

BEPALING VAN HET OPAALGEHALTE IN DE AS
VAN BENTHISCHE DIATOMEËN

W. VAN DER VEEN

Interne Verslagen
Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee
Texel
1978-9

I

12877 / 6047

All rights reserved

Internal reports are not to be reprinted or cited, it is only allowed by consent of the Netherlands Institute For Sea Research.

BEPALING VAN HET OPAALGEHALTE IN DE AS
VAN BENTHISCHE DIATOMEËN

door

W. VAN DER VEEN

INHOUDSOPGAVE

I. Summary	1
Samenvatting	2
II. Inleiding	3
III. Methoden	5
1. De monsternamen en het opwerken van de monsters	5
2. De zuiverheidsbepaling	8
IV. Resultaten	9
V. Discussie en aanbevelingen.	14
VI. Literatuur	17

I. SUMMARY

A sampling technique, and its problems to obtain SiO_2 from living benthic diatoms in the western Dutch Wadden Sea for determination of ^{32}Si radioactivity is described.

*

Intern verslag over de stage, verricht van 27 juni tot en met 20 oktober 1977 aan het NIOZ te Texel, onder begeleiding van drs A.J. van Bennekom. Deze stage dient als voorbereiding op de afstudeerstage bij de werkgroep isotopenfysica van de subfaculteit Natuurkunde aan de R.U. Groningen.

Small samples (about 0.5 grams of SiO_2) with about 3% non-biogenic silica (quartz, clay minerals) can be obtained by repeated decantation and filtration. For greater samples a new method for determination of the amount of impurities in the sample with an accuracy up to 2.5% is proposed. This method uses the differences in infrared absorption in the region 950 to 1020 cm^{-1} between the diatoms and Si-containing minerals. Little knowledge about the composition of the impurities is needed in this method.

SAMENVATTING

Een methode om SiO_2 uit levende benthische diatomeeën te verkrijgen wordt beschreven.

Kleine monsters (ongeveer 0.5 g SiO_2) met ongeveer 3% niet biogeen SiO_2 (kwarts, kleimineralen) kunnen uit op het Balgzand verzameld materiaal worden verkregen door herhaalde decantatie en filtratie.

Voor grotere monsters, nodig voor de bepaling van het gehalte aan ^{32}Si , wordt een nieuwe methode om de hoeveelheid niet-biogene onzuiverheden te bepalen beschreven. Deze methode gebruikt de verschillen in infrarood absorptie tussen diatomeeën en andere Si-bevattende mineralen in het gebied van 950 tot 1020 cm^{-1} .

De nauwkeurigheid is 2.5%; weinig voorkennis over de aard van de onzuiverheden is nodig.

Nawoord.—Bij mijn werkzaamheden verricht bij het NIOZ zijn adviezen en opmerkingen van verschillende zijden van groot nut geweest. Mijn dank gaat hierbij uit naar drs A.J. van Bennekom

voor zijn begeleiding en stimulerende discussies tijdens de stage en de voorbereiding van dit verslag en naar Sj. v.d. Gaast, G. Berger, dr D. Eisma en R. Gieles voor hun vele, zeer nuttige opmerkingen en praktische adviezen tijdens de stage, naar L. Swart voor het typen van het verslag.

II. INLEIDING

Voor de ouderdomsbepaling van stoffen, die aan het aardoppervlak voorkomen, is een aantal methoden beschikbaar, ieder met een verschillend ouderdomsinterval. De meest bekende methode is de ^{14}C methode, welke kan dateren tussen ± 1000 en 50.000 jaar ouderdom. Voor dateringen tussen ± 150 tot ± 1500 jaar geleden kan door kosmische straling geproduceerd ^{32}Si (half waarde tijd: 500 ± 150 jaar) (LAL, NIJAMPURKAR & RAMA, 1970; NIJAMPURKAR & SOMAYAJULU, 1974) worden gebruikt. Het in de stratosfeer ontstane ^{32}Si bindt zich direct met zuurstof en water tot H_4SiO_4 en wordt dan via neerslag naar het aardoppervlak verplaatst. In de oceanen wordt het $\text{H}_4^{32}\text{SiO}_4$, tesamen met de in overmaat aanwezige $\text{H}_4^{28}\text{SiO}_4$, opgenomen door diatomeeën, ééncelligen in de grootte orde van $30 \mu\text{m}$ met een uitwendig skelet, dat voornamelijk bestaat uit SiO_2 .

De radioactiviteit van uit diatomeeën verzameld SiO_2 ligt in de orde van 20 dpm (desintegraties per minuut) per kilo SiO_2 (SOMAYAJULU, 1969). Uitgaande van een telsysteem voor de ^{32}Si -activiteit met een background van 1 cph (count per hour), en de eis, dat de ^{32}Si -activiteit een factor 10 hoger moet liggen dan de background voor een betrouwbare meting, blijkt, dat ruwweg 10 gram zuiver SiO_2 nodig is voor

één meting. Deze hoeveelheid kan ook verkregen worden uit $+ 40 \text{ m}^3$ zeewater (SOMAYAJULU, 1969): het is echter eenvoudiger om SiO_2 uit diatomeeën te verzamelen.

Er zijn twee soorten diatomeeën: benthische (op de bodem levende) en planktonische (in de waterkolom levende) diatomeeën. De planktonische soorten zijn alleen tijdens korte bloeiperiodes (CADÉE & HEGEMAN, 1974a), die moeilijk voorspelbaar zijn, in voldoende mate aanwezig, terwijl benthische gedurende voorjaar en zomer steeds in voldoende mate aanwezig zijn (CADÉE & HEGEMAN, 1974b); het verzamelen van benthische soorten is dus in het algemeen eenvoudiger. Benthische soorten betrekken echter een deel van hun Si uit interstitieel water in plaats van uit zeewater (VAN BENNEKOM, KRIJGSMAN-VAN HARTINGSVELD, V.D. VEER & VAN VOORST, 1974). De specifieke ^{32}Si -radioactiviteit van het interstitiële water kan veel lager liggen dan die van het zeewater.

De diatomeeën-monsters zijn vrijwel altijd verontreinigd met andere Si-houdende stoffen: kwarts, kleimineralen, die in het geheel geen ^{32}Si -activiteit bevatten. De monsters moeten daarom worden gereinigd of het zuiverheidspercentage moet worden bepaald. Het eerste kan op twee manieren: 1) door gebruikmaking van s.g. verschillen van diatomeeën en verontreinigingen (KAMATANI, 1971); 2) door gebruikmaking van de eigenschap dat bepaalde soorten naar het licht toe kruipen. Met deze methoden kan men meestal wel een kleine hoeveelheid zeer zuiver materiaal verkrijgen, echter ten koste van veel verliezen aan diatomeeën. Een combinatie van reiniging en zuiverheidsbepaling ligt dan voor de hand: eerst een ruwe zuivering toepassen, en vervolgens de zuiverheid van het materiaal bepalen. Verschillende onderzoekers hebben methoden

voor de zuiverheidsbepaling van monsters uitgewerkt: hierbij zijn zowel fysische (CALVERT, 1966; CHESTER & ELDERFIELD, 1968) als chemische (BERNAS, 1968; LEINEN, 1977) methoden. De gemeten ^{32}Si activiteit kan dan gecorrigeerd worden voor de zuiverheid van het gemeten materiaal. Nadelen van deze zuiverheidsbepalingen kunnen zijn, dat ze alleen toepasbaar zijn in het gebied, waarvoor ze ontwikkeld zijn, en dat ze dikwijls een nadere kennis van aard en samenstelling van de verontreinigingen eisen.

Om deze nadelen te omzeilen is gezocht naar een fysische methode ter bepaling van de zuiverheid van diatomeeën monsters, die weinig verlies aan materiaal en slechts geringe kennis van de verontreinigingen vereist. De verrichte werkzaamheden kunnen onderscheiden worden in twee gedeelten, die in volgende hoofdstukken nader uitgewerkt zullen worden. Deze zijn: de monstername, het prepareren van het van het wad afkomstige monster en de bepaling van de zuiverheid van het geprepareerde monster.

III. METHODEN

1. DE MONSTERNAME EN HET OPWERKEN VAN DE MONSTERS

Het uitgangsmateriaal voor de diatomeeën preparaten is steeds verzameld op het Balgzand (Fig. 1), op plaatsen waar een diatomeeën laag op het wadplaatoppervlak zichtbaar was. De monstername geschiedde de laatste $2\frac{1}{2}$ uur vóór het weer onder water lopen van de wadplaat: door middel van een lineaal of schepje werd de bovenste laag afgeschraapt.

In het laboratorium wordt het schraapsel in een foto-spoelbak overgebracht, gehomogeniseerd en het oppervlak

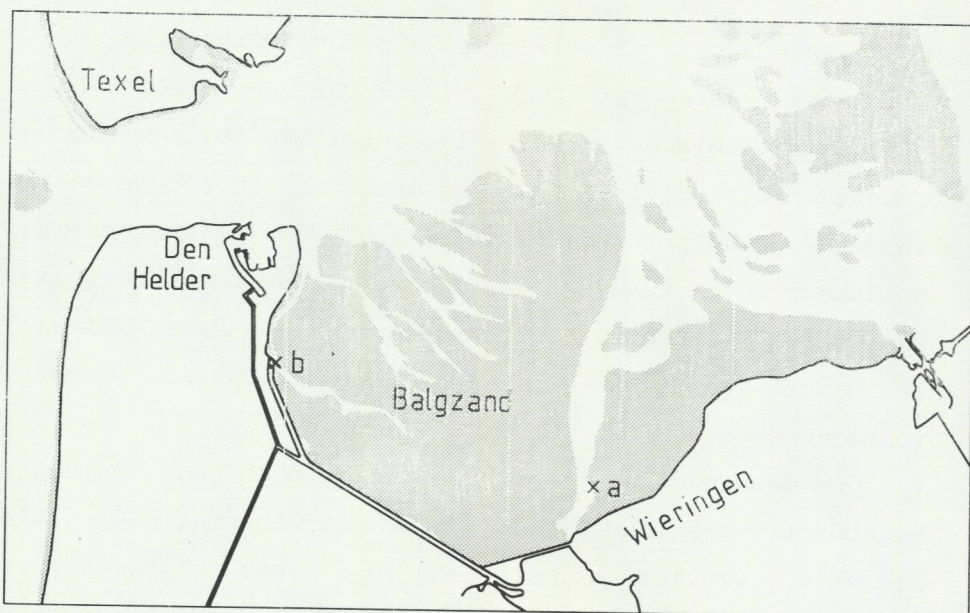


Fig. 1. De monsterplaatsen. a. Slib 28-7-77. b. Overige monsters. geëgaliseerd. De bak wordt in daglicht opgesteld. Na $\frac{1}{2}$ dag wordt de oppervlaktelaag, waar de diatomeeën ingekropen zijn, afgezogen met een vacuumpompje: zie Fig. 2.

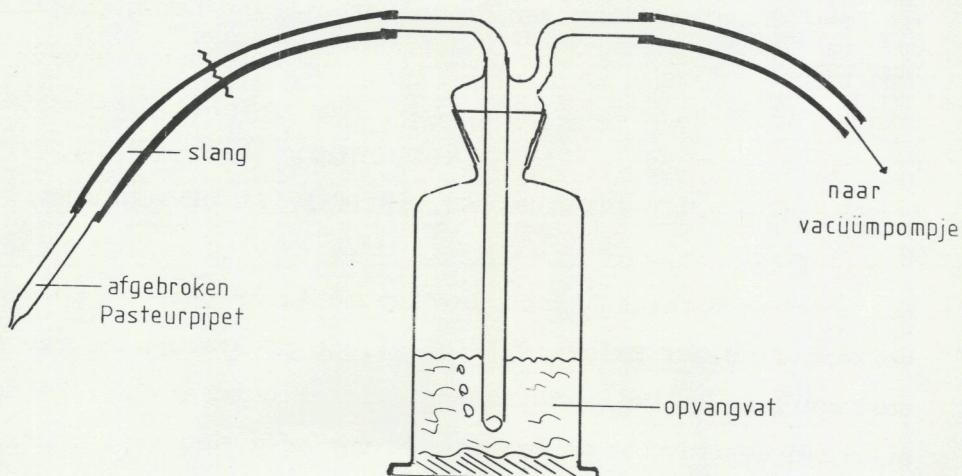


Fig. 2. De afzuigopstelling.

Door herhaald spoelen en afgieten met zeewater (om de diatomeeën in leven te houden) van het afgezogen materiaal worden diatomeeën zo goed mogelijk gescheiden van de zwaardere

verontreinigingen: de diatomeeën worden uit de afgegoten vloeistof afgecentrifugeerd en gevriesdroogd. Deze procedure kan herhaald worden, daar zich na $\frac{1}{2}$ dag na afzuigen weer een nieuwe diatomeeën laag gevormd heeft in de fotospoelbak. Na de tweede maal afzuigen is het merendeel der diatomeeën afgezogen.

De gedroogde diatomeeën worden nu ontdaan van organisch materiaal door lage-temperatuur-verassing. Om carbonaten te verwijderen worden na verassing de diatomeeën 1 uur bij kamertemperatuur gesuspenderd in een Na acetaat buffer met pH 5, en daarna afgefiltreerd over een 30μ nylonfilter. Zij worden nagespoeld met en vervolgens gesuspenderd in aquadest.

Van deze suspensie wordt een klein gedeelte, bij voorkeur de bovenste laag (die al het schoonst is), afgezonderd voor verdere reiniging, zodanig, dat hiervan ± 200 mg gezuiverde diatomeeën verkregen worden.

Het afgezonderde deel wordt opgeroerd en moet dan ± 2 min. bezinken. Na afgieten wordt het bezinksel weer met aquadest aangevuld en opgeroerd. De procedure wordt enkele malen herhaald: het bezinksel, dat nu een bruine tint heeft, wordt weggegooid. De afgegoten vloeistof, waarin de gezuiverde diatomeeën, wordt nu gefiltreerd met een 30μ gaas filter om de zeer kleine slibdeeltjes te verwijderen, na filtratie weer gesuspenderd en de procedure van afgieten en opvoeren wordt nog twee maal herhaald.

Het filtraat wordt nu gevriesdroogd.

Van het slib onder uit de fotospoelbak wordt $\pm 10 \text{ cm}^3$ gevriesdroogd en van organisch materiaal ontdaan door het bij 40° C in 50 ml 5% Na_2CO_3 + 150 ml Br_2 -water te suspenderen gedurende 1 uur. Na afcentrifugeren en enkele malen naspoelen

met aquadest wordt het slib gedecarbonatiseerd zoals boven beschreven, waarbij niet gefiltreerd maar gecentrifugeerd wordt. Na suspenderen, oproeren en 30 sec. bezinken wordt afgegoten en het afgietsel weer opgeroerd. Deze procedure wordt herhaald tot de korrelgrootte verdeling van het slib en van de verontreinigingen in het diatomeeën preparaat bij benadering gelijk is (vastgesteld onder de microscoop). De niet gezuiverde diatomeeën en het slibpreparaat worden nu gevriesdroogd.

2. DE ZUIVERHEIDSBEPALING

De zuiverheid van de niet-gezuiverde diatomeeën wordt bepaald door een infraroodspectrogram hiervan te vergelijken met infraroodspectrogrammen van de gezuiverde diatomeeën met daarin nauwkeurig bepaalde hoeveelheden slib. Deze diatomeeën/slibstandaarden hebben een samenstelling in gewichtsprocenten, als aangegeven in Tabel I.

Tabel I

Samenstelling van de diatomeeën/slibstandaarden in gewichtsprocenten.

Standaard no.	Gew. % diatomeeën	Gew. % klei
1	80	20
2	85	15
3	90	10
4	95	5
5	97,5	2,5

Standaard 1 wordt gemaakt door 10.0 mg gepoederd slib te voegen bij 40.0 mg gepoederde diatomeeën (gepoederd: gedurende 10 min. in een mortier fijngemalen) en dit mengsel vervolgens

te homogeniseren in een mortier. Standaard 3 ontstaat door 20.0 mg van standaard 1 te homogeniseren met 20.0 mg gepoe-derde schone diatomeeën, enz.

De infraroodspectrogrammen worden gemaakt volgens de standaard KBr methode met pillen, bestaande uit 0.50 mg preparaat, aangevuld met KBr tot 300 mg. Ter verhoging van de nauwkeurigheid wordt 2.00 mg preparaat aangevuld met KBr tot 1200.0 mg, vervolgens 2 min. gehomogeniseerd in een schud-machine en van dit mengsel wordt 300.0 mg afgewogen voor het maken van een (KBr + preparaat) pil. Er kunnen zo ook duplo's gemaakt worden. Standaard 2 wordt gemaakt door 150.0 mg (KBr + standaard 1) te mengen met 150.0 mg (KBr + standaard 3), en wordt gebruikt als controlemeting na de serie 1, 3, 4, 5.

De spectrogrammen zijn gemaakt met behulp van een Beckman Acculab 6 dual-beam infrarood spectrofotometer, Normal Slit, medium speed. Er zijn twee soorten spectrogrammen gemaakt: a) de standaarden 1 t/m 5 als sample en een blanco KBr pil als referentie; b) de standaarden 1 t/m 5 als sample en een pil met 0.50 mg schone diatomeeën als referentie.

IV. RESULTATEN

De laagdikte van de diatomeeën op het wad bleek steeds maximaal te zijn op de plaatranden, en dan speciaal waar deze merendeels bestond uit fijn slib (zie Fig. 3). Bij plaatranden, die voor een belangrijk deel uit zand bestaan, werden minder diatomeeën gevonden. De laagdikte bleek tevens afhankelijk te zijn van de tijd, verstreken sinds het droogvallen van de plaatrand: maximale laagdikte werd bereikt juist voor het weer onder water lopen van de plaatrand (Fig. 4).

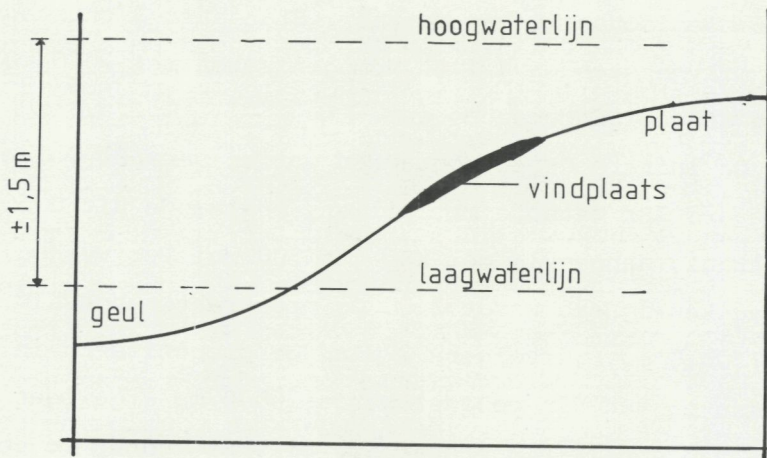


Fig. 3. De diatomeeënvindplaats.

Het vermoeden bestaat, dat de oppervlaktelaag verstoord wordt door de waterbeweging: na het droogvallen bewegen de diatomeeën zich naar het plaatoppervlak, zodat na enige tijd na droogvallen zich meer diatomeeën op het plaatoppervlak bevinden dan kort na droogvallen van de plaatrand.

Uit controle onder de microscoop is gebleken, dat meer dan 90% van de diatomeeën uit één soort bestond, namelijk *Pleurosigma estuarii* (G. CADEE, mondelinge mededeling). Het zuiverheidspercentage van de gezuiverde diatomeeën is minimaal 97%, hetgeen gebleken is uit röntgendiffractogrammen

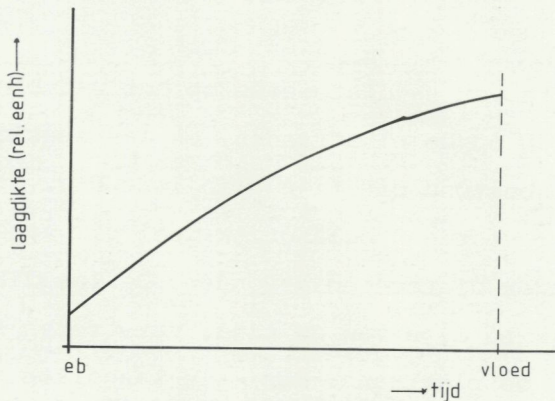


Fig. 4. De diatomeeënlaagdikte na droogvallen van de vindplaats.

van de diatomeeën. De belangrijkste componenten van de verontreiniging zijn chloriet en kwarts.

Er zijn drie series metingen verricht, waarvan één niet juist bleek te zijn. De redenen hiervoor waren: a) de wegingen voor het maken van de standaarden waren niet voldoende nauwkeurig; b) de voorbehandeling van de slibfractie bleek onjuist te zijn: het slib is met H_2O_2 gezuiverd van organisch materiaal, en deze behandeling bleek het slib sterk van samenstelling te doen veranderen. Verder is van één van de andere series, namelijk 28-7-77, de slibfractie afkomstig van Stroe (Wieringen) (zie Fig. 1), maar de samenstelling hiervan bleek goed overeen te komen met die van het slib, die van diatomeeënvindplaats meegenomen werd, op grond van vergelijking van hun spectrogrammen, zodat deze serie wél gebruikt is.

Tevens is gebleken, dat het slib-spectrogram niet sterk afhankelijk is van de korrelgrootte verdeling van het slib: daarom is het niet noodzakelijk, dat de korrelgrootte verdeling van de verontreiniging in het niet-schone preparaat exact overeenkomt met die van het slib, dat voor de standaarden gebruikt wordt.

De Figs 5 en 6 geven een spectrogram van de slibfractie en de gezuiverde diatomeeën, gemaakt volgens methode a. Uit vergelijking van beide is het volgende af te leiden. De Si-O piek (V.D. MAREL & BEUTELSPACHER, 1976) ligt bij de diatomeeën op $1090 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$, bij slib op $1040 \pm 5 \text{ cm}^{-1}$: een geringe verschuiving naar lagere golfgetallen voor slib. Bij diatomeeën zien we nog een piekje bij 960 cm^{-1} , dat bij slib afwezig is: dit piekje is bij meerdere diatomeeën (CHESTER & ELDERFIELD, 1968; KAMATANI, 1971) aanwezig. Verder heeft slib bij 540 cm^{-1} een piekje, dat bij diatomeeën niet voorkomt.

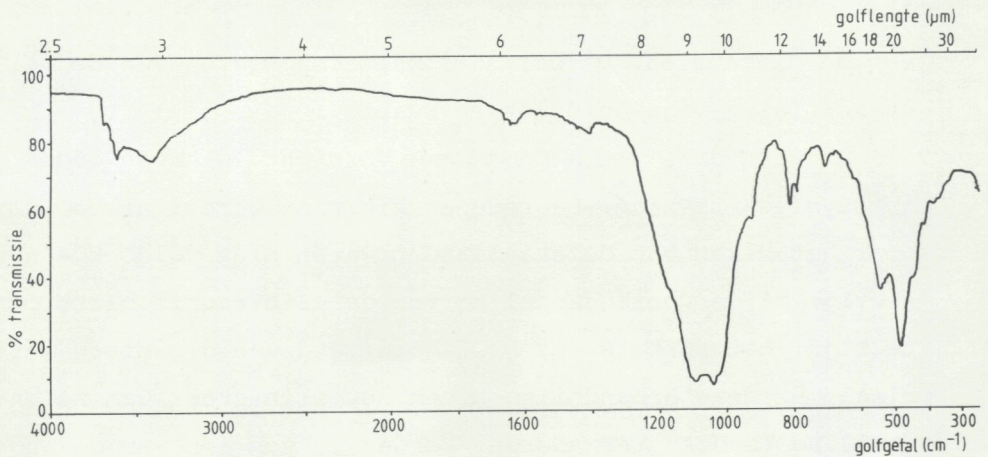


Fig. 5. Voorbeeld van een infraroodspectrum van slib (methode a).

Met name het traject 940 tot 1020 cm^{-1} is belangrijk: de diatomeeën absorberen de straling veel minder dan het slib in dit traject.

Voor de kwantitatieve interpretatie is bij metingen volgens systeem (a) het verschil genomen in transmissie van het kleine piekje ($+ 960 \text{ cm}^{-1}$) en het aan de hogere golfgetallen-zijde liggende maximum bij 990 cm^{-1} . Het resultaat is weer-gegeven in Fig. 7. Fig. 8 geeft het resultaat van metingen

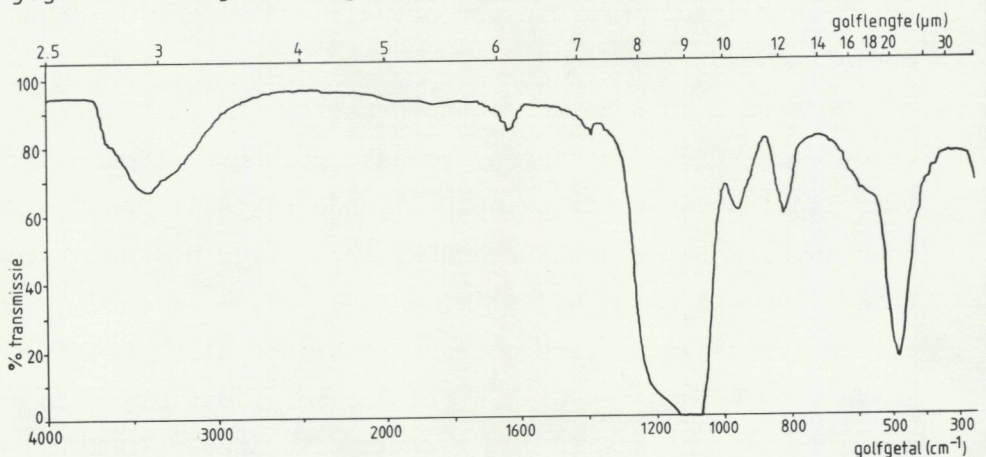


Fig. 6. Voorbeeld van een infraroodspectrum van diatomeeën (methode a).

volgens methode (b), waarbij het transmissieverschil (op empirische gronden gekozen) gemeten is tussen 970 en 1010 cm^{-1} .

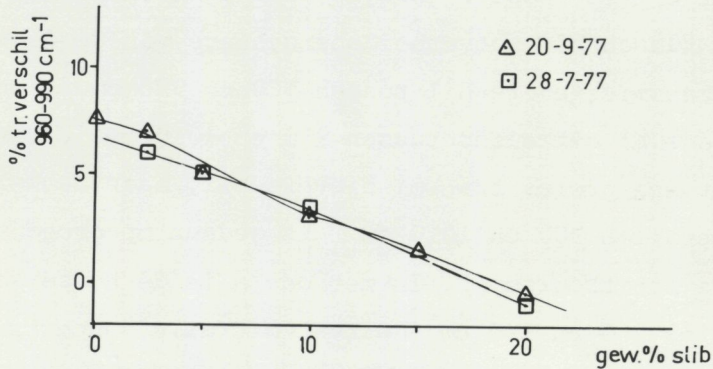


Fig. 7. Transmissieverschil van de standaarden als functie van het slibpercentage (methode a).

De verschillen in transmissie van diatomeeën en slib in het traject 500 tot 600 cm^{-1} zijn niet gebruikt: het is gebleken, dat de verschillen tussen de standaarden niet groot genoeg zijn om een éénduidig verband tussen verontreinigingspercentage en transmissieverschil aan te geven. Wellicht kunnen de verschillen in dit gebied wél gebruikt worden voor de bepaling van het gewichtpercentage diatomeeën in slib, analoog aan bovenstaande methode.

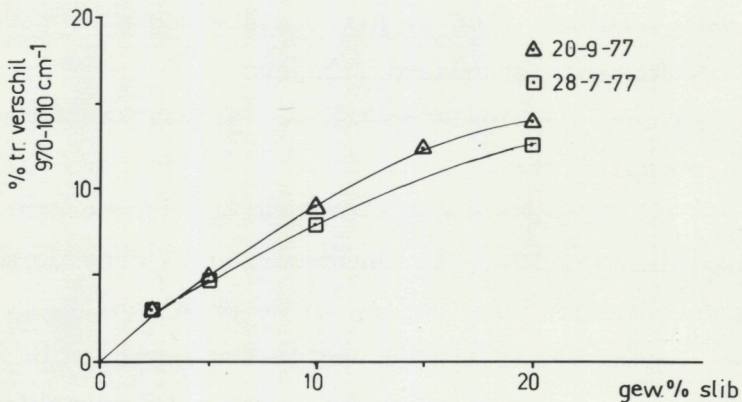


Fig. 8. Transmissieverschil van de standaarden als functie van het slibpercentage (methode b).

V. DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN

Uit Fig. 7 (methode a) blijkt, dat een éénduidig verband bestaat tussen het zuiverheidspercentage van de diatomeeën en het transmissieverschil tussen 960 en 990 cm^{-1} , en uit Fig. 8 (methode b) hetzelfde tussen 970 en 1010 cm^{-1} . Uit Fig. 8 blijkt een groter transmissieverschil, maar de keuze van twee golfgetallen 970 en 1010 cm^{-1} is gedaan op grond van slechts enkele spectrogrammen. In methode a is de keuze van de golfgetallen 960 en 990 cm^{-1} direkt uit alle 9 spectrogrammen af te lezen en volgt bovendien uit Fig. 6. Methode a is dus direkter, terwijl bovendien weegfouten het resultaat van methode b sterk kunnen beïnvloeden en dit in veel mindere mate opgaat voor methode a.

De conclusie kan dus getrokken worden op grond van 2 series metingen dat volgens methode a een ijkcurve voor de bepaling van het zuiverheidspercentage van diatomeeën preparaten bepaald kan worden door het transmissieverschil te bepalen tussen 960 en 990 cm^{-1} van de standaarden en deze te vergelijken met het transmissieverschil van het niet gezuiverde preparaat. Door een fout is dit laatste nog niet gedaan: daarom is als controle standaard 2 ingebouwd.

Bij deze conclusie moeten een aantal kanttekeningen worden geplaatst:

- 1) De zuiverheid van de gebruikte schone diatomeeën bedraagt minimaal 97%. Daarnaast worden tijdens de metingen fouten gemaakt: weegfouten, in de orde van 1%, terwijl het spectrogram een afwijking van 1% kan geven in de transmissiewaarde (dit volgt uit duplometingen). De afwijking van de gevonden zuiverheidswaarde is dus maximaal + 5% en - 2% van de

werkelijke waarde. Door gebruik van een microbalans, door een nauwkeuriger bepaling van de zuiverheid van de schone diatomeeën, en door het maken van de KBr pillen onder steeds strikt dezelfde omstandigheden kan deze afwijking verkleind worden.

2) Uit Fig. 7 blijkt dat het transmissieverschil afhankelijk is van het monster. Hieruit volgt, dat voor iedere zuiverheidsbepaling een nieuwe serie standaarden moet worden gemaakt, zelfs als de diatomeeën steeds op dezelfde plaats verzameld worden.

3) De invloed van de eventuele verschillen in samenstelling van de slibfractie in de standaarden en de verontreinigingen in de niet gezuiverde diatomeeën is nog niet onderzocht. Op grond van de behandeling van de slibfractie en de diatomeeën bestaat echter het vermoeden, dat deze verschillen, indien aanwezig, geen belangrijke invloed hebben op de resultaten.

Uit vergelijking met de methode voor opaalbepaling in sediment van CHESTER & ELDERFIELD (1968) blijkt, dat de nauwkeurigheid van de methode CHESTER-ELDERFIELD vooralsnog groter is. Een nadeel van hun methode is echter, dat gebruikt gemaakt is van kleistandaarden, terwijl in de hier beschreven methode gebruikt gemaakt wordt van *in situ* gemonsterd slib.

Er is dus geen voorkennis nodig van de samenstelling van de slibfractie, met name geen kennis van het percentage kwarts dat volgens een "trial-and-error" methode gevonden wordt door CHESTER & ELDERFIELD.

Als aanvulling op de beschreven methode zou deze ook kunnen worden toegepast met röntgendiffractie. Nadelen hiervan zijn echter, dat dan minimaal 600 mg diatomeeën gezuiverd moeten worden, hetgeen extra tijd en schaalvergroting eist

en dat met interne standaarden zal moeten worden gewerkt. Wel is het aan te bevelen, dat de zuiverheid van de extra-gezuiverde diatomeeën steeds bepaald wordt met röntgen-diffractie.

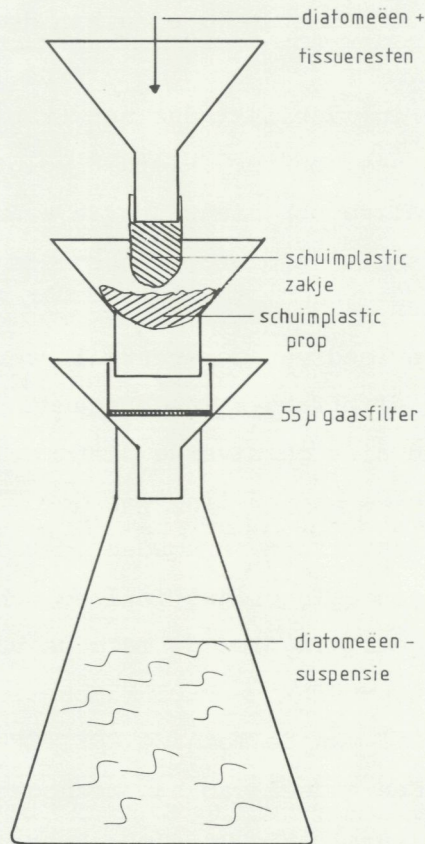


Fig. 9. Scheidingsmethode V. de Jonge.

Een tweede aanbeveling zou kunnen zijn de scheiding van de diatomeeën van de sliblaag, zoals gedaan door V. de Jonge (BOEDE, Groningen). Na homogeniseren van het diatomeeënmonster wordt dit in een grote bak overgebracht en het oppervlak geëgaliseerd. Op dit oppervlak wordt dan een dunne laag analytisch zand aangebracht, waarop 3 lagen lenstissues worden gelegd. Na 24 uur in een geklimatiseerde ruimte (11°C , ver-

lichting met TL 5500^o K) zijn de diatomeeën in de tissues gekropen, welke voorzichtig worden opgepakt en vervolgens uitgeschud met (kunstmatig) zeewater met dezelfde saliniteit als het zeewater op de monsterplaats, door een 55 μ gaasfilter en twee voorfilters van schuimplastic. Zie Fig. 9. Dit levert een reeds vrij schoon diatomeeën preparaat op, welke verder behandeld kan worden zoals eerder beschreven.

VI. LITERATUUR

- BENNEKOM, A.J. VAN & S.J. V.D. GAAST, 1976, 1977. Possible clay structures in frustules of living diatoms.—*Geochim. cosmochim. Acta* 40: 1149-1152 en 41: 348-349.
- BENNEKOM, A.J. VAN, E. KRIJGSMAN-VAN HARTINGSVELD, G.C.M. V.D. VEER & H.F.J. VAN VOORST, 1974. The seasonal cycles of reactive silicate and suspended diatoms in the Dutch Wadden Sea.—*Neth. J. Sea Res.* 8 (2-3): 174-207.
- BERNAS, B., 1968. A new method for decomposition and comprehensive analysis of silicates by atomic absorption spectrometry.—*Anal. Chem.* 40 (11): 1682-1686.
- CADEE, G.C. & J. HEGEMAN, 1974a. Primary production of phytoplankton in the Dutch Wadden Sea.—*Neth. J. Sea Res.* 8: 240-259.
- , 1974b. Primary production of the benthic microflora living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea.—*Neth. J. Sea Res.* 8: 260-291.
- CALVERT, S.E., 1966. Accumulation of diatomaceous silica in the sediments of the Gulf of California.—*Geol. Soc. Am. Bull.* 77: 569-596.
- CHESTER, R. & H. ELDERFIELD, 1968. The infrared determination of opal in siliceous deep-sea sediments.—*Geochim. cosmochim. Acta* 32: 1128-1140.
- EISMA, D. & S.J. V.D. GAAST, 1971. Determination of opal in sediments by x-ray diffraction.—*Neth. J. Sea Res.* 5 (3): 382-389.
- KAMATANI, A., 1971. Physical and chemical characteristics of biogenous silica.—*Mar. Biol.* 8: 89-95.

- LAL, D., V.N. NIJAMPURKAR & S. RAMA, 1970. Silicon-32 hydrology. IAEA-SM 129/54: 847-868.
- LEINEN, M., 1977. A normative calculation technique for determining opal in deep-sea sediments.—*Geochim. cosmochim. Acta* 41: 671-676.
- MAREL, H.W. v.d. & H. BEUTELSPACHER, 1976. Atlas of infrared spectroscopy of clayminerals and their admixtures. Elsevier Scientific Publ. Co.
- NIJAMPURKAR, V.N. & B.L.K. SOMAYAJULU, 1974. An improved method of silicon-32 measurements in groundwaters.—*Proc. Ind. Acad. Sci.* LXXX (Ab): 289-298.
- SOMAYAJULU, B.L.K., 1969. Cosmic-ray produced silicon-32 in near-coastal waters.—*Proc. Ind. Acad. Sci.* LXIX: 338-346.
-