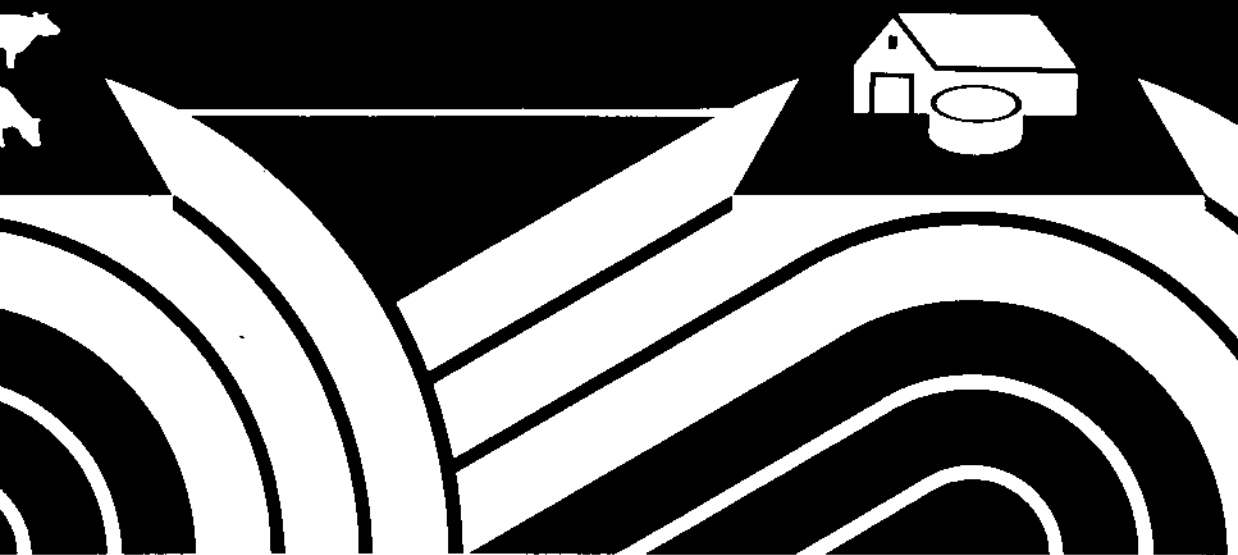


NPo-forskning fra Miljøstyrelsen

Nr. C2 1990

Denitrifikation og iltomsætning i vandløbssedimenter



**NPo-forskning fra Miljøstyrelsen
Nr. C2 1990**

Denitrifikation og iltomsætning i vandløbssedimenter

Jan Sørensen, Lars Peter Nielsen,
Peter Bondo Christensen og Niels Peter Revsbech

Århus Universitet
Institut for Genetik og Økologi

**Miljøministeriet
Miljøstyrelsen**

**MILJØSTYRELSEN
BIBLIOTEKET
Strandgade 29
1401 København K**



Indhold

<u>Sammendrag</u>	5
<u>1. Indledning</u>	7
1.1 Oversigt over de primære artikler fra projektet.	8
<u>2. Materialer og Metoder</u>	9
2.1. Kemiske analyser. Udveksling af O_2 og NO_3^-	9
2.2. Måling af denitrifikation med acetylen-inhiberingsteknikken	9
2.3. Den kombinerede mikrosensor for O_2 og N_2O	10
<u>3. Resultater og diskussion</u>	12
3.1. Mikrozonering af iltomsætning og denitrifikation	12
3.2. Regulering af iltomsætning og denitrifikation	15
3.2.1 Effekt af nitratkoncentrationen	15
3.2.2 Effekt af substratkoncentrationen (organisk kulstof)	16
3.2.3 Effekt af lys (iltproduktion ved mikrobentisk fotosyntese)	16
3.3. Årstidsvariation for iltomsætning og denitrifikation	17
3.3.1 Denitrifikationens sæsonvariation	17
3.3.2 Fotosyntese og denitrifikationens døgnvariation	20
3.3.3 Denitrifikationens kvantitative betydning	20
3.4. Diffusions-reaktionsmodel for iltrespiration og denitrifikation	22
3.4.1 Modelforudsætninger	22
3.4.2 Modelformler	24
3.4.3 Modelafprøvning på årstidsvariationen i Gelbæk.	25
3.4.4 Den oxiske zones betydning for denitrifikationen	26
3.4.5 Udvidet modellering af denitrifikationen	27
<u>4. Referencer</u>	28



Sammendrag

Denitrifikationen og iltomsætningen blev studeret i små næringsrige vandløb i Østjylland. Processerne blev målt intensivt i Gelbæk (Gjern å systemet) gennem en hel årscyklus og deres årstidsvariation er søgt forklaret ud fra vandkemiske data og den biologiske strukturudvikling. En ny mikrosensorteknik blev udviklet, hvormed processernes mikrozonering i sedimenterne og diverse biofilm kan studeres. Derved er detaljerne i de forskellige regulerende faktorerers indvirkning blevet afklaret.

De mikrobentiske algers vækst om foråret er den primære kulstofkilde for den øgede aktivitet af denitrifikation og iltrespiration gennem forår og sommer. Den primære nitratkilde for denitrifikationen i Gelbæk er diffusion fra vandfasen, medens sedimentoverfladens nitratproduktion (nitrifikation) og -forbrug (f.eks. assimilering eller nitratammonifikation) er af underordnet betydning for denitrifikationen.

På basis af målingerne er der udviklet en enkel diffusions-reaktionsmodel for denitrifikation og iltomsætning i vandløbssedimenter, med hvilken denitrifikationen med stor nøjagtighed kan estimeres alene på basis af sedimentets iltoptagelse og koncentrationerne af ilt og nitrat i vandfasen.

Modellen viser, at det oxiske overfladelag har en helt afgørende betydning for den totale denitrifikation, idet laget udgør en diffusionsbarriere for nitrat mellem vandfasen og den anoxiske denitrifikationszone.



1. Indledning

Kvælstoffjernelse
i vandløb

Projektets formål har været at studere ilt- og kvælstofomsætningen i de mindre vandløb specielt med henblik på at vurdere vandløbenes evne til at fjerne kvælstof ved denitrifikation. Da mange vandløb i Danmark er meget næringsrige, bl.a. m.h.t. nitrat, er der betydelig interesse i at forstå reguleringen af de basale mikrobielle processer og deres forløb under skiftende nitratbelastning.

Årstids- og døgn-
variation

Undersøgelsen blev udført i 1987-88 i en række østjyske vandløb, primært Gelbæk samt nogle mindre vandløb i Århus omegn. Alle lokaliteter viser et typisk forårsmaximum for den bentiske algebiomassa og samspillet mellem algerne og de denitrificerende bakteriers stofskifte er derfor af stor betydning for processernes sæsonvariation. I undersøgelsen er der foretaget intensive målinger af iltomsætningen og denitrifikationen både i lys og i mørke gennem en hel sæson. Der er ved disse målinger identificeret en række af de vigtigste kontrolfaktorer for både iltomsætning og denitrifikation, og en model for kontrol af processerne in situ er formuleret.

Forfatterne skal her benytte lejligheden til at takke den lange række af medarbejdere ved Institut for Genetik og Økologi (Aarhus Universitet), Miljøstyrelsens Ferskvandslaboratorium (Silkeborg), og Københavns Universitets Ferskvandsbiologiske Laboratorium (Hillerød), der har bidraget med teknisk assistance og inspiration under projektet. Vi takker desuden Miljøstyrelsens NPO-sekretariat for godt samarbejde.

1.1 Oversigt over de primære artikler fra projektet.

Nærværende rapport må nødvendigvis beskrive undersøgelsens resultater summarisk, og for mere detaljerede oplysninger henvises derfor til de 6 primære artikler fra undersøgelsen. Artiklerne er nummereret med romertallene I-VI, og i rapporten vil der blive refereret til dem med disse tal.

- I. Christensen, P. B., L. P. Nielsen, N. P. Revsbech and J. Sørensen. Denitrification in nitrate-rich streams: Diurnal and seasonal variation related to benthic oxygen metabolism. *Limnol. Oceanogr.*, In press.
- II. Christensen, P. B., L. P. Nielsen, N. P. Revsbech and J. Sørensen. 1989. Microzonation of denitrification activity in stream sediments as studied with a combined oxygen and nitrous oxide microsensor. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1234-1241.
- III. Nielsen, L. P., P. B. Christensen, N. P. Revsbech and J. Sørensen. Denitrification and oxygen respiration in biofilms studied with a microsensor for nitrous oxide and oxygen. *Microbial Ecol.* In press.
- IV. Nielsen, L. P., P. B. Christensen, N. P. Revsbech and J. Sørensen. Denitrification and photosynthesis in stream sediments studied with microsensor and whole core techniques. *Limnol. Oceanogr.*, In press.
- V. Revsbech, N. P., L. P. Nielsen, P. B. Christensen and J. Sørensen. (1988) Combined oxygen and nitrous oxide microsensor for denitrification studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2245-2249.
- VI. Revsbech, N. P., P. B. Christensen, L. P. Nielsen and J. Sørensen. (1989) Denitrification in a trickling filter biofilm studied by a microsensor for oxygen and nitrous oxide. *Water Res.* 23: 867-871.

2. Materialer og metoder

2.1. Kemiske analyser. Udveksling af O_2 og NO_3^-

NO_3^- og klorofyl

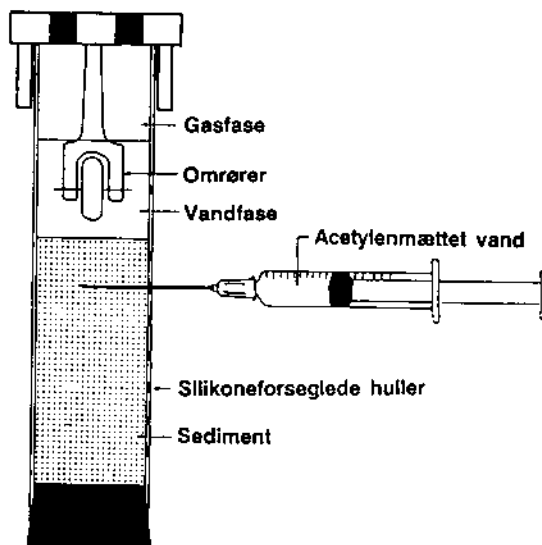
Ved prøvetagningerne blev koncentrationen af NO_3^- samt temperaturen i vandløbsvandet bestemt, og de bentiske mikroalgers biomasse blev målt indirekte ved en klorofylbestemmelse i sedimentets øverste 0,5 cm.

Udveksling mellem sediment og vandfase

I laboratoriet blev der på uforstyrrede sediment-søjler med overliggende vandløbsvand målt udveksling af O_2 og NO_3^- mellem vandfasen og sedimentet. Under lyseksponering af prøvernes overflade blev der anvendt ca. $200 \mu\text{Einstein m}^{-2} \text{s}^{-1}$, som havde vist sig at kunne "mætte" de bentiske mikroalgers fotosyntese. I mørke-inkuberede prøver blev det antaget at iltoptagelsen repræsenterede iltrespirationen ved de heterotrofe organismer, mens iltafgivelsen i lys plus mørkerespirationen blev antaget at repræsentere de bentiske mikroalgers fotosyntese.

2.2. Måling af denitrifikation med acetyleninhiberings-teknikken.

Samtidig med målingerne af ilt- og nitratudveks-



Figur 1.

Inkubering af intakt sediment-søjle til måling af denitrifikation med acetyleninhiberingsteknikken.

Inhibering af N_2O
reduktionen

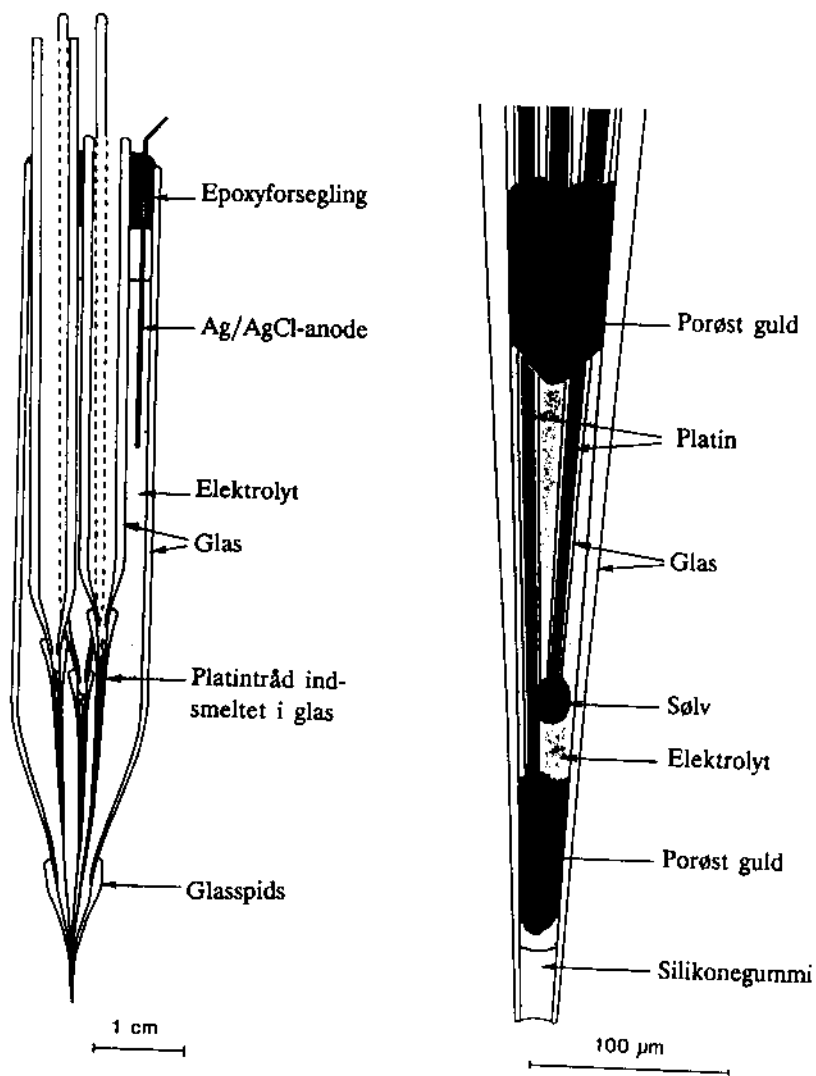
lingen blev denitrifikationen bestemt med den såkaldte acetyleninhiberings-teknik. Teknikken, som er baseret på acetyleninhibering af lattergas (N_2O)-reduktionen hos denitrificerende bakterier (Balderston et al., 1976; Yoshinari and Knowles, 1976), har længe været blandt de mest anvendte metoder til måling af denitrifikation i naturlige miljøer. I sediment kan introduktionen af acetylen ske ved diffusion fra vandfasen eller ved direkte injektion i de udtagne sedimentkerner (Figur 1; Sørensen, 1978). Målingen af den akkumulerede N_2O måles derefter ved gaskromatografi efter en ekstraktion fra sedimentet.

De primære fordele ved denne målemetode for denitrifikationen er, at bestemmelsen er hurtig, følsom og billig, samt at den fysiske forstyrrelse af sedimentet er minimal. En ulempe kan være, at den inhiberende virkning af acetylen ikke altid er 100 % effektiv (Kaspar, 1982; Oremland et al., 1984), især hvis den akkumulerende N_2O diffunderer ned i den nitratfrie, reducerede zone under denitrifikationslaget (II; IV; Slater and Capone, 1989). En ulempe ved metoden kan også være at acetylen synes at hæmme den bakterielle nitrifikation i sedimentets overfladelag (Walter et al., 1979), hvilket kan reducere denitrifikations-aktiviteten under inkubationen.

2.3 Den kombinerede mikrosensor for O_2 og N_2O .

Mikroprofiler af
 O_2 og N_2O

Efter observationen af at en stor del af den heterotrofe stofomsætning i biofilm og sediment foregår i et tyndt iltholdigt overfladelag af nogle få mm tykkelse (Revsbech and Jørgensen, 1986), har det vist sig, at også denitrifikationen kan forekomme i en snæver zone umiddelbart under den iltede zone. For målinger i sådanne miljøer blev der under projektet udviklet en mikrosensor for både O_2 og N_2O (Figur 2; V). I korthed er sensorens princip, at O_2 og N_2O kan diffundere ind gennem en gaspermeabel membran og måles med polarografiske mikroelektroder. I selve sensoren reduceres og måles O_2 ved den nederste guldkatode, mens N_2O reduceres og måles ved den bagvedliggende sølvkatode. Sensoren muliggør herved samtidige målinger af de to gasarter i prøverne og mikroprofiler kan relativt hurtigt optegnes for de øverste mm i biofilmene og sedimenterne, hvor den bakterielle iltrespiration og denitrifikation foregår.



Figur 2.
 Mikrosensor til samtidig måling af O_2 og N_2O . Til venstre ses hele sensoren bestående af tre katoder og en referenceelektrode i et fælles hylster. Til højre er vist spidsen af sensoren forstørret 250 gange.

Mikrozonering af
denitrifikationen

Ved en typisk denitrifikationsmåling med den nye teknik foretages en inkubering af sedimentet eller biofilmen med acetylen, hvorefter akkumuleringen af N_2O følges med mikrosensoren. Udviklingen af lattergasprofilen kan beskrives med en relativ simpel diffusions-reaktionsmodel, hvori der indgår et udtryk for produktions (denitrifikationen), forbruget (reduktionen af N_2O) og transporten ved diffusion. Hvis forbruget af N_2O er minimalt, dvs. at acetyleninhiberingen er effektiv, er ligningen i en given dybde z når steady state er opnået:

$$\text{Ligning 1: } P(z) = D \cdot d^2 C(z) / dz^2$$

hvor P er den specifikke aktivitet (denitrifikationen per volumenenhed) og D og $C(z)$ er hhv. diffusiviteten og koncentrationen af N_2O . Ligningen viser, at krumningen af koncentrationsprofilen afspejler aktiviteten.

Mikroprofiler af
 NO_3^-

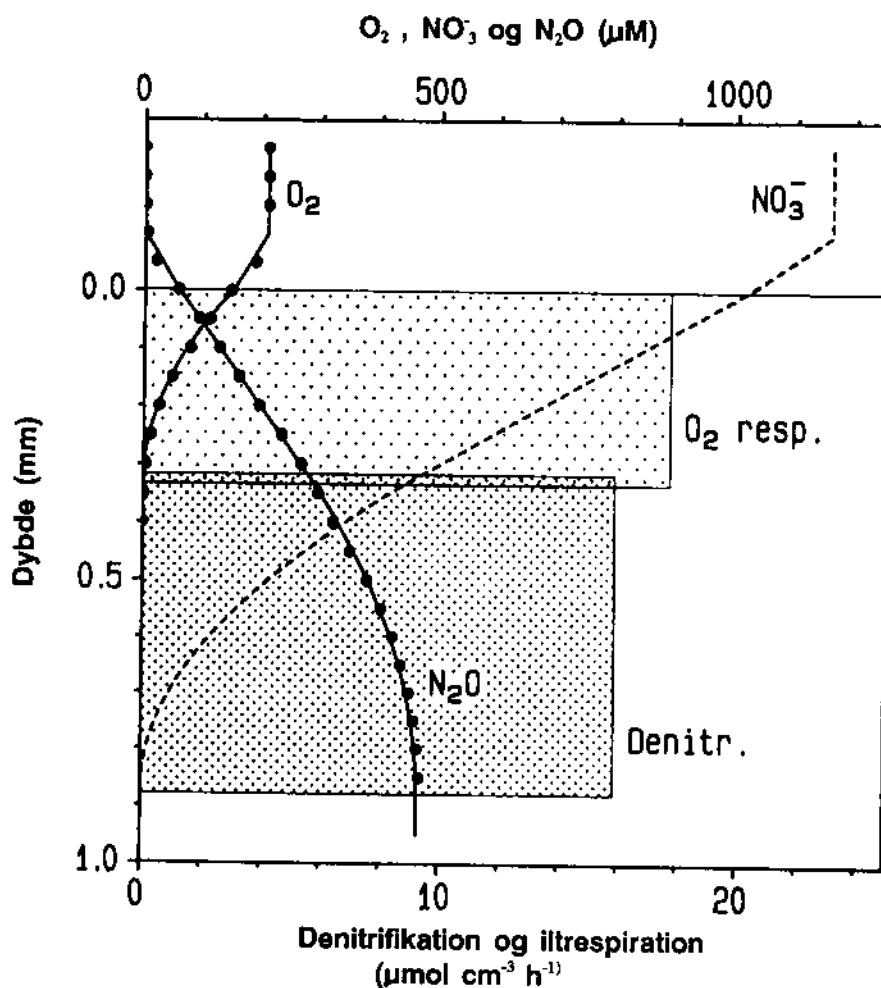
Ligesom den konventionelle acetyleninhiberingsteknik har den nye mikrosensormetode både fordele og ulemper. Den åbenbare fordel er naturligvis den store rumlige opløsningsevne, som for første gang tillader en bestemmelse af denitrifikationens mikrozonering (II; III; IV; VI). Mikrosensorteknikken tillader yderligere en direkte måling af et evt. forbrug af N_2O i dybereliggende reducerede lag og den potentielle undervurdering af denitrifikationen ved den konventionelle teknik kan derved undgås (II; IV). Endelig skal det nævnes, at mikrosensorteknikken også tillader en indirekte bestemmelse af nitratprofilerne i de øverste mm-tynde lag (II; III; IV). Ved stor heterogenitet i prøverne har mikrosensoren den ulempe, at den kun måler aktiviteten indenfor et meget lille areal. Problemet med acetylenens inhibering af nitrifikationen gælder også for mikrosensorteknikken, men i de her undersøgte nitraterige vandløb er problemet lille, idet vandfasen er af den absolut største betydning som nitratkilde for denitrifikationen (I).

3. Resultater

3.1. Mikrozonering af iltomsætning og denitrifikation

Profiler i biofilm

I dette og det følgende afsnit præsenteres resultaterne fra en række studier med mikrosensoren i de nitraterige vandløb. Figur 3 viser

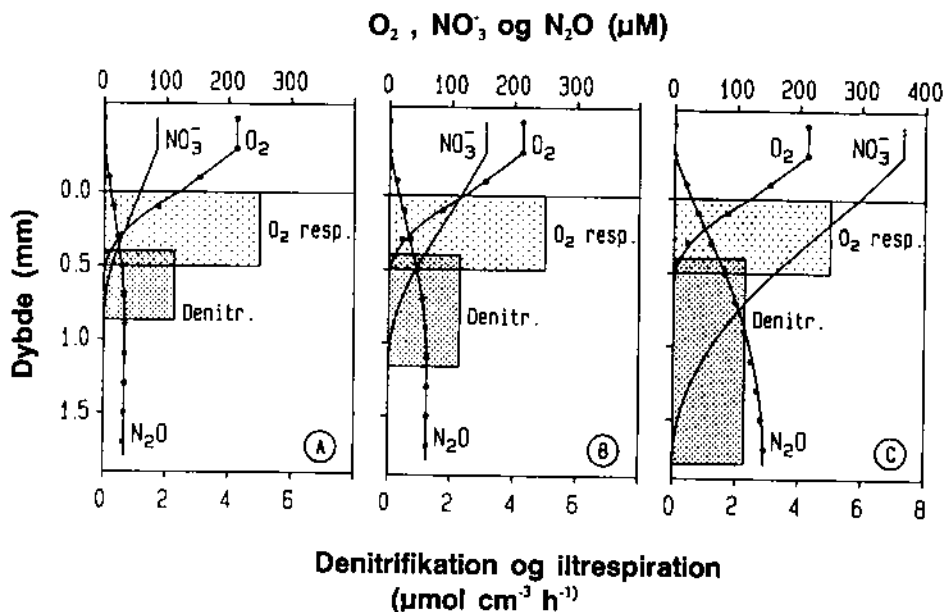


Figur 3.

Steady state profiler af O₂ og N₂O målt i en acetyleninhiberet biofilm fra Døde Å. Iltrespirationen er beregnet udfra iltprofilet, medens denitrifikationen og nitratprofilet er beregnet udfra lattergasprofilet.

Denitrifikation og iltrespiration har samme specifikke aktivitet

således den typiske fordeling af iltrespiration og denitrifikation i en biofilm, hvor koncentrationerne af O_2 og NO_3^- var hhv. $200 \mu M$ og $1200 \mu M$ i vandfasen (III). Aktivitetszonerne for iltrespiration og denitrifikation er tydeligvis adskilte som følge af den inhiberende virkning af O_2 på denitrifikationen, men i øvrigt ses de to processer at være næsten ens m.h.t. specifik aktivitet. I den oxiske zone er nitratprofilet lineært, som tegn på at der ikke foregår noget nitratforbrug jævnfør ligning 1. Fra en række målinger af denne type kan det konkluderes, at iltrespiration og denitrifikation ikke begrænses af koncentrationerne af hhv. O_2 og NO_3^- , undtagen i den underste del af aktivitetszonerne (deraf den overvejende konstante specifikke aktivitet i de to aktivitetszoner). Det kunne vises at K_m værdierne for O_2 og NO_3^- (halvmætningskonstanter under antagelse af Michaelis Menten kinetik) begge var mindre end $10 - 20 \mu M$.



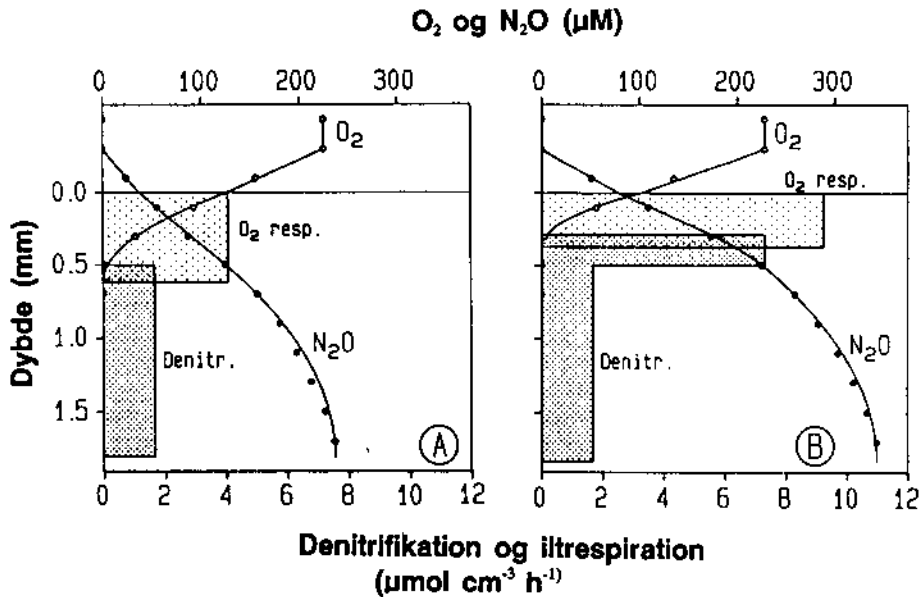
Figur 4.
Virksomheden af forskellige nitratkoncentrationer i vandfasen på denitrifikationens dybdeudbredelse i en biofilm fra Giber Å. A: $114 \mu M$. B: $219 \mu M$. C: $570 \mu M$.

3.2. Regulering af iltomsætning og denitrifikation

3.2.1 Effekt af nitratkoncentrationen

NO_3^- øger denitrifikationszonen

Den lave K_m værdi for nitratforbruget ved denitrifikation antyder, at en ændring i vandfasens nitratkoncentration vil påvirke dybdebredelsen af denitrifikationen snarere end den specifikke aktivitet. Figur 4 illustrerer dette for en biofilm med hhv. 114 μM , 219 μM og 570 μM NO_3^- i vandfasen (III). Det ses tydeligt, at den øgede nitratkoncentration i vandfasen medfører en dybere nedtrængning af NO_3^- og at den større samlede aktivitet i biofilmen skyldes den øgede aktivitätszone snarere end en forøgelse af den specifikke aktivitet i selve denitrifikationszonen. Det bør også noteres, at nitrattilsætningen ikke havde nogen effekt på iltomsætningen, hverken m.h.t. aktivitätszonens dybde eller den specifikke aktivitet.



Figur 5.

Virkningen af opløst organisk stof i vandfasen på iltrespiration og denitrifikation i en biofilm fra Giber Å. A: Kontrol uden tilsætning af organisk substrat. B: Med gærekstrakt (0.2%) tilsat i vandfasen.

3.2.2 Effekt af substratkoncentrationen (organisk kulstof)

Opløst organisk stof øger den specifikke aktivitet

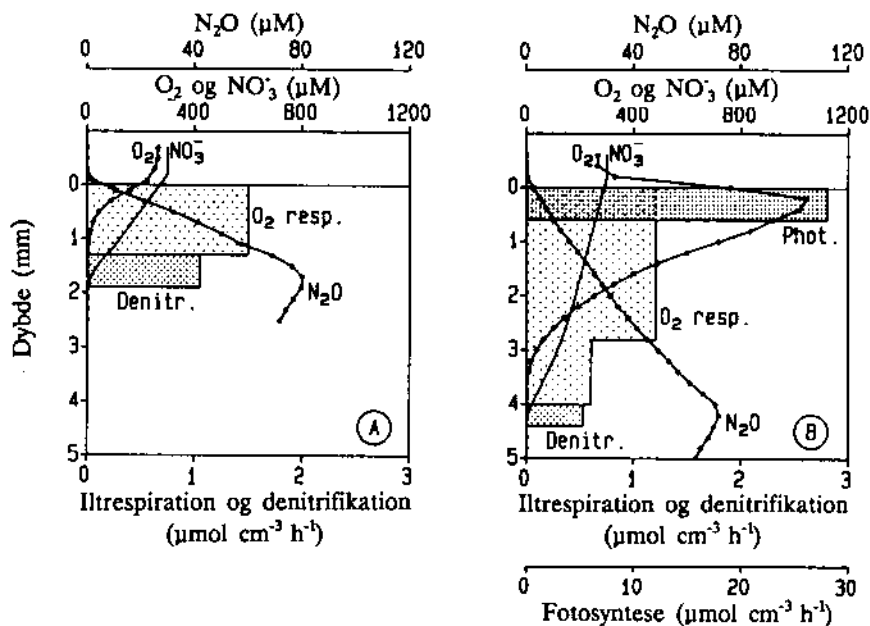
Når den specifikke aktivitet af iltrespirationen og denitrifikationen er næsten ens som i biofilmen vist i Figur 3, må tilgængeligheden af organisk substrat også være nogenlunde ensartet i de to aktivitetszoner. Når dette ikke er tilfældet, f.eks. hvis opløst organisk stof tilføres biofilmen udefra, kan det medføre ændringer i både processernes specifikke aktivitet og dybdezonering. Dette er vist på Figur 5, som illustrerer effekten af en tilsætning af 0,2 % gær ekstrakt til vandfasen (nitratkoncentrationen var her meget høj, ca. 2,2 mM, og således ikke begrænsende i nogen dybde) (III). Tilsætningen af det organiske substrat medførte en betydelig højere iltrespiration, som det kan ses af den forøgede koncentrationsgradient for O_2 ved biofilmens overflade. Aktivitetszonen for iltrespirationen blev samtidig snævrere (mindre nedtrængningsdybde for O_2) og denitrifikationen kunne derfor foregå tættere ved overfladen end før substrattilsætningen. Mens den specifikke aktivitet for denitrifikation viste sig at være uændret i de dybere lag, hvortil det organiske substrat ikke nåede ned, var den specifikke aktivitet klart forøget (og i øvrigt sammenlignelig med iltrespirationen) i det øverste, substratberigede lag.

3.2.3 Effekt af lys (iltproduktion ved mikrobiell fotosyntese)

Fotosyntetisk O_2 -produktion fortrænger denitrifikationen

Som en konsekvens af den inhiberende virkning af O_2 på denitrifikationen må det forventes at ændringer i de iltede zones dybde, f.eks. som følge af mikroalgernes iltproduktion under fotosyntesen, medfører store ændringer i denitrifikationens mikrozonering og aktivitet. En dybere ilt nedtrængning under lyseksponering er flere gange påvist at medføre en hæmning af denitrifikationen i både marine og limniske sedimenter (I; Andersen et al., 1984; Christensen and Sørensen, 1986; Jørgensen and Sørensen, 1988; Sørensen et al., 1988). Den nye mikrosensor kan nu afsløre flere detaljer bag lysinhiberingen, bl.a. som vist i Figur 6 for et vandløbs-sediment inkuberet hhv. i mørke og i lys (IV). Den dybere ilt nedtrængning i lys ses at medføre en betydelig længere diffusionsvej for NO_3^- mellem vandfasen og denitrifikationszonen i sedimentet. Det kunne påvises, at den samlede

denitrifikation var nedsat i lys alene på grund af denne øgede diffusionsvej for NO_3^- (IV).



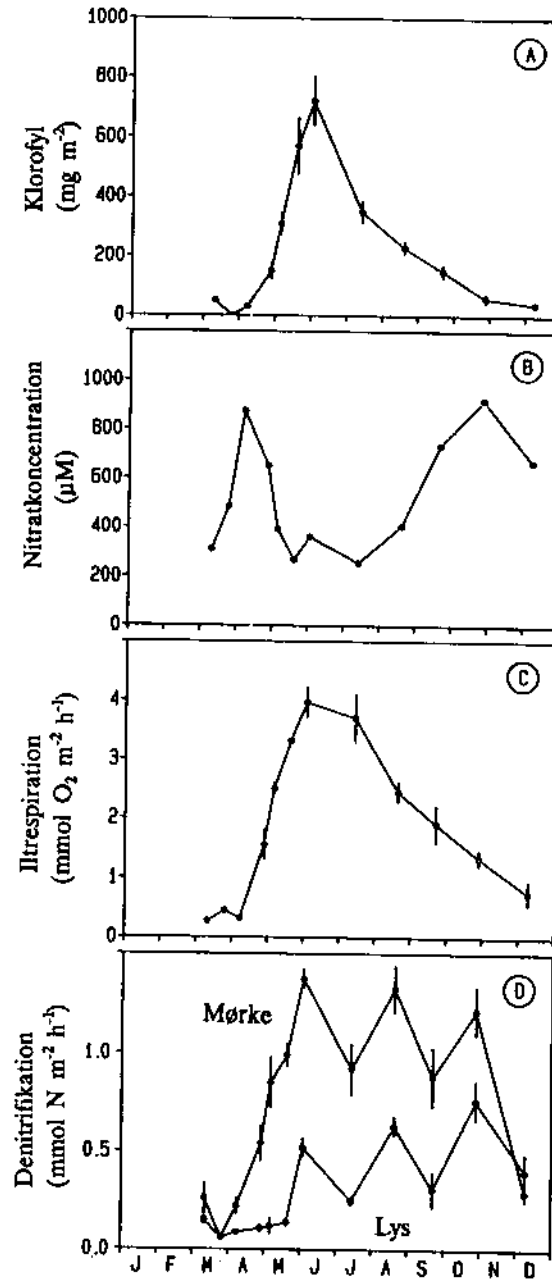
Figur 6.

Virksomheden af fotosyntetisk iltproduktion i sedimentet på denitrifikationen (Gelbæk). A: I mørke. B: I lys.

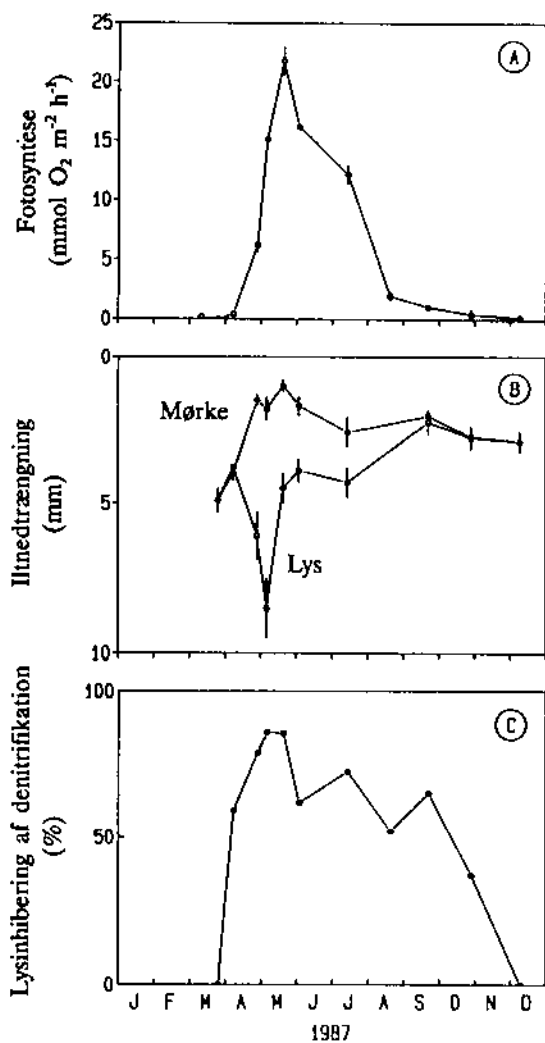
3.3. Årstidsvariation for iltomsætning og denitrifikation

3.3.1 Denitrifikationens sæsonvariation

Gennem et helt år vil tilgængeligheden af NO_3^- og organisk substrat for denitrifikationen variere betydeligt i vandløbsbunden. Figur 7 viser resultaterne fra den intensive sæsonundersøgelse i Gelbæk, hvor denitrifikation blev målt samtidigt med en række potentielt regulerende faktorer for processen (I). Om foråret faldt nitratkoncentrationen til et stabilt niveau for resten af sommeren på omkring $300 \mu\text{M}$, og først i sensommeren og efteråret steg koncentrationen igen til omkring $1000 \mu\text{M}$ (Figur 7B).



Figur 7.
 Årsvariationen i Gelbæk (1987) af algernes
 biomasse (A), vandets nitratkoncentration (B),
 iltrespiration (C) og denitrifikation i mørke og
 lys (D).



Figur 8.
 Årsvariationen i Gelbæk (1987) af fotosyntese (A), iltnedtrængning i lys og mørke (B) samt den procentuelle inhibering af denitrifikation i lys i forhold til mørke (C).

Algemaximum og maximal iltomsætning og denitrifikation i maj

Algernes biomasse forøgedes kraftigt i den korte forårsperiode i April - Maj (Figur 7A) og det ses tydeligt, at både iltrespiration og denitrifikation i de mørke-inkuberede prøver fulgte den generelle tilvækst af algebiomassen (Figur 7C og D). På baggrund af de faldende nitratkoncentrationer i foråret, hang forøgelsen af denitrifikationsaktiviteten derfor sammen med den forøgede tilgængelighed af organisk substrat og tilvæksten i den heterotrofe bakteriepopulation i denne periode. Det er sandsynligt, at den potentielle (maximale) denitrifikation og iltrespiration i sedimentet i denne periode var bestemt direkte af organiske substrater udskilt fra aktive alger, medens det fortsat høje aktivitetsniveau gennem sommeren og efteråret skyldtes algernes gradvise nedbrydning (Figur 7A). Tilgængeligheden af NO_3^- øgedes i efterårsperioden (Figur 7B) hvilket kan forklare den forhøjede denitrifikation i forhold til iltrespirationen. Inhiberingen af denitrifikationen i lys var relativt størst i foråret (Figur 7D) og kan, som beskrevet i det følgende afsnit, skyldes at algepopulationen her var størst og udviste et maximum af fotosyntese.

Denitrifikationen høj indtil november

3.3.2 Fotosyntese og denitrifikationens døgnvariation

Op til 80% lysinhibering af denitrifikationen

Inhiberingen af denitrifikationen i lys må afhænge af forskellen mellem nedtrængningen af O_2 i sedimentet i lys og mørke. I sedimentet fra Gelbæk viste den bentiske fotosyntese en udtalt sæsonvariation, med det forventede maximum af aktivitet i forårsperioden omkring April - Maj (Figur 8A), hvor forskellen mellem iltnedtrængningen i de lys- og mørke-eksponerede prøver også var størst (Figur 8B). Imidlertid afhænger iltnedtrængningen i lys både af iltproduktionens størrelse og dens placering i sedimentet, og det er derfor vanskeligt nøjagtigt at forudsige graden af lysinhibering gennem en sæson. Den målte lysinhibering af denitrifikationen er vist på Figur 8C, som også demonstrerer virkningen af mikroalgernes fotosyntese i foråret.

3.3.3 Denitrifikationens kvantitative betydning

Op til 30% af nedbrydningen sker ved denitrifikation

Iltrespiration og denitrifikation repræsenterer et vandløbssystems samlede respiration og dermed den samlede nedbrydningsaktivitet. Normalt udgør denitrifikationen kun en ubetydelig del af den

samløbe respiration i naturlige systemer. Men i et landbrugsbelastet vandløb som Gelbæk, hvor nitratkoncentrationen oftest var større end iltkoncentrationen, foregik op til 30 % af den samlede nedbrydning i sedimentet via denitrifikation (Figur 7C og D).

Nærværende undersøgelse har primært fokuseret på reguleringsmekanismerne for denitrifikation i vandløb, men en vurdering af denitrifikationens maksimale kvantitative betydning for kvælstoftransporten i Gelbæk kan dog foretages ud fra de indsamlede data:

Kvælstoftransport og denitrifikation i Gelbæk

Årgennemsnittet for denitrifikationen i mørke på den undersøgte bløde bund i Gelbæk var $0.8 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 7D), og ud fra en vurdering af lysindstrålingen og bredvegetationens skyggevirksomhed skønnes lysinhiberingen af denitrifikationen at være 40% hvilket giver et samlet skøn på $0.5 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ eller 600 kg N ha^{-1} vandløbsbund år^{-1} . Opstrøms målestationen har Gelbæk et bundareal på ca. 0.35 ha og den afvander her ca. 1000 ha agerjord med en anslået årlig udvaskning på 21 kg N ha^{-1} (Kronvang og Thyssen, 1987). D.v.s. at maksimalt 1% af den udvaskede nitrat blev fjernet ved denitrifikation i Gelbæks øvre del. Da denitrifikationen yderligere er ca. 10 gange mindre i biofilmene på stenbunden end i den her undersøgte bløde bund (Christensen og Sørensen, 1986), er den faktiske kvælstoffjernelse i Gelbæk endnu mindre.

Både denitrifikationen og kvælstoftransporten varierer betydeligt gennem året, og derfor kan denitrifikationen i perioder få større betydning. I midten af juli 1987, f.eks., var vandføringen nede på 5 l s^{-1} , og med en denitrifikationsrate på ca. $1 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ og en nitratkoncentration på $360 \text{ } \mu\text{M}$ svarede det til en kvælstoffjernelse på ca. 40% i den øvre del af Gelbæk. For hele sommeren 1987 (maj-sept.), der var exceptionel regnfuld, var kvælstoffjernelsen max. 6%.

Resultaterne af nærværende undersøgelse er i god overensstemmelse med målinger i Gelbæk i 1985, hvor reduktionen af kvælstoftransporten ved denitrifikation var under 1% årligt og ca. 10% om sommeren (Christensen et al., 1986).

30% af den samlede
kvælstoftransport
i Gelbæk

600 kg N/ha

1000 ha agerjord
ved den afvander

21 kg N/ha
1000 ha = 21000 kg N

Denitrifikation
i Gelbæk

1987 sommer 87: 6%

Denitrifikation i vandløbssystemer

Generelt vil denitrifikationens betydning på et givent vandløbsstræk afhænge meget af forholdet mellem vandtransport og blødbundsareal. Små tilløb, hvor dette forhold kan være lille, kan således tænkes at have en ikke ubetydelig andel i kvælstoffjernelsen i vandløbet.

I hele vandløbssystemer må vandløbenes betydning for kvælstoffjernelsen naturligvis vurderes i forhold til indskudte damme og søers betydning. Massebalancer på et stort antal søer over 10 ha har således indikeret en typisk kvælstoffjernelse ved denitrifikation på 33% på årsbasis uanset søens størrelse (J.P.Jensen et al., In prep.). De mindre søer og dammes betydning er endnu ukendt.

*2000-2010 Lunde Søer
2000-11-11*

3.4. Diffusions-reaktionsmodel for iltrespiration og denitrifikation.

Som helhed antydede resultaterne et enkelt og generelt mønster for den mikrobielle omsætning af O_2 og NO_3^- i de mørke-inkuberede biofilm og sedimenter. Det er derfor muligt at foretage en modellering af iltrespiration og denitrifikation baseret på processernes kinetik og diffusionen af O_2 og NO_3^- (I). Formålet med modelleringen er dels at forklare resultaterne, og dels at skabe et generelt værktøj til estimering af denitrifikationsrater ud fra målinger af iltoptagelse eller andre lettere registrerbare parametre. Af hensyn til det sidste formål er modellen forenklet, så kun faktorer af væsentlig betydning for denitrifikationen i vandløb er medtaget.

3.4.1 Modelforudsætninger

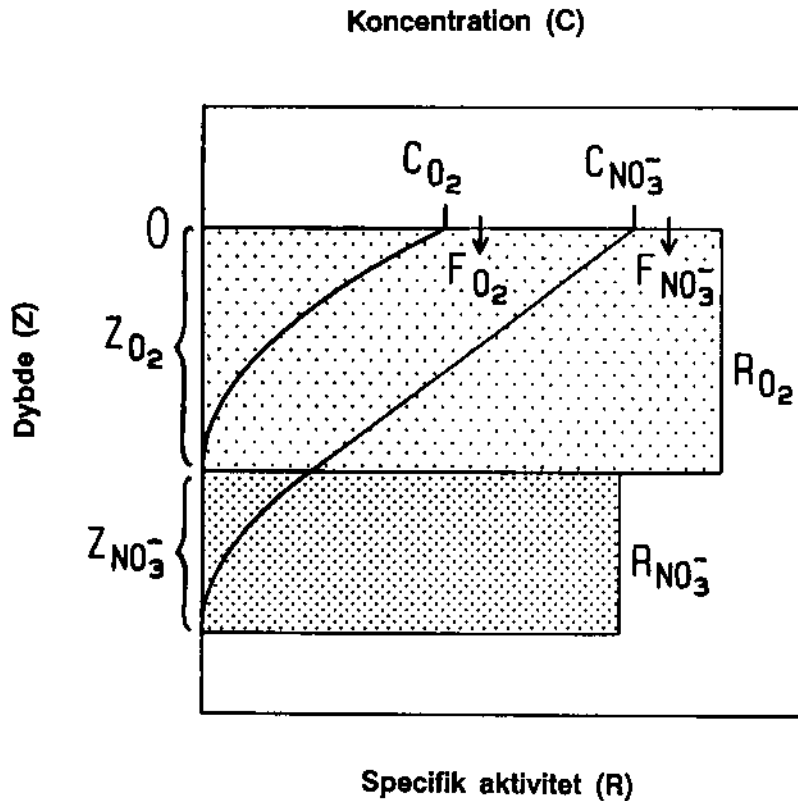
Figur 9 illustrerer diffusions-reaktionsmodellen med angivelse af processernes aktivitetsfordeling og de tilsvarende koncentrationsprofiler for O_2 og NO_3^- . Modellen er baseret på følgende 6 forudsætninger:

1. Denitrifikationen er anaerob og derfor begrænset til sedimentlaget umiddelbart under den øvre oxiske zone.

2. Diffusion fra vandfasen er den eneste O_2 - og NO_3^- -kilde, dvs. at fotosyntese og nitrifikation er uden betydning.

3. Denitrifikationen er den eneste nitratforbrugende proces, dvs. at assimilering og nitratammonifikation er uden betydning.

4. Iltrespiration og denitrifikation følger 0-ordens kinetik (lave K_m værdier) m.h.t. O_2 og NO_3^- , dvs. at processerne ikke påvirkes af variationer i koncentrationerne af O_2 og NO_3^- indenfor de respektive aktivitetszoner.



Figur 9.

Illustration af diffusions-reaktionsmodel for iltrespiration og denitrifikation i vandløbs-sediment med angivelse af koncentrations- og aktivitetsprofiler. C, Z, F og R angiver henholdsvis vandfasekoncentrationer, aktivitetszoner, totalfluxer (rater) og specifikke aktiviteter (aktivitet pr volumen sediment).

5. Denitrifikationen udnytter de samme substrater som iltrespirationen, og substrattilgængeligheden er den samme i de to aktivitetszoner, dvs. at de specifikke aktiviteter er jævnt fordelt ned gennem sedimentet.

6. Diffusionskoefficienterne er konstante med dybden og tilstedeværelse af et diffusivt grænselag i overfladen er uden betydning.

3.4.2 Modelformler

De specifikke aktiviteter for iltrespirationen og denitrifikationen udtrykker sedimentlagenes potentielle aktivitet i tilstedeværelsen af henholdsvis O_2 og NO_3^- . De totale aktiviteter (aktivitet pr arealenhed) er derfor bestemt af både de specifikke aktiviteter og tilgængeligheden af henholdsvis O_2 og NO_3^- . Tilgængeligheden af O_2 er bestemt af koncentrationen i vandfasen og af diffusionskoefficienten for ilt i sedimentet, medens tilgængeligheden af NO_3^- er bestemt både af koncentrationen i vandfasen, diffusionskoefficienten og tykkelsen af den oxiske zone, der fungerer som diffusionsbarriere.

Denitrifikationen kan beregnes ud fra iltoptagelsen

Med modellen kan man ud fra den totale iltrespiration (iltoptagelse) og iltkoncentrationen i vandet beregne både den specifikke aktivitet og den oxiske zones tykkelse. Herefter kan den totale denitrifikation beregnes, når også nitratkoncentrationen i vandfasen er kendt (I):

Ligning 2:

$$F_{NO_3^-} = F_{O_2} * (R_{NO_3^-}/R_{O_2}) * (1 + (C_{NO_3^-}/C_{O_2}) * (R_{O_2}/R_{NO_3^-}) * (D_{NO_3^-}/D_{O_2}) - 1)$$

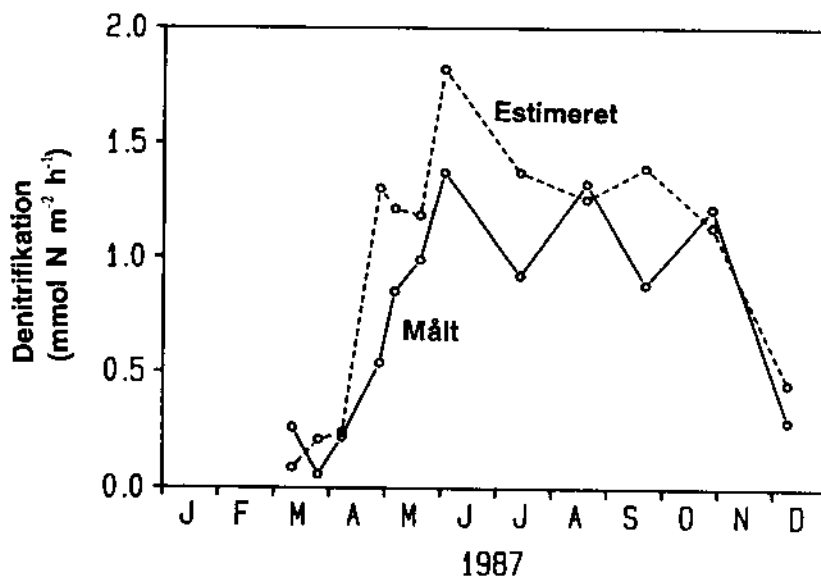
hvor F udtrykker de totale rater, R de specifikke aktiviteter, C koncentrationerne i vandfasen og D diffusionskoefficienterne i sedimentet. Forholdet mellem diffusionskoefficienterne for NO_3^- og O_2 ($D_{NO_3^-}/D_{O_2}$) kan antages at være det samme i sedimentet som i vandfasen (ca. 0,83 mellem 0 og 25 °C), og det er derfor unødvendigt at kende de faktiske diffusionskoefficienter i sedimentet (II, III). Forholdet mellem de specifikke aktiviteter ($R_{NO_3^-}/R_{O_2}$) skulle ideelt set være 1,0 jævnfør forudsætning 5 ovenfor, men baseret på de målte værdier i en række forsøg sættes forholdet her til 0,8. For at beregne

den totale denitrifikation ifølge modellen er det således tilstrækkeligt at kende iltoptagelsen og koncentrationerne af O_2 og NO_3^- i vandfasen.

3.4.3 Modelafprøvning på Årstidsvariationen i Gelbæk.

Modellen beskriver hele årstidsvariationen

Modellen blev afprøvet på de indsamlede data fra Gelbæk i 1987 (Fig 7), idet denitrifikationsrater beregnet med Ligning 2 blev sammenlignet med målte rater i mørke. Modelinputtet var iltrespirationen og koncentrationerne af O_2 og NO_3^- i vandfasen (O_2 -koncentrationen under inkubationerne var altid nær luftmætning uden hensyn til eventuelle variationer in situ). Figur 10 viser, at de beregnede denitrifikationsrater gennem året var i god overensstemmelse med de faktisk målte værdier. Modellen repræsenterer således en god beskrivelse af sammenspillet mellem denitrifikation og iltrespiration trods betydelige sæsonmæssige variationer i vandkemien og i sedimentets fysiske og biologiske sammensætning.



Figur 10.

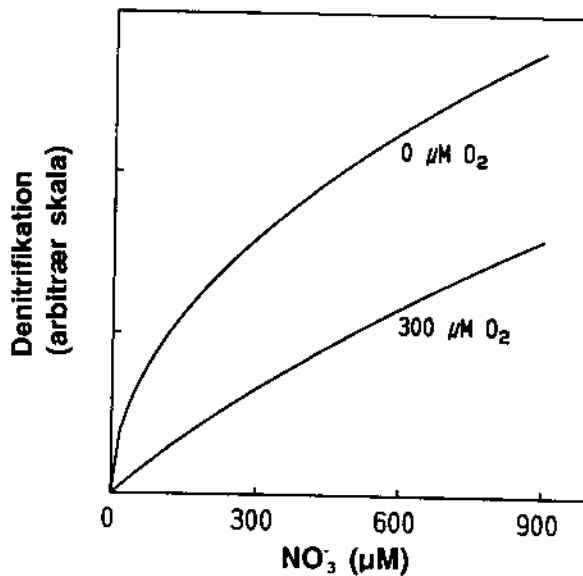
Målt og modelberegnet årsvariation af denitrifikationen i mørke i Gelbæk. Modelberegne værdier er baseret på målinger af iltoptagelsen og koncentrationerne af O_2 og NO_3^- i vandet.

Antagelsen om at forholdet mellem de specifikke aktiviteter for denitrifikation og iltrespiration ($R_{NO_3^-}/R_{O_2}$) netop er 0,8 er behæftet med nogen usikkerhed. Men denne usikkerhed er af underordnet betydning for estimeringen af denitrifikationen i Gelbæk, idet denitrifikationsraten afhænger langt mere af nitrattilgængeligheden end af den specifikke denitrifikationsaktivitet. Hvis f.eks. den specifikke denitrifikationsaktivitet bliver sat 50% lavere ($R_{NO_3^-}/R_{O_2} = 0,4$) betyder det blot, at rateestimatet bliver 10% lavere.

3.4.4 Den oxiske zones betydning for denitrifikationen

Den oxiske zone er en diffusionsbarriere for NO_3^-

Den oxiske zone fungerer som en barriere for nitratediffusionen fra vandfasen til denitrifikationszonen. Betydningen af denne diffusionsbarriere er illustreret på Figur 11, hvor denitrifikationen v.h.a. modellen er beregnet



Figur 11.

Hæmningen af denitrifikation ved tilstedeværelsen af et oxisk overladelag. Ved hjælp af modellen er denitrifikationen beregnet som funktion af nitratkonzentrationen i tilfælde uden og med O_2 (300 μM) i vandfasen.

som funktion af nitratkoncentrationen i vandfasen, dels uden O_2 og dels med luftmætning (ca. $300 \mu M O_2$) i vandfasen. Det ses, at betydningen af det oxiske lag er relativt størst ved lave nitratkoncentrationer. Når der er samme koncentration af O_2 og NO_3^- i vandfasen (her ca $300 \mu M$) vil en fjernelse af al O_2 således øge denitrifikationen med en faktor 2,5.

Det er bemærkelsesværdigt, at i tilstedeværelsen af O_2 (luftmætning) er denitrifikationen næsten ligefrem proportional med nitratkoncentrationen helt op til $900 \mu M NO_3^-$. En sådan lineær sammenhæng er blevet observeret i flere studier af denitrifikation i vandløb (e.g. Cooper and Cooke, 1984) og søer (Andersen, 1977). Med modellen kan den lineære sammenhæng for første gang forklares gennem den oxiske zones afgørende betydning for nitrattilgængeligheden for denitrifikationen. Nitrattilgængelighedens lineære sammenhæng med nitratkoncentrationen i vandfasen kan udtrykkes i ligningen:

Ligning 3: $F_{NO_3^-} = (D_{NO_3^-}/Z_{O_2}) * C_{NO_3^-}$

Ligningen angiver den maksimale nitratflux gennem et oxisk overfladelag med tykkelsen Z_{O_2} (D og C som ovenfor). Med andre ord er proportionalitetsfaktoren $(D_{NO_3^-}/Z_{O_2})$ et udtryk for det oxiske lags permeabilitet over for NO_3^- .

3.4.5 Udvidet modellering af denitrifikation

I overensstemmelse med tidligere undersøgelser af denitrifikation i mindre vandløb (Christensen et al., 1986), indikerer resultaterne af dette arbejde, at sedimentet er den absolut vigtigste vandløbskomponent med hensyn til kvælstoffjernelse ved denitrifikation. Det er her blevet demonstreret, at netop omsætningen i vandløbs-sedimentet er særlig enkel at modellere, især i skyggeperioder eller om natten, hvor denitrifikationen ikke er hæmmet af fotosyntetisk iltproduktion.

Modellen kan udbygges til andre vådområder

Der er intet til hinder for at udbygge den præsenterede simple diffusions-reaktionsmodel til andre akvatiske sedimenter, hvor flere regulerende faktorer spiller ind. Det kan f.eks. være påkrævet at indregne virkningen af det diffusive grænselag, hvis omsætningsraterne er højere eller strømhastigheden mindre. Modellen kan i princippet også udvides med nitrifikationen,

som kan have stor betydning for denitrifikationen, hvis nitratkoncentrationen i vandet er lille, som f.eks. i søer, fjorde og have.

4. REFERENCER

(Projektets primære artikler, som der er henvist til med romertal I-VI, er opført i indledningen.)

Andersen, J. M. 1977. Rates of denitrification of undisturbed sediment from six lakes as a function of nitrate concentration, oxygen and temperature. Arch. Hydrobiol. 80: 147-159.

Andersen, T. K., M. H. Jensen and J. Sørensen. 1984. Diurnal variation of nitrogen cycling in coastal marine sediments. I. Denitrification. Mar. Biol. 83: 171-176.

Balderston, W. L., B. Sherr and W. J. Payne. 1976. Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in Pseudomonas perfectomarinus. Appl. Environ. Microbiol. 31: 504-508.

Christensen, P. B., S. Brandt, T. Jørgensen og J. Sørensen. 1986. Denitrifikation i vandløb - Variation og regulering i sediment og biofilm (Gelbæk og Rabis Bæk). Rapport til Miljøstyrelsen.

Christensen, P. B. and J. Sørensen. 1986. Temporal variation of denitrification activity in plant-covered littoral sediment from lake Hampen, Denmark. Appl. Environ. Microbiol. 51: 1174-1179.

Cooper, A. B. and J. G. Cooke. 1984. Nitrate loss and transformation in 2 vegetated hardwater streams. New Zealand J. Mar. Freshwater Res. 18: 441-450.

Jensen, J. P., P. Kristensen and E. Jeppesen. Relationships between nitrogen loading and in-lake nitrogen concentrations in shallow danish lakes. In prep.

Jørgensen, K. S., and J. Sørensen. 1988. Two annual maxima of nitrate reduction and denitrification in estuarine sediment (Norsminde Fjord, Denmark). Mar. Ecol. Prog. Ser. 48: 147-154.

Kaspar, H. F. Denitrification in marine sediment: measurement of capacity and estimate of in situ rate. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 522-527.

Kronvang, B. og N. Thyssen. 1987. Transport af kvælstof i vandløb. *Vand & Miljø* 3: 111-114.

Oremland, R. S., C. Umberger, C. W. Culbertson and R. L. Smith. 1984. Denitrification in San Francisco Bay intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 1106-1112.

Revsbech, N. P. and B. B. Jørgensen. 1986. Microelectrodes: their use in microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.* 9: 293-352.

Slater, J. M. and D. G. Capone. 1989. Nitrate requirement for acetylene inhibition of nitrous oxide reduction in marine sediments. *Microbial Ecol.* 17: 143-157.

Sørensen, J. 1978. Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 139-143.

Sørensen, J., T. Jørgensen and S. Brandt. 1988. Denitrification in stream epilithon: Seasonal variation in Gelbæk and Rabis Bæk, Denmark. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53: 345-354.

Walter, K. M., D. R. Keeney and I. R. Fillery. 1979. Inhibition of nitrification by acetylene. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43: 195-196-

Yoshinari, T. and R. Knowles. 1976. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 69: 705-710.



Registreringsblad

Udgiver: Miljøstyrelsen, Strandgade 29, 1401 København K.

Serietitel, nr.: NPo-forskning fra Miljøstyrelsen, C2

Udgivelsesår: 1990

Titel:

Denitrifikation og iltomsætning i vandløbsedimenter

Undertitel:

Forfatter(e):

Sørensen, Jan; Nielsen, Lars Peter; Christensen, Peter Bondo;
Revsbech, Niels Peter

Udførende institution(er):

Århus Universitet. Institut for Genetik og Økologi

Resumé:

Under dette projekt blev en ny mikrosensor for ilt og lattergas udviklet og anvendt til studier af denitrifikation, iltrespiration og fotosyntese i sedimenter og biofilm.

Studierne afdækkede nogle simple sammenhænge, som muliggjorde en tilfredsstillende modelberegning af denitrifikationen i et vandløb ud fra målinger af iltomsætning og nitratkoncentration. Resultaterne antyder, at denitrifikationen i små landbrugsbelastede vandløb har marginal betydning for kvælstoftransporten.

Emneord:

denitrifikation; vandløb; sedimenter; analysemetoder; modelberegninger; tidsvariationer; monitoring; omsætning; oxygen CAS 7782-44-7; nitrogen CAS 7727-37-9

ISBN: 87-503-8360-4

ISSN:

Pris: 45,- (inkl. 22 % moms)

Format: A5

Sideantal: 32 s.

Md./år for redaktionens afslutning: februar 1990

Oplag: 350

Andre oplysninger:

Rapport fra koordinationsgruppe C for vandløb, søer og marine områder

Tryk: Luna-Tryk ApS, København

Denitrifikation og iltomsætning i vandløbssedimenter

Ph.D.-forskning nr. C2 1990

Under dette projekt blev en ny mikrosensor for ilt og lattergas udviklet og anvendt til studier af denitrifikation, iltrespiration og fotosyntese i sedimenter og biofilm. Studierne afdækkede nogle simple sammenhænge, som muliggjorde en tilfredsstillende modelberegning af denitrifikationen i et vandløb ud fra målinger af iltomsætning og nitratkoncentration. Resultaterne antyder, at denitrifikationen i små landbrugsbelastede vandløb har marginal betydning for kvælstoftransporten.



Miljøministeriet **Miljøstyrelsen**

Strandgade 29, 1401 København K, tlf. 31 57 83 10

Pris kr. 45.- inkl. 22% moms

ISBN nr. 87-503-8360-4

Miljøstyrelsen