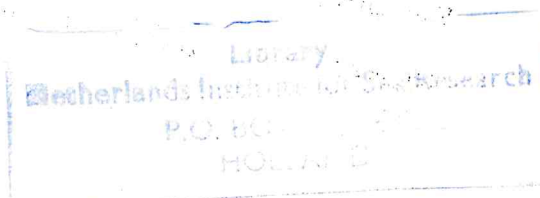
o.l.v.

Drs. S.B. Tijssen

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN

nummer 1972-3



Natuurlijke fluorescentie in de zuidelijke bocht van de Noordzee
in 1969 en in het Rijnwater in de jaren 1967 t/m 1969.

door

T. van 't Hof
(intern verslag)

Inhoud:

Samenvatting	3
Summary	3
1. Inleiding	3
2. Conclusies	4
3. Fluorescentiespectra, theorie en apparatuur	5
3.1. Theorie	5
3.2. Apparatuur	6
3.2.1. Xenon-lamp opstelling	6
3.2.2. Hg-lamp opstelling	7
3.3. Standaarden, eenheden, stabiliteit en instabiliteit	7
3.3.1. Standaarden en eenheden	7
3.3.2. Stabiliteit en instabiliteit	8
3.4. Spectra	9
3.4.1. Excitatie- en fluorescentiespectra	9
3.4.2. Fluorescentiespectra, diversen	13
3.5. Meetvoorschriften	15
4. Metingen	16
4.1. Invloed van diverse factoren	16
4.1.1. Voorbehandeling van de flessen	16
4.1.2. Filtreren	17

4.1.3. Opslag	17
4.1.4. Temperatuur	18
4.1.5. pH	18
4.2. Mengproeven	19
4.3. Noordzee en estuariummonsters	20
4.3.1. Materiaal en methode	20
4.3.2. Resultaten	21
4.4. R.I.Z.A.-monsters	23
5. Bewerking van de meetresultaten	24
5.1. Correlatierekening	24
5.2. Watermassa's	25
6. Discussie	25
6.1. Standaarden	25
6.2. Seizoenverschillen	29
6.3. Vergelijking van gemeten en berekende fluorescentie	31
6.4. "Fl ₄₂₀ " en Raman effect	33
6.5. Correlatierekening	34
7. Literatuuropgave	35
Bijlagen I, II en III	36

Samenvatting

Fluorescentiespectra, verkregen met een Zeiss spectrofluoriimeter, van watermonsters genomen in de zuidelijke bocht van de Noordzee, wijzen uit dat zowel het lokale rivierwater, als ook het zeewater, afkomstig uit het Nauw van Calais, een fluorescentiemaximum hebben bij ongeveer 460 nm, indien geëxciteerd wordt met licht van 365 nm. (Zee)water vertoont bovendien een piek bij 415-420 nm. We hebben hier echter niet te maken met fluorescentie, maar met het Raman effect van water. Het onderscheid van watermassa's op grond van het verband tussen fluorescentie, gemeten bij 460 nm en saliniteit, was alleen mogelijk voor Scheldewater en Rijn-Maaswater, tot een bepaalde saliniteit.

Summary

Fluorescence spectra, obtained with a Zeiss spectro-fluorometer, of water samples from the southern bight of the North Sea, point out that both inland water and sea water from the Channel have maximal fluorescence at wave lengths near 460 nm, when excited with light of 365 nm. Sea water also shows a maximum at 415-420 nm. However this is not concerned with real fluorescence, but is due to the Raman effect of water.

The distinction of watermasses on account of the relation between fluorescence, measured at 460 nm, and salinity, was possible for Scheldewater and Rhine-Meusewater only, up to a certain salinity.

1. Inleiding

Reeds lang is bekend dat alle natuurlijke wateren fluorescentie in het blauw vertonen, wanneer bestraald met UV-licht (Kalle, 1949). Exacte gegevens omtrent de golflengten van maximale excitatie en emissie ontbreken echter, omdat al deze gegevens verkregen werden met filterinstrumenten (zoals Turner- en Farrandfluorimeter). Dit onderzoek heeft ten doel

verbeterde gegevens te verkrijgen over deze fluorescentie door het opnemen van fluorescentie- en excitatiespectra met behulp van een Zeiss spectrofluorimeter. Daarnaast zal worden ingegaan op de mogelijke bruikbaarheid van fluorescentie als watermassaindicator in de zuidelijke bocht van de Noordzee. (Kalle, 1949; Postma, 1954; Otto, 1967; Nienhuis, 1967). Bovendien werden de fluorescentiegegevens van een groot aantal gedurende enkele jaren maandelijks door het RIZA genomen rivierwatermonsters bewerkt.

2. Conclusies

- a. Voor fluorescentiemetingen van natuurlijke wateren is het gewenst te zoeken naar een betrouwbare methode om de gevoeligheid van de meetapparatuur te standaardiseren (3.3.1. en 6.1.). Voorts moet aandacht worden besteed aan de vergelijkbaarheid van metingen met verschillende meetinstrumenten (3.2.2.).
- b. Bij de fluorescentiemeting moet rekening gehouden worden met een temperatuureffect (4.1.4.).
- c. Excitatie- en fluorescentiespectra wijzen uit dat zoet water maximale fluorescentie vertoont bij 460 nm, indien geëxciteerd wordt met licht van 360-370 nm. Zeewater van ca. 35 ‰ S heeft bij deze golflengte een uiterst lage fluorescentie intensiteit, en vertoont bovendien een piek bij 415-420 nm, welke toegeschreven moet worden aan de Raman-band van water. Bij monsters met hogere fluorescentie is deze Raman-band niet meer als aparte piek waar te nemen, omdat hij onvoldoende gescheiden is van de fluorescentie piek bij 460 nm (3.4. en 6.4.).
- d. Er bestaat een lineair verband tussen fluorescentie, gemeten bij 460 nm en saliniteit, waarbij naar lagere saliniteit enige uitwaaiëring van punten optreedt (5.1.).
- e. Het is zeer waarschijnlijk mogelijk Scheldewater en Rijn-Maaswater gemengd met Noordzeewater te onderscheiden tot een bepaalde saliniteit (5.2.).

- f. Er is een minder goede correlatie tussen fluorescentie en saliniteit bij monsters van lage saliniteit, waarschijnlijk als gevolg van snelle fluctuaties in de aanvoer van fluorescerend materiaal door de rivieren. Dit vormt een probleem bij het onderscheiden van watermassa's op grond van het verband tussen fluorescentie en saliniteit (6.5.).
- g. Er zijn duidelijke seizoensfluctuaties in de fluorescentie, welke gedeeltelijk gecorreleerd zijn met de rivierafvoer (6.2.).
- h. Verschillen tussen gemeten fluorescentie in het rivierwater en berekende fluorescentie voor $S=0$ in regressieformule kunnen erop wijzen dat er een afname van de fluorescentie is vrij snel na menging van rivierwater met zeewater (6.3.).

3. Fluorescentiespectra, theorie en apparatuur

3.1. Theorie.

Wanneer we licht op een oplossing laten vallen kan dit geabsorbeerd worden door moleculen in de oplossing. Een electron komt daardoor in een hogere energieniveau en het molecuul bevindt zich in een aangeslagen toestand. Deze aangeslagen toestand duurt 10^{-8} sec. en in die tijd keert het molecuul terug naar het laagste vibratieniveau (o.a. door botsingen) in de aangeslagen toestand. Bij het daarop volgende terugkeren naar de grondtoestand wordt dus licht met een langere golflengte dan het oorspronkelijk geabsorbeerde licht uitgestraald. Dit noemt men fluorescentiestraling.

Licht, dat weliswaar geabsorbeerd wordt door een molecuul, maar niet in staat is dit in een aangeslagen toestand te brengen, brengt een electron op een hoger vibratieenergieniveau. In dit geval zal licht van dezelfde energie, dus dezelfde golflengte als het geabsorbeerde licht, binnen 10^{-15} sec. worden uitgezonden, terwijl het electron naar zijn oorspronkelijke toestand terugkeert. Men spreekt hier van een Rayleigh verstrooiing (RS)

Het Tyndall effect (TE), veroorzaakt door verstrooiing door kolloïdale partikels, kan evenals de RS, bij fluorescentie spectrometrie worden waargenomen bij dezelfde golflengte als die van het ingestraalde licht.

Een andere vorm van verstrooiing is bekend als het Raman effect (RE). Ook hier wordt het trillingsniveau van een electron beïnvloed, wanneer een foton geabsorbeerd wordt: afhankelijk van de trillingsfrequentie van het electron kan de trillingsenergie vergroot of verminderd worden. Binnen een tijdsverloop van 10^{-15} sec. wordt licht uitgezonden. Voor een bepaalde stof zal zowel straling van hogere als van lagere energie (t.o.v. de ingestraalde energie) worden uitgezonden, waarbij de laatste in de meerderheid is. In de fluorescentiespectrometrie zal men dan een Raman band waarnemen bij een lagere frequentie (hogere golflengte) dan die van het ingestraalde licht. Het frequentieverschil is constant en afhankelijk van de moleculaire structuur van een verbinding.

3.2. Apparatuur

3.2.1. Xenon-lamp opstelling

De metingen geschieden met een Zeiss spectrofluorimeter. In deze opstelling wordt als lichtbron een Xenon-lamp gebruikt; het licht passeert een monochromator, het excitatielicht valt op de cuvet en de uitgezonden fluorescentiestraling passeert vervolgens een tweede monochromator (Fig. 1). De fluorescentiestraling wordt tenslotte versterkt door een fotomultiplier. De gemeten waarden worden afgelezen op het aanwijsapparaat (PMQ II).

Beide monochromatoren zijn uitgerust met een motor, en kunnen met een vooraf ingestelde snelheid een bepaald golglengte-interval doorlopen. Het uitgangssignaal, dat een maximale spanning van 10 mV heeft, kan worden weergegeven door een recorder (Servogor) welke automatisch gelijktijdig gestart wordt met één van de monochromatoren zodat op eenvoudige wijze fluorescentie en excitatiespectra kunnen worden opgenomen.

3.2.2. Hg-lamp opstelling

In deze opstelling fungeert de 463 nm lijn uit het lijnenspectrum van een Hg-lamp als excitatiebron. De fluorescentiestraling passeert een monochromator en valt op een fotodetector. De gemeten waarden worden weer afgelezen op het aanwijsapparaat (PMQ II).

Met deze opstelling (Fig. 2) werden in het kader van het voedingsstoffenonderzoek van Tijssen fluorescentiemetingen gedaan aan monsters van dezelfde tochten en stations als beschreven in dit onderzoek. Genoemde metingen betreffen monsters, die soms enkele weken bij kamertemperatuur bewaard worden. Daar beide metingen geschieden t.o.v. dezelfde standaard ligt het voor de hand de resultaten te vergelijken.

Wanneer we 56 metingen vergelijken (Fig. 3), blijkt er een correlatie te bestaan tussen de resultaten van beide methoden, waarbij de metingen verricht met de Hg-lamp opstelling, ongeveer 50% hoger zijn. Weliswaar geven de Hg-lamp metingen de fluorescentie bij 463 nm en de Xe-lamp metingen de fluorescentie bij 469 nm weer, en zijn de bandbreedten van de emissie-monochromatoren verschillend, maar een zo groot verschil kan hierdoor onmogelijk verklaard worden.

De verschillen moeten op één of andere manier aan de methode gebonden zijn. De band-breedte van de Hg-lijn is n.l. zeer klein t.o.v. die van de Xenon-lamp bij gelijke excitatie energie, waardoor misschien de verhoudingen van de piekhoogten van een bepaald monster en de standaard niet gelijk zijn.

3.3. Standaarden, eenheden, stabiliteit en instabiliteit

3.3.1. Standaarden en eenheden

Als standaarden dienden een oplossing van 0,05 mg kininebisulfaat

($C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 7H_2O$) per 1 0,01 N H_2SO_4 en de Zeiss fluorescentiestandaard F53, nr 8288 (verder staafstandaard te noemen).

Deze Kbs-oplossing heeft per definitie een fluorescentie van 35 milli-fluorescentie eenheden (mFl) bij 463 nm, wanneer geëxciteerd met licht van 365 nm (Kalle, 1963). Aangezien de monsters gemeten werden bij 460 nm had het voordelen de standaard bij deze zelfde golflengte te gebruiken. De fluorescentie van de Kbs-oplossing is bij 460 nm ongeveer 3% hoger. Daarom werd het apparaat zodanig ingesteld dat de fluorescentie van Kbs 36 mFl bedraagt bij 460 nm. De fluorescentie van de staafstandaard is dan 92,5 mFl. Toen dit reproduceerbaar bleek te zijn, kon voor verdere metingen de staafstandaard als secundaire standaard worden gebruikt. De staaf heeft echter een fluorescentie maximum bij 527 nm, zodat de golflengte nauwkeurig moet worden ingesteld. Alle fluorescentiemetingen zijn uitgevoerd t.o.v. genoemde waarden van beide standaarden, tenzij anders vermeld.

3.3.2. Stabiliteit en instabiliteit

Gedurende de eerste drie uur na inschakelen van de apparatuur bleek er enig verloop te zijn van de fluorescentieintensiteit (ook van de staafstandaard). Het leek zinvol dit verloop in de tijd na te gaan om uit te maken of het hier een onvolmaaktheid van de apparatuur betrof, dan wel andere factoren in het spel waren. Aangezien de Kbs standaard voor deze doeleinden minder betrouwbaar was (mogelijk ontleding), werd in hoofdzaak de staafstandaard gebruikt. De volgende conclusies konden worden getrokken:

- a. De stroomsterkte van de voeding van de Xe-lamp varieert gedurende 10 min. na inschakelen, hetgeen een directe invloed heeft op de gemeten fluorescentie.
- b. Over een tijdsbestek van 24 uur of langer zien we trage schommelingen in de fluorescentie, met een maximale afwijking van ongeveer 4%. Deze schommelingen treden eveneens op bij gebruik van de Hg-lamp i.p.v. de Xenon-lamp.

3. Wanneer synchroon met de fluorescentie ook de netspanning wordt geregistreerd, zien we trage schommelingen van ± 4 V, en korte dalingen van 10 V (veroorzaakt door een thermostaat elders).

Een duidelijke correlatie met het verloop van de fluorescentie ontbreekt.

Na controle van het apparaat en toelichting door de importeur kon het verloop beter verklaard worden:

a. Het aanwijsapparaat heeft een toelaatbaar verloop van 5-7% in het 1^o uur en van 4% in het 2^o uur.

b. Het verloop van de fluorescentie van de standaard kan verder nog diverse oorzaken hebben.

- Temperatuur-verandering van de monochromator (alleen bij kleine spleetbreedte).

- Netspanningsvariaties; de stabilisatie is gericht op kleine, korte variaties van de netspanning. Bij geleidelijke daling van de netspanning van 220 V naar bv. 210 V is de stabilisatie onvoldoende.

- De apparatuur is niet gestabiliseerd voor frequentievariaties van het net. Deze kunnen invloed hebben op het aanwijsapparaat en de chopper (niet op de lamp).

Voor al dit laatste vormt waarschijnlijk een belangrijke verklaring voor de waargenomen fluctuaties van de fluorescentie, aangezien duidelijke frequentievariaties werden aangetoond. De frequentie kon echter niet worden geregistreerd in combinatie met de fluorescentie.

3.4. Spectra

3.4.1. Excitatie- en fluorescentiespectra

Bij het kiezen van de golflengte van het excitatielicht (λ_{exc}) gaan we er in hoofdzaak van uit dat we die λ_{exc} willen vinden, waarbij de fluorescentiepiek(en) hun grootste intensiteit hebben. Bij het opnemen van een

excitatiespectrum laten we de λ_{exc} een bepaald golflengte interval doorlopen en meten we de fluorescentie intensiteit voor één bepaalde emissie golflengte (λ_{em}). Op deze wijze kunnen we voor verschillende λ_{em} de excitatie golflengten vinden, welke de grootste fluorescentie intensiteit opleveren.

Omgekeerd kunnen ook fluorescentiespectra worden opgenomen, waarbij telkens een andere λ_{exc} gekozen wordt. Eén en ander is uitgevoerd met een monster van hoge en een van lage saliniteit. De tabellen 1, 2, 3 en 4 geven een overzicht van de resultaten.

Tabel I.

Excitatie golflengten met maximale piekhoogten, voor verschillende emissiegolflengten. Noordzee, station 57, mei 1969, 34,44 ‰ S. Spleetbreedten: excitatiemonochromator 1,0, emissiemonochromator 0,9.

λ_{em}	λ_{exc} waarbij piekhoogte max. is voor gekozen λ_{em}	relatieve piekhoogte
390	343	3,0
400	352	3,5
410	358	4,0
420	365	4,5
430	371	4,0
440	377	3,5
450	383	3,0
460	383	2,0

Tabel 2.

Fluorescentiemaxima voor verschillende excitatie golflengten.
Noordzee, station 57, mei 1969, 34,44 ‰ S. Spleetbreedte:
excitatiemonochromator 1,0 emissiemonochromator 0,9.

λ_{exc}	λ_{em} waarbij piekhoogte max. is voor gekozen λ_{exc}		relatieve piekhhogte	
	(1)	(2)	(1)	(2)
350	395	449	16	9
360	408	457	17	9,5
370	422	460	18	10
380	432	-	16	-
390	443	-	11,5	-
400	450	-	6	-

We vinden twee maxima, resp. bij 422 en 460 nm, wanneer geëxciteerd met licht van 370 nm (Tabel 2). De intensiteiten van beide maxima blijken maximaal te zijn voor dezelfde excitatiegolflengten. In de spectra zien we dat de beide maxima beter van elkaar gescheiden zijn, indien we exciteren met licht van een lagere golflengte dan 365 nm.

Uit Tabel 1 blijkt voor $\lambda_{em} = 420$ nm de piekhoogte maximaal te zijn bij een excitatie golflengte van 365 nm.

Aangezien de fluorescentie bij 460 nm van dit monster met hoge saliniteit zeer laag is, kan de bij 420 gevonden piek waarschijnlijk teruggevoerd worden op de Raman-band van water.

Tabel 3.

Excitatiegolflengten met maximale piekhoogten, voor verschillende emissiegolflengten. Rijnwater, Everdingen, mei 1969, 0,18 %o S. Spleetbreedten: exatatiemonochromator 1,0, emissiemonochromator 0,9.

λ_{em}	λ_{exc} waarbij piekhoogte max. is voor gekozen λ_{em}	relatieve piekhoogte
390	343	15,5
400	347	18,5
410	353	21,0
420	356	24,0
440	357	28,0
460	362	30,0
480	366	29,0

Tabel 4.

Fluorescentiemaxima voor verschillende excitatiegolflengten. Rijnwater, Everdingen, mei 1969, 0,18 %o S. Spleetbreedten: excitatiemonochromator 1,0, emissiemonochromator 0,9.

λ_{exc}	λ_{em} waarbij piekhoogte max. is voor gekozen λ_{exc}	relatieve piekhoogte
340	443	18,5
350	447	20,5
360	455	21,5
370	463	20,5
380	470	17,5
390	465	11,5

We vinden een excitatiemaximum bij 362 nm voor $\lambda_{em}=460$ en een fluorescentiemaximum bij 455 nm voor $\lambda_{exc}=360$ nm. Deze resultaten zijn bevredigend met elkaar in overeenstemming.

3.4.2. Fluorescentiespectra, diversen

Kininebisulfaat

Van een standaardoplossing van kininebisulfaat (zie 3.3.1.) werd een fluorescentiespectrum opgenomen op de wijze zoals beschreven door Udenfriend (1962).

Als geëxciteerd wordt met licht van 320 nm, zien we bij 450 nm de fluorescentie van kinine, bij 320 nm Rayleigh verstrooiing (RS) van het oplosmiddel en Tyndall effect (TE), en bij 360 nm het Raman effect (RE) van water.

De golflengte waarbij de maximale fluorescentie optreedt blijkt 458 nm te zijn bij een excitatie golflengte van 355 nm. We nemen dan geen RE meer waar, vermoedelijk omdat λ_{exc} en λ_{em} te dicht bij elkaar liggen, waardoor de Raman-piek niet meer te onderscheiden is van de fluorescentie van kinine.

Zeiss standaard

Deze heeft een fluorescentiemaximum bij 527 nm, indien geëxciteerd wordt met licht van 384 nm.

Aqua dest.

Het "fluorescentiespectrum" van aqua dest vertoont een piek bij een golflengte van 410-415 nm, voor een excitatiegolflengte van 365 nm. De verklaring van deze piek moet gezocht worden in de Raman band van water. De golflengte, waarbij hij optreedt is in overeenstemming met die welke opgegeven wordt door Udenfriend (1962). Bij 460 nm komt de signaalsterkte overeen met een (schijnbare) fluorescentie max 1 mFl.

Leidingwater

Texels leidingwater geeft maximale fluorescentie te zien bij 465 nm, met een intensiteit van 114 mFL bijna viermaal zo hoog als die van Wieringer leidingwater. Dit laatste heeft een fluorescentiemaximum bij 460 nm en een schouderkje in de buurt van 420 nm.

Wanneer we een fluorescentiespectrum opnemen (waarbij dus alleen λ_{em} verandert) is de respons $A(\lambda^*) \left[\lambda^* = \text{golflengtegetal} = \frac{1}{\lambda_{vac}} \right]$ niet alleen afhankelijk van de te meten fluorescentie (aantal kwanten per golflengtegetal interval $F_q \lambda^*$), maar ook van een aantal andere grootheden te weten: de spectrale gevoeligheid van de detector, $S_q(\lambda^*)$; de reciproke dispersie van de monochromator, betrokken op het golflengtegetal, $\frac{d\lambda^*}{ds}$; het kwadraat van de spleetbreedte s_{em}^2 en de doorlaatbaarheid van alle optiek tussen monster en detector, t_{em} .

We krijgen dan de volgende betrekking voor $A(\lambda^*)$: $A(\lambda^*) \sim S_q(\lambda^*) \cdot \frac{d\lambda^*}{ds} \cdot s_{em}^2 \cdot t_{em} \cdot F_q(\lambda^*)$. Ondanks het feit dat per instrument verschillen kunnen optreden wat betreft de spectrale gevoeligheid van de detector en de doorlaatbaarheid van de optiek (ook door ouderdom en vuil!) is het zinvol spectra te corrigeren, wanneer we vergelijkingen willen maken met spectra, verkregen m.b.v. een ander type instrument.

De eigenschappen van het instrument zijn daarom samengevat in één correctiefactor R_{em} , waarbij $R_{em}(\lambda^*) = \frac{1}{S_q(\lambda^*) \cdot \frac{d\lambda^*}{ds} \cdot t_{em}}$

De afgelezen waarde behoeft nu slechts met deze factor vermenigvuldigd te worden en eventueel gedeeld door de versterking $\mathcal{D}$ en het kwadraat van spleetbreedte s_{em}^2 .

We krijgen dan $F_o \lambda^* \frac{A(\lambda^*) \cdot R_{em}(\lambda^*)}{\mathcal{D} \cdot s_{em}^2}$.

De correctiefactoren worden verkregen uit een grafiek (Reule).

Tabel 5.

Golflengte		R_{em}
10^3 cm^{-1}	nm	
18,18	550	1,60
20,00	500	0,93
20,82	480	0,81
21,73	460	0,73
22,72	440	0,67
23,80	420	0,62
24,99	400	0,58
25,63	390	0,56

In Tabel 5 staan de R_{em} voor een aantal golflengten, waarmee twee spectra werden gecorrigeerd (N.2.02.69 en GR.33.04/05.69).

De versterking V en S_{em}^2 kunnen hier buiten beschouwing blijven aangezien de spectra niet vergeleken hoeven te worden. In de gecorrigeerde spectra (Fig. 4 en 5) zien we een verschuiving optreden van het maximum (resp. maxima) naar hogere golflengte.

3.5. Meetvoorschrift

In verband met de vergelijkbaarheid van eventuele latere metingen is het goed een meetvoorschrift te geven voor het werken met de Zeiss spectrofluorimeter.

A. Apparatuurinstelling

- lampstroom 25-26 A.
- λ_{exc} 365 nm.
- RS (spleetbreedte excitatiemonochromator) = 1,0.
- LS (spleetbreedte emissiemonochromator) = 0,9.
- LMM (snelheid emissiemonochromator) = 0,5.

- Versterkingen van het aanwijssapparaat: 30 x (II₁), 5 x (F), 10 x (10).
- Damping van het aanwijssapparaat: stand II.
- Papiersnelheid recorder bij opnemen van spectra: 30 mm/min.

B. Meting

- Met de knop (R) van het aanwijssapparaat welke nog een geringen extra versterking kan geven wordt de Kbs standaardoplossing op 3,6 mV ingesteld bij $\lambda_{em}=460$ nm (staafstandaard 92,5 m).
- De monsters worden uitgemeten bij golflengten van 460 nm. De fluorescentie in mFl eenheden is nu gelijk aan het aantal mV x 10.
- Na iedere meting wordt de standaard voor de lichtbron geschoven en zonodig de instelling gecorrigeerd

(Aanvankelijk werd nog een versterking 10x van het aanwijssapparaat gebruikt terwijl de spleetbreedte van de emissie-monochromator kleiner was. Deze versterking doet echter de eigen ruis van het aanwijssapparaat extra uitkomen waardoor minder nauwkeurig kan worden afgelezen).

4. Metingen

4.1. Invloed van diverse factoren

Van enkele factoren, zoals het schoonmaken van de monsterflessen, het filtreren van monsters en de wijze van opslag werd de invloed op de fluorescentie nagegaan, o.a. aan de hand van een viertal monsters van het lichtschip Texel.

4.1.1. Voorbehandeling van de flessen

Twee flessen werden niet voorbehandeld, en twee flessen werden gedurende enkele uren weggezet met bichromaat-zwavelzuur. De niet behandelde flessen geven een 5-10 % hogere fluorescentie dan de behandelde, indien gedurende één week bij kamertemperatuur bewaard. Als de monsters worden

diepgevroren treedt dit verschil niet op. Aangezien de monsters van de tochten zouden worden diepgevroren, werden de flessen niet voorbehandeld. Wel werd bijzondere aandacht besteed aan het spoelen met aqua dest.

4.1.2. Filtreren

In het algemeen geven gefiltreerde monsters een iets hogere (tot 10%) fluorescentie te zien dan ongefiltreerde, onafhankelijk van de saliniteit. Alle metingen zijn verder gedaan aan ongefiltreerde monsters, aangezien het verschil niet essentieel werd geacht.

4.1.3. Opslag

Vergelijken we allereerst veranderingen in de fluorescentie van diepgevroren monsters in de tijd dan zien we (bij 18 monsters) na 3 tot 4 weken slechts een kleine toe- of afname van de fluorescentie met meestal niet meer dan 3%, in een enkel geval tot 10%. Aangenomen mag worden dat deze veranderingen liggen binnen de normale grenzen van de nauwkeurigheid. Deze methode van opslag lijkt dus volkomen veilig.

Bekijken we op dezelfde wijze verandering van de fluorescentie van niet diepgevroren monsters, dan is de zaak wat minder duidelijk, ook al omdat het om minder monsters gaat. Vier monsters werden bij kamertemperatuur bewaard gedurende één maand, twee in daglicht, twee volledig in 't donker.

Van de "donker" monsters geeft het een een toename het ander een afname met ca. 6% te zien.

Van de "licht" monsters in de fluorescentie bij het een toegenomen met 10%, bij het andere afgenomen met 30% (!).

4.1.4. Temperatuur

Bij het meten van zoete monsters kan soms een afname van de fluorescentie geconstateerd worden, wanneer de cuvet iets langer dan normaal in de lichtweg stond. Mogelijk was hier sprake van een temperatuureffect of van ontleding van het fluorescerend materiaal.

Dit werd nader onderzocht aan de hand van leidingwater (Texel), dat een fluorescentie bij 460 nm heeft van ongeveer 70 mFl, bij $\lambda_{exc} = 365$ nm

Eén cuvet staat continu in de lichtweg, de andere cuvet alleen om af te lezen (om de 10 min.). De temperatuur van beide cuvetten is gelijk. Na 10 minuten is de fluorescentie van de eerste cuvet een kleine 3% lager dan die van de tweede, welk verschil constant blijft.

Beschouwen we de temperatuurinvloed, dan zien we dat een temperatuurstijging van 10°C ($14^{\circ}\text{C} \rightarrow 24^{\circ}\text{C}$) - welke in het cuvettenhuis zeer snel kan plaatsvinden, temeer daar het apparaat soms blootgesteld was aan zonlicht - een afname van de fluorescentie met 10% geeft.

Zeewater van 32,60 ‰ S vertoont dit verschijnsel niet, er is geen verandering van de fluorescentie bij 10° temperatuurstijging.

We kunnen dus stellen dat bij zoet water temperatuurinvloed een belangrijker rol speelt bij veranderingen van de fluorescentie intensiteit dan ontleding onder invloed van UV licht.

4.1.5. pH-invloed

Als verkennend experiment werd de invloed van de pH op de fluorescentie nagegaan. Een aantal monsters (zeewater van 34,87 ‰ S, zeewater van 28,37 ‰ S, rivierwater van 0,23 ‰ S en leidingwater Texel van 0,23 ‰ S) werden aangezuurd of alkalisch gemaakt door toevoegen van 1N H_2SO_4 resp. 1N NaOH oplossing. Concentratieveranderingen t.g.v. deze toevoegingen worden verwaarloosd.

In Figuren 6 en 7 is de fluorescentie uitgezet tegen de pH. We constateren bij zoet water een toename van de fluorescentie met het toenemen van de pH tot een pH van ongeveer 11. Boven deze pH daalt de fluorescentie sterk.

In leidingwater Texel vindt bij een pH van ongeveer 12 uitvloeking plaats van een lichtgeelgekleurde stof. Dit verschijnsel zien we niet bij rivierwater. In zout en brak water blijft de fluorescentie min of meer gelijk tot pH 10, en neemt tot pH 11,5 sterk toe. Bij pH 10 ontstaat er een wit neerslag.

Hieruit kan geconcludeerd worden dat de voor de fluorescentie verantwoordelijke stoffen maximale fluorescentie vertonen in sterk alkalisch milieu, dan wel in dit milieu structuurveranderingen ondergaan waarvan een toename van de fluorescentie het gevolg is.

4.2. Mengproeven

Het is interessant aan de hand van een eenvoudig model na te gaan of er een goed lineair verband bestaat tussen fluorescentie en saliniteit bij menging van zoet water en zeewater van bekende fluorescentie en saliniteit (men zou kunnen zeggen: een goede overeenkomst tussen berekende en gemeten fluorescentie).

Indien dit het geval is, kunnen we deze kennis in beginsel toepassen op de natuurlijke omstandigheden, hoewel we natuurlijk rekening moeten houden met moeilijk controleerbare factoren, zoals afbraak en vorming van fluorescerend materiaal in zee, na menging.

Er werden tweemengreeksen gemaakt van zeewater (34,872 ‰ S), met zoet water (Keizersveen, 0,05 ‰ S) en met leidingwater (Texel, 0,229 ‰ S).

De fluorescentie bij 460 nm werd gemeten en grafisch uitgezet tegen de volumina van de samenstellende monsters (Fig. 8), waardoor dus een

fluorescentie-saliniteit diagram verkregen wordt.

De fluorescentie van leidingwater is hoger dan die van het onderzochte natuurlijke zoete water. Bij die monsters, welke vrijwel alleen leidingwater bevatten is het verband F-S niet meer lineair. Later bleek dat dit waarschijnlijk te wijten was aan een temperatuureffect (zie ook 4.1.4.). De andere mengreeks geeft een goed lineair verband voor iedere saliniteit.

De fluorescentie van de mengmonsters laat zich derhalve eenvoudig verklaren uit de fluorescentie van de samenstellende monsters. Elk van beide typen zoet water geeft bij menging met zeewater een karakteristiek verband tussen fluorescentie en saliniteit, afhankelijk van de intensiteit van zijn Fl_{460} .

Spectra van mengmonsters geven geen opvallende verschillen te zien met natuurlijke mengmonsters van vergelijkbare saliniteit.

4.3. Noordzee- en estuariummonsters

4.3.1. Materiaal en methode

Fluorescentiemetingen werden gedaan aan twee series Noordzeemonsters en twee series estuariummonsters. De Noordzeemonsters zijn genomen aan boord van Ms Willem Beukelsz tijdens de NIOZ-tochten van 17-28 februari en 14-23 mei 1969. De monsters werden genomen met de puts (plastic) aan de leizijde van het schip en opgeslagen in $\frac{1}{2}$ l infuusflessen in een diepvries. Een overzicht van het bemonsterde gebied is te zien op Fig. 9.

De estuariummonsters zijn genomen aan boord van ms Ephyra op de NIOZ-tochten van 10-21 februari en 28 april - 8 mei 1969. Deze monsters werden genomen met Nansen waterscheppers en opgeslagen in $\frac{1}{2}$ l infuusflessen in een koelkast. Aan wal werden ze alsnog diepgevroren.

Bemonsterd werden Waddenzee, IJsselmeer, IJssel, Nederrijn, Lek, Nwe Waterweg, Nwe Merwede, Bergse Maas, Hollands Diep, Haringvliet, Grevelingen, Westerschelde en Schelde.

Na het ontdooien kregen de monsters gedurende enkele uren de gelegenheid te bezinken. Uit de flessen werd enkele ml gepipetteerd in de cuvet (kwartscuvetten). Indien monsters gefiltreerd werden geschiedde dit over Sartorius membranfilters van 0.45μ . De metingen geschiedden verder volgens het meetvoorschrift (zie 3.5.).

Van een groot deel van de monsters zijn spectra genomen. Deze berusten bij de werkgroep chemische oceanografie van het NIOZ.

4.3.2. Resultaten

Bijlagen I en II geven de getabelleerde resultaten van de fluorescentiemetingen van resp. Noordzee- en estuariummonsters, alsmede de stationsposities. In Fig. 9 is de Fl_{460} uitgezet als functie van de plaats in het onderzochte zeegebied.

De fluorescentiespectra (Figuren 10 en 11) leren ons dat de "zoete" monsters één fluorescentiemaximum hebben bij ca. 460 nm. De "zoute" monsters (met een saliniteit $\geq 34,5 \text{ ‰ S}$) daarentegen hebben een piek bij ca. 420 nm, terwijl de fluorescentie bij 460 nm weliswaar een zekere waarde heeft, waar we moeilijk van een apart maximum kunnen spreken. In de overgang van "zoet" naar "zout" zien we duidelijk een schouder bij een golflengte lager dan 460 nm, geleidelijk overgaand in een afzonderlijke piek bij ongeveer 420 nm, naarmate de saliniteit toeneemt.

De golflengten waarbij de fluorescentie gemeten werd (460 en 420 nm) zijn volgens de spectra niet steeds de exacte golflengten waarbij de maxima optreden. Er zijn kleine verschillen, meestal niet meer dan 3 nm, i.h.a. naar een lagere golflengte.

Voorzover het de Fl_{460} betreft is er geen verschil tussen de gemeten fluorescentie-intensiteit en de maximale intensiteit, zoals we die uit de spectra kunnen aflezen.

De golflengteverschillen van het 460-maximum zijn vrij willekeurig verdeeld met uitzondering van de Scheldemonsters: de spectra van stations 43 en 44 geven voor beide data een maximum te zien bij 450 nm, van station 40 bij 453-455 nm. De monsters met hoge saliniteit ($> 34,5$ ‰ S) vertonen een maximum bij 413-417 nm, terwijl er tevens enig verschil is tussen de "afgelezen" intensiteit bij 420 nm en de maximale fluorescentie-intensiteit volgens het spectrum.

Bij al deze dingen moeten we bedenken dat een zekere onnauwkeurigheid het gevolg is van het feit dat de golflengteschaal op de spectra niet automatisch wordt aangegeven. Tijdens het draaien van de monochromator wordt voor elke aan te duiden golflengte een puls gegeven. Bovendien is er waarschijnlijk sprake van een zekere "traagheid" van de pen, waardoor het maximum iets "later" (in dit geval dus bij iets lagere golflengte) en eventueel ook op iets lager niveau wordt geschreven dan het werkelijke fluorescentiemaximum. Om dit te ondervangen zou de monochromatorsnelheid aanzienlijk lager gekozen moeten worden (een monochromatorsnelheid van 0,2 - t.o.v. 0,5 volgens het meetvoorschrift bleek in elk geval onvoldoende te zijn).

Bij de interpretatie van de zeewaterspectra, moeten we bedenken dat de Raman-band van water (zie 3.4.2.) bij de gebruikte hoge gevoeligheid van de apparatuur een rol kan spelen. De "Fl₄₂₀" zou dan geheel terug te voeren zijn op deze Raman-band, terwijl de Fl₄₆₀ berust op fluorescentie van het uit zoet water afkomstige fluorescerende materiaal (zie hiervoor 5.1., bewerking van de meetresultaten). In de discussie zullen we nader ingaan op "Fl₄₂₀".

4.4. RIZA-monsters

Voor de studie van de natuurlijke fluorescentie werd door het NIOZ gedurende de periode augustus 1967 t/m april 1969 de fluorescentie gemeten van maandelijks door het RIZA geno en monsters van Rijn en IJssel. Gedurende mijn stage aan het NIOZ is een deel van deze metingen door mij uitgevoerd. Aangezien nog geen resultaten uitgewerkt waren, en er een verband was met mijn eigen onderzoek, werden alle gegevens mij ter beschikking gesteld voor nadere interpretatie.

De monsters werden gemeten bij 463 en 400 nm, met de Hg-lampopstelling zoals beschreven in 3.2.2. Indien gefiltreerd werd geschiedde dit over Sartorius membranfilter 0,45 μ .

De fluorescentie van de Kbs standaard werd ingesteld op 36 mFL bij 463 nm.

In de eerste plaats moet worden opgemerkt dat uit de opgenomen fluorescentiespectra was gebleken, dat fluorescentiemeting bij 400 nm van zoetwater monsters geen extra informatie gaf, aangezien in zoet water één duidelijk fluorescentiemaximum bij ongeveer 460 nm voorkwam (Fig. 10). Het is dan ook beter dat we ons bij de interpretatie van de gegevens beperken tot de fluorescentie, gemeten bij 463 nm.

In bijlage III zijn de resultaten van alle metingen weergegeven, gerangschikt naar datum en station, alsmede de stationsposities. In Fig. 24 t/m 30 (eveneens opgeno en in bijlage III) is voor elk station de fluorescentie uitgezet in de tijd. Fig. 31 geeft de over de stations gemiddelde fluorescentie weer tezamen met de betreffende standaarddeviaties. Zoals we reeds gezien hebben blijkt ook hier de fluorescentie van gefiltreerde monsters iets hoger te zijn dan van niet gefiltreerde. Het is moeilijk in algemene bewoordingen het verloop van de fluorescentie te beschrijven. Bij alle monsters (behalve 8) is de fluorescentie gedurende de winter 1968/1969 (Jan., febr.) hoog.

In het algemeen blijkt de fluorescentie in het voorjaar (en zomer) lager te zijn en in de herfst en de winter hoger.

5. Bewerking van de meetresultaten

5.1. Correlatieberekening

Teneinde het verband na te gaan tussen de fluorescentie (F) en de saliniteit (S), berekenen we de regressielijn, waarbij we F als meest variabele factor beschouwen (regressie van F over S). We beperken ons hierbij tot de fluorescentie, gemeten bij 460 nm.

Indien de waargenomen fluorescentie van het zeewater toegeschreven moet worden aan de menging met zoet water met een bepaalde fluorescentie, dan moet er een lineair verband bestaan tussen F en S.

De lineaire regressie geeft ons de formule (van het type $y = ax + b$) van de "best passende" lijn die door een puntenverzameling kan worden getrokken. We berekenen eveneens de correlatiecoëfficiënt r; deze geeft aan of de correlatie wel dan niet significant is voor een gegeven aantal waarnemingen.

Uitgaande van alle Noordzeewaarnemingen vinden we als regressielijnen voor februari en mei resp.:

$$F = - 1,53 S + 55,04$$

$$r = - 0,88 \text{ (56 waarnemingen, Fig. 12)}$$

en

$$F = - 1,09 S + 39,58$$

$$R = - 0,97 \text{ (84 waarnemingen, Fig. 13)}$$

In beide gevallen is er sprake van een significante negatieve correlatie. Deze resultaten bevestigen de waarnemingen van Otto (1967), Nienhuis (1967) en Kalle (1956) (Figuren 12 en 13).

5.2. Watermassa's

Een volgend onderdeel van de vraagstelling was: is het mogelijk de verschillende zoetwatertypen, welke gemengd worden met zeewater te onderscheiden op grond van hun verband tussen fluorescentie en saliniteit, m.a.w. is de fluorescentie bruikbaar als watermassa indicator.

In dit geval is er sprake van menging met tenminste vier verschillende zoetwatertypen, te weten: Scheldewater, Rijn-Maaswater, Rijnwater en IJsselwater. We moeten nu het volgende compromis sluiten: voor elk watertype een zo groot mogelijk aantal punten kiezen, met een zo groot mogelijke zekerheid dat we te maken hebben met "zuiver" mengwater van één der vier rivierwatertypen met zeewater. In de tabellen 6 en 7 is aangegeven welke waarnemingen voor elk watertype werden gekozen en welke regressielijn hierbij het verband tussen F en S aangeeft. In Fig. 14 en 15 is de fluorescentie uitgezet tegen de saliniteit en de regressielijn getekend voor elk watertype.

Duidelijk blijkt dat, zoals we ook wel verwachtten, Rijn- en Rijn-Maaswater niet kunnen onderscheiden.

Voor beide series waarnemingen kan Scheldewater van Rijnwater worden onderscheiden tot een bepaalde saliniteit.

Het onderscheid tussen Rijnwater en IJsselmeerwater is voor de mei-waarnemingen eveneens mogelijk tot een bepaalde saliniteit, maar voor de februariwaarnemingen in veel mindere mate.

6. Discussie

6.1. Standaarden

De kininebisulfaatoplossing (3.3.1.) is bruikbaar als standaard voor fluorescentiemetingen van natuurlijke wateren, maar we moeten er rekening mee houden dat de fluorescentie aan verloop onderhevig is en dus regelmatig verse oplossingen gemaakt dienen te worden.

Tabel 6

Begrenzing watermassa's februari				
Watermassa	Stations no. Eph/WB	Fluoresc. mFl	Saliniteit ‰ S	Regressieformule (F over S)
Schelde- water	40 Eph	36,0	21,89	
	37 "	18,0	28,37	$F_S = -3,08 S + 103,3$ $r = -0,98$ (n=5)
	17 WB	7,2	30,30	
	22 "	4,3	31,54	
	25 "	4,8	32,87	
Rijn/Maas- water	35 Eph	21,0	24,61	
	36 "	15,0	27,97	
	46 Wb	9,5	30,47	$F_{rn} = -2,05 S + 71,6$ $r = -1,00$ (n=6)
	49 "	3,4	33,52	
	41 "	6,0	31,40	
	36 "	2,3	33,89	
Rijn- water	20 Eph	33,5	20,32	
	61 WB	10,1	27,47	
	63 "	7,1	30,66	
	66 "	8,0	29,79	
	69 "	9,1	29,12	$F_r = -2,25 S + 76,7$ $r = -0,96$ (n=13)
	84 "	6,5	30,79	
	87 "	10,3	30,24	
	90 "	8,6	30,07	
	93 "	9,8	30,54	
	96 "	6,1	31,45	
	105 "	3,6	33,56	
	108 "	7,5	31,15	
	111 "	8,6	30,42	
Waddenzee- water	1 Eph	16,0	28,91	
	2 "	16,5	27,18	$F = -2,35 S + 81,8$ $r = -0,99$ (n=9)
	3 "	23,0	25,46	
	4 "	35,5	19,90	

Tabel 6 (vervolg)

Begrenzing watermassa's februari				
Watermassa	Stations no. Eph/WB	Fluoresc. mFl	Saliniteit ‰ S	Regressieformule (F over S)
Waddenzee- water	113 WB	15,2	27,69	
	117 "	5,4	31,71	
	127	2,9	34,67	
	130	3,0	32,98	
	131	5,6	32,31	

Tabel 7

Begrenzing watermassa's april/mei				
Watermassa	Stations no. Eph/WB	Fluoresc. mFl	Saliniteit ‰ S	Regressieformule (F over S)
Schelde- water	40 Eph	22,8	20,12	
	37 "	9,5	28,78	
	20 WB	13,8	26,01	$F = -1,63 S + 55,74$
	21 "	7,2	30,07	$r = -1,00$
	22 "	6,7	29,96	(n=7)
	23 "	4,8	30,69	
	24 "	5,7	31,03	
Rijn/Maas- water	36 Eph	14,9	20,81	
	38 WB	4,3	32,60	
	39 "	5,5	31,92	$F = 0,92 S + 35,14$
	40	5,6	31,49	$r = -0,94$
	41 "	5,8	31,43	(n=11)
	42 "	5,7	31,24	
	43 "	15,5	20,22	
	44 "	14,1	26,79	
	45 "	13,0	24,78	

Tabel 7 (vervolg)

Begrenzing watermassa's april/mei				
Watermassa	Stations no. Eph/WB	Fluoresc. mFl	Saliniteit ‰ S	Regressieformule (F over S)
Rijn/Maas- water	46 WB	10,2	29,50	
	47 "	6,6	30,60	
Rijn- water	63 Wb	8,8	27,80	
	64 "	13,8	20,17	
	65 "	16,5	24,27	
	66 "	16,8	20,65	
	67 "	14,5	24,11	
	68 "	9,0	28,25	
	85 "	7,1	29,44	
	86 "	11,4	25,29	
	87 "	11,8	25,79	
	88 "	12,3	25,02	$F = -1,04 S + 57,92$
	89 "	12,8	24,25	$r = -0,92$
	90 "	8,6	27,98	(n=21)
	91 "	8,7	28,08	
	92 "	7,8	28,21	
	93 "	7,4	28,05	
	94 "	7,3	29,72	
	109 "	6,1	30,25	
	110 "	7,5	29,03	
	111 "	7,5	28,71	
	112 "	8,2	28,41	
	113 "	8,4	28,56	
Waddenzee- water	1 Eph	13,8	28,96	
	2 "	15,2	25,46	
	3 "	21,5	22,11	
	114 WB	11,4	26,77	
	115 "	14,7	24,90	$F = -1,57 S + 54,41$
	116 "	7,2	28,30	$r = -0,92$
	117 "	7,3	29,29	(n=10)

Tabel 7 (vervolg)

Begrenzing watermassa's april/mei				
Watermassa	Stations no. Eph/Wb	Fluoresc. mFl	Saliniteit ‰ S	Regressieformule (F over S)
Waddenzee- water	118 WB	6,0	28,71	
	130 "	2,2	33,81	
	131 "	2,9	33,35	

De staafstandaard is betrouwbaar, maar heeft maximale fluorescentie bij 527 nm. Het is daarom gewenst te zoeken naar een staafstandaard, waarvan het fluorescentiespectrum overeenkomt met dat van de te onderzoeken oplossing. Een andere mogelijkheid is de Raman piek van het oplosmiddel te gebruiken voor het standaardiseren van de gevoeligheid, zoals door Parker (1959) is beschreven.

6.2. Seizoenverschillen

Het ligt voor de hand de februari- en meiwaarnemingen te vergelijken om te zien of er seizoenverschillen optreden en zo ja, na te gaan hoe deze tot stand komen.

Bekijken we de regressielijnen van alle Noordzee monsters (Figuren 12 en 13) dan zien we dat de fluorescentie in februari ongeveer een factor 1,34 hoger is dan in mei voor een saliniteit van 20 - 25 ‰. Voor de afzonderlijke watermassa's (waarbij ook waarnemingen betrokken zijn van de zoete en/of brakke watermassa) kunnen we het beste de fluorescentie vergelijken voor $S=0$ in de regressieformule.

In Tabel 8 is voor elke watermassa de berekende S_0 -fluorescentie weergegeven.

Tabel 8

Watermassa	<u>Ber. Fl. voor S=0</u>		Fl. Febr./Mei
	Februari	Mei	
Schelde	103	56	1,84
Rijn-Maas	72	35	2,06
Rijn	77	38	2,08
IJsselmeer	82	54	1,52

We zien dat de rivierwater fluorescentie in februari 1,5 tot 2 maal zo hoog is als in mei.

Wanneer we ons afvragen hoe de seizoenverschillen tot stand komen, zien we ons onherroepelijk geplaagd voor het feit dat we weinig weten omtrent de herkomst en de aard van het fluorescerend materiaal. We kunnen nagaan of er een correlatie is tussen fluorescentie en rivierafvoer (in de tijd), maar dit heeft feitelijk alleen zin als we een bepaalde correlatie verwachten op grond van één of andere veronderstelling omtrent het ontstaan en de verdeling van fluorescerende stoffen. Kalle (1966) neemt aan dat bij de vorming van melanoidinen (gele, in water oplosbare verbindingen, ook wel koolhydraathumuszuren genoemd, welke deel uitmaken van de "gelbstoff") een organische verbinding aanwezig is welke fluorescentie vertoont in het blauw. Melanoidinen kunnen overal gevormd worden waar dode cellen afgebroken worden en koolhydraten en aminozuren vrijkomen. Wanneer we deze theorie toepassen op ons probleem kunnen we het volgende verwachten:

1. Een hoge rivierafvoer wil zeggen grote uitspoeling, dus veel afbraakprodukten van terrestrische oorsprong in 't rivierwater.
2. Het seizoen oefent direct invloed uit op de opbloei en het afsterven

van phytoplankton; bij het afsterven van phytoplankton treedt een toename van fluorescerend materiaal op.

Enerzijds kan dus een verhoging van de rivierafvoer gepaard gaan met een toename van de fluorescentie, anderzijds kunnen we na de voorjaars- (en ev. najaars-) bloei van het phytoplankton een toename van de fluorescentie verwachten, onafhankelijk van de rivierafvoer.

Gaat men evenwel uit van de voor alle rivierstations per tocht gemiddelde fluorescenties en de ijnaflow (zie tabel) van de week waarin de monsters werden genomen en berekent men de correlatie, dan blijkt zonneklaar dat er in deze cijferopstelling geen significante correlatie aanwezig is en de hypothese van de uitspoeling op deze wijze getoetst niet houdbaar is. In dit stadium zijn er dan ook geen aanwijzingen hoe enerzijds de variaties tussen de waarden van één tocht moeten worden verklaard en hoe de variaties op langere termijn verklaard moeten worden. Gezien de grootte van de standaardderivaties van de gemiddelden is een deel van deze variaties in de tijd met een 90% waarschijnlijkheid zeker significant (bijlage III).

6.3. Vergelijking van gemeten en berekende fluorescentie

In aansluiting hierop is het interessant de gemeten fluorescentie van de zoete watermassa te vergelijken met de uit de regressieformule berekende S_0 fluorescentie van de corresponderende watermassa. In de zoete watermassa zien we echter aanzienlijke verschillen in fluorescentie optreden over betrekkelijk geringe afstand, zodat het moeilijk is een monster te kiezen dat representatief is voor de zoete watermassa. We hebben hiervoor doorgaans dat monster genomen dat de zoete watermassa weergeeft direct voor het mengen met zeewater.

Tabel 9 geeft de gemeten Fl_{460} en de uit de regressieformule berekende

Fl₄₆₀ voor de verschillende zoete watermassa's.

Tabel 9

Watermassa	Fl ₄₆₀				Fl-ber./Fl-gem.	
	Februari 1969		Mei 1969		Februari	Mei
	gem.	ber.	gem.	ber.		
Schelde	75	103	50	56	1,4	1,1
Rijn-Maas	52	72	27	35	1,4	1,3
Rijn	60	77	28	38	1,3	1,4
IJsselmeer	67	82	50	54	1,2	1,1

De berekende fluorescentie een factor 1,1-1,4 hoger dan de gemete fluorescentie. Met andere woorden: in sommige gevallen is de correlatie tussen beide waarden zodanig dat het verschil binnen de normale grenzen van nauwkeurigheid valt, in andere gevallen niet meer.

We moeten hierbij natuurlijk bedenken dat er een zekere discrepantie is tussen de tijdstippen van monstername. De gemeten fluorescentie is afkomstig van Ephyra-monsters; het tijdstip van monstername daarvoor valt 1 tot 3 weken vroeger dan dat van de Noordzee-monsters (W. Beukelsz), waaraan de berekende fluorescentie is ontleend, terwijl we weinig weten van fluorescentievariatiën over een kort tijdsbestek.

Daarnaast kan de mogelijkheid worden genoemd - aangezien de gemeten fluorescentie steeds hoger is dan de berekende - dat er, direct zodra het fluorescerend materiaal in zee komt een afname is, doordat bv. een deel wordt geabsorbeerd aan organische partikels. Op langere termijn vinden we echter geen effect van de verblijftijd (bv. bij vergelijking van de H.v.H. raai en de Egmondraai). Bovendien bestaat er een lineair verband met hoge correlatiecoëfficiënt tussen F en S, hetgeen bij een duidelijk effect van de verblijftijd niet mogelijk zou zijn. (?)

6.4. "Fl₄₂₀" en Raman effect

Nienhuis (1967) constateerde, behalve een fluorescentiemaximum bij 463 nm, ook een piek bij 400 nm (of een lagere golflengte) in zeewater. Hij schreef dit toe aan een stof welke in zee zelf gevormd zou worden.

Fluorescentiespectra, welke met de spectrofluorimeter zijn opgenomen wijzen uit dat deze zeewaterpiek zich bevindt bij een golflengte van ongeveer 417 nm (hier "Fl₄₂₀" genoemd).

De veronderstelling, dat de "Fl₄₂₀" de Raman band van water vetegenwoordigt, berust in hoofdzaak op het fluorescentiespectrum van aqua dest. (Fig. 17). Dit vertoont nl. nauwe overeenkomst met de spectra van monsters van hoge saliniteit (35 %). De Raman piek van water is in principe altijd even groot, maar in de spectra wordt de hoogte beïnvloed door de Fl₄₆₀, aangezien beide pieken niet volledig van elkaar gescheiden zijn. Bij hoge saliniteit (ca 35 ‰) zouden we eigenlijk een altijd even grote Fl₄₂₀ moeten vinden, eventueel met geringe verschillen tengevolge van verschillende beïnvloeding door de 460-piek (i.v.m. verschillende zoetwaterbronnen). We moeten feitelijk elk spectrum corrigeren voor het Raman effect door er het aqua dest. spectrum af te trekken. In Fig. 18 en 19 is een voorbeeld gegeven van een dergelijke correctie voor resp. een monster van hoge en van lage saliniteit.

De Fl₄₆₀ in zeewater is gecorreleerd met de saliniteit, afname van de Fl₄₆₀ laat zich verklaren door menging van zoetwater (met een bepaalde Fl₄₆₀) met zeewater (zonder eigen Fl₄₆₀). Dit impliceert, dat ook de beïnvloeding van de 420-piek door de 460-piek afhankelijk is van de saliniteit. Er bestaat een - op het eerste gezicht bedriegelijke - correlatie tussen "Fl₄₂₀" en saliniteit.

Bij voortzetting van het onderzoek zal meer aandacht besteed moeten worden aan het Raman effect, de correctie en de mogelijke invloed, welke correctie

heeft op de correlatierekening.

6.5. Correlatierekening

Bij pogingen tot het onderscheiden van watermassa's kiezen we een aantal monsters, waarvan we met enige zekerheid kunnen aannemen dat ze behoren tot één bepaald type mengwater (van een zoete watermassa en zeewater). Het probleem hierbij is dat de fluorescentie van het zoete water geen constante is. De relatief slechte correlatie tussen F en S bij monsters van lage saliniteit (ca. 20 ‰) is daarvan vermoedelijk een gevolg.

Bovengenoemde, in combinatie met het feit, dat naar verhouding weinig monsters van lage saliniteit betrokken konden worden in de correlatierekening vormen dan ook waarschijnlijk de oorzaak van de snijpunten van de regressielijnen (bij saliniteit van 30 - 33 ‰). We zouden nl. verwachten dat de regressielijnen in één punt samenkomen.

Aangezien de monsters qua saliniteit niet homogeen verdeeld zijn, is het niet helemaal gerechtvaardigd correlatierekening hierop toe te passen. Het verdient aanbeveling in verder onderzoek meer aandacht te besteden aan de homogene verdeling van de monsters.

Het is nl. niet onmogelijk dat covariantieanalyse dan zou uitwijzen dat er sprake is van twee regressielijnen (voor hoge en lage saliniteit). Dit zou betekenen dat er inderdaad vrij snel na menging van zoetwater met zeewater "iets met de fluorescentie gebeurt".

Berekeningen van de 95% betrouwbaarheidsgebieden zijn in dit verslag buiten beschouwing gelaten, omdat het beter lijkt eerst de resultaten van een uitgebreider aantal estuariummonsters en covariantieanalyse te verkrijgen.

7. Literatuuropgave

- KALLE, K., 1949. Fluoreszenz und Gelbstoff in Botnischen und Finneschen Meerbusen. - Dt. hydrogr. Z. 2: 117-124.
- KALLE, K., 1956. Chemische hydrografische Untersuchungen in der inneren Deutschen Bucht. - Dt. hydrogr. Z. 9: 55-65.
- KALLE, K., 1963. Über das Verhalten und die Herkunft der himmelblauen Fluoreszenz. - Dt. hydrogr. Z. 4: 153.
- KALLE, K., 1966. The problem of gelbstoff in the sea. - Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 4: 91-104.
- NIENHUIS, I., 1967. Stageverslag N.I.O.Z.
- OTTO, L., 1967. Investigations on optical properties and watermasses of the southern North Sea. - Neth. J. Sea Res. 3 (4): 532-551.
- PARKER, C.A., 1959. Raman spectra in spectro fluorimetry. - Analyst 84: 446.
- POSTMA, H., 1954. Recent sediments of the Gulf of Paria. 1 (2) Hydrografy. - Verh. K. Akad. Wet. (1) 20 (5): 28-64.
- REULE, A. Fluoreszenz - Mesztechnik. Carl Zeiss, Oberkochen (Württ.).
- RIJKSWATERSTAAT. Afvoertabellen 1968 en 1969.
- UDENFRIEND, S., 1962. Fluorescence assay in biology and medicine. Academic Press.

Bijlage I

Fluorescentie-metingen op de Noordzee (Willem Beukelsz)

17-28 febr. 1969				14-23 mei 1969				
Station	(ongefiltreerd)	S %		Station		Spectr.	S %	
nr.	mFl			nr.				
	460	420			460	420		
2	3.5	4.5	33.992	8	4.4	5.2	+	32.730
4	1.1	2.8	35.036	20	13.8	11.8	+	26.005
6	1.9	3.4	34.487	21	7.2	7.0	+	30.072
8	5.0	5.6	33.086					
9	4.9	5.4	33.123					
11	2.2	3.6	34.949					
13	2.1	3.5	35.041					
15	3.7	4.7	33.507					
17	7.2	6.8	30.297					
22	4.3	5.0	31.539	22	6.7	6.6	+	29.958
25	4.8	5.4	32.866	23	4.8	5.4	+	30.686
28	1.5	3.1	34.669	24	5.7	5.9	+	31.032
30	1.5	3.1	35.073	25	4.6	5.2	-	32.191
				27	3.0	4.0	-	33.720
				29	1.6	3.2	-	34.670
				31	1.2	3.0	-	34.848
31	1.6	3.2	35.037	32	1.5	3.1	-	34.859
33	1.4	3.1	34.820	34	2.1	3.6	-	34.362
36	2.3	3.7	33.893	36	3.7	4.6	-	33.138
41	6.0	6.2	31.397	38	4.3	5.0	-	32.598
				39	5.5	5.8	+	31.915
				40	5.6	5.8	+	31.492
				41	5.8	6.0	+	31.429
				42	5.7	6.0	+	31.239
43	19.0	14.6	30.463	43	15.5	12.2	+	20.220
46	9.5	8.3	30.469	44	14.1	11.3	+	26.794
49	3.4	4.5	33.519	45	13.0	10.6	+	24.779
51	2.1	3.6	34.774	46	10.2	8.8	+	29.501
53	2.0	3.6	35.038	47	6.6	6.6	+	30.596
				48	3.7	4.5	-	32.716

Bijlage I (vervolg)
Fluorescentie-metingen op de Noordzee (Willem Beukelsz)

17-28 febr. 1969				14-23 mei 1969			
Station nr.	(ongefiltreerd)	S %		Station nr.	Spectr.	S %	
	mFl						
	460	420			460	420	
				50	3.0	4.1	- 33.491
				52	1.9	3.4	- 34.399
				54	1.6	3.2	- 34.779
54	1.5	3.2	34.995	55	2.0	3.4	- 34.655
56	1.7	3.3	34.777	57	2.0	3.4	- 34.442
58	2.3	3.8	34.310	59	2.8	4.0	- 33.755
61	10.1	8.9	27.474	61	3.4	4.4	- 33.181
63	7.1	7.0	30.658	62	5.1	5.5	- 31.249
				63	8.8	8.0	+ 27.799
				64	13.8	10.6	+ 20.166
				65	16.5	13.0	+ 24.268
66	8.0	7.5	29.789	66	16.8	13.0	+ 20.652
69	9.1	8.2	29.121	67	14.5	11.5	+ 24.108
72	2.5	3.8	34.010	68	9.0	8.2	+ 28.251
74	1.5	3.2	34.822	69	5.0	5.4	+ 31.795
76	1.6	3.3	35.039	70	4.0	4.8	+ 32.293
				71	3.8	4.6	- 32.427
				73	3.0	4.0	- 33.887
				75	1.8	3.4	- 34.604
				77	1.8	3.3	- 34.638
77	1.3	3.2	35.110	78	1.7	3.2	- 34.699
79	1.7	3.4	34.912	80	1.5	3.1	- 34.879
81	3.7	4.7	32.628	82	2.5	3.7	- 34.297
84	6.5	6.5	30.785	84	5.5	5.7	- 30.847
87	10.3	9.0	30.240	85	7.1	6.9	+ 29.441
				86	11.4	9.6	+ 25.285
				87	11.8	9.9	+ 25.790
				88	12.3	10.4	+ 25.019
				89	12.8	10.5	+ 24.245
90	8.6	7.9	30.073	90	8.6	7.9	+ 27.983
93	9.8	8.5	30.538	91	8.7	7.9	- 28.082

Bijlage I (vervolg)
Fluorescentie-metingen op de Noordzee (Willem Beukelsz)

17-28 febr. 1969				14-23 mei 1969				
Station	(ongefiltreerd)		S %	Station			Spectr.	S %
nr.	mFl			nr.				
	460	420			460	420		
96	6.1	6.3	31.450	92	7.8	7.3	+	28.213
98	2.8	3.4	34.968	93	9.4	8.4	+	28.051
100	2.3	3.8	35.018	94	7.3	7.0	+	29.718
				95	5.6	5.9	-	31.939
				97	2.0	3.4	-	34.556
				99	1.4	3.1	-	34.996
				101	1.5	3.2	-	34.872
101	2.2	3.8	34.858	102	1.9	3.3	-	34.564
103	1.5	3.2	35.029	104	1.8	3.4	-	34.734
105	3.6	4.7	33.562	106	1.9	3.4	-	34.677
108	7.5	7.1	31.151	108	3.9	4.8	-	32.300
111	8.6	7.9	30.415	109	6.1	6.2	+	30.254
				110	7.5	7.2	+	29.029
				111	7.5	7.1	+	28.713
				112	8.2	7.6	+	28.412
				113	8.4	7.8	+	28.564
113	15.2	12.3	27.691	114	11.4	9.7	+	26.769
117	5.4	5.8	31.707	115	14.7	11.8	+	24.895
120	3.1	4.3	33.714	116	7.2	6.9	+	28.296
122	1.8	3.4	34.776	117	7.3	6.9	+	29.292
124	1.9	3.4	34.302	118	6.0	6.1	+	28.708
				119	5.8	6.0	+	30.423
				121	3.6	4.6	-	32.648
				123	2.2	3.6	-	34.346
				125	2.2	3.6	-	34.181
125	2.3	3.8	34.598	126	1.7	3.3	-	34.345
127	2.0	4.2	34.665	128	2.0	3.4	-	34.292
130	3.0	4.2	32.982	130	2.2	3.5	-	33.805
131	5.6	5.9	32.309	131	2.9	4.0	-	33.250

Bijlage II
Fluorescentie-metingen in estuaria (Ephyra)

Station	no.	10-21 febr. 1969		28 april - 8 mei 1969			
		Fl ₄₆₀	S %	Fl ₄₆₀	Fl ₄₂₀	Spectrum	S %
Den Helder, rode boei	1	16.0	28.91	13.8	11.4	+	28.96
Malzwin	2	16.5	27.18	15.2	12.1	-	25.46
Wierbalg 3	3	23.0	24.46	21.5	16.2	+	22.11
Den Oever I 19	4	35.5	19.90	42.2	29.5	+	3.89
K.R. 3	6	67.0	0.35	50.0	34.3	-	0.34
Kamperhoek	8	59.0	0.29				0.23
Hattum	9	46.5	0.28	28.1	20.4	+	0.20
IJsselkop, westervaart	11	59.0	0.35	23.2	17.1	+	0.18
Everdingen	13	51.0	0.37	29.2	21.3	+	0.18
Rotterdam	16	77.5	0.41	27.7	19.9	-	0.25
Maassluis	18	60.5	7.50	29.2	20.8	-	0.59
Hoek van Holland	20	33.5	20.32	27.5	19.5	+	6.96
Boei S.G. 10	35	21.0	24.61	26.5	19.8	+	0.43
Boei H.V. 13	33	52.0	2.29	27.0	19.8	+	0.23
Haringvlietbrug	30	52.0	1.35				0.18
Werkendam	22	46.5	0.35	22.0	16.6	+	0.18
Keizersveer	24	38.5	0.37				0.05
Boei Kraumen 3	36	15.0	27.07	14.9	12.1	+	20.81
Weert	48	74.0	0.23	41.3	31.2	+	0.22
Lillo	44	77.5	1.35	54.7	42.0	+	3.01
Zandvlietpolder	43	74.5	2.95	54.0	40.8	+	4.49
Ossensisse	40	36.0	21.89	22.8	18.0	+	20.12
Vlissingen W 10	37	18.0	28.37	9.5	8.6	+	28.78

Bijlage III

Fluorescentie-metingen RIZA-monsters

(1. Vreeswijk, 2. Stuw Hagestein, 3. Rhenen, 4. Lobith, 5. Velp, 6. Zutphen,
7. Wijhe, 8. Kampen)

Datum	Station no.	<u>Gefiltreerd</u>		<u>Ongefiltreerd</u>		Datum	Station no.	<u>efiltreerd</u>		<u>Ongefiltreerd</u>	
		400	463	400	463			400	463	400	463
8.8.67	1	14.7	40.4	21.2	38.5	8.2.68	1	19.5	58.0	28.4	55.2
	2	13.3	36.8	21.1	37.0		2				
	3	10.9	29.6	19.0	30.2		3	21.7	68.0	32.0	64.6
	4	10.5	28.2	19.4	28.9		4	21.0	59.4	31.0	57.5
	5	10.9	29.5	20.6	29.0		5	21.4	58.0	32.0	54.5
	6	11.1	29.9	19.5	30.5		6	23.0	71.0	26.9	68.5
	7	12.7	35.6	21.9	35.2		7	22.6	64.0	29.2	62.5
	8	14.2	40.4	22.7	39.8		8	23.0	64.1	30.5	61.5
5.10.67	1	14.0	39.5	31.7	41.0	5.3.68	1	16.5	48.5	22.3	43.0
	2						2				
	3	16.2	61.6	43.7	59.0		3	15.5	39.5	34.0	38.3
	4	14.7	55.5	32.7	56.2		4	17.0	42.2	30.0	39.7
	5	16.4	61.6	37.2	60.0		5	15.7	39.5	23.9	37.8
	6	17.3	69.0	37.9	64.5		6	16.6	42.5	20.8	40.3
	7	14.1	54.0	30.5	51.5		7	16.6	49.5	23.0	46.0
	8	13.7	46.0	28.2	42.2		8	17.1	48.5	24.5	46.2
9.1.68	1	26.5	52.0	48.0	47.0	4.4.68	1	18.2	60.6	27.7	59.6
	2						2				
	3	27.0	47.0	63.3	38.4		3	19.9	58.5	29.2	55.5
	4	29.5	50.0	66.2	41.0		4	19.0	51.0	29.7	47.5
	5	28.0	45.5	71.5	87.2		5	19.5	57.1	25.6	53.9
	6	27.0	50.0	55.7	42.6		6	20.3	60.5	33.0	54.1
	7	28.2	60.0	47.5	55.2		7	18.7	60.7	28.2	58.2
	8	28.2	66.1	43.6	61.2		8				
							9	17.8	53.0	22.7	50.5

Bijlage III (vervolg)

Fluorescentie-metingen RIZA-monsters

(1. Vreeswijk, 2. Stuw Hagestein, 3. Rhenen, 4. Lobith, 5. Velp, 6. Zutphen
7. Wijhe, 8. Kampen)

		<u>Gefiltreerd</u> <u>Ongefiltreerd</u>						<u>Gefiltreerd</u> <u>Ongefiltreerd</u>			
Datum	Station no.	400	463	400	463	Datum	Station no.	400	463	400	463
2.5.68	1	8.9	51.9	16.4	49.9	25.7.68	1	12.3	53.2	15.1	53.2
	2						2				
	3	9.9	53.6	19.0	51.1		3	13.8	59.9	21.5	56.2
	4	8.2	44.5	16.1	42.0		4	13.3	67.8	18.9	64.2
	5	9.4	52.0	15.4	48.5		5	13.4	64.0	16.9	59.0
	6	9.8	52.3	15.3	50.0		6	13.3	64.2	19.0	59.6
	7	8.9	48.9	22.9	43.0		7	13.5	68.8	18.5	64.2
	8	9.1	50.4	20.5	45.8		8	12.5	47.6	13.6	47.9
30.5.68	1	11.0	45.5	17.4	41.0	10.8.68	geen monstername				
	2										
	3	12.2	49.5	21.4	45.5						
	4	12.4	52.7	25.5	50.0						
	5	11.7	47.0	21.3	45.1						
	6	11.7	50.7	24.2	48.5						
	7	9.8	36.0	10.7	35.5						
	8	11.2	35.0	13.0	34.0						
25.6.68	1	12.5	65.0	18.0	56.0	17.9.68	1	13.7	58.5	19.9	52.0
	2						2				
	3	12.4	58.5	18.1	52.5		3	16.6	54.5	23.5	50.4
	4	13.5	68.5	25.0	55.5		4	16.2	56.0	19.2	53.0
	5	13.7	64.0	19.4	59.0		5	18.0	55.0	22.8	50.6
	6	13.6	66.5	19.3	60.1		6	17.0	65.0	19.5	60.0
	7	13.1	70.0	21.5	62.0		7	16.9	72.2	22.2	65.5
	8	13.1	65.5	15.6	64.7		8	17.5	72.6	19.4	67.5

Bijlage III (vervolg)

Fluorescentie-metingen RIZA-monsters

(1. Vreeswijk, 2. Stuw Hagestein, 3. Rhenen, 4. Lobith, 5. Velp, 6. Zutphen
7. Wijhe, 8. Kampen)

Datum	Station no.	Gefiltreerd		Ongefiltreerd		Datum	Station no.	Gefiltreerd		Ongefiltreerd	
		400	463	400	463			400	463	400	463
17.10.68	1	12.6	59.4	17.4	59.2	16.1.69	1	11.0	50.5	42.3	47.8
	2						2				
	3	14.4	73.0	21.5	69.5		3	13.0	77.0	39.5	70.5
	4	14.4	62.0	20.1	59.2		4	13.6	67.0	39.5	70.0
	5	14.0	69.0	20.9	65.2		5	13.6	77.0	45.0	76.0
	6	16.0	75.4	23.2	69.6		6	15.0	84.0	46.5	76.0
	7	15.9	75.6	21.9	74.8		7	15.0	77.5	45.0	66.2
	8	16.6	79.6	19.1	77.1		8	12.6	57.3	33.8	57.7
12.11.68	1	17.2	55.8	31.6	52.3	12-2-69	1	17.4	68.2	60.3	60.2
	2						3	18.4	68.0	57.8	55.0
	3	18.9	53.3	28.4	50.9		4	20.6	93.5	52.6	88.1
	4	18.8	52.1	28.6	51.1		5	19.8	74.2	65.6	61.8
	5	19.1	50.7	27.4	48.4						
	6	21.7	70.6	26.3	65.8						
	7	21.8	66.4	27.1	63.3						
	8	22.6	72.5	31.6	66.2						
9.12.68	1	13.0	57.5	36.0	54.2	13.3.69	1	17.5	72.5	18.5	73.0
	2						2				
	3	15.5	64.8	33.0	62.0		3	17.5	70.0	19.5	70.5
	4	13.0	56.0	34.7	56.0		4	20.0	85.0	23.5	85.0
	5	15.5	65.3	40.0	61.5		5	19.0	71.5	23.0	74.5
	6	15.2	67.7	39.5	61.8		6	19.0	71.5	21.5	71.5
	7	16.6	65.0	39.8	54.2		7	18.0	72.0	20.0	73.0
	8	15.7	63.5	31.5	57.5		8	16.5	59.5	17.5	60.0

Bijlage III (vervolg)

Fluorescentie-metingen RIZA-monsters

(1. Vreeswijk, 2. Stuw Hagestein, 3. Rhenen, 4. Lobith, 5. Velp, 6. Zutphen,
7. Wijhe, 8. Kampen)

Datum	Station no.	<u>Gefiltreerd</u>		<u>Ongefiltreerd</u>	
		400	463	400	463
9.4.69	1	12.2	41.2	14.5	44.0
	2				
	3	11.3	38.2	14.5	40.0
	4	12.0	39.8	15.0	39.7
	5	11.5	39.7	15.2	38.8
	6	11.5	39.5	14.8	40.0
	7	12.8	42.0	15.0	42.3
	8	12.8	44.0		

Gemiddelde natuurlijke fluorescentie (gefiltreerd water) van de RIZA-monsters

Datum	Fluorescentie gem.	Aantal metingen	Standaarddeviatie van het gemiddelde	Rijnafvoer km ³ per week
8.8.67	33.4	7	2.0	1.064
5.10.67	55.3	7	3.8	0.992
9.1.67	52.9	7	2.8	2.531
8.2.67	63.2	7	1.9	1.775
5.3.68	44.3	7	1.7	1.704
4.4.68	57.3	7	1.5	1.713
2.5.68	50.5	7	1.2	1.879
30.5.68	45.2	7	2.7	1.386
25.6.68	65.4	7	1.4	1.340
25.7.68	60.5	7	2.9	1.191
17.9.68	62.0	7	3.0	1.629
17.10.68	70.6	7	2.8	2.177
12.11.68	60.2	7	3.5	1.223
9.12.68	62.8	7	1.7	0.829
16.1.68	70.0	7	4.6	1.089
12.2.68	76.0	4	6.0	1.283
13.3.68	71.7	7	2.8	1.486
9.4.68	40.6	7	0.7	1.595

Fig. 1 Schema Xe-lamp opstelling

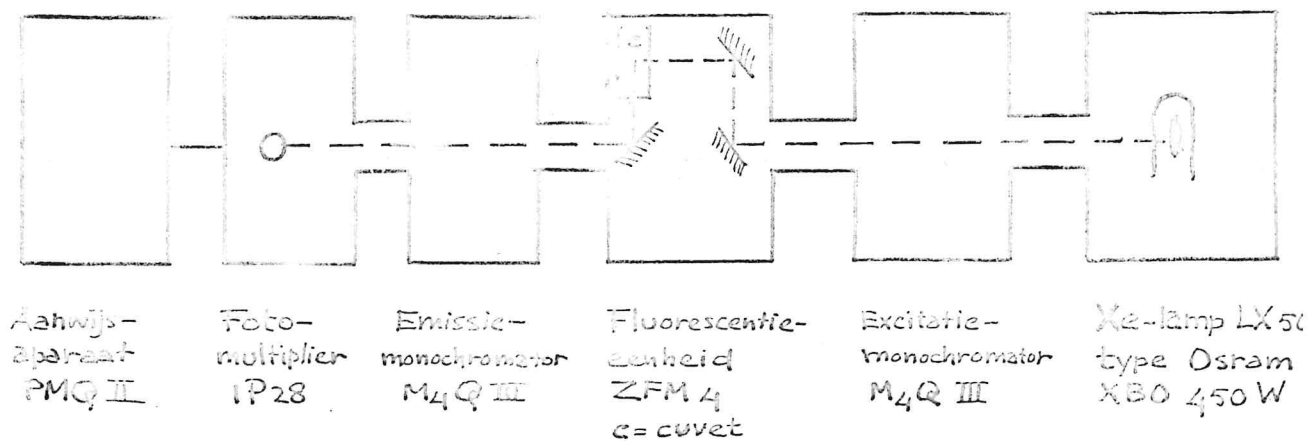
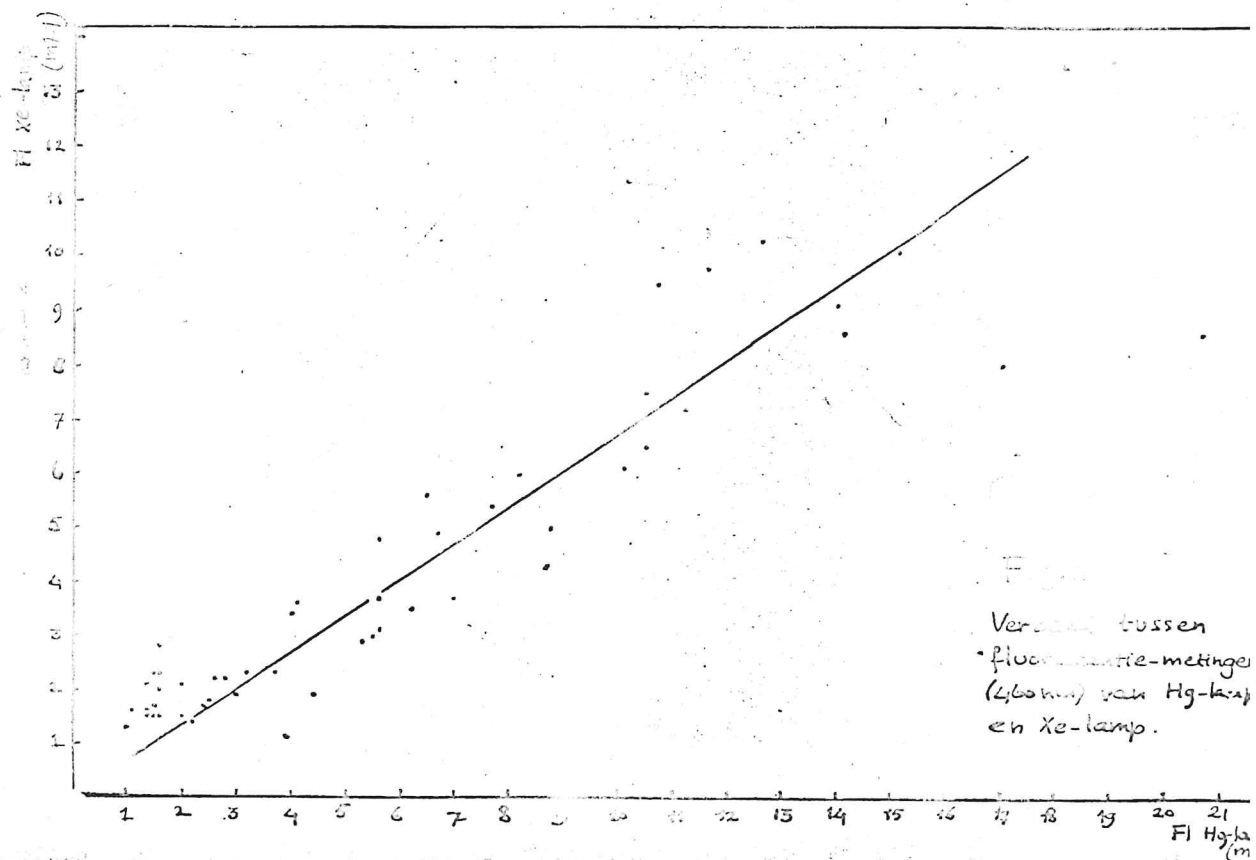
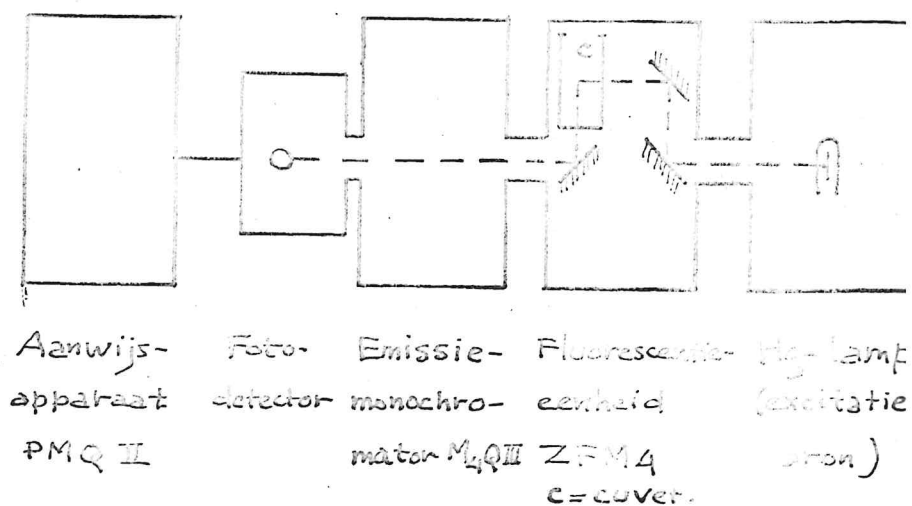


Fig. 2 Schema Hg-lamp opstelling



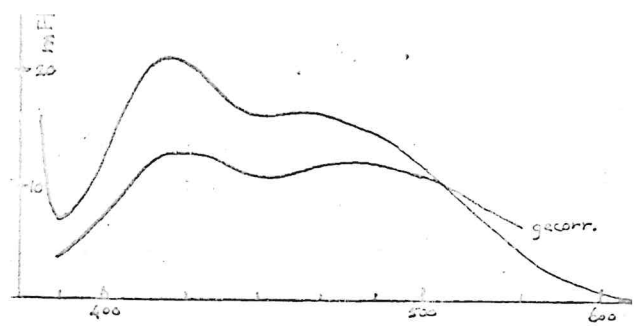


Fig. 4 Ongecorrigeerd en gecorrigeerd spectrum (Zeeewater)

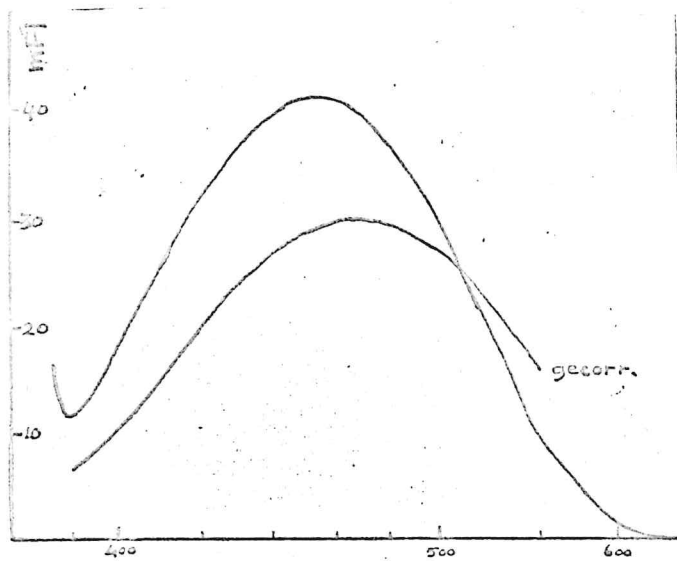


Fig. 5 ongecorrigeerd en gecorrigeerd spectrum (rivierwater).

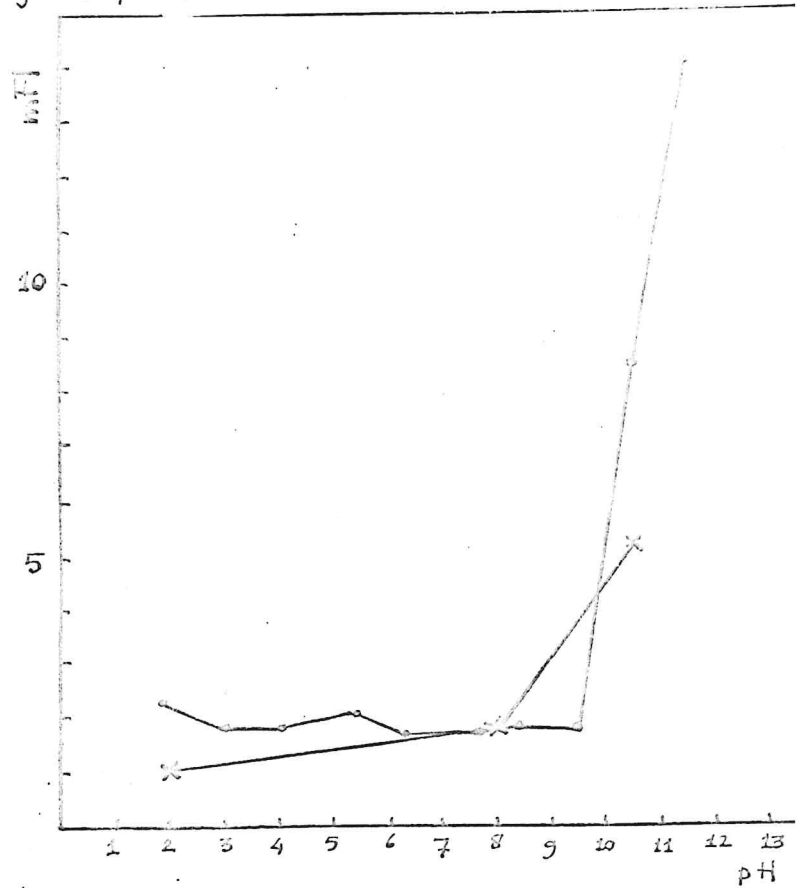


Fig. 6 Verband tussen fluorescentie en pH van een zeewatermonster (o—o) en een brakwatermonster (x—x). Fluorescentie bij 460 nm.

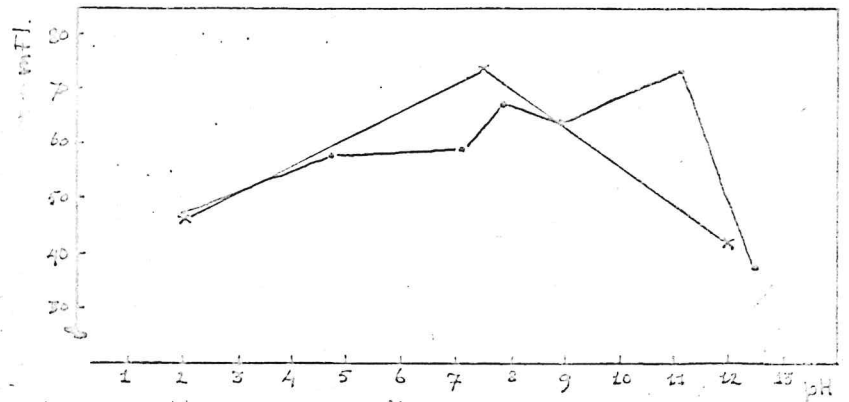
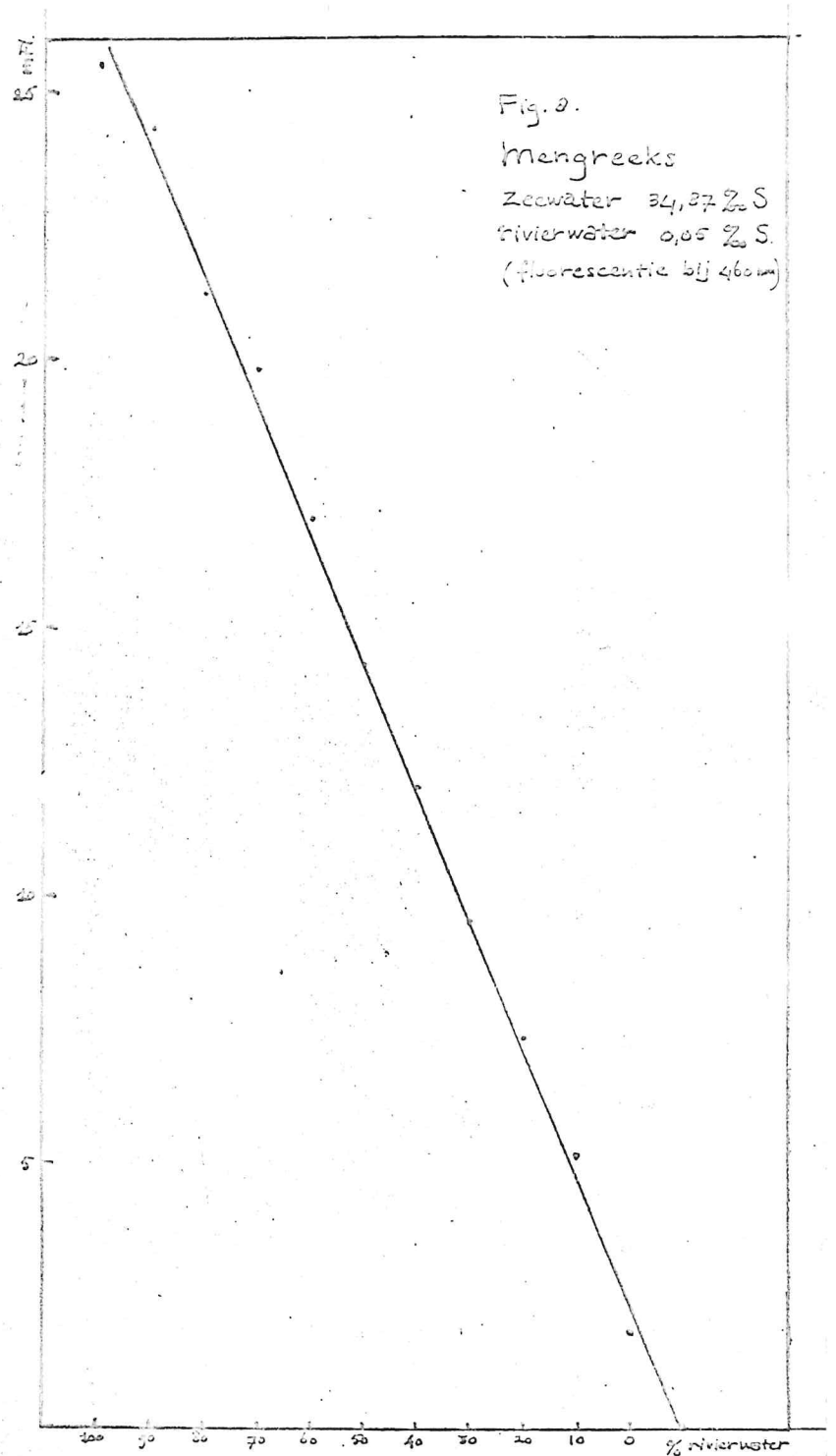


Fig. 7 Verband tussen fluorescentie en pH van leidingwater Texel (•—•) en rivierwater (x—x).



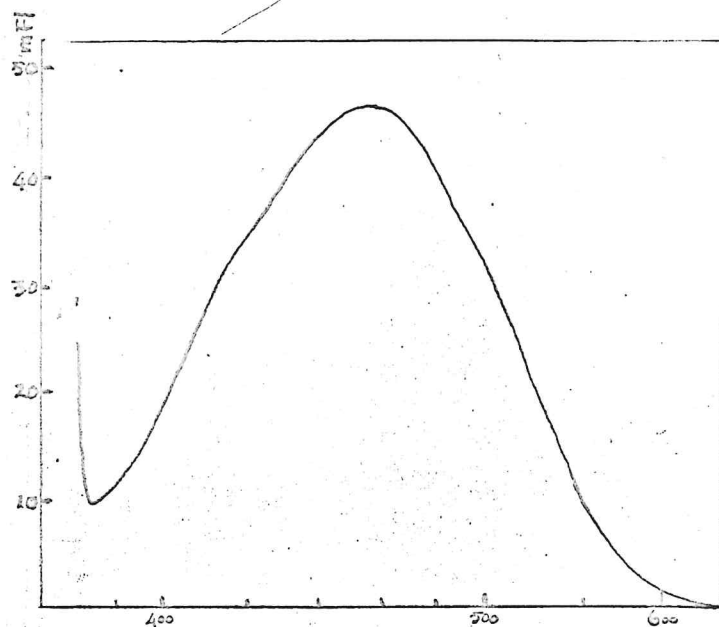
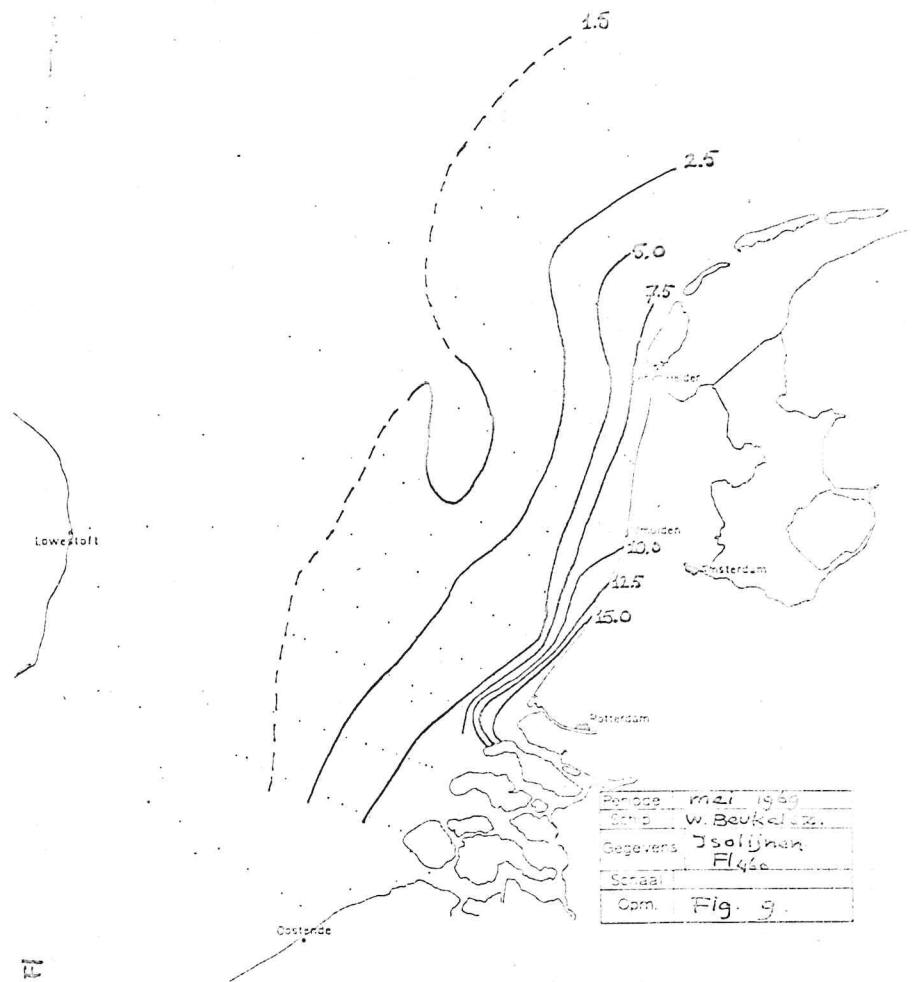


Fig. 10. Fluorescentiespectrum rivierwater.

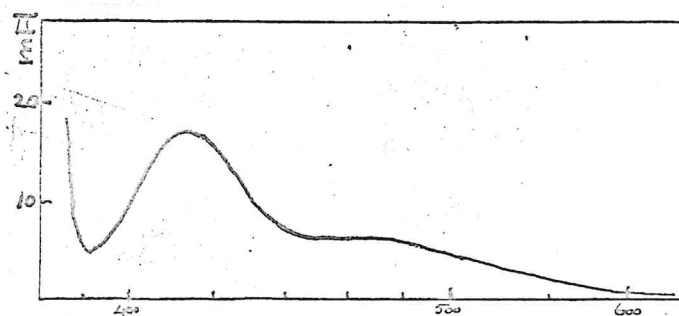


Fig. 11. Fluorescentiespectrum zeewater. (34-35 ‰ S)

Fig. 10

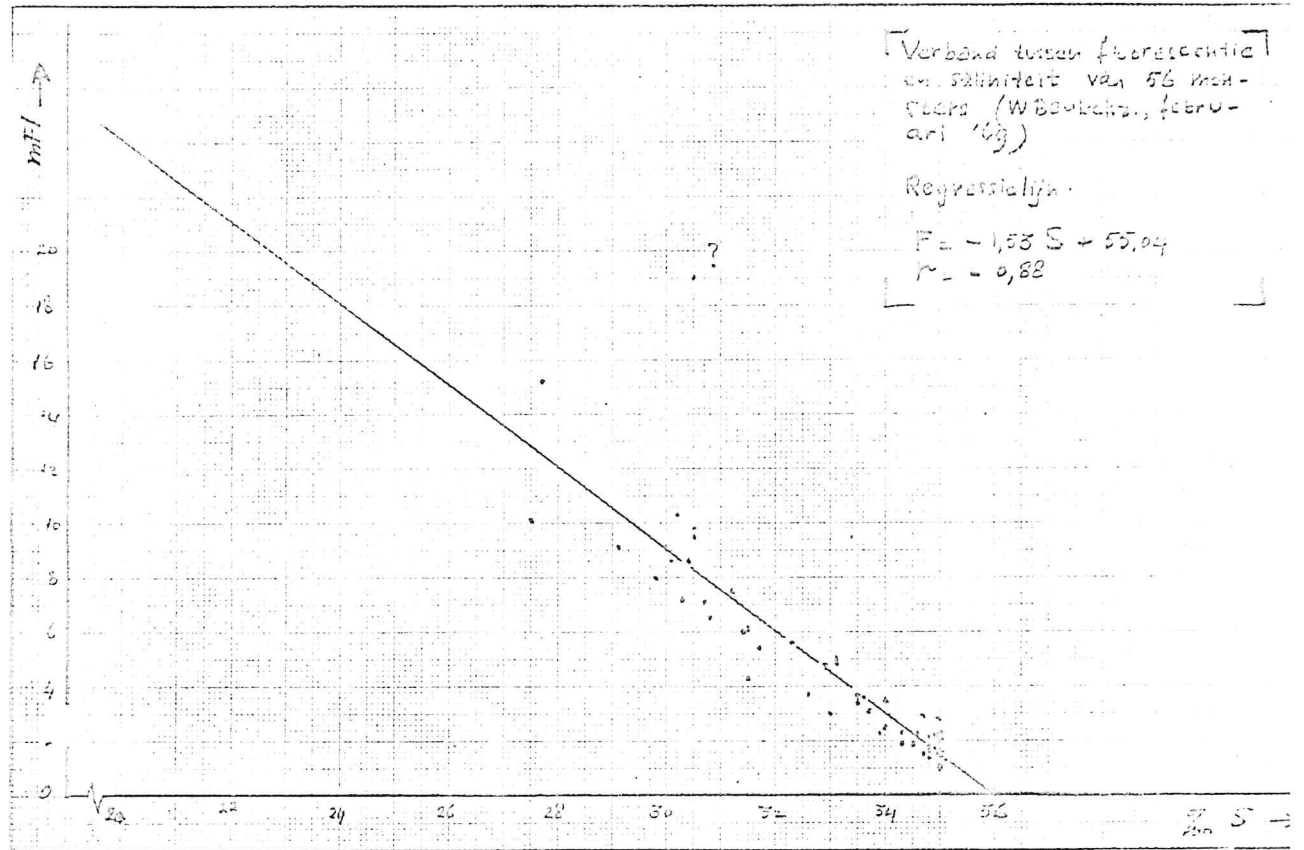
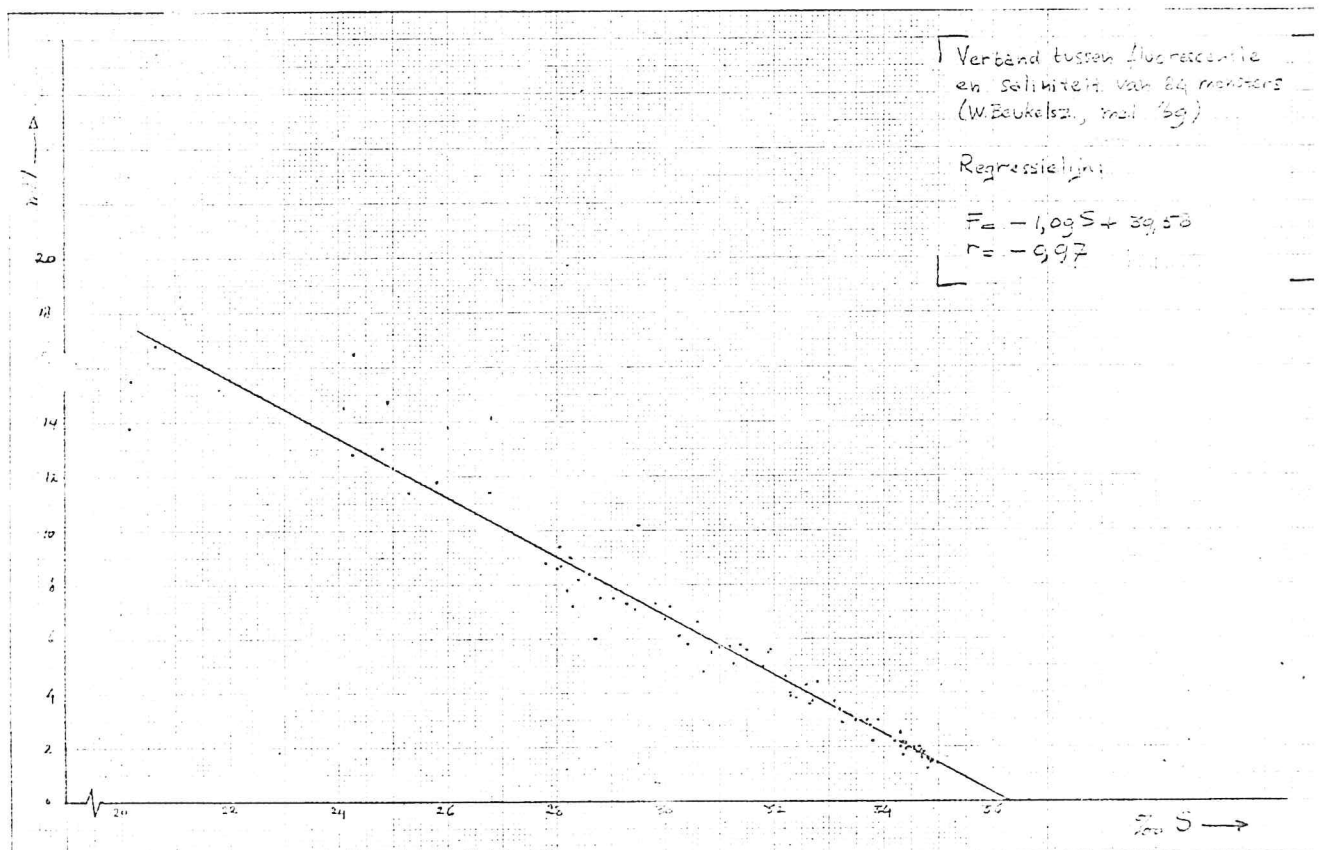
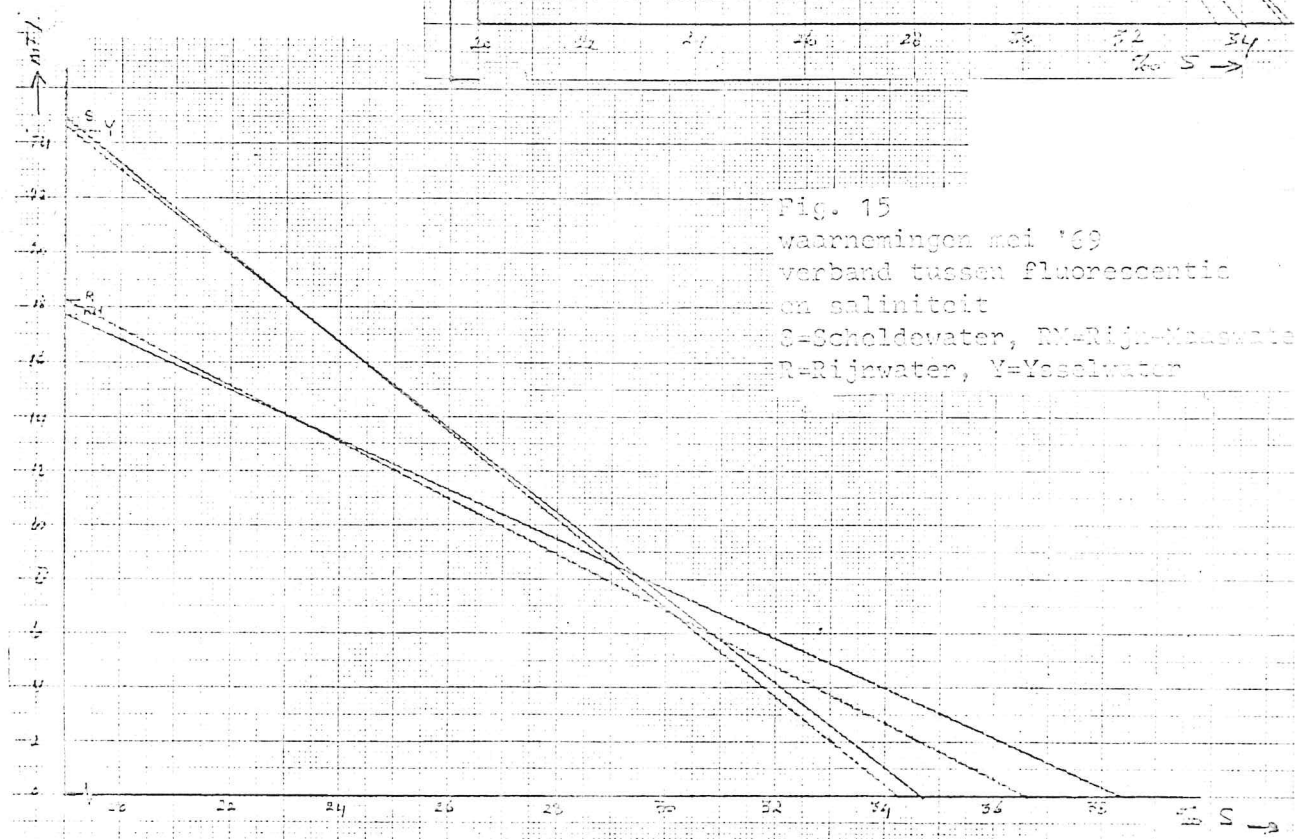
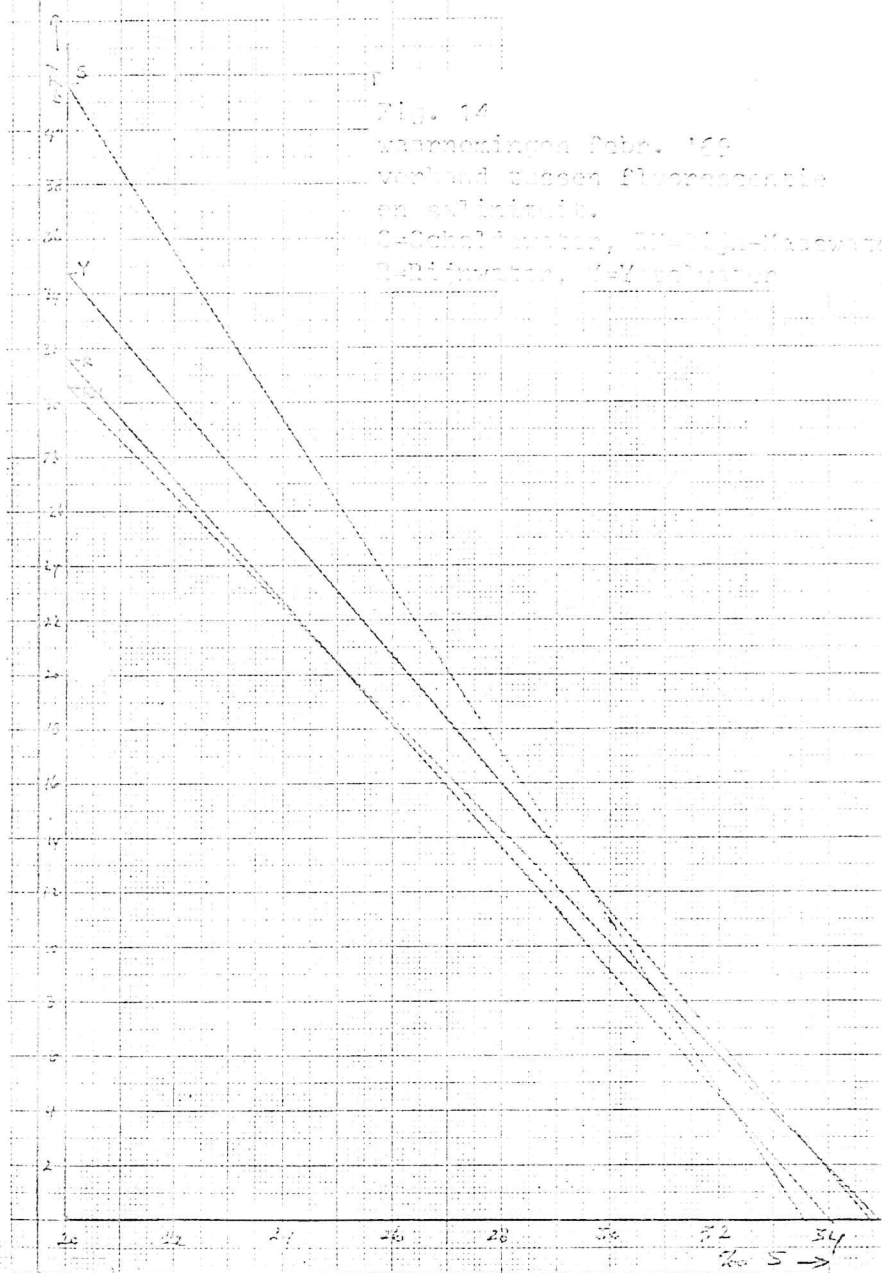


Fig. 10





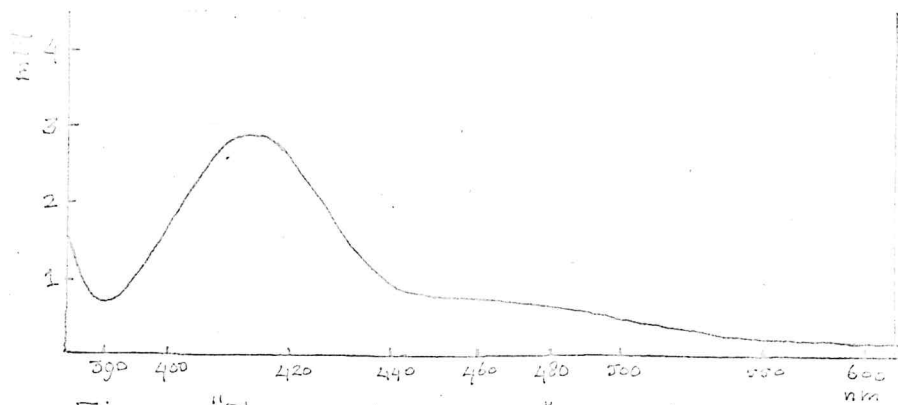


Fig. 17. "Fluorescentie spectrum" aqua dest.

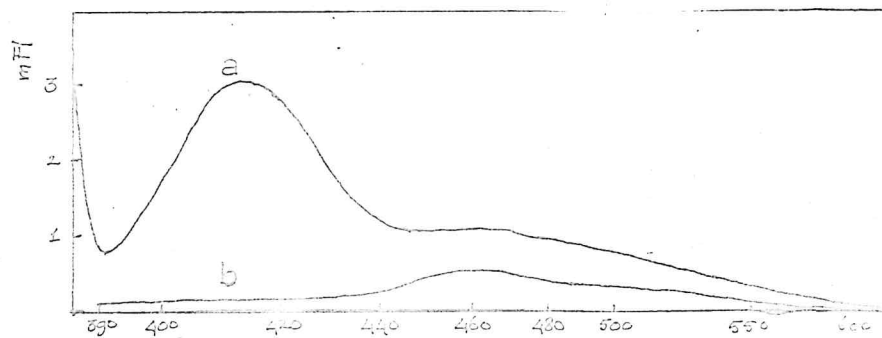


Fig. 18. a. Fluorescentie spectrum zee water (35‰ S).
b. idem, gecorrigeerd voor Raman effect.

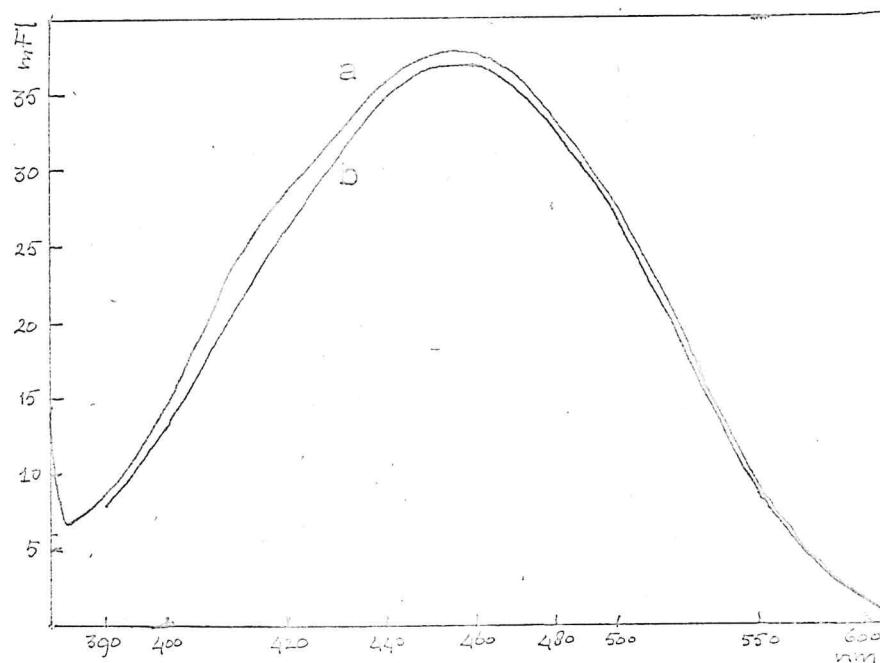


Fig. 19. a. Fluorescentie spectrum rivier water (0.7‰ S)
b. idem, gecorrigeerd voor Raman effect.

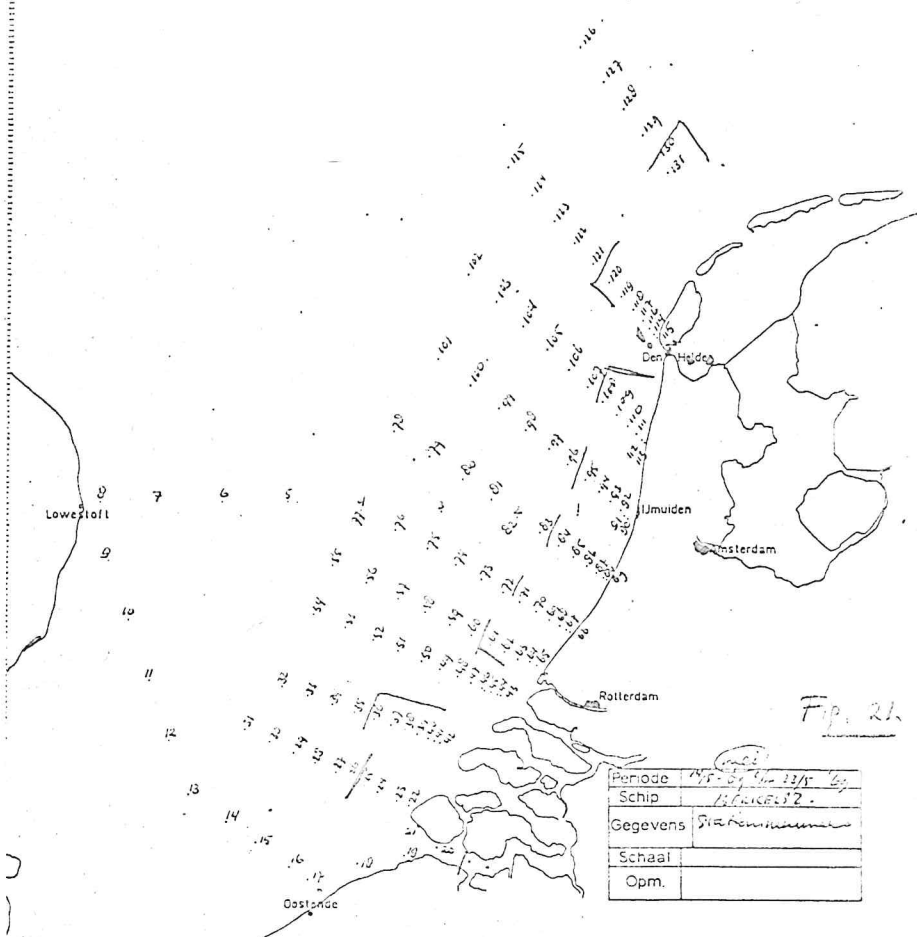
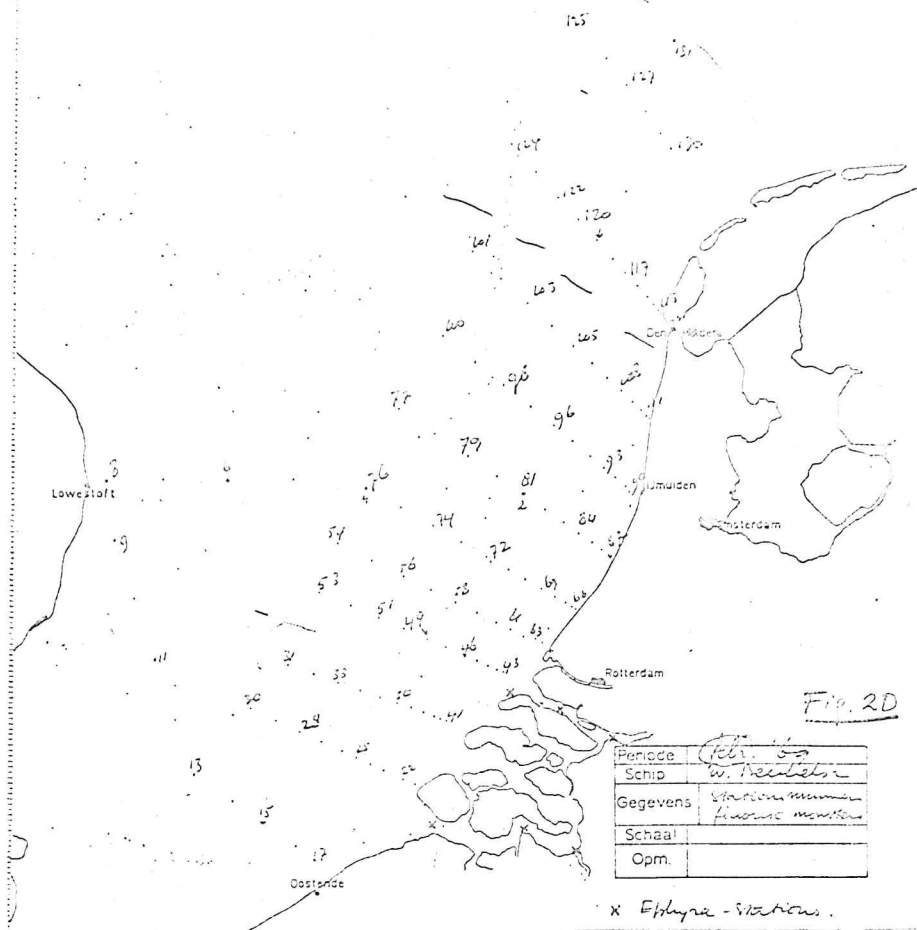
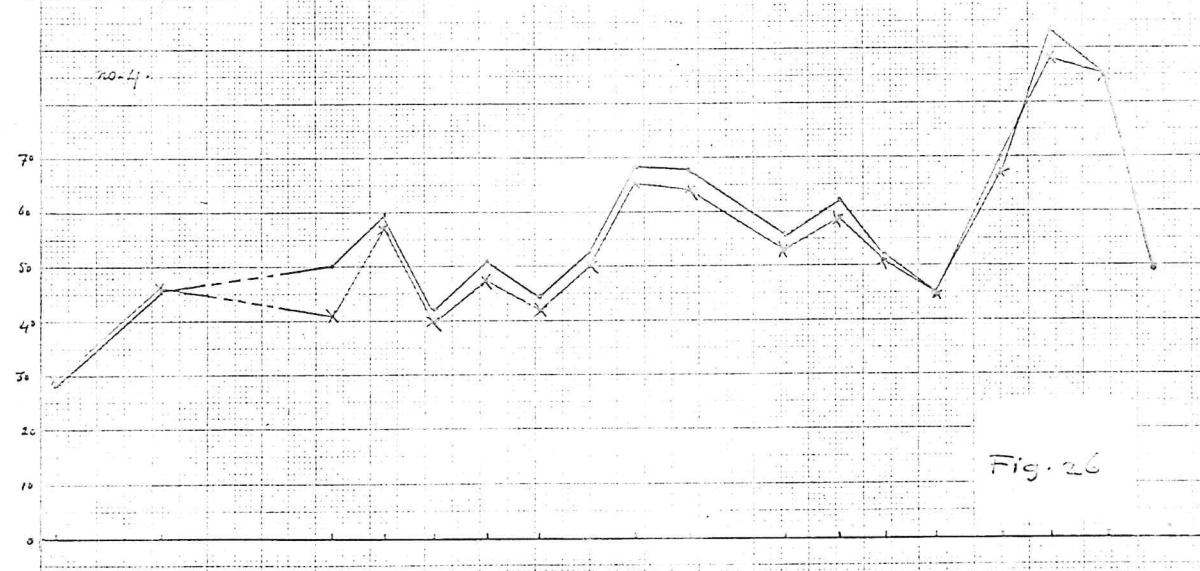
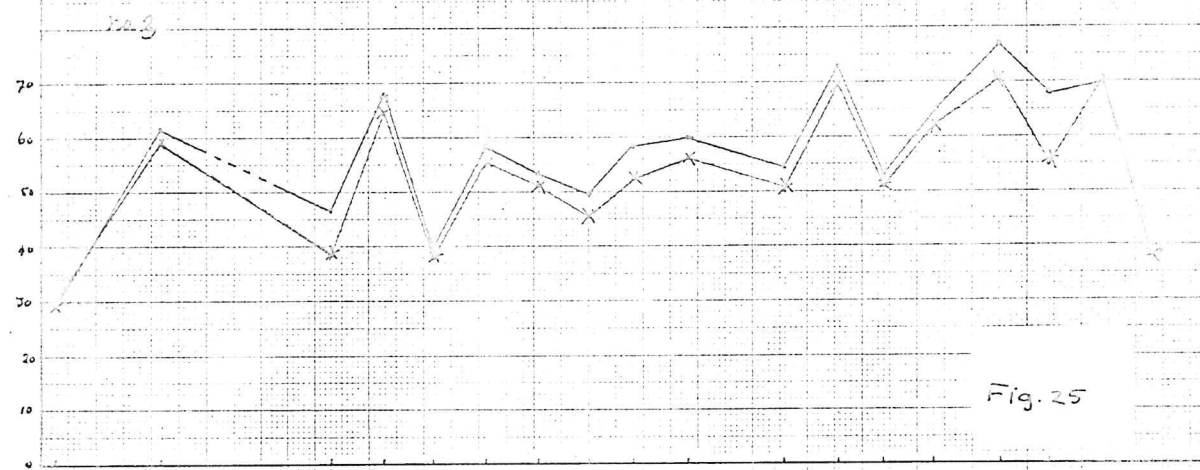
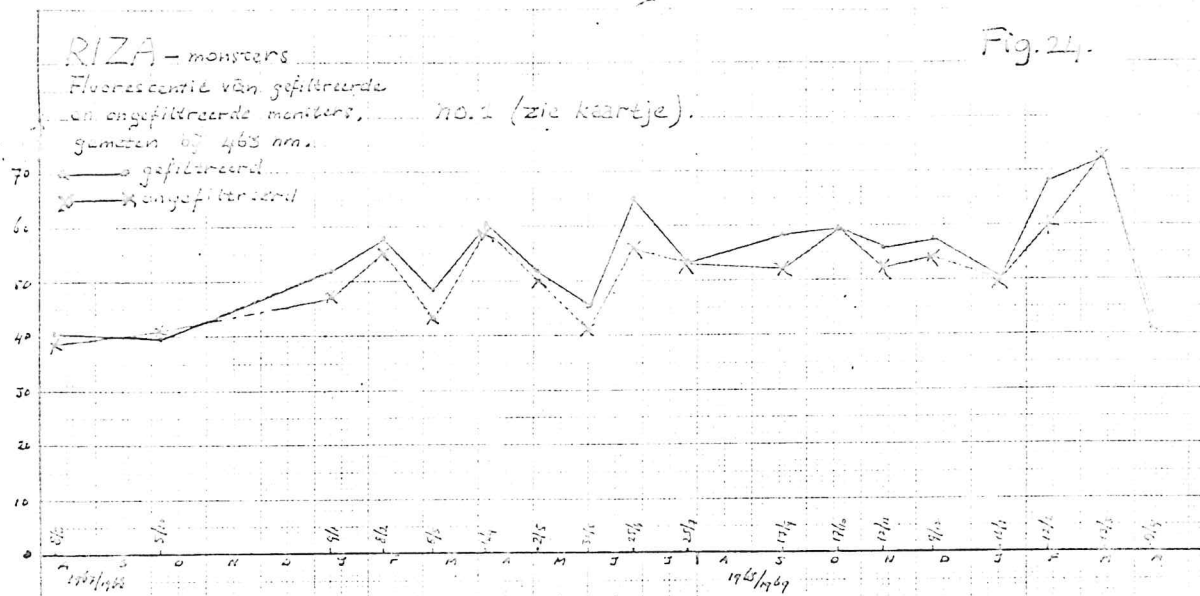


Fig. 22
 Epilys 12-21 20km. on
 22 April-8 mil 1969
 stations positive



Fig. 23
 RIZA
 fluorescentie-monsters





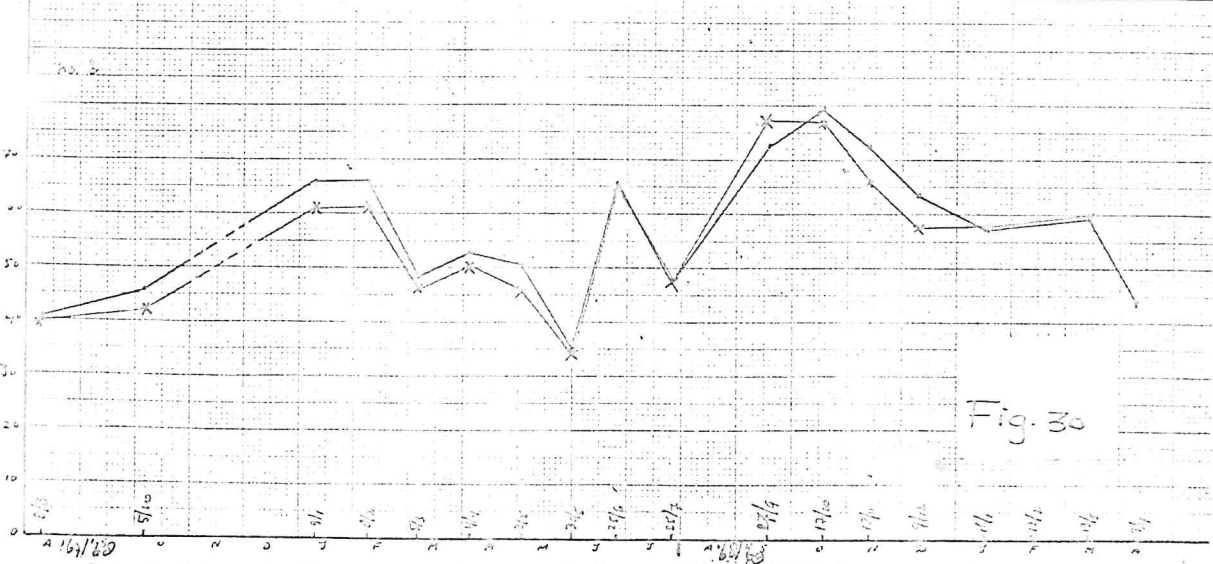
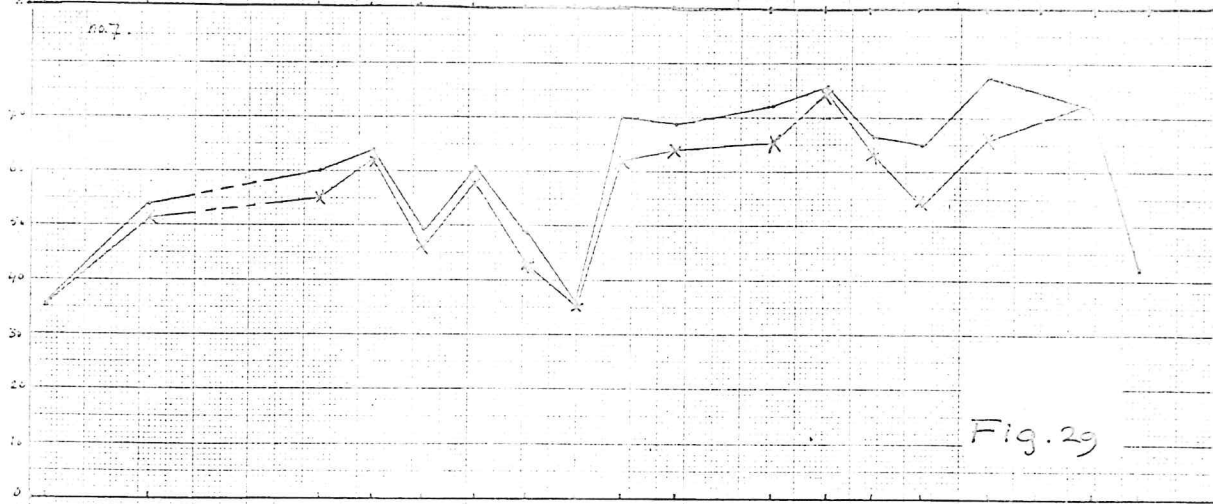
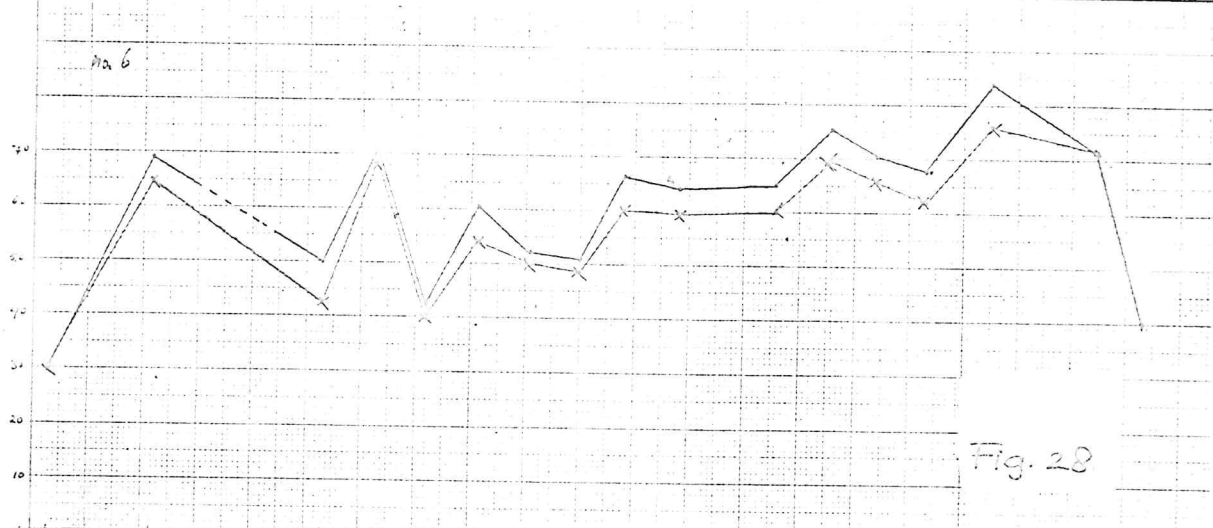
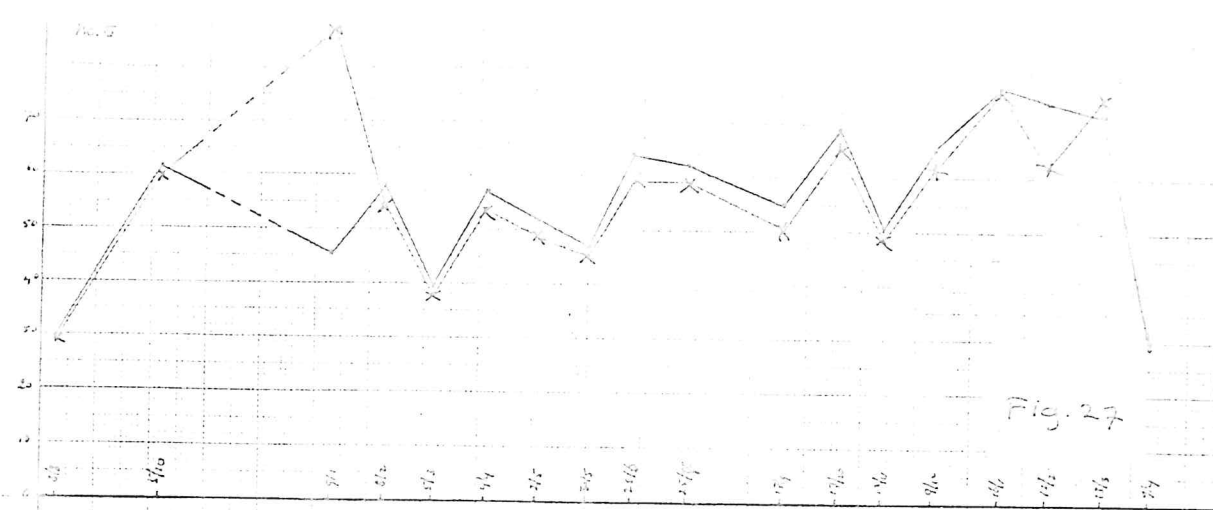


Fig. 31

Fluorescentie van Rijn-yscel water (gefilterd)

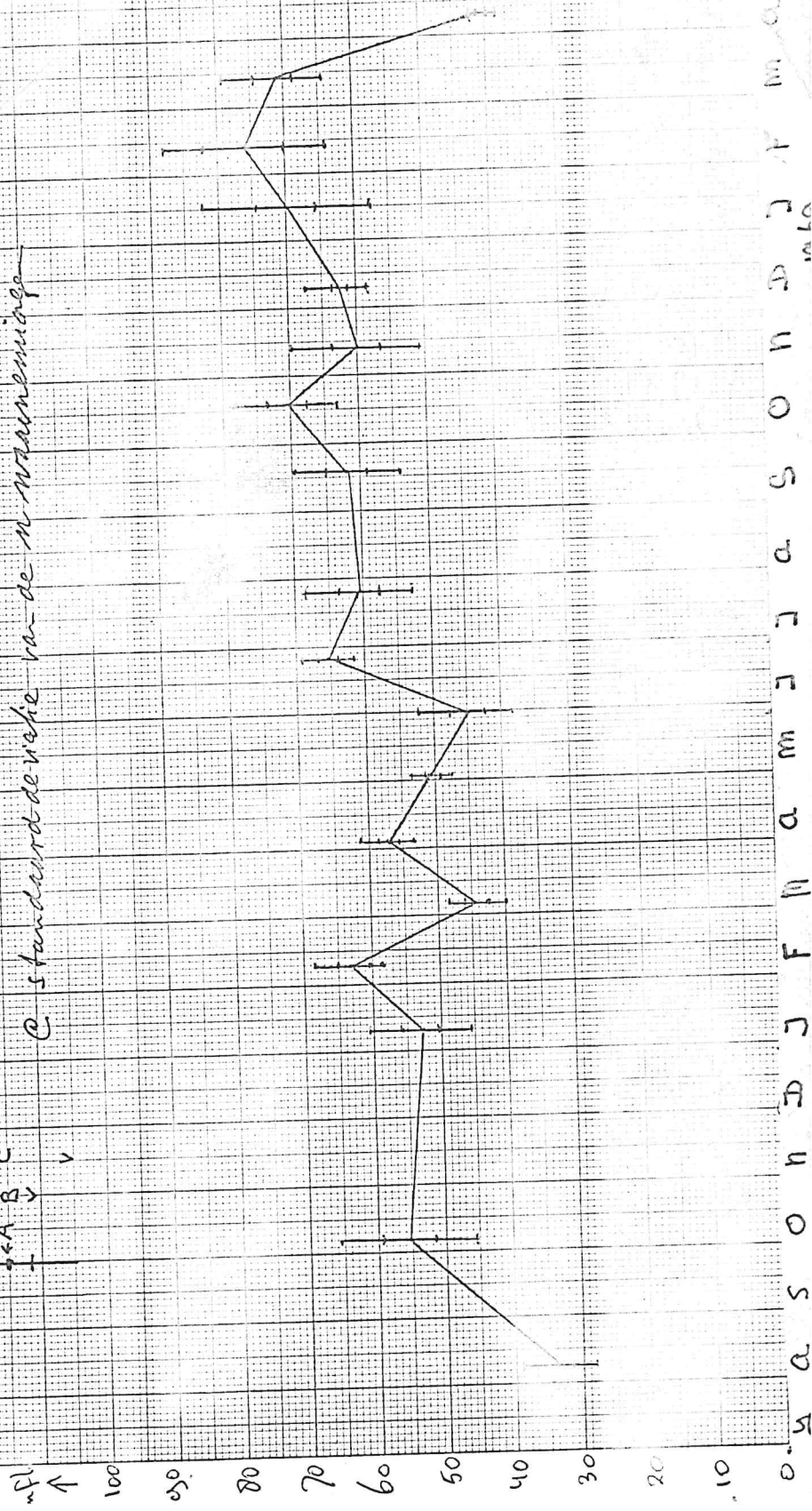
λ_{exc} 365 nm

λ_{fl} 460 nm

A gem. van 4-7 monsters

B standaarddeviatie van het gemiddelde

C standaarddeviatie van de n waarnemingen



→ maanden