

32/446(239)  
2<sup>e</sup> ex.

# **Methode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid in waterbodems**

**Ontwikkeling en toepassing**

**A.J. Zweers**

**J.W.H. van der Kolk**

**BIBLIOTHEEK "DE HAAFF"**  
Droevendaalsesteeg 3a  
6708 PB Wageningen

**Rapport 239**

**DLO-Staring Centrum, Wageningen, 1998**

955973

## REFERAAT

Zweers, A.J., Kolk, J.W.H. van der, 1998 *Methode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid in waterbodems; Ontwikkeling en toepassing*, 1999. Wageningen, DLO-Staring Centrum. Rapport 239. 60 blz. 18 fig.; 12 tab.; 1 ref.

Voor de bepaling van de stikstofbalans in waterlopen verdient het de voorkeur ook de denitrificatie hierin mee te nemen. SC-DLO heeft een methode ontwikkeld om de denitrificatiesnelheid van een ongestoord waterbodemmonster direct te kunnen bepalen.

Trefwoorden: meetopstelling, denitrificatie, stikstof, nitraat, waterbodem

ISSN 0927-4499

© 1998 DLO Staring Centrum, Instituut voor Onderzoek van het Landelijk Gebied (SC-DLO),  
Postbus 125, NL-6700 AC Wageningen.  
Tel.: (0317) 474200; fax: (0317) 424812; e-mail: [postkamer@sc.dlo.nl](mailto:postkamer@sc.dlo.nl)

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO-Staring Centrum.

DLO-Staring Centrum aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

## Inhoud

Woord vooraf	7
Samenvatting	9
1 Inleiding	11
1.1 Probleemstelling	11
1.2 Doelstelling	11
1.3 Denitrificatie	12
1.4 Leeswijzer	12
2 Ontwikkeling van de meetopstelling	15
2.1 Meetmethode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid	15
2.2 Uitgangspunten en principe van de opstelling	16
2.3 Werkingsprincipe van de enkelvoudige meetopstelling	16
2.4 Aanpassen van de enkelvoudige naar een viervoudige opstelling	21
2.5 Controle van de opstelling	22
2.6 Beveiligingen	23
3 Bepaling van de denitrificatiesnelheid van waterbodems	25
3.1 Monsternamen in het veld	25
3.2 Voorbereidingen in het laboratorium	25
3.3 Gasmetingen	26
3.4 Waterfasebemonstering en belasting	27
3.5 Condities en instellingen waarbij experimenten worden uitgevoerd	28
3.6 Verwerking van meetgegevens	28
3.7 Gevoeligheid in de meting	31
4 Denitrificatiesnelheid van een aantal slootbodems	33
4.1 Meetopstelling	33
4.2 Enkelvoudige metingen in het Schuitenbeekgebied	34
4.2.1 Groot Gerven	34
4.2.2 De Hoef	37
4.2.3 Controle door toevoeging van nitraat en acetaat	40
4.3 Resultaten viervoudige opstelling	42
5 Discussie	49
5.1 Technisch	49
5.2 Experimenteel	51
6 Conclusies en aanbeveling	57
Literatuur	59

## **Woord vooraf**

Het onderzoek dat in dit rapport is beschreven is uitgevoerd om een methode te ontwikkelen om, voor het model ANIMO relevante, denitrificatiesnelheden in waterbodems te kunnen bepalen. De ontwikkelde meetopstelling is vervolgens ingezet bij het bepalen van de denitrificatiesnelheid in een drietal waterlopen. Het onderzoek stond onderleiding van ir. J. Drent en ir. J.W.H. van der Kolk van DLO-Staring Centrum. In de eerste fase van het project is overleg gevoerd met dr. P. Boers en dr. F. van Luijn van RIZA in Lelystad, van wie we een stimuleringssubsidie mochten ontvangen. Ik dank hierbij iedereen voor de medewerking.

## Samenvatting

De waterbodem kan een belangrijke bijdrage leveren aan de verwijdering van stikstof uit de sloot. Dit is het gevolg van denitrificatie die hier optreedt. Kwantitatieve gegevens over de bijdrage van denitrificatie in waterbodems is slechts sumier aanwezig.

SC-DLO is in 1991 een project gestart om een methode te ontwikkelen waarmee de denitrificatiesnelheid in waterlopen in het landelijk gebied kan worden vastgesteld. Dit heeft geresulteerd in een meetopstelling waarmee de denitrificatiesnelheid van een stukje sloot, dat vanuit het veld wordt overgebracht naar het laboratorium. Hier worden onder geconditioneerde omstandigheden producten van het denitrificatieproces direct te meten met behulp van gaschromatografie op elk gewenst tijdstip. Hiervoor wordt het monster, dat ongestoord is genomen in het veld, gedurende enkele weken gespoeld met helium. Het spoelen gebeurt door de gasfase van het monster door een leidingcircuit het water in te pompen. Het geproduceerde, in water opgeloste, stikstof komt hierdoor in de gasfase (helium). Op geregelde tijden wordt (automatisch) van de gasfase een monster genomen en geanalyseerd op stikstof. Wanneer, na het nemen van het monster in het veld, de stikstoftoename (vrijwel) gestagneerd is, wordt het monster belast met een nitraatoplossing. Uit de stikstoftoename, die als gevolg van denitrificatie aanmerkelijk hoger zal zijn als voor de belasting, kan de denitrificatiesnelheid worden berekend. Deze toename van stikstof in de gasfase zal overeen moeten komen met een afname van stikstof in de waterfase. De waterfase wordt door een leidingsysteem rondgepompt en op geregelde tijden geanalyseerd op de aanwezigheid van nitraat. In eerste instantie is een enkelvoudige meetopstelling ontwikkeld waarmee slechts één monster tegelijk kan worden doorgemeten. Om ook de variatie in denitrificatiesnelheid op korte afstand te kunnen bepalen is dit systeem in een latere fase uitgebreid naar een viervoudige opstelling. Deze opstelling bestaat uit vier identieke enkelvoudige opstellingen die zijn aangesloten op één gaschromatograaf. Hierdoor is het mogelijk vier monsters simultaan door te meten.

Deze methode is toegepast bij monsters genomen op twee lokaties in het Schuitenbeekgebied aan de noordkant van de Veluwe en op één lokatie in een riviertje Rosep ten zuiden van de Kampina in Noord Brabant. Bij de monsters uit het Schuitenbeekgebied is gebruik gemaakt van een enkelvoudige opstelling. Bij de monsters uit de Rosep is gebruik gemaakt van de viervoudige meetopstelling.

De experimenten met de enkelvoudige opstelling konden worden uitgevoerd zonder veel problemen. De apparatuur functioneerde redelijk goed en ook het geproduceerde stikstof in de gasfase was overeenkomstig met het verdwenen stikstof in het water. Na modificatie van de enkelvoudige opstelling tot een viervoudige opstelling zijn de experimenten met veel meer problemen gepaard gegaan. Problemen met apparatuur (gas- en waterpompen) resulteerde in het steeds opnieuw opstarten, het voortijdig stopzetten of het onvolledig uitvoeren van experimenten. De pompen bleken niet geschikt te zijn de gassen en water door het lange leidingsysteem te pompen.

De gemeten denitrificatiesnelheid in de twee waterlopen in het Schuitenbeekgebied verschillen weinig van elkaar (9,9 en 10,1 mg m<sup>-2</sup>uur<sup>-1</sup>). De denitrificatiesnelheid van de monsters uit de Rosep varieert tussen 20 en 40 mg m<sup>-2</sup>uur<sup>-1</sup>.

Wanneer deze techniek wordt toegepast in toekomstige projecten, dan zullen er een aantal aanpassingen gedaan moeten worden zo dat de problemen van de viervoudige opstelling niet meer voor kunnen doen. Eén van de belangrijkste aanpassing zou kunnen zijn het inkorten van het water- en gascircuit en het gebruik van een andere gasmonsternametechniek.

# 1 Inleiding

## 1.1 Probleemstelling

In het landelijk gebied is eutrofiëring van kleine oppervlaktewateren één van de belangrijkste waterkwaliteitsproblemen. De belangrijkste bron van nutriënten is uit- en afspoeling vanuit de landbouwgronden. De normen worden in veel gevallen dan ook niet gehaald. Maatregelen om de concentratie aan nutriënten te verminderen zijn daarom noodzakelijk. Deze maatregelen zullen zich onder andere richten op de reductie van de mestgift. Omdat de maatregelen nogal ingrijpend kunnen zijn, is het voor de beheerders van belang inzicht te krijgen in de effectiviteit van de maatregelen. De effectiviteit van dergelijke maatregelen kan worden voorspeld met behulp van dynamische modellen, waarmee de uitspoeling van nutriënten naar het oppervlaktewater wordt gesimuleerd. Echter, niet alleen de belasting is bepalend voor de concentratie die in het oppervlaktewater, ook processen in de waterbodem en het oppervlaktewater zelf zijn.

Voor stikstof speelt de waterbodem een belangrijke rol, omdat deze kan zorgen voor een verwijdering van stikstof uit het systeem ten gevolge van denitrificatie. Uit modelberekeningen (Roest en Groenendijk, 1994) blijkt dat de verwijdering van nitraat in de waterbodem als gevolg van denitrificatie een belangrijke reductie aan de N-concentratie in het oppervlaktewater kan gaan leveren. Voor toetsing van deze modelresultaten is het echter noodzakelijk kennis te hebben over de in het veld voorkomende denitrificatiesnelheden. In de literatuur zijn weinig kwantitatieve gegevens voorhanden betreffende de denitrificatiesnelheid in kleine langzaamstromende, ondiepe wateren. Om die reden is door DLO-Staring Centrum gewerkt aan een meetopstelling om zo goed mogelijk de denitrificatiesnelheid van waterbodems in kleine lijnvormige wateren in het landelijk gebied te bepalen.

## 1.2 Doelstelling

Het doel van dit onderzoek was tweeledig. In eerste instantie moest er een methode worden ontwikkeld waarmee de actuele denitrificatiesnelheid kan worden bepaald van een ongestoord slootmonster, bestaande uit een bodemlaag en een waterkolom. Deze methode werd in eerste instantie in enkelvoud opgezet, maar is in een later stadium zodanig uitgebreid dat van 4 monsters tegelijkertijd de denitrificatiesnelheid kan worden bepaald, zodat ook de variatie in denitrificatie-snelheden op korte afstand zichtbaar wordt.

Tweede doel was de methode te gebruiken om inzicht te krijgen in het verschil in denitrificatie-snelheid als gevolg van bodemtype en belastingsniveau van de waterbodem. Hiertoe werd een proefopzet gemaakt waarbij in twee waterlopen monsters zijn genomen en in elke waterloop twee plaatsen zijn geselecteerd, één in intensief landbouwgebied en de ander in een extensief landbouwgebied of natuurterrein.

### 1.3 Denitrificatie

Denitrificatie is het microbiologische proces waarbij onder anaerobe omstandigheden nitraat wordt gereduceerd tot moleculair stikstof en waarmee dus stikstof uit het systeem wordt verwijderd. Bij de omzetting van nitraat naar stikstofgas wordt organische stof geoxideerd. Denitrificatie speelt zich met name af in de waterbodem.

De waterbodem bestaat uit een aerobe, een anoxische en een anaerobe zone (fig.1). Vanuit het water diffunderen ammonium en nitraat naar de aerobe laag. In de aerobe laag wordt organisch materiaal onder invloed van zuurstof worden omgezet tot ammonium. Dit ammonium kan achtereenvolgens door de aanwezigheid van zuurstof worden genitrificeerd tot nitraat. Naar de hieronder gelegen anoxische zone kunnen het opgeloste organische stof, ammonium en nitraat diffunderen. Daar wordt ammonium gevormd uit organische stof en wordt nitraat gereduceerd tot distikstofoxide en stikstofgas. Stikstofgas en distikstofoxide verdwijnen via het water naar de atmosfeer (Snodgrass, 1986).

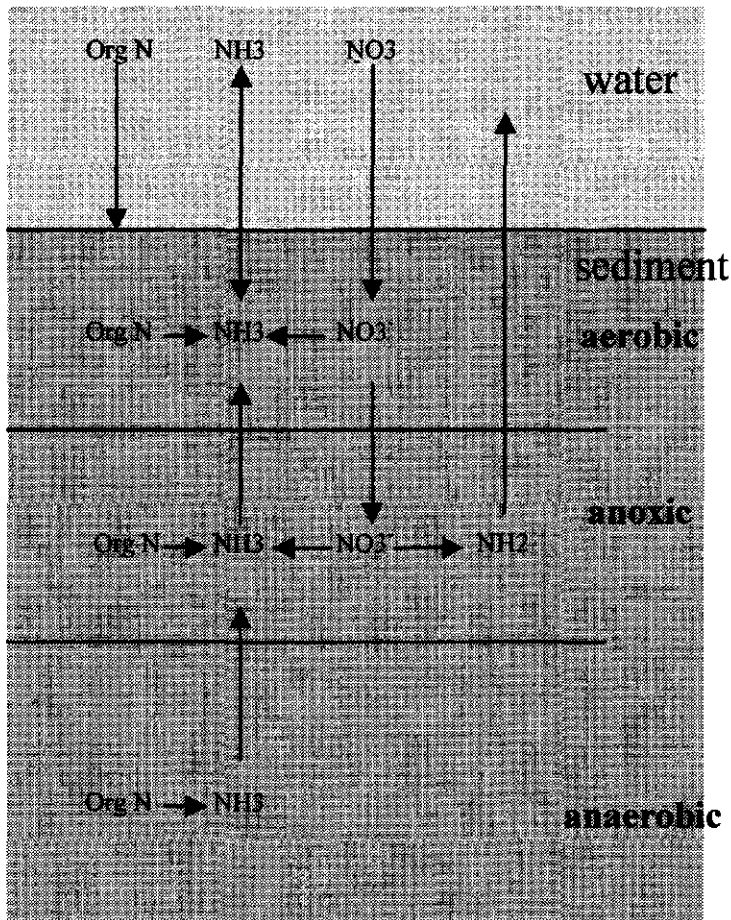
Tijdens de denitrificatie kan distikstofoxide als tussenproduct gevormd worden. De snelheid van denitrificatie is afhankelijk van factoren als nitraatconcentratie en organische stofgehalte, temperatuur, zuurgraad, bacteriefauna, zuurstofgehalte en remstoffen. Denitrificatie kan alleen plaatsvinden in aanwezigheid van nitraat en afwezigheid van zuurstof. Organische stof is voor denitrificatie de electronendonor en bepaald in sterke mate de denitrificatiesnelheid. Makkelijk afbreekbaar organisch materiaal versnelt de denitrificatie. Het pH-optimum ligt in natuurlijke omstandigheden tussen 7 en 8. Bij lage pH wordt er meer distikstofoxide gevormd. Distikstofoxide wordt dan niet verder gereduceerd doordat het hiervoor verantwoordelijke enzym geremd wordt. Bij een lage temperatuur verloopt het denitrificatieproces trager dan bij hoge temperaturen. De bacteriefauna speelt eveneens een belangrijke rol, omdat bacterien ervoor moeten zorgen dat nitraat gereduceerd wordt. Verder kunnen stoffen als acetyleen, pesticiden en sulfide denitrificatie remmen (Visser, 1989).

### 1.4 Leeswijzer

De ontwikkeling van de opstelling waarmee denitrificatiesnelheden kunnen worden bepaald is een proces geweest waarbij onderdeel voor onderdeel aan de opstelling is toegevoegd en getest, alvorens het geheel als meetopstelling te gebruiken was. Hierbij moest worden geëxperimenteerd met verschillende materialen en apparaten. Uiteindelijk is een enkelvoudige opstelling ontstaan die is uitgetest met een aantal monsters uit het Schuivenbeekgebied. Na goedbevinden van de opstelling is deze uitgebreid tot een viervoudige opstelling waarmee 4 monsters simultaan doorgemeten kon worden. Tevens zijn aan deze opstelling een aantal wijzigingen aangebracht die wenselijk waren na het gebruik van de enkelvoudige opstelling. In hoofdstuk 2 wordt de meetopstelling beschreven. Zowel met de enkelvoudige als viervoudige meetopstelling zijn monsters doorgemeten. Hoofdstuk 3 gaat in op de meetprocedure. In hoofdstuk 4 worden de resultaten weergegeven van denitrificatiemetingen van monsters die in het veld zijn genomen. Het functioneren van de meetopstelling op technisch vlak en in relatie tot de resultaten van de metingen worden besproken in



hoofdstuk 5. Daarnaast besteed hoofdstuk 5 wordt in hoofdstuk 5 ook ingegaan op de extrapolatie van de gegevens naar de praktijk. In hoofdstuk 6 worden daarna de conclusies besproken.



*Figuur 1 Stikstofprocessen in sediment (Snodgrass, Klapwijk 1986)*

## 2 Ontwikkeling van de meetopstelling

### 2.1 Meetmethode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid

Voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid van waterbodems zijn verschillende meetmethoden ontwikkeld. Hieronder is een kort overzicht gegeven van de meest voorkomende methoden om denitrificatiesnelheid van waterbodems te bepalen (Van Luijn, 1992).

#### *Verandering van nitraatconcentratie*

Bij de bepaling van de denitrificatiesnelheid door vaststelling van de afname van de nitraatconcentratie in de waterloop de denitrificatiesnelheid veelal overschat omdat een deel van het verdwenen nitraat tot ammonium wordt gereduceerd, dat vervolgens gebruikt wordt voor celgroei.

#### *Stikstofbalans*

Wanneer in plaats van de afname van nitraat de afname van stikstof in een waterloop wordt vastgesteld kan een betere benadering van de denitrificatiesnelheid worden verkregen. (Cooper, 1990). Hierbij wordt gekeken naar alle onderdelen in de stikstofkringloop zoals de concentratie ammonium, nitraat en organisch materiaal in het oppervlaktewater en grondwater dat aangevoerd en afgevoerd wordt, en opbouw van celmateriaal. De restpost is denitrificatie. Het risico hierbij is dat alle fouten in berekeningen en bepalingen van de stikstofkringloop samen komen in deze restpost. Tevens moeten voor deze methode veel analyses gedurende een lange tijd gedaan worden.

#### *Toevoeging van $^{15}\text{NO}_3^-$*

Bij het gebruik van gelabeld nitraat wordt de afname van gelabeld nitraat of het geproduceerde  $\text{N}_2$ , dat eveneens gelabeld is, gemeten met een massaspectrometer. (Delaune & Smith, 1987; Koike & Hattori, 1978) Het nadeel hiervan is dat de meetresultaten moeilijk zijn te interpreteren en dat de analyses erg kostbaar zijn.

#### *Acetyleen inhibitie*

Door toevoeging van acetyleen wordt de reductie van  $\text{N}_2\text{O}$ , het tussenproduct van de reductie van  $\text{NO}_3^-$ -N tot  $\text{N}_2$ , geremd (Chan & Knowles, 1979). Het  $\text{N}_2\text{O}$  hoopt zich op in een meetvat en kan worden geanalyseerd met behulp van gaschromatografie. Deze methode is snel en gevoelig en wordt niet verstoord door de hoge achtergrondconcentraties van  $\text{N}_2$ . Het nadeel van deze methode is dat acetyleen ook andere processen remt, met name denitrificatie, zodat de interpretatie van de uitkomsten moeilijk is.

#### *Directe meting*

Door de reactieproducten van denitrificatie in de tijd direct te meten, vervallen alle nadelen van de hiervoor beschreven methoden (Devol, 1991). Ook de nalevering van het  $\text{N}_2$  uit het sediment moet hierbij worden vastgesteld. Het nadeel van deze methode is dat de achtergrondwaarde van het atmosferisch  $\text{N}_2$  veel te hoog is om het geproduceerde  $\text{N}_2$  betrouwbaar te kunnen meten. De oplossing hiervoor is het vervangen van

atmosferisch stikstof door helium, waarbij de meting in een volledig gasdicht meetstelsel moet plaatsvinden. Deze methode is ontwikkeld door Seitzinger et al. (1980) en geeft resultaten die de werkelijkheid in grote mate benaderen.

## **2.2 Uitgangspunten en principe van de opstelling**

De uitgangspunten van de ontwikkelde meetmethode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid in in waterbodems zijn:

1. Bepaling van de denitrificatiesnelheid op basis van geproduceerde eindproducten (stikstofgas en eventueel distikstifoxide)
2. Bepaling van de denitrificatiesnelheid onder anaerobe en eventueel aerobe omstandigheden
3. Bepaling van de denitrificatiesnelheid in een ongestoord waterbodemprofiel uit een agrarische waterloop
4. Bepaling van de denitrificatiesnelheid na toevoeging van nitraat in oppervlaktewater of kwelwater aan het monster.

Aan de hand van deze uitgangspunten is een meetmethode ontwikkeld op basis van directe meting.

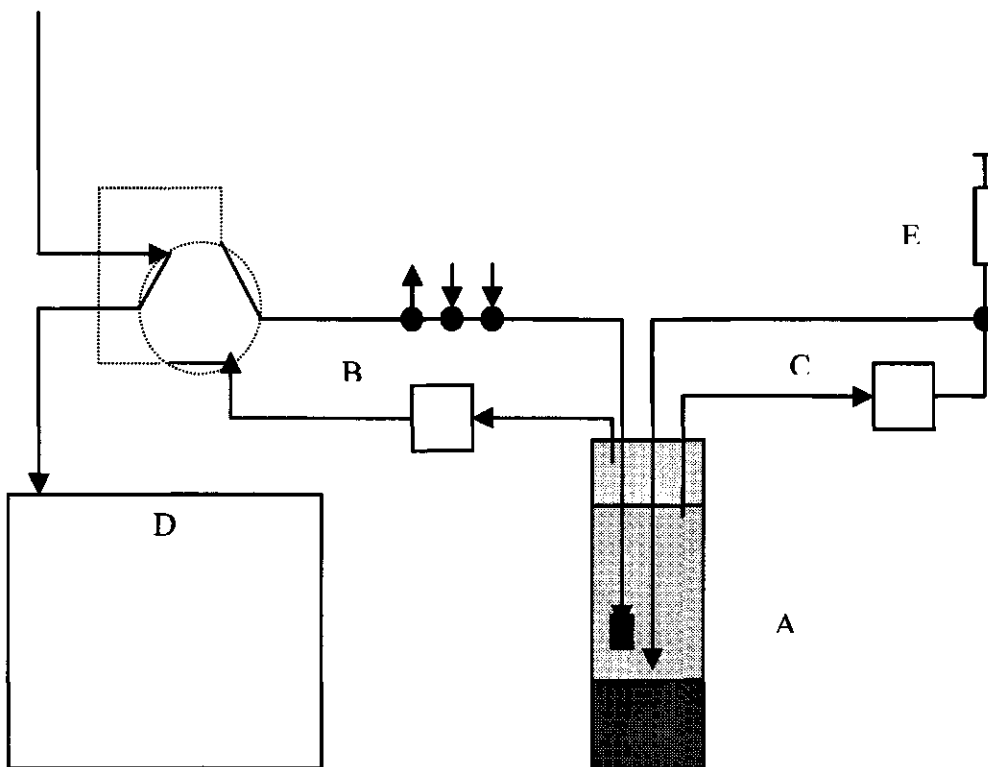
Uit de literatuurstudie blijkt dat de directe meting volgens Seitzinger het meest overeen komt met de uitgangspunten van de te ontwikkelende meetmethode. Seitzinger ontwikkelde een methode voor de bepaling van de denitrificatiesnelheid in waterbodems waarbij het geproduceerde stikstofgas en distikstifoxide direct worden gemeten (Seitzinger et al, 1980). Hiervoor wordt een waterbodemmonster genomen en in een gasdicht afsluitbaar meetvat overgebracht. Aan het monster wordt water toegevoegd. Het water en de bovenstaande gasfase worden gedurende enkele uren met helium (experiment onder anaerobe omstandigheden) of helium met 21% zuurstof (experiment onder aerobe omstandigheden) gespoeld om het opgeloste stikstofgas uit het monster te verwijderen. Een schroefroerder brengt het water zodanig in beweging dat het sediment op de bodem blijft liggen. Op verschillende tijden wordt na het spoelen van het water met helium een gasmonster genomen. Dit gasmonster wordt geanalyseerd met behulp van gaschromatografie. De nitraatconcentratie wordt bepaald door een watermonster te nemen en dat te analyseren met behulp van vloeistofchromatografie of fotospectrometrie. Het water en de gasfase worden vervolgens met helium of helium met zuurstof gespoeld. Op deze manier wordt de stikstof- en distikstifoxide toename en de zuurstof- en nitraatafname bepaald tussen twee bemonsteringen. De verkregen waarden worden cumulatief verwerkt.

## **2.3 Werkingsprincipe van de enkelvoudige meetopstelling**

Door SC-DLO is een meetopstelling is ontwikkeld om de eindproducten van het denitrificatieproces te kunnen analyseren. De opstelling wordt in dit rapport beschreven als een enkelvoudige opstelling. Met deze opstelling wordt de denitrificatiesnelheid van één monster bepaald. Na het voltooien van een aantal experimenten met deze opstelling is een viervoudige opstelling geconstrueerd. Met de

viervoudige opstelling is het mogelijk de denitrificatiesnelheid van vier monsters simultaan te bepalen. In dit hoofdstuk wordt de opstelling en de verschillende onderdelen kort beschreven. Tevens wordt het ontwikkelingstraject van de verschillende onderdelen behandeld. In bijlage is een gedetailleerde beschrijving van de gebruikte materialen opgenomen.

De opstelling (fig. 2) bestaat uit een meetvat (a) en twee leidingsystemen voor respectievelijk de gas- en waterfase (resp. b en c). In het meetvat, waarin zich een stukje sloot bevindt, wordt nitraat in het sediment onder anaerobe omstandigheden omgezet tot stikstofgas. Het stikstofgas gaat vervolgens in oplossing in het water. Het van nature aanwezige stikstofgas is voor de start van het experiment vervangen door helium, zo dat een kleine toename van stikstof meetbaar wordt. Het helium wordt door het gascircuit in het water gepompt, zodat er een uitwisseling ontstaat van het geproduceerde stikstofgas naar de gasfase. Analyse van het stikstofgas (en eventuele andere gassen als zuurstof, distikstofdioxide en methaangas) wordt geanalyseerd met een online aangesloten gaschromatograaf (d). Het water wordt door het watercircuit rondgepompt tot vlak boven het grensvlak water-waterbodem. Hierdoor is het mogelijk het water vlak langs het oppervlak in beweging te houden. Tevens kan in het watercircuit een watermonster genomen worden om de nitraatconcentratie vast te stellen (monsternamespuit e).

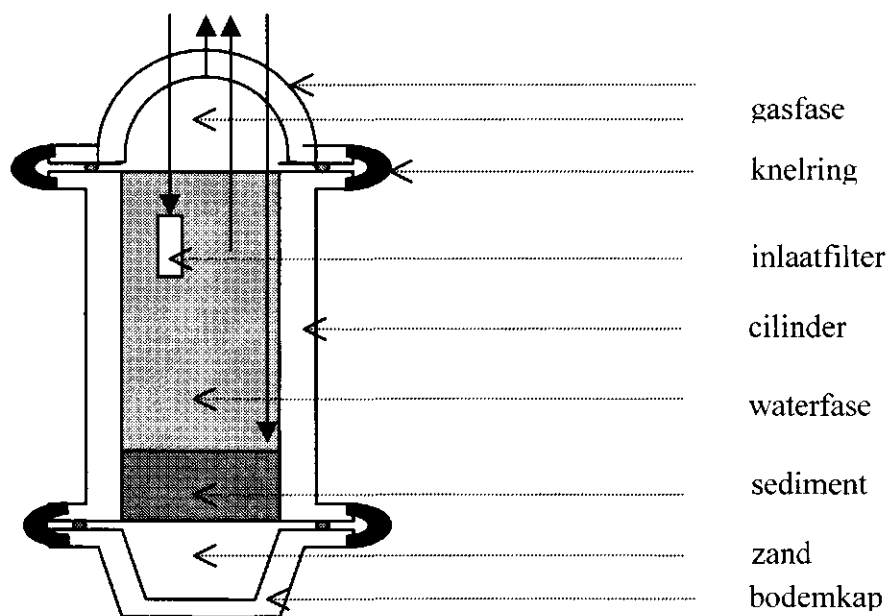


*Figuur 2 Schematische weergave van de meetopstelling*  
*A = meetvat, B = gascircuit, C = watercircuit, D = gaschromatograaf,*  
*E = monsternamespuit*

### Meetvat

Het meetvat (fig. 3), die is geplaatst in een klimaatkast, bestaat uit een glazen cilinder die aan beide zijden is afgesloten met een kap. Het volume in de onderkap is opgevuld met hars of zand maar vormt geen onderdeel van het monster. In de cilinder bevindt zich een (vrijwel) ongestoord profiel van een sloot bestaande uit de waterbodem (sediment in de vorm van detritus, met moedermateriaal in de vorm van klei of zand). Het volume onder de bovenkap is bestemd voor de gasfase. Het totale beschikbare volume van het meetvat is 1000 ml, waarvan ongeveer 200 ml bestemd is voor de slootbodem en 800 ml voor het water. Het gasvolume is 100 ml. In het meetvat komen 4 leidingen van het gas- en watercircuit uit. Ongeveer 1 cm boven het grensvlak water-waterbodem komt de aanvoerleiding van het water uit, terwijl de afvoerleiding in de bovenste helft van de waterfase begint. De uitlaat van het gascircuit is ongeveer 5 cm onder het wateroppervlak geplaatst, terwijl de inlaat van het gascircuit in het hoogste punt van de bovenkap is gesitueerd.

Tijdens de ontwikkeling van de meetopstelling zijn verschillende materialen gebruikt voor het meetvat. Het eerste meetvat was gemaakt van een cilinder van polycarbonaat, geklemd tussen twee kappen van perspex. De contactpunten tussen de onderdelen werden met siliconenvet ingevet zodat een vrijwel gasdicht meetvat ontstond. Bij langdurige metingen bleek echter dat in het meetvat gevuld met water een toename van stikstof meetbaar was. Diffusie van stikstof door het gebruikte materiaal bleek de voor de hand liggende verklaring te zijn nadat de gehele opstelling was getest op gasdichtheid. De cilinder van polycarbonaat werd vervangen door een glazen cilinder van dezelfde afmeting. Een kleine verbetering werd hierdoor wel gerealiseerd, maar niet voldoende. Tevens was het niet mogelijk een slootbodemprofiel te steken met een glazen cilinder. Hierna werd besloten een glazen meetvat, zoals beschreven in te gebruiken.



Figuur 3 Meetvat, zoals gebruikt in de meetopstelling

### ***Gascircuit***

In de enkelvoudige opstelling bestaat het gascircuit uit een 2 meter lange roestvrijstalen leiding met een inwendige diameter van 1 mm, een balgmembraanpomp, twee tapkranen voor respectievelijk helium en een gasmengsel bestaande uit helium (79%) en zuurstof (21%), en een aftapkraan, en een monsternamekraan (Metal Bellow E21) aangesloten op een gaschromatograaf (Packard 427). De gebruikte gaspomp heeft een roestvrijstalen balg en een roestvrijstalen kleppen in een teflon behuizing. Hierdoor ontstaat een gasdichte pomp waarlangs geen stikstof in het systeem kan binnendringen. De volgens de fabrikant maximale lekkage  $0,1 * 10^{-6}$  ml.min<sup>-1</sup>. Met de gaspomp wordt het helium met 260 ml.min<sup>-1</sup> uit de gaskamer, door het leidingsysteem en de monsternamekraan, in het water in het meetvat gepompt. Aan het eind van deze leiding, die zo is geplaatst dat het sediment (het detritusmateriaal) niet in beweging komt, is een roestvrijstalen filter geplaatst voor de vorming van kleine bellen. Hierdoor ontstaat een uitwisseling van het in water opgeloste stikstof als gevolg van het denitrificatieproces, naar de gasfase. Met de tapkranen is het mogelijk het systeem te spoelen met helium en het op de gewenste druk te brengen. De monsternamekraan op de gaschromatograaf is voorzien van een 10 µl monsterloop. Op gezette tijden wordt de inhoud van de monsterloop in de gaschromatograaf gebracht en geanalyseerd. Hier vindt een scheiding van stikstof, helium, zuurstof, en eventueel methaan en distikstofoxide plaats. Monstername gebeurt door aansturing van de monsternamekraan door een computer.

### ***Watercircuit***

In de enkelvoudige opstelling bestaat het watercircuit uit een 2 meter lange roestvrijstalen leiding met een inwendige diameter van 2,2 mm, een plunjerpomp (Fluid Metering Pump QG6) en een monsternamesysteem. De pomp die in de opstelling gebruikt is heeft een keramische plunjer in een keramische mantel. Door een roterende en pompende beweging van de plunjer heeft de pomp geen kleppen nodig om het water te verpompen. Specificaties over de gasdichtheid van de pomp zijn niet bekend. De maximaal toelaatbare tegendruk van de pomp is 6 bar en de maximale pompsnelheid is 1,9 ml.min<sup>-1</sup>. Met de pomp wordt het water met een snelheid van 1 ml.min<sup>-1</sup> vanuit de bovenste helft van het meetvat, via het watercircuit, tot vlak boven het grensvlak water-waterbodem gepompt. Hierdoor ontstaat een lichte stroming langs het grensvlak met, afhankelijk van de situatie, nitraatrijk of nitraatarm water. Het water in het meetvat wordt verder in beweging gebracht doordat het helium in het water gepompt wordt. Belasting van het water met nitraat, of bemonstering van het water voor nitraatanalyse, gebeurt door middel van een monsternamespuit. Hierbij wordt de kraan naar de spuit geopend en de punjer in de spuit wordt afhankelijk van de pomprichting naar buiten (monstername) of naar binnen (belasting of compensatie) gedrukt. Het watermonster wordt gefiltreerd over 0,45 µl en geanalyseerd op nitraat (en eventueel op ammonium).

In eerste instantie is gebruik gemaakt van een slangenpomp (Verder peristaltic 2000). Diffusie van stikstof door de slangen werd getracht te voorkomen door de pomp in een met helium gevulde kast te plaatsten. Door overmatige warmteproductie en geringe tegendrukcapaciteit is deze pomp vervangen door een kleploze plunjerpomp. Voor deze pomp is gekozen omdat hierin geen onderdelen zijn verwerkt waardoor

diffusie van stikstof kan optreden. Het enige kritieke punt is de ruimte tussen de plunjer en de mantel.

### ***Gaschromatograaf***

De samenstelling van de gasfase wordt bepaald met behulp van gaschromatografie. Hiervoor wordt een Packard 427 gaschromatograaf met een GowMac micro thermische geleidbaarheidsdetector (TCD ofwel katharometer) wordt hiervoor gebruikt. Op de poorten van de monsternamekraan is een 10 µl monsterloop, het gascircuit en de gaschromatograaf aangesloten. De monsterloop is een onderdeel van het gascircuit. Voor de analyse van de gasfase wordt de injectiekraan omgezet zodat de inhoud van de monsterloop door het dragergas naar de analytische kolom wordt gebracht. Hierbij is het gascircuit niet onderbroken, maar tijdelijk ingekort met de monsterloop. De inhoud van de van de loop wordt aan het monster in het gascircuit onttrokken. Hierdoor daalt de de hoeveelheid stikstof en helium in de gasfase van het meetvat. Echter wanneer de kraan in de uitgangssituatie gezet wordt, wordt de inhoud van de loop met het dragergas helium aan de gasfase toegevoegd. Het is hierbij noodzakelijk dat de druk van het dragergas gelijk is aan de druk in de meetopstelling om geen verandering van de druk als gevolg van monstername te veroorzaken. De analyse van het gasmonster gebeurt door de gaschromatograaf. Twee typen analytische kolommen kunnen gebruikt worden voor de scheiding en analyse van de componenten in het gasmonster. De keuze van de kolom hangt af van de te meten componenten. Een Carboplot kolom is geschikt voor de scheiding van stikstof, methaan en distikstofoxide. De analyse duurt ongeveer 3 minuten. De scheiding van zuurstof en stikstof is vaak niet voldoende, vooral wanneer het gas een hoge concentratie zuurstof bevat. De stikstofpiek komt dan op de schouder van de zuurstofpiek te liggen. Een Molsieve 5 Å kolom is zeer geschikt voor de scheiding van zuurstof, stikstof en methaan, maar niet geschikt voor distikstofoxide. De retentie van deze laatste component is zo groot dat de piek niet meer waarneembaar is. De analyse duurt ongeveer 5 minuten. In dit onderzoek is gebruik gemaakt van de molsieve 5 Å kolom. De oventemperatuur is 35 °C en de gasflowsnelheid is 10 ml.min<sup>-1</sup>. De kolom is aangesloten op een thermische geleidbaarheidsdetector met microfillamenten. De component worden gedetecteerd als gevolg van verschil in thermische geleidbaarheid tussen de component en het dragergas. De detector heeft een temperatuur van 200 °C en een ingestelde stroomsterkte van 120 mA.

### ***Besturing en dataverwerking***

De gasanalyse wordt automatisch uitgevoerd. Een personal computer met interface (Serial Valve Interface, Valco Instruments Inc.), aangesloten op de seriele poort van de computer, besturen de monsternamekraan en het dataverwerkingssysteem. De interface is oorspronkelijk ontwikkeld om elektrisch aangedreven Valco-kranen te besturen. Na modificatie is het mogelijk persluchtaangedreven kranen met een 220 Volt relais (de monsternamekraan) te besturen en ook andere apparatuur aan en uit te zetten. Het besturingsprogramma wordt geladen met een tijdsreeks waarin commando's zijn opgenomen. Deze commando's 'load' of 'inject' staan als gevolg van de modificatie voor 'aan' of 'uit'. Aan het einde van de tijdsreeks wordt deze herhaald. De detector is aangesloten aan het dataverwerkingssysteem Multichrom (Fisions). Het signaal van de detector wordt gedurende een bepaalde tijd verzameld en verwerkt tot een chromatogram en een analyserapport.

Door deze automatisering is het mogelijk op gewenste tijdstippen 24 uur per dag gasmonsters te nemen en te analyseren. Hierdoor wordt het verloop van de stikstofconcentratie in de gasfase gemeten waarbij de buigpunten van de stikstofcurve exact vastgelegd kunnen worden.

Verschillen tussen de ontwikkelde meetmethode en de methode volgens Seitzinger  
Het verschil met de methode van Seitzinger is dat met de hierboven beschreven methode het systeem gedurende het gehele experiment gesloten blijft. De water- en gasfase worden hierbij niet vervangen voor of na de analyse van een gasmonster. Met deze methode worden de veranderingen in de samenstelling van de beide fases gemeten. Een analyse van de gasfase levert direct informatie op over de geproduceerde hoeveelheid stikstof en distikstofdioxide. Met uitzondering van de stikstof in het geanalyseerde gasmonster blijft alle geproduceerde stikstof in het monster aanwezig. Daarnaast is er een continue uitwisseling van stikstof uit de waterfase naar de gasfase. Door de gasmonsternamen te automatiseren kan op geregelde tijden de gasfase worden bemonsterd en geanalyseerd.

## **2.4 Aanpassen van de enkelvoudige naar een viervoudige opstelling**

Met de enkelvoudige opstelling is het mogelijk om van 1 monster de denitrificatiesnelheid te bepalen. De totale duur van een experiment is, afhankelijk van de denitrificatiesnelheid en de tijdsduur van de stabilisatietijd voorafgaand aan de nitraatbelasting, tussen 2 en 4 weken. Bij dergelijke bepalingen, waarbij het tijdstip en de omstandigheden waarbij het slootmonster genomen is (temperatuur, nitraatconcentratie in de periode voor bemonstering e.d.) van invloed kunnen zijn op de resultaten van het experiment, is het wenselijk meerdere monsters tegelijk in behandeling te nemen. Gekozen is de opstelling tot een viervoudige opstelling uit te breiden. Met deze opstelling, waarbij 4 monsters onafhankelijk van elkaar worden doorgemeten, is het mogelijk de monsters op verschillende wijze te belasten met nitraat. Hierdoor kunnen duplo's en blanco's gemeten worden. De enkelvoudige opstelling moest hiervoor echter enkele wijzigingen ondergaan.

In de klimaatkast zijn 4 identieke meetvaten geplaatst. De meetvaten zijn genummerd volgens de poorten van de systeemkeuzekraan waarop de betreffende gascircuits zijn aangesloten. De gascircuits zijn op de even poorten aangesloten zodat de meetvaten de nummers 2, 4, 6 en 8 hebben gekregen. De leidingen van de vier gascircuits gaan via een schakelpaneel, waarop de 2 tapkranen en de aftapkraan per gascircuit, naar een meerpositiekraan. Met deze kraan is het mogelijk het gewenste meetvat in verbinding te stellen met de monsternamekraan op de gaschromatograaf. In elk gascircuit is tevens een druksensor opgenomen voor de registratie van de druk gedurende het experiment.

De leidingen van het watercircuit gaan eveneens naar het schakelpaneel. Hierop zijn twee kranen per circuit gemonteerd met daartussen een monsterloop van 10 ml (een stukje leiding met een inhoud van 10 ml dat in of uit het vloeistofcircuit kan worden gedraaid). Het watermonster wordt genomen door de loop uit het circuit te halen en de inhoud met helium leeg te blazen. Vervolgens wordt de inhoud van de loop gevuld



met de een nitraatoplossing of met slootwater, waarna de loop weer in het watercircuit wordt opgenomen. Door het ordelijk plaatsen van de kranen op een schakelpaneel zijn de gas en watercircuits met ongeveer 4 meter toegenomen tot 6 meter. De gas- en waterpompen zijn geplaatst in de klimaatkast.

## **2.5 Controle van de opstelling**

Bij het gebruik van de opstelling zijn een aantal controlepunten die regelmatig nagezien moet worden.

### ***Gasdruk***

De heersende druk in het systeem wordt weergegeven met een drukmeter (in de enkelvoudige opstelling) of door middel van een schrijver die is aangesloten op een druksensor (in de viervoudige opstelling). Bij een gasdichte opstelling zal de druk constant blijven en alleen bij monstername van de gasfase tijdelijk hoger zijn. Dit wordt veroorzaakt door de hogere tegendruk in het leidingsysteem als gevolg van de monsterloop. De monsterloop heeft een kleiner inwendige diameter waardoor de pomp meer weerstand ondervindt bij het pompen. Een licht dalende systeemdruk in de opstelling gedurende het experiment is het gevolg van de monstername van de gasfase. Dit zal echter grotendeels gecompenseerd worden door het helium dat aan het systeem wordt toegevoegd wanneer de monsternamekraan weer wordt omgezet. Wanneer er een duidelijke afname van de systeemdruk wordt waargenomen is het systeem lek. De koppelingen zijn voor het ingebruik nemen van de opstelling met een zeepoplossing gecontroleerd op lekkage. De meest waarschijnlijke lekkage zal zijn in het meetvat waar één van de kappen niet goed op de cilinder is aangesloten. Daarnaast kan de lekkage het gevolg zijn van een kapotte pompklep in de gaspomp of een gebroken plunjer in de waterpomp. In dit laatste geval kan er ook water ontsnappen uit het systeem.

### ***Gasstroom***

In een goed functionerende opstelling is de gasstroom waarneembaar door het ontsnappen van kleine gasbellen uit het roestvrijstalen filter in het meetvat. Wanneer deze niet waargenomen worden sluiten de pompkleppen in de gaspomp niet meer. Kappotte pompkleppen of een uitgevallen pomp zijn hiervan het gevolg. Dit kan zijn ontstaan als gevolg van verstopping, lange levensduur van de pompkleppen of oververhitting. Het vervangen van de pompkleppen betekent dat het experiment gestaakt moet worden.

### ***Waterstroom***

Het functioneren van de waterpomp is moeilijk waarneembaar. De waterstroom is namelijk niet zichtbaar in het meetvat. Bij een gebroken plunjer als gevolg van overbelasting (meestal als gevolg van een te hoge tegendruk), draait de pomp gewoon door. Ook het uiteinde van de plunjer die in verbinding staat met de motor maakt een gewone beweging. De plunjer moet daarom goed bekeken worden om een breuk te kunnen ontdekken. Een gebroken plunjer is meestal wel waarneembaar tijdens het spoelen van het systeem met helium. Uit de wateraanvoerleiding ontsnapt dan meestal kleine luchtbellen. Een gebroken plunjer is meestal de oorzaak dat de verwachte

stikstoftoename in het systeem na belasting van het monster met een nitraatoplossing uitblijft.

## **2.6 Beveiligingen**

Tijdens de ontwikkeling van de opstelling en het gebruik van zowel de enkelvoudige als de viervoudige opstelling zijn enkele beveiligingen aangebracht aan de opstelling. Niet alle beveiligingen waren op de opstelling aanwezig bij alle experimenten.

### ***Gaspompen***

Voor de aanvang van een experiment wordt het waterbodemmonster gedurende 2 uur gespoeld met helium. Om schade aan de pompkleppen van de gaspomp te voorkomen is het middels een tweewegkraan mogelijk de gaspomp uit het gascircuit te nemen zonder dat het systeem hiervoor geopend moet worden. Tijdens het spoelen wordt de kraan zo gezet dat het spoelhelium niet door de pomp geblazen wordt. Na het instellen van de gewenste druk in het systeem wordt de kraan omgezet waardoor de pomp in het systeem is opgenomen. De drukval als gevolg van een lagere druk in de pomp ten opzichte van de druk in de rest van het systeem is te verwaarlozen.

### ***Gaschromatograaf***

Om doorbranden van de detector in de gaschromatograaf als gevolg van een tekort aan helium (als dragergas) te voorkomen, is in de heliumleiding naar de gaschromatograaf een gasdrukschakelaar ingebouwd. Bij een voordruk minder dan 4 bar wordt de gaschromatograaf en de detector door de schakelaar uitgezet. De levensduur van onderdelen in de detector kan worden verlengd door de detector, wanneer deze aan staat, niet in contact te laten komen met zuurstof. Hiervoor is een zuurstoffilter in de afvoerleiding van de detector opgenomen zodat bij het wegvallen van de gasstroom door de detector geen zuurstof vanuit de afvoerleiding de detector kan binnenstromen.

### ***Watercircuit***

De maximale toegestane tegendruk voor de waterpompen is 6 bar. De keramische plunjer in deze pomp kan bij hogere druk breken. Bij ophoping van vast materiaal in de leiding is het mogelijk dat de druk toeneemt tot boven deze waarde. Ter beveiliging is in het watercircuit direct achter de pomp een overdrukventiel opgenomen die staat afgesteld op 4 bar. Zodra de druk tot boven 4 bar oploopt wordt het water via het overdrukventiel weggepompt.

### ***Procestemperatuur***

De procestemperatuur (de temperatuur waarop de klimaatkast is ingesteld) is zichtbaar op het display aan de voorkant van de klimaatkast. Indien er een afwijking is van meer dan 2,5 °C (als gevolg van het openen van de kast) langer dan 5 minuten wordt kenbaar gemaakt met een alarmsignaal. De klimaatkast blijft doorgaan met koelen of bijverwarmen. Het alarmsignaal kan uitgezet worden zonder dat het invloed heeft op de werking van de klimaatkast. Onder normale omstandigheden bereikt de klimaatkast de ingestelde waarde, tenzij er de eventueel hierin geplaatste pompen teveel warmte blijven produceren.

### **3 Bepaling van de denitrificatiesnelheid van waterbodems**

#### **3.1 Monstername in het veld**

Voor het meten van de actuele denitrificatie van slootbodems is het noodzakelijk een ongestoord slootprofiel, bestaande uit de waterbodem en het bovenstaande slootwater, te verzamelen. Hiervoor wordt een doorzichtige monsternamecilinder van polycarbonaat met een zelfde inwendige diameter als het meetvat, en een lengte van 30 cm ongeveer 15 cm in de sloot gedrukt. De slootbodem, en met name de detrituslaag dient hierbij niet verstoord te worden. De monsternamecilinder wordt vervolgens aan de bovenzijde met een rubber stop afgesloten. De monsternamecilinder wordt voorzichtig uit de slootbodem getrokken en onder water aan de onderzijde eveneens afgesloten met een rubber stop. Hierbij wordt de stop aan de bovenzijde iets ingedrukt zodat het overtollig water aan de bovenzijde kan wegstromen. Het slootbodemprofiel is goed genomen wanneer de detrituslaag (vrijwel) volledig op de bodem is blijven liggen en wanneer er geen bodemmateriaal verloren is gegaan. De monsternamecilinder met het profiel wordt verticaal naar de meetopstelling in het laboratorium vervoerd.

#### **3.2 Voorbereidingen in het laboratorium**

##### *Plaatsen van het monster in het meetvat*

In het laboratorium wordt de stop aan de onderzijde van de monsternamecilinder verwijderd. Als de stop aan de bovenzijde goed in de monsternamecilinder zit en de waterbodem een vaste structuur heeft, zal het slootprofiel blijven hangen. De monsternamecilinder wordt over een overbrengstang (vergelijkbaar met een zuiger) geplaatst zo, dat de onderkant van de slootbodem op de rubber schijf rust. De stop aan de bovenzijde van de monsternamecilinder wordt verwijderd. De glazen cilinder van het meetvat wordt op de monsternamecilinder gezet, waarna beide cilinders langzaam en voorzichtig naar beneden worden gedrukt. Het slootmonster wordt hierdoor overgebracht in de cilinder van het meetvat. Wanneer de slootbodem ongeveer 10 cm in de cilinder zit, wordt het teveel aan monster afgesneden door een mes tussen de raakvlakken van beide cilinders te halen. De glazen cilinder wordt aan de bovenzijde afgesloten met een rubber stop, waarna de cilinder van de monsternamecilinder kan worden gehaald. De flens van de glazen cilinder wordt met water en een tissue schoongemaakt omdat zandkorrels voor lekkage kunnen zorgen. De cilinder wordt op de onderkap geplaatst waarbij de inhoud van de kap is gevuld met schoon wit zand, oorspronkelijk moedermateriaal of een dummy. De stop aan de bovenzijde wordt hierna verwijderd. Het monster zal hierdoor iets zakken, waarbij het teveel aan lucht en water tussen beide flenzen wegstroomt. Beide onderdelen worden met de spanklem vastgezet. De cilinder wordt verder aangevuld met slootwater. Hierbij mag het sediment niet verstoord worden. De gastoevoerleiding wordt zodanig geplaatst dat de gasinlaat ongeveer 5 cm onder het wateroppervlak uitkomt. De waterafvoerleiding wordt op een hoogte van 10 cm onder het wateroppervlak geplaatst en de wateraanvoerleiding net boven het sediment. De bovenkap wordt op de cilinder gezet

en vastgezet. Het meetvat wordt vervolgens in de meetopstelling geplaatst en de leidingen van het meetvat worden aan de beide circuits gekoppeld.

Plaatsen van het meetvat in de opstelling en het spoelen van het systeem  
Nadat alle leidingen van het meetvat aan resp. het water- en gascircuit zijn aangesloten, worden de kranen zo gezet dat er een gesloten systeem ontstaat. De vloeistofrichtingkeuzekraan wordt zo gezet dat het water van bovenuit het meetvat naar de onderzijde van het meetvat gepompt wordt. De waterpomp wordt aangezet en de kraan bij de gaspomp wordt zo gezet dat de gaspomp buiten het gascircuit is geplaatst.

Om het water en de gasfase te spoelen worden de heliumtoevoerkraan en de afvoerkraan gelijktijdig geopend. De voordruk van helium is ongeveer 1,5 tot 2 bar. Het monster wordt met helium gespoeld. Hierbij mag het sediment niet worden verstoord. Gebeurt dit wel dan moet het meetvat geopend worden en de gasinlaat hoger geplaatst worden. De overdruk in het meetvat mag niet oplopen tot boven 1,5 bar. Het water wordt gedurende 2 uur gespoeld om het opgeloste stikstof en zuurstof uit het water te verwijderen.

#### *Starten van het experiment*

De gasafvoerkraan wordt gesloten na het spoelen van het systeem. De gastoevoerkraan wordt gesloten wanneer een overdruk in het meetvat 1 bar is bereikt. Hierna wordt de gaspomp aangezet en de kraan zo geplaatst dat het gas wordt rondgepompt. Om de initiële nitraatconcentratie vast te stellen wordt er een watermonster genomen. Wanneer het monstervolume gecompenseerd is wordt het besturingsprogramma gestart.

### **3.3 Gasmetingen**

Gasmetingen worden automatisch uitgevoerd volgens een zich steeds herhalend programma. Direct na het starten van het besturingsprogramma wordt de gasfase voor de eerste maal bemonsterd. De monsternamekraan wordt door de computer in de 'load'-stand gezet. Het gas wordt zo door de monsterloop gepompt. Tien seconden later wordt de monsternamekraan in de 'inject'-stand gezet en wordt een startsignaal aan het dataverwerkingssysteem gegeven. De frequentie van de monstername en analyse kan worden ingesteld door middel van het besturingsprogramma. De gasfase werd bij de in dit rapport beschreven experimenten elk uur of elke 4 uur bemonsterd. Voorafgaand aan en na afloop van het experiment worden een aantal analyses gedaan van een ijkgas. De samenstelling van het ijkgas is 4 % v/v stikstofgas en 1 % v/v distikstofoxide in helium. Hierbij moet rekening worden gehouden dat in de monsternameloop de druk van het ijkgas en de gasfase gedurende het experiment gelijk is.

### 3.4 Waterfasebemonstering en belasting

De monstername van de waterfase en analyse ervan is niet geautomatiseerd. De watermonsters worden regelmatig met de hand genomen en geanalyseerd op de concentratie nitraat. De watermonsters worden direct na de start van het experiment, direct voor de belasting van de waterbodemmonster met nitraat, en enkele malen na belasting in de periode dat de stikstofconcentratie toeneemt en stagneert genomen.

In de laatste twee gevallen kan dan worden vastgesteld of het nitraat al volledig is verbruikt en of de berekende hoeveelheid nitraat op basis van de geproduceerde hoeveelheid  $N_2$  dat in het water aanwezig moet zijn overeen komt met de werkelijke waarde. Het watermonster wordt (in de enkelvoudige opstelling) genomen door een glazen spuit met een volume van 5 ml op de adapter van het monsternamepunt in het watercircuit te zetten. Nadat de monsternamekraan is omgezet, wordt de plunjer van de spuit omhoog geduwd. Wanneer de spuit is gevuld met 2 ml, wordt de kraan teruggezet en wordt de spuit geleegd. Hierdoor wordt de inhoud van het stukje leiding tussen de adapter en de kraan verwijderd, omdat dit niet in het watercircuit was opgenomen (zgn doodvolume). Hierna wordt de spuit op dezelfde wijze gevuld met 5 ml monster. Dit watermonster wordt gefiltreerd door een filterhouder met een 0,45  $\mu m$  filter op de spuit te plaatsen en de spuit leeg te drukken. Het monster wordt koel (4 °C) bewaard tot de analyse. In de watermonsters wordt de concentratie nitraat spectrofotometrisch bepaald met een flow-injection analyser van Tecator. Om het watervolume, en dus de druk in het systeem, na monstername constant te houden, wordt aan het systeem een hoeveelheid water toegevoegd gelijk aan het volume van het genomen monster (5 + 2 ml). Een toevoeging van water wordt altijd uitgevoerd na monstername. Hiervoor wordt de spuit gevuld met ontgast water. De spuit wordt op de adapter gezet, waarna de monsternamekraan wordt geopend. De plunjer zal eerst omhoog bewegen. Eventuele ingesloten luchtbelletjes worden hierdoor verdreven tot boven in de spuit. De richtingkeuzekraan wordt hierna omgezet zodat de vloeistof de andere kant opgepompt wordt. De spuit wordt hierdoor leeggepompt. De monsternamekraan en de richtingkeuzekraan worden omgezet wanneer de spuit vrijwel leeg is. De spuit wordt gevuld met 2 ml ontgast water en de procedure wordt herhaald. Aan het systeem is op deze wijze exact dezelfde hoeveelheid water toegevoegd als dat er monster genomen is. In plaats van het toevoegen van 5 ml water ter compensatie van het genomen watermonster kan het slootmonster ook belast worden met een nitraatoplossing. De volgorde van toevoeging wordt dan omgedraaid. Eerst wordt aan het systeem 2 ml van een geconcentreerde nitraatoplossing toegevoegd, gevolgd door 5 ml water.

In de viervoudige opstelling is gebruik gemaakt van een monsternameloop. Een watermonster werd genomen door de loop buiten het watercircuit te plaatsen. Dit gebeurde door de tweewegkraan om te zetten. De inhoud van de loop werd leeggeblazen door op de leiding 0,01 bar helium te zetten. De inhoud van de loop werd opgevangen in een monsterbuisje. Vervolgens werd de loop gespoeld met de toe te voegen 20 ml oplossing (slootwater van dezelfde samenstelling als het monster of een nitraatoplossing met bekende concentratie), waarna de loop werd afgesloten en weer in het watercircuit werd gebracht.

### **3.5 Condities en instellingen waarbij experimenten worden uitgevoerd**

#### ***Temperatuur***

De temperatuur waarbij de meetvaten gedurende de experimenten in de klimaatkast staan is ingesteld op 10 °C. Deze temperatuur komt overeen met de gemiddelde temperatuur in een waterbodem. Bij de enkelvoudige opstelling is het mogelijk de water- en gaspomp in de klimaatkast te plaatsen zonder dat de ingestelde temperatuur teveel oploopt. Bij de viervoudige opstelling loopt de temperatuur in de klimaatkast als gevolg van de warmteontwikkeling door de pompen te veel op. De temperatuur moet dan worden ingesteld op tussen 12 en 15 °C, of (een deel van) de pompen moeten buiten de klimaatkast worden geplaatst. De overige onderdelen van de opstelling staan bij kamertemperatuur opgesteld.

#### ***Systeemdruk***

De druk in het systeem is ingesteld op 1 bar overdruk. Lekkage in het systeem is bij deze druk waarneembaar. Tevens is de kans op diffusie van stikstof vanuit de atmosfeer naar het systeem kleiner.

#### ***Gasbemonstering***

De bemonstering van de gasfase wordt (afhankelijk van het experiment) elke 1, 4 of 6 uur uitgevoerd. De zeer frequente bemonstering (elk uur) is alleen zinvol bij snel reagerende systemen. Bij langdurige experimenten wordt bij deze bemonsteringsfrequentie relatief veel monster genomen (ruim 5 ml in 3 weken). De voorkeur bij deze experimenten is elke 4 tot 6 uur.

#### ***Waterbemonstering***

De bemonstering van het water vindt plaats direct na het starten van het experiment en direct voor de belasting van het systeem met nitraat. Na belasting met nitraat wordt het water niet vaker dan éénmaal per 1 à 2 dagen bemonsterd, waarbij de dag van belasting niet wordt bemonsterd. De hoeveelheid nitraat dat door bemonstering aan het systeem wordt onttrokken is een te groot deel wat niet voor denitrificatie beschikbaar is.

#### ***Gaschromatograaf***

De kolomtemperatuur in de gaschromatograaf wordt ingesteld tussen 30 en 70 °C. De condities van de kolom en de aanwezigheid van zuurstof zijn hierop van invloed. De detectortemperatuur wordt ingesteld op 100 °C, en de stroomsterkte op 120 mA.

### **3.6 Verwerking van meetgegevens**

De in dit rapport beschreven experimenten zijn uitgevoerd onder anaerobe omstandigheden. Wanneer mag worden uitgegaan dat stikstof vervangen is door helium en dat de opstelling gasdicht is, dan is de vanaf dat moment geproduceerde stikstof het gevolg van denitrificatie of van nalevering uit de slootbodem. De experimenten worden gestart zonder toevoeging van nitraat. Vlak voor de belasting van het monster met nitraat wordt een watermonster genomen en geanalyseerd op nitraat (en eventueel ammonium). Door aan het slootmonster een bekende hoeveelheid nitraat toe te

voegen, kan vervolgens worden berekend hoeveel nitraat er in de waterfase aanwezig is en hoeveel stikstofgas er maximaal kan worden gevormd. Uit de actuele stikstofconcentratie in de gasfase kan op elk moment de nitraathoeveelheid in de waterfase worden berekend. Deze waarde kan worden vergeleken met het resultaat van de analyse van het water. Wanneer de stikstofconcentratie in de gasfase niet meer toeneemt, wordt er geen nitraat meer omgezet en blijft de nitraatconcentratie constant. De tijd die nodig is voor de afbraak van de aanwezige en toegevoegde hoeveelheid nitraat, bepaalt de denitrificatiesnelheid.

De concentratie stikstofgas wordt gemeten in volumeprocenten. Voor de omrekening van volume-percentages  $N_2$  naar miligrammen N wordt gebruik gemaakt van de vergelijkingen 1 en 2:

$$a_n = C_{n2} * \alpha \quad (1)$$

met

$$\alpha = V_2 * 0,01 * P_2 / T_2 * 28 * T_1 / (V_1 * P_1) \quad (2)$$

waarin $a_N$	=	voorraad N in de gasfase (mg)
$C_{N2}$	=	volumepercentage $N_2$ in de gasfase (vol%)
$\alpha$	=	omrekeningsfactor $N_2$ naar N (mg.vol% <sup>-1</sup> )
$V_2$	=	volume gasfase (ml)
$P_2$	=	systemedruk (bar)
$T_2$	=	systemtemperatuur (K)
$T_1$	=	standaardtemperatuur = 273 K
$V_1$	=	standaardvolume 1 mol gas = 22,4 l
$P_1$	=	standaard druk = 1 bar
28	=	molecuulmassa van $N_2$

Dit geeft:

$$a_N = C_{N2} * V_2 * P_2 / T_2 * 3,413 \quad (3)$$

Gedurende het experiment zijn de instellingen:

$V_2$	=	ongeveer 140 ml
$P_2$	=	2 bar
$T_2$	=	283 K

De vergelijking 3 wordt daardoor:

$$a_N = C_{N2} * V_2 * 0,024 \quad (4)$$

#### ***Berekening van de voorraad nitraat***

De hoeveelheid nitraat die gedurende het experiment aanwezig is in het de waterfase kan worden berekend door de hoeveelheid geproduceerd stikstofgas af te trekken van de hoeveelheid nitraat in de waterfase aan het begin van het experiment of na

toevoeging, mits de nalevering van N<sub>2</sub> uit het sediment te verwaarlozen is. (vergelijking 5)

$$a_{\text{NO}_3\text{-N,ber, t=x}} = a_{\text{NO}_3\text{-N,t=0}} + a_{\text{NO}_3\text{-N,additie}} - ((C_{\text{N}_2,t=x} - C_{\text{N}_2,t=0}) * \alpha) \quad (5)$$

- waarin
- $a_{\text{NO}_3\text{-N,ber, t=x}}$  = berekende hoeveelheid NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in het slootwater op t=x (mg)
  - $a_{\text{NO}_3\text{-N,t=0}}$  = gemeten hoeveelheid NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in het slootwater voor toevoeging van nitraat (mg)
  - $a_{\text{NO}_3\text{-N,additie}}$  = toegevoegde hoeveelheid NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N aan het slootwater (mg)
  - $C_{\text{N}_2,t=x}$  = gemeten concentratie N<sub>2</sub> in de gasfase op t = x (vol%)
  - $C_{\text{N}_2,t=0}$  = gemeten concentratie N<sub>2</sub> in de gasfase voor toevoeging van nitraat (vol%)
  - $\alpha$  = omrekeningsfactor van N<sub>2</sub> (vol%) naar NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (mg)

Zodra de nalevering van N<sub>2</sub> uit het sediment verwaarloosbaar klein is kan uit elk meetpunt van het verloop van de concentratie stikstofgas het nitraatverloop in de waterfase worden afgeleid. Een dergelijk verband tussen de nitraat-stikstofconcentratie in het water en de stikstofconcentratie in de gasfase is voor een fictieve situatie weergegeven in figuur 4.

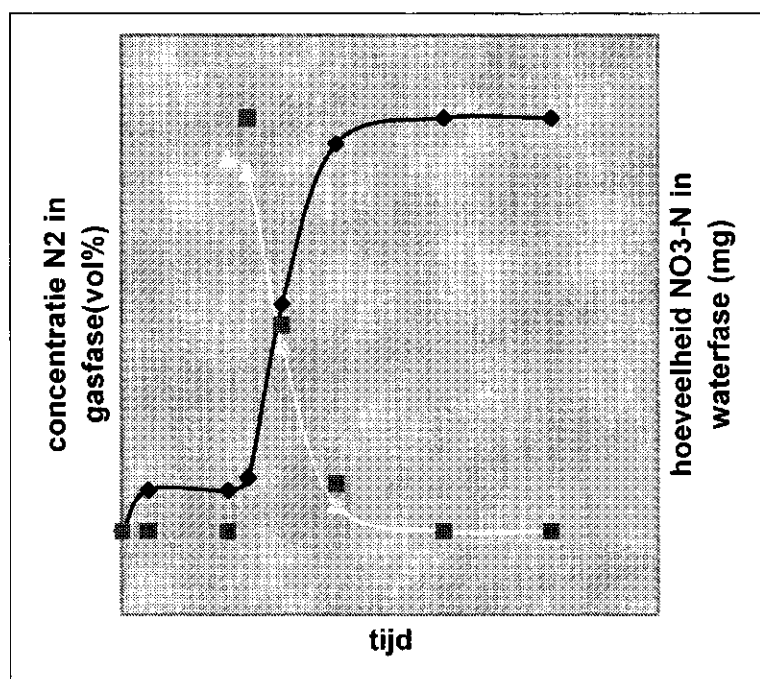


Fig 4 Verloop van de denitrificatie in een fictief slootbodemmonster voor en na toevoeging van nitraat.  
 ■ = gemeten concentratie N<sub>2</sub> in gasfase (vol%). ♦ = gemeten voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in waterfase (mg).  
 Δ = berekende voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in waterfase (mg)



Op tijdstip  $t_0$  (fig. 4) wordt het experiment gestart en wordt van het water een monster genomen en geanalyseerd. Op tijdstip  $t_1$  wordt eveneens een watermonster genomen. De hoeveelheid nitraat is in deze periode niet veranderd, terwijl de stikstofconcentratie in de gasfase in de tussenliggende tijd is toegenomen als gevolg van nalevering vanuit het sediment. Omdat op  $t_1$  de stikstofconcentratie in de gasfase niet meer toeneemt, kan aan het slootmonster een bekende hoeveelheid nitraat worden toegevoegd. De stikstofconcentratie in de gasfase neemt vervolgens toe tot aan het tijdstip  $t_2$ . Daarna blijft de stikstofconcentratie in de gasfase constant omdat er geen nitraat meer beschikbaar is voor denitrificatie. De denitrificatiesnelheid kan nu worden berekend uit de toename van de stikstofconcentratie in de gasfase per tijdseenheid. Tevens kan worden nagegaan of het geproduceerde hoeveelheid stikstof overeenkomt met de hoeveelheid gedennitriciseerd nitraat.

### ***Berekening van de denitrificatiesnelheid***

Voor de berekening van de denitrificatiesnelheid wordt de volgende formule gebruikt:

$$D = (C_{N_2,t_2} - C_{N_2,t_1}) * (V_2 * P_2) / T_2 * T_1 / (V_1 * P_1) * 28/100 * 1/A * 1/\Delta t$$

en dus

$$D = (C_{N_2,t_2} - C_{N_2,t_1}) * \alpha * 1/A * 1/\Delta t$$

met

D	=	denitrificatiesnelheid (mg N.m <sup>-2</sup> .uur <sup>-1</sup> )
A	=	oppervlakte slootbodem (m <sup>2</sup> ), 0,0031 m <sup>2</sup>
$\Delta t$	=	tijdduur (uur) ( $t_2 - t_1$ )

Hierbij wordt het verschil in de concentratie stikstofgas in de gasfase voor de toevoeging van nitraat ( $t_1$ ) en nadat het nitraat verondersteld wordt verbruikt te zijn ( $t_2$ ), vermenigvuldigd met de reciproke waarde van de oppervlakte van het sediment en de reciproke waarde van het verschil tussen  $t_1$  en  $t_2$ .

Hierbij wordt ervan uitgegaan dat het verschil in stikstofconcentratie veroorzaakt wordt door denitrificatie, en dat diffusie geen belangrijke invloed (meer) heeft.

### **3.7 Gevoeligheid in de meting**

Het belangrijk dat de condities waarbij de experimenten worden uitgevoerd nauwkeurig worden vastgelegd. Hierbij moet gedacht worden aan de actuele druk en de temperatuur in het meetvat en het volume van de gasfase. Het volume van de gasfase wordt bepaald door de hoogte van de waterfase. Tabel 1 laat zien hoe de omrekeningsfactor  $\alpha$  verandert als één van de factoren verandert. Hieruit blijkt dat de instelling van de waterkolom, en dus het volume van de gasfase, directe gevolgen heeft voor  $\alpha$ . Ook tijdens het experiment moet het gasvolume onveranderd blijven. Wanneer de waterkolom 1 mm zakt (als gevolg van verzakking van het monster of een niet correcte aanvulling van slootwater na monsternamen van het slootwater), wordt het gasvolume ruim 3 ml groter, waardoor  $\alpha$  toeneemt. Wanneer een afname

van de actuele druk in het meetvat gedurende de experimenten plaatsvindt, neemt  $\alpha$  af. Bij een afname van de temperatuur, bijvoorbeeld als gevolg van dag-nacht ritme, neemt  $\alpha$  toe. Een grotere  $\alpha$  betekent een grotere N-waarde (mg) in de gasfase en een lagere berekende  $\text{NO}_3^-$ -N in de waterfase. Dit betekent dat een fout in de bepaling van  $\alpha$  gevolgen heeft voor conclusie uit de vergelijking tussen berekende  $\text{NO}_3^-$ -N en gemeten  $\text{NO}_3^-$ -N voorraad in de waterfase. Hierbij heeft met name het volume van de gasfase en de druk in het meetvat de meeste invloed. Monsternamen van het water moet daarom zeer nauwkeurig uitgevoerd worden, gevolgd door een additie van water of een nitraatoplossing met exact dezelfde hoeveelheid. Temperatuurverschillen hebben nauwelijks invloed op  $\alpha$ .

*Tabel 1 berekende  $\alpha$  als functie van het volume, druk en temperatuur*

$V_2 = (105,9 + (h \cdot 31)) \text{ ml}$		$V_2 = 105,9 \text{ ml}$		$V_2 = 105,9 \text{ ml}$	
$P_2 = 2 \text{ bar}$		$P_2 = \text{variabel}$		$P_2 = 2 \text{ bar}$	
$T_2 = 283 \text{ K}$		$T_2 = 283 \text{ K}$		$T_2 = \text{variabel}$	
h . (cm)	$\alpha$	P (bar)	$\alpha$	T (K)	$\alpha$
-0,2	2,404	1,8	2,299	281	2,572
-0,1	2,479	1,9	2,426	282	2,563
0	2,554	2,0	2,554	283	2,554
0,1	2,629	2,1	2,682	284	2,545
0,2	2,703	2,2	2,809	285	2,536

h = hoogte t.o.v. bovenkant van cilinder

## 4 Denitrificatiesnelheid van een aantal slootbodems

Na de ontwikkeling van de meetopstelling en de meetprocedure is de techniek ingezet in twee studies waarbij de denitrificatiesnelheid in drie waterlopen in het agrarisch gebied is bepaald.

### 4.1 Meetopstelling

Met de in deze rapportage beschreven enkelvoudige en 4 voudige meetopstelling is het mogelijk per tijdseenheid in het meetvat de stikstoftoename te meten met een minimale stikstofconcentratie van 0,05 % v/v. Deze toename van stikstof mag worden toegeschreven aan de biologische activiteit van het monster in het meetvat omdat van lekkage in het meetsysteem nauwelijks sprake is. Het kritieke punt de de meetopstelling is echter het lekdicht maken en houden. Door de vele aansluitingen van leidingen op pompen, het meetvat en de kranen is de kans op lekkage van gas naar de atmosfeer of omgekeerd aanzienlijk. Lekkage kan tot gevolg hebben dat door het grote concentratieverschil van stikstof in de atmosfeer (ruim 79% v/v) en het meetsysteem (0 tot 10 % v/v), stikstof door materialen en aansluitingen het meetsysteem in diffundeert. Stikstoftoename zal in dit geval ten onrechte worden toegeschreven aan biologische activiteit. De experimenten zijn daarom uitgevoerd bij 1 bar overdruk ten opzichte van de atmosfeer om diffusie uit te sluiten. Hierdoor is het tevens mogelijk vast te stellen of een meetsysteem gasdicht is wanneer de druk in het systeem gedurende het experiment geregistreerd wordt. Eventuele correctie van de concentratie stikstof in het meetvat kan hierdoor uitgevoerd worden.

De gebruikte materialen zijn zodanig gekozen dat lekkage minimaal is. Hiervoor zijn zoveel mogelijk materialen als glas en roestvrijstaal gebruikt. Ook is bij de keuze van apparatuur zoveel gelet op de gebruikte materialen. Om de kans op lekkage verder te verkleinen zijn aansluitingen ingevet met siliconenvet of ingetaped met teflontape. Hoewel het aantal aansluitingen zo klein mogelijk gehouden is en de lengte van de systemen zo kort mogelijk is gehouden, was het niet mogelijk zowel de enkelvoudige als de viervoudige opstelling korter te maken. Om het grote aantal kranen en leidingen overzichtelijk uit elkaar te houden zijn de kranen op een schakelbord geplaatst. Dit heeft geleid tot de dimensies zoals in de rapportage zijn beschreven.

Om de gasdichtheid van het systeem vast te stellen zijn experimenten uitgevoerd waarbij het slootbodemprofiel in het meetvat vervangen was door water. In het meetvat waarbij het meetvat vervaardigd was uit polycarbonaat en perspex, was de stikstoftoename ongeveer 0,3 mg stikstof per uur over een periode van enkele dagen. Wanneer dit wordt omgerekend naar een "denitrificatiesnelheid" betekent dit ongeveer  $10 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ . Deze "stikstofproductie" wordt ook gemeten in verschillende praktijksituaties, zodat een "achtergrond-productie" die overeenkomt met de te verwachten situatie onwenselijk is. Het afsluiten van het watercircuit leidde echter niet tot verbetering.

De stikstoftoename in een meetopstelling, waarbij het meetvat is vervangen door een roestvrijstalen meetvat met een volume van 100 ml en waarbij het watercircuit niet was aangesloten, was minder dan 0,15 mg stikstof over een periode van 90 uur. In 90 uur was het niet mogelijk stikstof aan te tonen in de meetopstelling. Deze toename komt overeen met een stikstofproductie van maximaal  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ . Hieruit blijkt dat de meetopstelling bestaande uit het gascircuit vrijwel volledig gasdicht was.

Ook in de meetopstelling waarbij het glazen meetvat gevuld was met water was stikstofgas over een periode van enkele dagen niet analyseerbaar. In de meetopstelling met een sedimentmonster is echter wel een stikstoftoename gemeten van  $0,0020 \text{ mg}\cdot\text{uur}^{-1}$ . De stikstof die tijdens dit experiment gemeten is zal dus afkomstig zijn uit het sediment als gevolg van nalevering.

Meetvat	Medium	Stikstof Toename $\text{mg}\cdot\text{uur}^{-1}$	Denitrificatiesnelheid	
			$\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$
Perspex- polycarbonaat	Water	0,03	10	350
Roestvrijstaal	Lucht	<0,0017	<0,5	<20
Glas	Water	<0,0017	<0,5	<20
Glas	Sediment	0,002	0,6	23

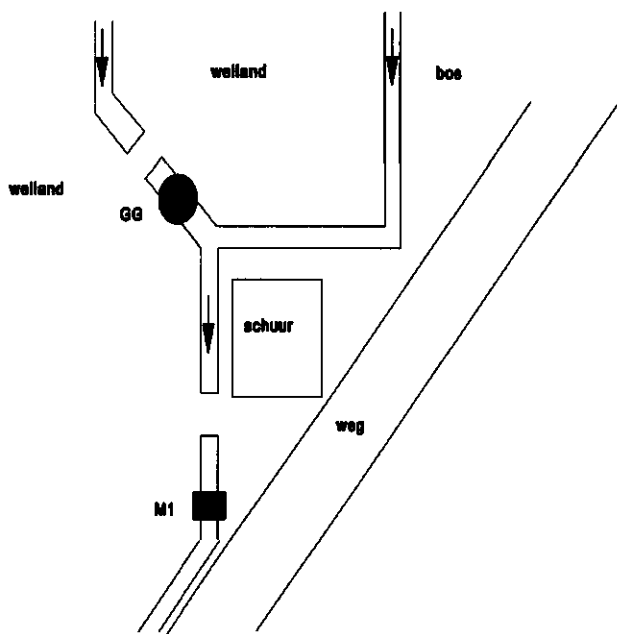
## 4.2 Enkelvoudige metingen in het Schuitenbeekgebied

De enkelvoudige opstelling is ingezet om de denitrificatiesnelheid van twee waterlopen in het Schuitenbeekgebied te bepalen. Door het Schuitenbeekgebied in de gemeente Putten aan de noordkant van de Veluwe worden grote hoeveelheden nitraatrijk water afgevoerd. In dit gebied is een uitgebreide N-studie uitgevoerd, zo dat extra gegevens over de nitraatverwijdering door denitrificatie wenselijk was. De waterlopen die in deze studie zijn onderzocht zijn een sloot in het landgoed Groot Gerven en in het gebied de Hoef. In beide sloten werd tijdens de N-studie de afvoer en samenstelling bepaald. Ter hoogte van de bemonsteringspunten zijn de monsters gestoken waarin de denitrificatiesnelheid is bepaald.

### 4.2.1 Groot Gerven

#### *Lokatie*

Ongeveer 10 meter voor het monsternamepunt van het project Schuitenbeek N komen twee sloten bij elkaar (fig. 5). Een sloot ligt tussen een weiland en een weg, de andere sloot ligt tussen twee weilanden. In deze laatste sloot waarvan de afvoer het grootst is, zijn op ongeveer 5 meter voor het punt waar beide sloten bij elkaar komen de slootprofielen gestoken. Deze sloot was vrijwel volledig met gras begroeid. Van de afvoersloot is bekend dat het water een vrij hoge concentratie nitraat bevat, namelijk tussen 3 en  $30 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ NO}_3^{-}\text{-N}$  gemiddeld per jaar (Schuitenbeek-N project).



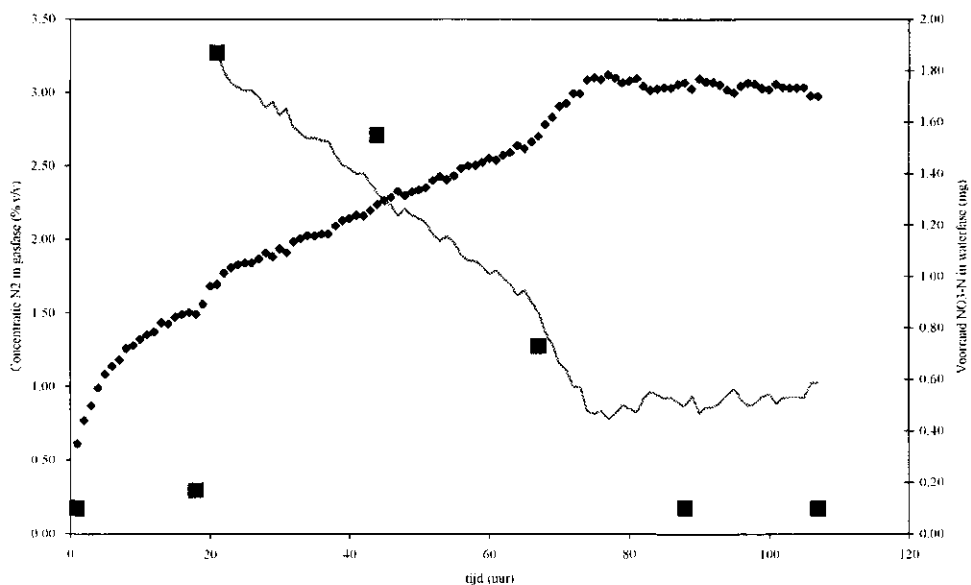
Figuur 5 lokatie groot gerven. GG = monsternamepunt

#### **Eerste monster, gg1**

Op deze lokatie zijn tweemaal slootbodemprofielen gestoken. Het eerste monster, gestoken op 8 november 1993 (gg1), werd na 20 uur belast met 1,7 mg  $\text{NO}_3^-$ -N (fig. 6). De concentratie stikstofgas werd bepaald aan de hand van de piekhoogte van de  $\text{N}_2$ -piek in het chromatogram.

Op grond van de piekhoogte was de  $\text{N}_2$  concentratie in de gasfase na 20 uur constant. Achteraf bleek de piekhoogte niet het goede uitgangspunt te zijn voor de bepaling van de stikstofconcentratie in dit experiment. Veroudering van de analytische kolom in de gaschromatograaf kan tot gevolg hebben dat de piekhoogte, in tegenstelling tot het piekoppervlak, niet toeneemt naarmate de concentratie hoger wordt. Uit de resultaten tot voor de belasting met nitraat werd geconcludeerd dat toevoeging kon plaatsvinden. Achteraf bleek dit een verkeerde beslissing te zijn, daar de concentratie, bepaald op basis van het piekoppervlak, toenam. De  $\text{N}_2$ -concentratie voor dit en volgende experimenten zijn daarom bepaald op basis van het piekoppervlak.

De nitraatvoorraad in het meetvat was na toevoeging 1,87 mg. Een duidelijke stijging van de toename van  $\text{N}_2$  in de gasfase ten opzichte van voor de belasting is niet waarneembaar. Na 70 uur neemt de  $\text{N}_2$ -concentratie niet meer toe. De omrekening van de geproduceerde stikstof naar de voorraad laat zien dat het nitraat vrijwel volledig verbruikt moet zijn. Uit de resultaten van de wateranalyses blijkt dat na 70 uur er nog 0,1 mg  $\text{NO}_3^-$ -N aanwezig is, hetgeen overeen komt met de berekende waarden. Het experiment werd beëindigd nadat de stikstofconcentratie ongeveer 80 uur constant was. De berekende denitrificatiesnelheid voor dit monster is  $10,1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{uur}^{-1}$ .



Figuur 6 Denitrificatie in sloopmonster GG1 voor en na toevoeging van nitraat.  $\blacklozenge$  = gemeten concentratie  $N_2$  in gasfase (vol%),  $\blacksquare$  = gemeten voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg), -- = berekende voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg)

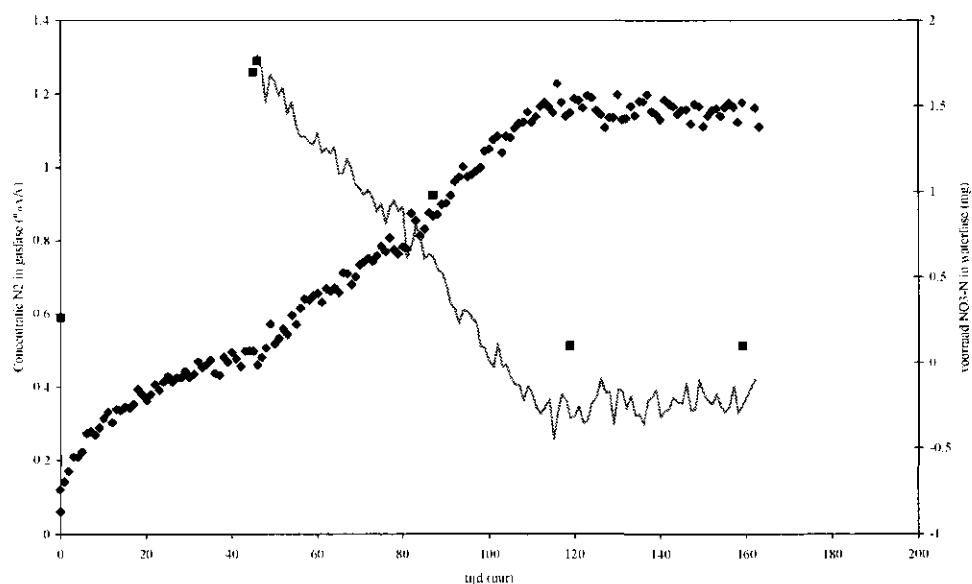


Fig. 7 Denitrificatie in sloopmonster GG2 voor en na toevoeging van nitraat.  $\blacklozenge$  = gemeten concentratie  $N_2$  in gasfase (vol%),  $\blacksquare$  = gemeten voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg), -- = berekende voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg)

### Tweede monster, gg2

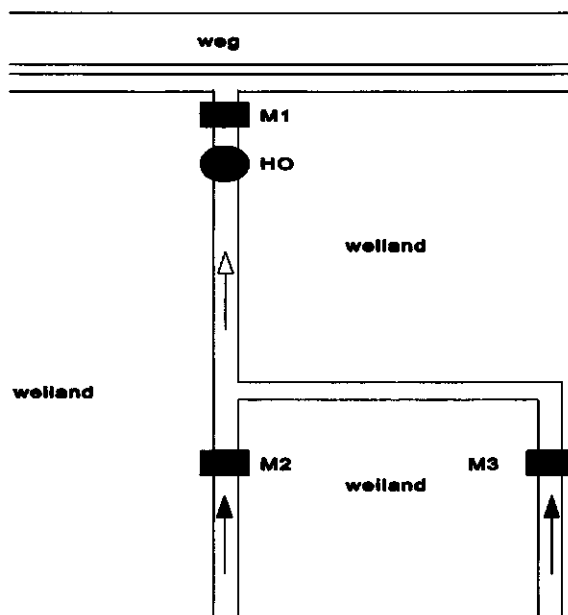
Het tweede monster, gestoken op 15 november 1993 (gg2) werd genomen op ongeveer dezelfde plaats als het eerste monster. Dit monster werd na 46 uur belast met 1,7 mg

$\text{NO}_3^-$ -N (fig. 7). De waterfase bevatte hierna 1,8 mg  $\text{NO}_3^-$ -N. De stikstofconcentratie in de gasfase was hiervoor ongeveer 10 uur constant. Ongeveer 70 uur na de toevoeging van nitraat, nam de stikstofconcentratie in de gasfase niet verder toe. De berekende waarde voor de nitraatvoorraad in het water 60 uur na toevoeging was negatief. Uit de resultaten van de watermonsters blijkt dat de  $\text{NO}_3^-$ -N voorraad 0,1 mg was 70 uur na belasting. Hieruit blijkt dat het stikstofgas in de gasfase voor een deel geproduceerd is als gevolg van denitrificatie. Het teveel aan stikstofgas moet van een andere bron afkomstig zijn. De  $\text{N}_2$  concentratie in de gasfase bleef gedurende 50 uur vrijwel constant. De denitrificatiesnelheid van dit monster is  $9,9 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{uur}^{-1}$ , waarbij uitgegaan wordt dat het  $\text{N}_2$  geproduceerd is uit 1,8 mg  $\text{NO}_3^-$ -N als gevolg van denitrificatie. Tijdens dit experiment werd de sloot gebaggerd door de beheerder. Het was hierdoor niet mogelijk een volgend slootmonster te steken vergelijkbaar met de voorafgaande.

#### 4.2.2 De Hoef

##### Lokatie

Aan het eind van een gemeenschappelijke afvoersloot staat een bemonsteringsinstallatie voor het Bovar project. De lengte van de sloot is ongeveer 200 meter. Aan het begin van deze sloot komen twee sloten bij elkaar (fig. 8).

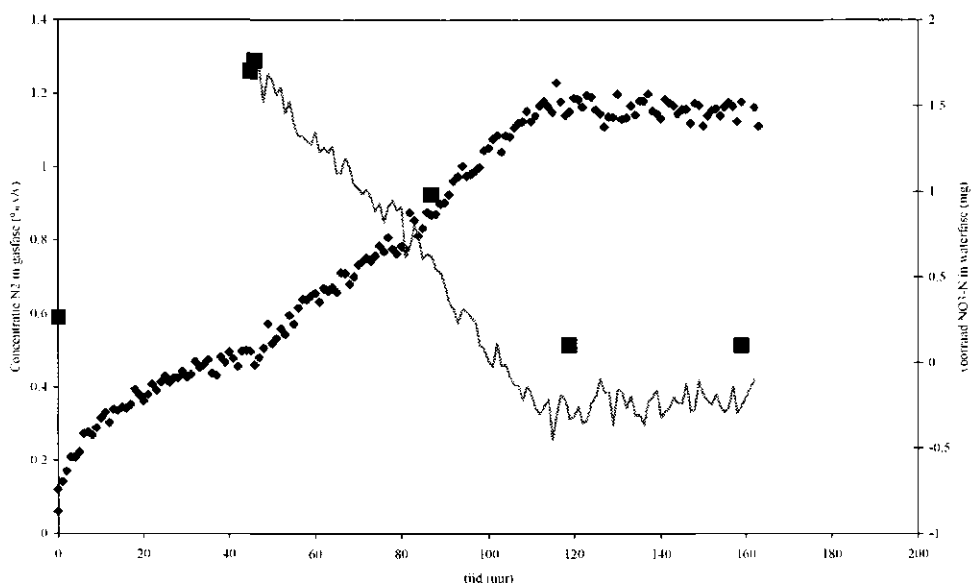


Figuur 8 Monsternamelokatie De Hoef. HO = bemonsteringspunt

De afvoer van deze sloot bevat aanmerkelijk minder nitraat dan de sloot in Groot Gerven. De sloot was niet begroeid met gras zoals in Groot Gerven. Gedurende het jaar wordt er aan het einde van de sloot tussen de 0,2 en 3 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N gemeten. Op ongeveer 5 meter voor het laatste bemonsteringspunt zijn de slootbodemmonsters gestoken.

### *Eerste monster, ho1*

Het eerste monster, gestoken op 3 december 1993 (ho1), werd na 46 uur belast met 1,7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, nadat de N<sub>2</sub> concentratie in de gasfase ongeveer 20 uur constant was (fig. 9). De voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in de waterfase was hierna 1,76 mg. 50 uur na toevoeging nam de N<sub>2</sub> concentratie in de gasfase niet meer zo sterk toe als daarvoor, echter een langzame stijging bleef waarneembaar. De omrekening van N<sub>2</sub> naar de voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in de waterfase laat zien dat na 50 uur het nitraat nog niet volledig verbruikt is, terwijl er in de watermonsters nog maar 0,08 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N aanwezig was. Na ongeveer 200 uur werd het experiment gestopt. De denitrificatiesnelheid van dit monster is 11,2 mg.m<sup>-2</sup>.uur<sup>-1</sup>.

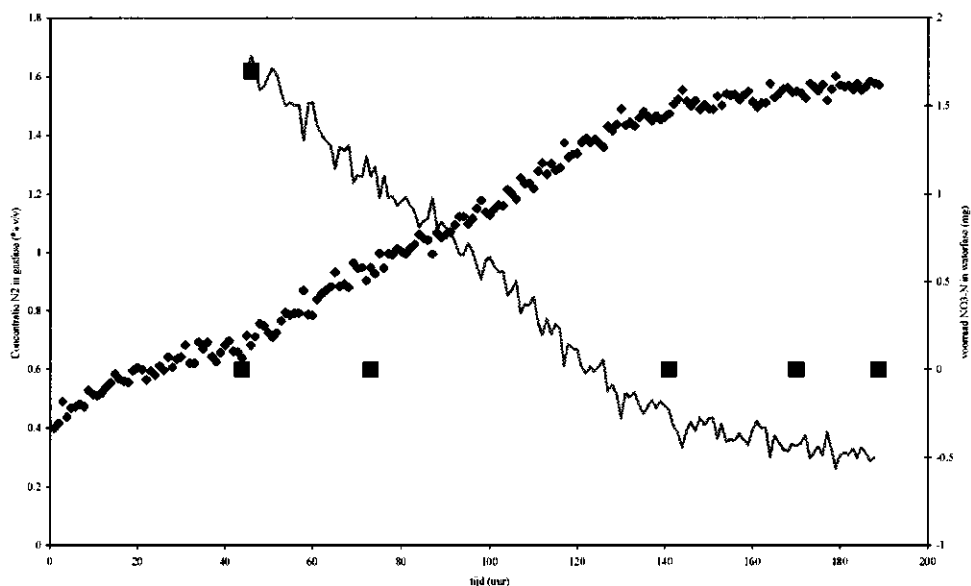


*Figuur 9 Denitrificatie in slootmonster HO1 voor en na toevoeging van nitraat. ◆ = gemeten concentratie N<sub>2</sub> in gasfase (vol%), ■ = gemeten voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in waterfase (mg), -- = berekende voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in waterfase (mg)*

### *Tweede monster, ho2*

Het tweede monster, gestoken op 15 december 1993, werd op vrijwel dezelfde plaats gestoken als het eerste monster. Dit monster werd na 44 uur belast met 1,7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, nadat er een lichte maar constante toename van N<sub>2</sub> in de gasfase optrad (fig. 10). De voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in de waterfase was hierna 1,77 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N. De stijging van de N<sub>2</sub>-concentratie in de gasfase is per tijdseenheid niet zo hoog als het vorige monster. Ongeveer 100 uur na toevoeging is er nog een geringe toename waarneembaar.



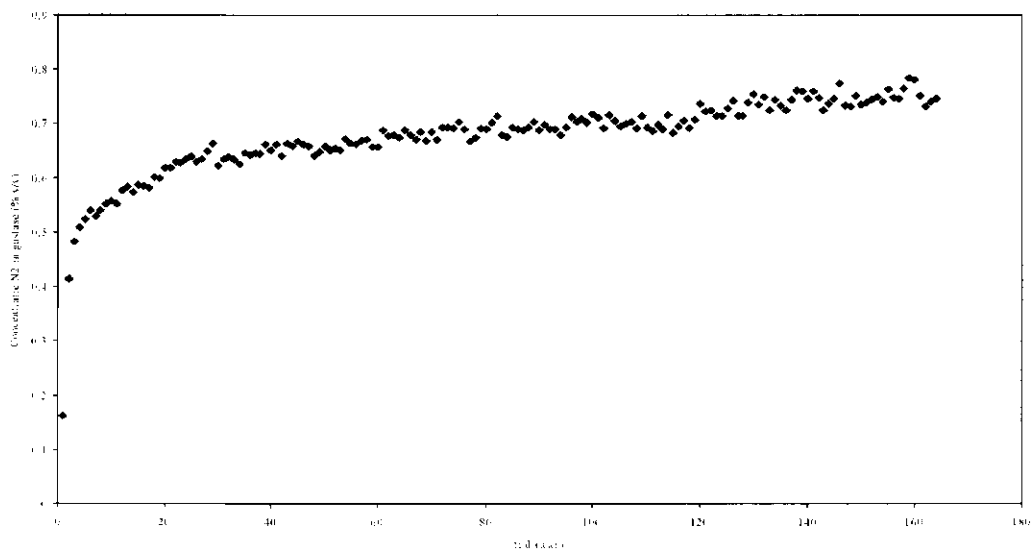


Figuur 10 Denitrificatie in slootmonster HO2 voor en na toevoeging van nitraat.  $\blacklozenge$  = gemeten concentratie  $N_2$  in gasfase (vol%),  $\blacksquare$  = gemeten voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg), -- = berekende voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg)

Uit de wateranalyses blijkt dat ook het  $NO_3^-$ -N vrijwel verbruikt is. Uit de berekeningen van de voorraad  $NO_3^-$ -N in de waterfase op dit moment blijkt dat er meer  $N_2$  geproduceerd is dan dat er gevormd kan zijn uit de hoeveelheid toegevoegd  $NO_3^-$ -N. Een andere  $N_2$  bron moet in dit monster aanwezig geweest zijn. Uitgaande dat het  $N_2$  gevormd is uit de toegevoegde en aanwezige hoeveelheid  $NO_3^-$ -N is de denitrificatiesnelheid van dit monster  $7,2 \text{ mg.m}^{-2} \text{ .uur}^{-1}$ .

### Derde monster, ho3

Om de nalevering uit de slootbodem te meten is een derde monster uit dezelfde sloot genomen, HO3 (28 december 1993). Dit monster werd niet belast met  $NO_3^-$ -N en er zijn ook geen watermonsters genomen, zodat het meetvat gedurende het experiment gesloten bleef. Figuur 11. laat zien dat er gedurende de eerste 40 uur een afname in de stijging van de  $N_2$ -concentratie per uur is, gevolgd door een constante stijging. Deze stijging is gedurende 130 uur gemiddeld  $0,000872 \text{ vol\%.uur}^{-1}$ . Wanneer aangenomen wordt dit alleen veroorzaakt wordt door diffusie vanuit het sediment, dan bedraagt deze diffusie  $0,655 \text{ mg.m}^{-2} \text{ .uur}^{-1}$ .



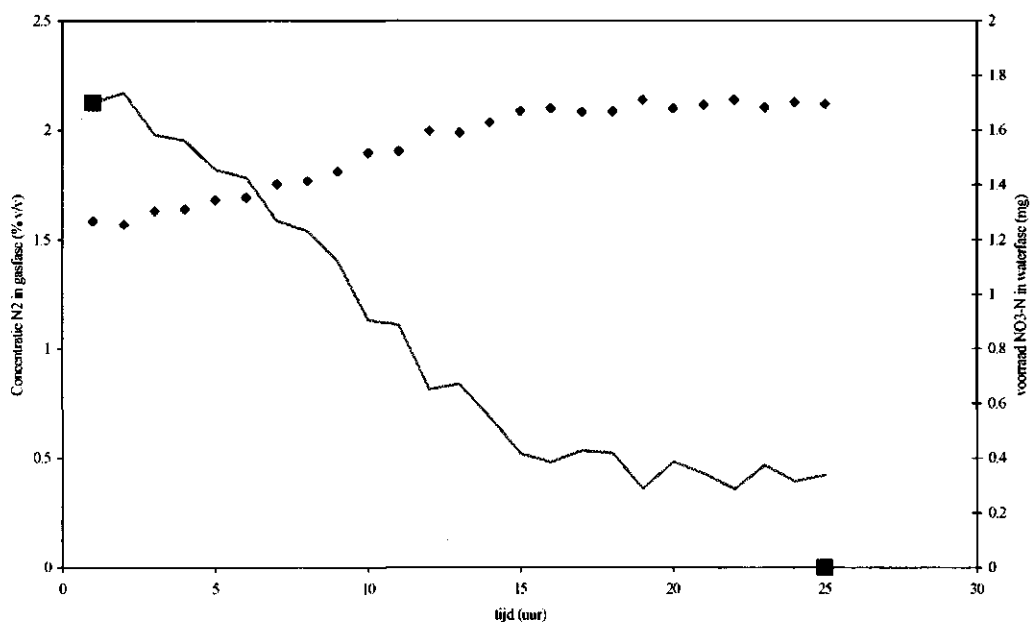
Figuur 11 Verloop van de N<sub>2</sub>-concentratie (vol %) in de gasfase in een slootmonster (ho3) gemeten als blanco

### 4.2.3 Controle door toevoeging van nitraat en acetaat

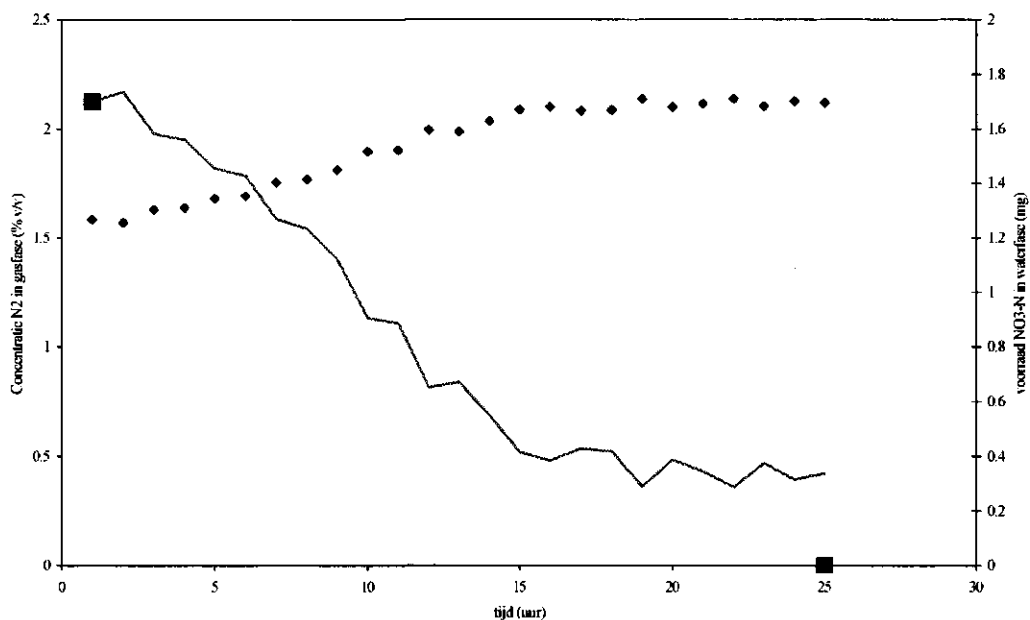
Aan de monsters waarbij de berekende voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in de waterfase op grond van de concentratie N<sub>2</sub> in de gasfase beneden de nul uitkomt, GG2 en HO2, is een tweede nitraatbelasting toegevoegd. Deze toevoeging vond direct na het voorafgaande experiment plaats, zodat het meetvat niet is geopend en de omstandigheden verder identiek bleven. De belasting was eveneens 1,7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, maar tevens 3 mg natriumacetaat (koolstofbron), met als doel na te gaan of de opstelling goed heeft gefunctioneerd en de oorzaak van het teveel aan N<sub>2</sub> in de gasfase van HO2 en GG2 gezocht moet worden in processen tijdens de meting en niet in de meetopstelling.

Bij monster GG2 was 20 uur na de belasting de N<sub>2</sub> in de gasfase constant en de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N voorraad in het water gedaald van 1,80 mg tot 0,13 mg (fig. 12). De resultaten van de twee wateranalyses komen overeen met de berekende lijn. De (potentiele) denitrificatiesnelheid van dit monster was 25,6 mg.m<sup>-2</sup>.uur<sup>-1</sup> na toevoeging van acetaat.

De toename van N<sub>2</sub> in de gasfase van het monster HO2 stagneert na ongeveer 15 uur (fig. 13). Dit monster heeft minder N<sub>2</sub> geproduceerd dan GG2. De berekende lijn van de voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in de waterfase laat zien dat niet al het NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N verbruikt is. Wateranalyses bevestigen dit. De voorraad NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N is gedaald van 1,75 mg tot 0,30 mg. De (potentiele) denitrificatiesnelheid van dit monster na toevoeging van acetaat is 30,1 mg.m<sup>-2</sup>.uur<sup>-1</sup>.



Figuur 12 Denitrificatie in slootmonster GG2 na toevoeging van nitraat en acetaat.  $\blacklozenge$  = gemeten concentratie  $N_2$  in gasfase (vol%),  $\blacksquare$  = gemeten voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg), - = berekende voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg)



Figuur 13 Denitrificatie in slootmonster HO2 na toevoeging van nitraat en acetaat.  $\blacklozenge$  = gemeten concentratie  $N_2$  in gasfase (vol%),  $\blacksquare$  = gemeten voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg), - = berekende voorraad  $NO_3^-$ -N in waterfase (mg)

Het resultaat van deze metingen is dat een goede koolstofbron (acetaat) en nitraat een productie aan  $N_2$ -gas leveren die volledig afkomstig is van denitrificatie, en dat een eventuele nalevering van  $N_2$  uit het sediment geen rol van betekenis speelt.

### 4.3 Resultaten viervoudige opstelling

In het najaar van 1996 is gestart de viervoudige meetopstelling toe te passen in een project waarbij gekeken is naar de invloed van de bodemmatrix op de denitrificatiesnelheid. Hiervoor zijn 2 lokaties geselecteerd; de eerste lokatie was rivier de Rosep in de Hilver (Noord Brabant) met een zandige bodem, de tweede lokatie waren perceelsslots op proefboerderij de Minderhout in Flevoland met een kleiachtige bodem. Op beide lokaties zijn plaatsen geselecteerd met een hoge en een lage nitraatbelasting.

#### *De Rosep:*

De beek de Rosep is een waterloop met zandige bodem die de oorsprong heeft ten zuidoosten van Heiligenboom in de gemeente Moergestel in Noord Brabant in het bekengebied De Hilver. Het eerste deel van de beek is op veel plaatsen gekanaliseerd en ligt tussen landbouwgronden. Na ongeveer 3 km stroomt de Rosep door het bosrijke vennengebied de Kampina ten oosten van Oisterwijk. Hier heeft de Rosep nog grotendeels de oorspronkelijke vorm. Het laatste deel van de Rosep stroomt weer door een agrarisch gebied voordat het uitkomt in de Esche Stroom. De Rosep heeft een gemiddelde breedte van 2 à 3 m en een waterhoogte van ongeveer 30 cm ten tijde van de bemonstering. In de Rosep zijn twee lokaties geselecteerd waarvan verwacht mocht worden dat de waterbodem verschillende nitraatbelasting kent. Halverwege het eerste stuk, ter hoogte van het buurtschap Heiligenboom, ten noorden van de provinciale weg is het bemonsteringspunt gekozen met hoge nitraatbelasting, veroorzaakt door de landbouw. De tweede lokatie met lage nitraatbelasting is gekozen aan het eind van het deel door de bossen van de Kampina, uitgaande dat de nitraatgift in de bossen nihil is en het nitraat afkomstig van hiervoor gelegen landbouwgronden in het eerste gedeelte is verdwenen.

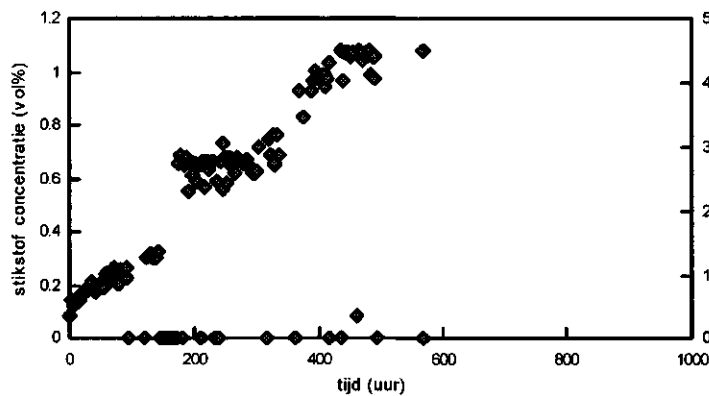
#### *De eerste bemonstering:*

De eerste bemonstering vond plaats op 19 augustus 1996 op de lokatie met de hoge nitraatbelasting (RO1). Er zijn 10 bodemprofielen gestoken waarvan er 4 ter plekke overgebracht in de meetvaten. De meetvaten zijn direct naar het laboratorium gebracht en in de meetopstelling geplaatst. De stikstofconcentratie in de vier meetvaten zijn elke 3 uur geanalyseerd (figuren 14, 15, 16, en 17) gedurende 14 dagen. Direct na aanvang van het experiment is in alle meetvaten een toename van stikstof waargenomen, die onderling echter sterk verschilt in grootte (tabel 2). In meetvat 2, 4 en 8 is de eerste 2 dagen een redelijk constante toename van stikstof waargenomen variërend tussen de 0,0125 en 0,0167 vol%.uur<sup>-1</sup>. Na twee dagen nam de stikstoftoename per uur af in de meetvat 2 en 4 tot resp. 0,0092 en 0,0071 vol%.uur<sup>-1</sup>, terwijl de stikstoftoename in meetvat 8 onverandert 0,00167 vol%.uur<sup>-1</sup> was. In meetvat 6 was de eerste anderhalve dag een zeer sterke toename van stikstof te zien van 0,0596 vol%.uur<sup>-1</sup> waarna de stikstoftoename afnam tot 0,0038 vol%.uur<sup>-1</sup>.

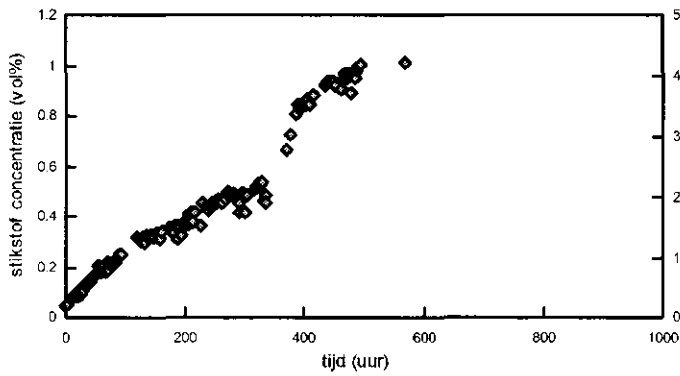
Zeven dagen na aanvang van het experiment is een nitraatbelasting uitgevoerd in de meetvaten 4 en 6. Aan de monsters in de meetvaten 2 en 8 is geen nitraat toegevoegd. Het monster in meetvat 6 reageert direct op de nitraatgift, waardoor de stikstoftoename verdrievoudigd, terwijl het bij het monster in meetvat 4 ruim

anderhalve dag duurt voordat er een toename van stikstof te zien is. Opmerkelijk is echter wel dat ondanks de verschillende stikstoftoename in beide meetvaten voor belasting, de toename na belasting wel even groot is (resp.  $0,0133$  en  $0,0129$  vol%.uur<sup>-1</sup>). Worden deze waarden gecorrigeerd door de stikstoftoename voor belasting ervan af te trekken dan is de stikstoftoename voor beide monsters resp.  $0,0062$  en  $0,0091$  vol%.uur<sup>-1</sup>. De hieruit berekende denitrificatiesnelheid (tabel 2 ), resp  $17,2$  en  $25,2$  mg.m<sup>-2</sup>.uur<sup>-1</sup>.

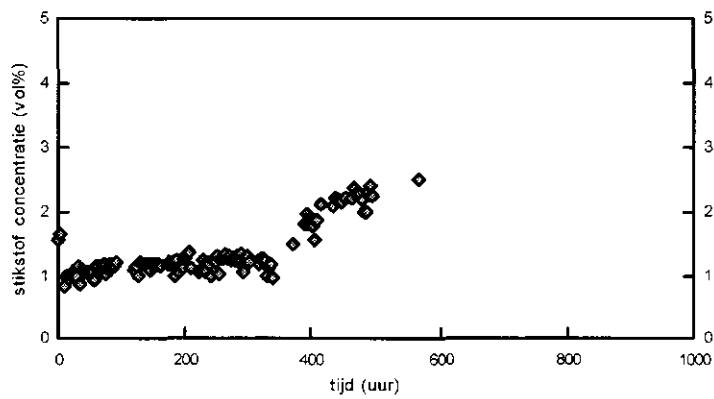
De stikstoftoename in meetvat 2 blijft onverandert  $0,0092$  vol%.uur<sup>-1</sup> nadat de meetvaten 4 en 6 zijn belast. In meetvat 8 echter neemt de stikstofconcentratie wel toe, ondanks dat hier geen nitraat is toegevoegd. De toename van stikstof voor de belasting was  $0,0167$  vol%.uur<sup>-1</sup>, en na belasting zelfs  $0,0279$  vol%.uur<sup>-1</sup> gedurende de eerste 4,7 dagen na belasting. Hierna neemt de stikstoftoename echter sterk af en komt in de orde van grootte als de ander meetvaten direct voor belasting ( $0,0075$  vol%.uur<sup>-1</sup>). Een verklaring voor de sterke stikstoftoename is waarschijnlijk dat de leidingen, kranen en de pomp waarmee nitraat aan de meetvaten is toegevoegd niet volledig vrij van nitraat waren nadat de meetvaten 4 en 6 zijn belast, ondanks het langdurig spoelen met water. Het monster in meetvat 2 is belast met water zonder nitraat direct voordat de meetvaten 4 en 6 zijn belast. Opvallend is echter wel dat de toename in meetvat 8 van eenzelfde grootte is als meetvat 6, terwijl de toename in meetvat 4 weer lager is als in meetvat 4. Mogelijk is de spoeltijd tussen het wisselen van de oplossingen niet voldoende.



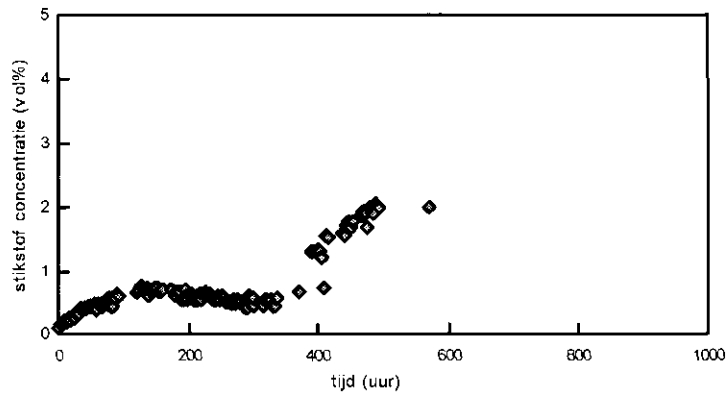
Figuur 14 Stikstofconcentratie (vol%) in meetvat 2 met monsters RO 1 voor en na toevoeging van nitraat.



Figuur 15 Stikstofconcentratie (vol%) in meetvat 4 met monsters RO 2 voor en na toevoeging van nitraat.



Figuur 16 Stikstofconcentratie (vol%) in meetvat 6 met monsters RO 3 voor en na toevoeging van nitraat.



Figuur 17 Stikstofconcentratie (vol%) in meetvat 8 met monsters RO 4 voor en na toevoeging van nitraat

Tabel 2 Stikstoftoename ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in de meetvaten gedurende het experiment. Na 7 dagen zijn meetvaten 6 en 8 belast met nitraat-oplossing

Intervallen (dagen)	Concentratie-toename N2 in meetvaten ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ )			
	Meetvat 2	Meetvat 4	Meetvat 6	Meetvat 8
0 – 1,6			163,3	
1,6 – 2	40,0	34,2		46,2
2 – 7	25,5	19,7	10,5	
7 – 8,6		19,7		77,2
8,6 – 11,7	25,5		35,7	
11,7 – 12,8		36,9		20,5

Tabel 3 Denitrificatiesnelheid ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in de meetvaten direct voor en na belasting met nitraat. Na 7 dagen zijn meetvaten 4 en 6 belast met nitraat-oplossing

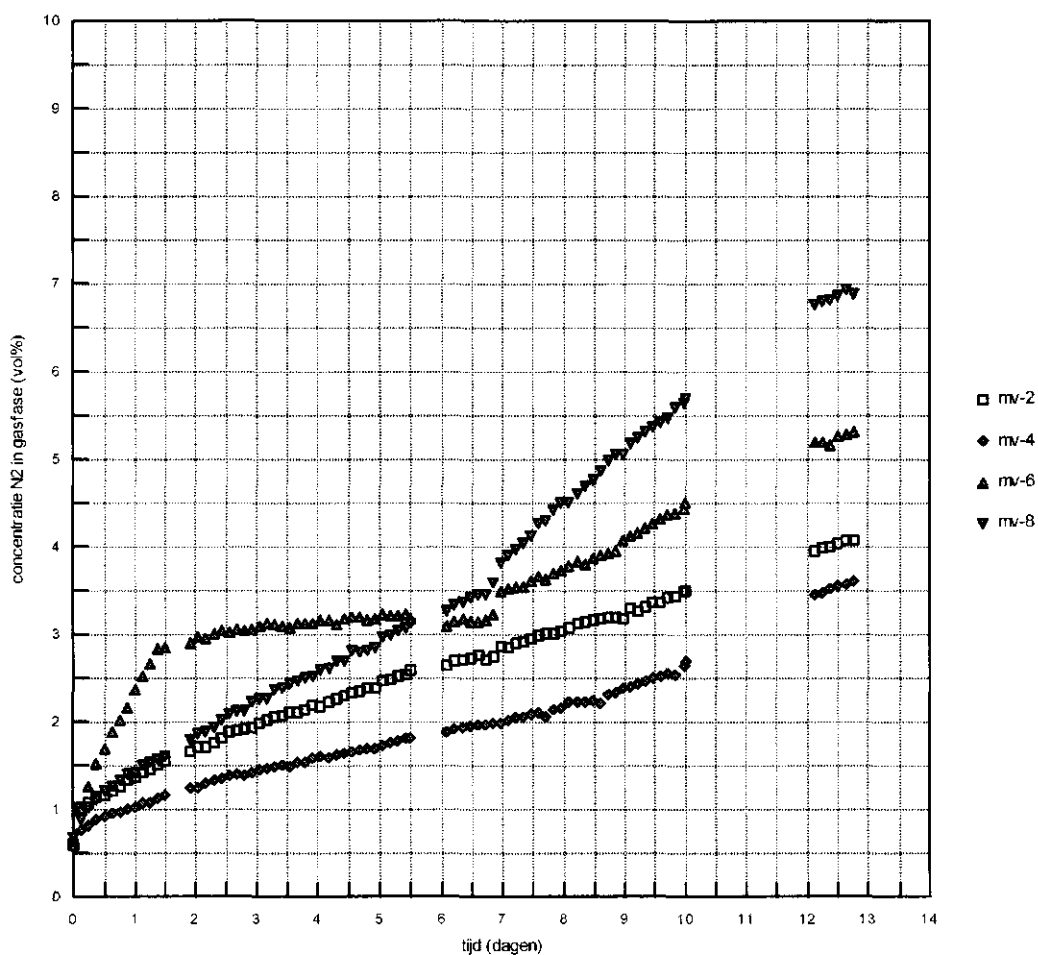
	Meetvat 2	Meetvat 4	Meetvat 6	Meetvat 8
Voor belasting	25,5	19,7	10,5	46,2
Na belasting	25,5	36,9	35,7	77,2

Tabel 4 Gecorrigeerde denitrificatiesnelheid ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in de meetvaten na belasting met nitraat. Na 7 dagen zijn meetvaten 6 en 8 belast met nitraat-oplossing

Meetvat 2	Meetvat 4	Meetvat 6	Meetvat 8	Gemiddelde Mv 4 en 6	Standaard afwijking Mv 4 en 6
0	17,2	25,2	31,0	21,2	5,7

### Tweede bemonstering

De tweede bemonstering in de Rosep op de lokatie met hoge nitraatbelasting vond plaats op 23 oktober 1996 (RO 2). Wederom werden 10 monsters gestoken waarvan er 4 in het laboratorium zijn overgebracht in de meetvaten. In de figuur 18 en is te zien dat in de eerste 90 uur een toename van stikstof in alle meetvaten is waargenomen. Deze toename varieert tussen 0,0034 en 0,0092 vol%.uur<sup>-1</sup> (tabellen 5, 6, 7 en 8). Na ongeveer 90 uur na aanvang van het experiment is een duidelijke knik in de curve waarneembaar. De stikstoftoename in alle meetvaten is hierna minder groot. In de meetvaten 2 en 4 is de stikstoftoename respectievelijk 0,0009 en 0,0041 vol%.uur<sup>-1</sup>, terwijl in de meetvaten 6 en 8 zelfs een lichte stikstofafname is gemeten van respectievelijk 1,8 en 1,9 vol%.uur<sup>-1</sup>. Dit is waargenomen over een periode van ongeveer 150 uur. Na ongeveer 355 uur na aanvang van het experiment zijn de monsters in alle vier meetvaten belast met 1,8 mg nitraat (door een verkeerde kraanstand zijn niet alleen 2 meetvaten belast en 2 meetvaten als blanco mee genomen). Alle monsters reageren duidelijk op de nitraatgift. De stikstoftoename in de meetvaten varieert tussen 0,0112 en 0,0178 vol%.uur<sup>-1</sup>. Ongeveer 100 uur na de nitraatgift stagneert de stikstoftoename vrijwel volledig. Door storingen in de besturing zijn na deze periode slechts enkele gasmonsters genomen. De stikstoftoename ligt dan tussen -0,0015 en 0,0030 vol%.uur<sup>-1</sup>.



Figuur 18. Stikstofconcentratie (vol%) in meetvat 2, 4, 6 en 8 met monsters RO2, voor en na toevoeging van nitraat

Tabel 5 Stikstoftoename ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ ) in meetvat 2. Na 14,8 dag (355 uur) is het monster belast met nitraatoplossing

Tijd (uur)	Concentratie N2 (vol%)	Stikstoftoename ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ )
1	0,61	
89	1,10	15,4
173	2,74	
336	2,88	2,4
437	4,50	44,4
491	4,42	-4,1

Tabel 6 Stikstoftoename ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ ) in meetvat 4. Na 14,8 dag (355 uur) is het monster belast met nitraatoplossing

Tijd (uur)	Concentratie N2 (vol%)	Stikstoftoename ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ )
1	0,19	
93	1,04	25,6
334	2,02	11,3
436	3,84	49,4
567	4,23	8,2



Tabel 7 Stikstoftoename ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in meetvat 6. Na 14,8 dag (355 uur) is het monster belast met nitraatoplossing

Tijd (uur)	Concentratie N2 (vol%)	Stikstoftoename ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ )
1	0,81	
93	1,12	9,3
357	0,95	-1,8
435	2,10	40,8
568	2,50	8,3

Tabel 8 Stikstoftoename ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in meetvat 8. Na 14,8 dag (355 uur) is het monster belast met nitraatoplossing

Tijd (uur)	Concentratie N2 (vol%)	Stikstoftoename ( $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ )
2	0,11	
91	0,62	15,9
355	0,44	-1,9
493	1,98	30,9
568	2,00	0,7

Uit de berekende stikstofverwijdering voor deze monsters voor en na de belasting (tabel 9) is de denitrificatiesnelheid berekend (tabel 10). Hieruit blijkt dat de denitrificatiesnelheid in de Rosep gemiddeld  $38,0 \text{ mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$  is.

Tabel 9 Stikstoftoename (in  $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in de meetvaten direct voor en na belasting met nitraat. Na 14,8 dagen zijn alle meetvaten belast met nitraat-oplossing

	Meetvat 2	Meetvat 4	Meetvat 6	Meetvat 8
Voor belasting	2,4	11,3	-1,8	-1,9
Na belasting	44,4	49,4	40,8	30,9

Tabel 10 Gecorrigeerde denitrificatiesnelheid (in  $\text{mg.m}^{-2}.\text{uur}^{-1}$ ) in de meetvaten na belasting met nitraat. Na 14,8 dagen zijn alle meetvaten belast met nitraat-oplossing

Meetvat 2	Meetvat 4	Meetvat 6	Meetvat 8	Gemiddeld	Standaard Afwijking
42,0	38,1	40,8	30,9	38,0	5,0

## 5 Discussie

### 5.1 Technisch

#### *Gasdruk*

Tijdens de experimenten is de gasdruk vrijwel constant gebleven. De experimenten waarbij de druk niet constant was zijn voortijdig afgebroken, aangezien de lekkage dermate groot was dat resultaten niet verwerkt konden worden. Kleine drukverschillen in de enkelvoudige opstelling waren niet meetbaar met de drukmeter. Dit heeft geleid tot het opnemen van een druksensor in elk gascircuit in de viervoudige opstelling. De druk in de meetvaten werden weergegeven door middel van een schrijver. Hierdoor kon over een langere tijd de druk in de verschillende systemen worden gevolgd.

#### *Besturing*

Door het registreren van de druk werd het ook mogelijk storingen in de besturing te achterhalen. Als gevolg van het opnemen van de monsterloop in het gascircuit door middel van de systeemkeuzekraan is er een tijdelijke verhoging van de druk door de grotere weerstand van de monsternameloop. Bij een goed functionerend besturingsysteem geeft de druk in het systeem een regelmatig patroon op de schrijver waarbij de lijn telkens voor een korte periode (monstername) wordt onderbroken. De besturingsoftware en de interface is ontwikkeld voor het besturen van kranen van het merk Valco, en niet voor het besturen van relais in een (door SC-DLO ontworpen) schakelkast. De besturingsoftware was geïnstalleerd op een verouderde computer (Olivetti M250, 286). Storingen in de besturing traden op onvoorspelbare momenten op. De storingen bestonden uit het niet reageren van de aangestuurde apparatuur (monsternamekraan en startsignaal voor dataverwerking) of het "op hol slaan" van de kranen. Dit laatste bestond uit het continu doordraaien van de kraan of het kiezen van een willekeurig gascircuit. De storing kon alleen verholpen worden door de computer opnieuw op te starten. In de periode dat de storing optrad zijn geen meetwaarden verkregen. Met name in de viervoudige opstelling ontbreken hierdoor regelmatig meetgevens.

#### *Gaspompen*

In de opstelling is gebruik gemaakt van een roestvrijstalen balgmembraanpomp. De keuze is op deze pomp gevallen doordat deze bestaat uit inerte materialen, de zeer grote gasdichtheid en de kleine capaciteit. In de enkelvoudige opstelling functioneerde de pomp vrijwel probleemloos. Het vervangen van de pompkleppen was slechts incidenteel nodig. In de viervoudige opstelling traden er regelmatig storingen met de pompen op. Van de vier pompen zijn er uiteindelijk drie vervangen en één gereviseerd. De oorzaak van dit probleem is (waarschijnlijk) de grotere lengte van het gascircuit. Door het ordelijk plaatsen van de kranen op een schakelbord, het gebruik van meer apparatuur (pompen e.d.) en de noodzaak dat alle gascircuits uit moesten komen bij één systeemkeuzekraan, is de totale lengte van het gascircuit toegenomen van 2 tot 6 meter. De pompen ondervinden hierdoor meer weerstand, waardoor slijtage sneller optrad.

### ***Waterpompen***

Het gebruik van de waterpomp in de enkelvoudige opstelling was nauwelijks een probleem. Ook hier was de lengte van het watercircuit aanmerkelijk korter dan in de viervoudige opstelling, waardoor ook hier in de viervoudige opstelling de waterpompen aan grotere slijtage onderhevig waren. Zeer regelmatig brak de plunjer van een pomp, hetgeen niet altijd opgemerkt werd. Het gebruik van overdrukventielen was niet succesvol en deze zijn vervolgens uit de opstelling verwijderd.

### ***Gasdichtheid***

Zeer veel tijd is er besteed aan het gasdicht krijgen van de meetopstellingen. Door het gebruik van de juiste materialen, zoals een glazen meetvat, roestvrijstalen leidingen, balgmembraanpomp en een plunjerpomp, was het mogelijk de enkelvoudige opstelling redelijk snel en langdurig gasdicht te houden. Het aantal koppelstukken en onderdelen in deze opstelling was aanzienlijk minder dan in de viervoudige opstelling. Deze viervoudige opstelling is uiteindelijk ook gasdicht gekregen zolang de pompen goed bleven functioneren.

### ***Procestemperatuur***

De temperatuur in de klimaatkast kon in de enkelvoudige opstelling op de ingestelde waarde gehouden worden (zolang de deur niet te lang geopend was), ook nadat de gas- en waterpomp in deze kast was geplaatst. In de viervoudige opstelling was de warmte-ontwikkeling door de pompen dermate groot dat de temperatuur niet onder 12,5 °C te krijgen was. In het tweede experiment met deze monsters zijn de waterpompen buiten de klimaatkast geplaatst. De temperatuur in de kast kon hierna wel weer op 10 °C worden ingesteld.

### ***Gaschromatograaf***

Met de gebruikte gaschromatograaf en detector was het niet mogelijk een kleiner gasmonster te nemen om de gewenste gevoeligheid te krijgen. Hierdoor wordt bij elke bemonstering 0,01% van de gasfase (helium met geproduceerd stikstof) vervangen door helium. Dit heeft geleid in een minder frequente bemonstering (4 tot 6 maal per dag) dan in eerste instantie (elk uur). De gebruikte molsieve 5Å analytische kolom was in staat stikstof van zuurstof te scheiden. Door de hoge luchtvochtigheid in het systeem (door het continu spoelen van het water met de gasfase) trad echter redelijk snel verzadiging van de kolom met water op. Dit resulteerde in een minder goede scheiding van zuurstof en stikstof. De kolom moest na elk experiment worden uitgestookt of vervangen. Door het verouderen van dit type kolom verschuiven de pieken van de componenten naar voren. Daarnaast wordt de piekhoogte kleiner. De oppervlakte verandert echter niet bij gelijkblijvende concentratie. Nadat dit geconstateerd was is het gehalte stikstof bepaald op basis van het piekoppervlak.

### ***Bemonstering en belasting waterfase***

In de enkelvoudige opstelling is gebruik gemaakt van een spuit van 5 ml voor het nemen van een watermonster of het belasten van het monster met nitraat. Hoewel deze techniek in principe goed functioneert is voor de viervoudige opstelling gekozen voor een monsterloop. Het nadeel van de spuit is dat er gemakkelijker luchtbellen in het systeem kan worden geïntroduceerd. Daarnaast kan er lucht langs de plunjer van

de spuit het systeem worden ingetrokken en is deze techniek arbeidsintensiever. Het voordeel van de spuit is dat het functioneren van de waterpomp zichtbaar is. Het voordeel van de monsterloop is dat altijd een vast volume monster genomen wordt. Bij het belasten of toevoegen van nitraat of water aan het systeem wordt geen stikstof geïntroduceerd. De werking van de waterpomp is echter niet zichtbaar zodat niet gecontroleerd kan worden of een belasting van nitraat daadwerkelijk heeft plaatsgevonden.

### ***Gevoeligheid***

Gedurende de experimenten veranderde de omrekeningsfactor  $\alpha$  niet als gevolg van druk en temperatuursverschillen. Voor de hoogte van de waterkolom, en dus het volume van de gasfase, is zo goed mogelijk een schatting gemaakt. Zoals beschreven, heeft een kleine verandering in de hoogte van de waterkolom directe gevolgen voor  $\alpha$ . Er mag van uit gegaan worden dat  $\alpha$  een zo goed mogelijke benadering is van de werkelijkheid. Echter kan de fout in  $\alpha$  een verklaring zijn voor verschillen in de berekende en gemeten  $\text{NO}_3^-$ -N voorraad in de waterfase, al zijn bij de experimenten waarbij het verschil erg groot was, aanvullende experimenten uitgevoerd met een additie van zowel nitraat als acetaat. Het verschil tussen de berekende en gemeten  $\text{NO}_3^-$ -N in de aanvullende experimenten was kleiner, waaruit geconcludeerd mag worden dat  $\alpha$  een redelijk goede benadering is van de werkelijkheid. Om  $\alpha$  beter te kunnen vaststellen in vervollexperimenten zijn een aantal uitbreidingen in de opstelling wenselijk. Op de cilinder van het meetvat moet een vulstreep geplaatst worden, waarbij het mogelijk is de hoogte van de waterkolom exact te kunnen instellen en bij voorkeur op 1 millimeter nauwkeurig. De opstelling hoeft niet verder te worden aangepast om  $\alpha$  te kunnen corrigeren voor temperatuursverschillen. Het blijkt dat  $\alpha$  hiervoor nauwelijks gevoelig is. Tevens staat een groot deel van de opstelling al in een klimaatkast.

## **5.2 Experimenteel**

### ***Schuitenbeekgebied***

De monsters uit het Schuitenbeekgebied zijn doorgemeten met de enkelvoudige opstelling. Deze monsters zijn dus sequentieel genomen in een periode van 3 weken. De monsters uit de sloot in het landgoed Groot Gerven zijn genomen in de uitspoelingsperiode van 1993 (oktober en november). Gedurende de vorst zijn de monsters bij de Hoef genomen (december en januari). Bij het laatste monsters was het zelfs noodzakelijk een wak in het ijs te maken voordat de monsters genomen konden worden. In tabel 11 zijn de denitrificatiesnelheden van de monsters uit het Schuitenbeekgebied weergegeven. Uit deze waarden blijkt dat er een minimaal verschil is tussen de denitrificatiesnelheid in de monsters uit Groot Gerven. De omstandigheden waarbij de monsters genomen zijn, zijn vrijwel identiek geweest. Een groter verschil tussen de denitrificatiesnelheden van de verschillende monsters is waargenomen in de monsters uit de Hoef. Een mogelijke verklaring zou kunnen zijn dat bij het tweede monster de biologische activiteit in het sediment al zo laag was als gevolg van de lage temperatuur dat dit invloed heeft op de denitrificatiesnelheid. Een andere verklaring voor het verschil in gevonden snelheid is mogelijk de variabiliteit in de slootbodem omdat niet exact op dezelfde plaats een volgende keer bemonsterd

is. Een dergelijk grote variabiliteit is echter niet gevonden tussen de monsters uit Groot Gerven. Mogelijk berust dit op toeval. Op basis van twee metingen per lokatie is hier echter geen zekerheid over te geven.

Tabel 11 denitrificatiesnelheid ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ ) van de afzonderlijke monsters uit het Schuitenbeekgebied (1993/94).

	Monster 1	Monster 2
Groot Gerven	10,1	9,9
De Hoef	11,2	7,2

Het blijkt dat de voorraad nitraat in het slootwater berekend uit de stikstofconcentratie goed overeenkomt met de gemeten concentratie in de watermonsters. Dat betekent dat de opstelling goed gefunctioneerd heeft en dat de analyses betrouwbaar zijn. Op basis van de resultaten van de experimenten met acetaat, blijkt dat ook de nalevering van stikstof verwaarloosbaar is.

### *De Rosep*

Slechts tweemaal zijn redelijk succesvol monsters uit de Rosep genomen en geanalyseerd. Dit vond plaats in het najaar van 1996. De monsters zijn geanalyseerd met de viervoudige opstelling, zodat dus 4 monsters simultaan zijn doorgemeten. De omstandigheden waaronder deze monsters genomen zijn, zijn vrijwel identiek als waaronder de monsters in Groot Gerven zijn genomen. Dat wil zeggen dat er er geen extreem lage temperatuur was. Het water in de Rosep stroomde op het moment van monsternamen behoorlijk snel.

In tabel 12 zijn de gecorrigeerde denitrificatiesnelheden weergegeven voor de monsters uit de Rosep. Hierin zijn de vetgedrukte waarden verkregen na belasting van de monsters met nitraat. Hieruit blijkt dat er een grote spreiding is tussen de denitrificatiesnelheid in de verschillende monsters. Deze varieert tussen 17,2 en 42,0  $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$  over twee experimenten. Het blijkt dat de snelheden tijdens de eerste bemonsteringen continue lager zijn dan die tijdens de tweede bemonstering. Een verklaring hiervoor is mogelijk dat vanwege de lage temperatuur tijdens de eerste bemonstering de hoeveelheid denitrificerende bacteriën laag was.

Tabel 12 Gecorrigeerde denitrificatiesnelheden ( $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{uur}^{-1}$ ) voor de afzonderlijke monsters van de eerste en tweede bemonstering in de Rosep (1996). Vetgedrukt = belaste systemen

	Monster 1	Monster 2	Monster 3	Monster 4
Rosep 1	0,0	17,2	25,2	31,0
Rosep 2	42,0	40,8	30,9	38,0

Uit de resultaten van het eerste experiment (Rosep 1) blijkt dat de monsters in de vier meetvaten verschillend van elkaar reageren in de periode voor belasting. In meetvat 6 is een duidelijk sterkere toename van stikstofgas waargenomen in de eerste anderhalve dag dan in de meetvaten 2, 4 en 6. Na anderhalve dag neemt het stikstof in meetvat 6 minder sterk toe. Een verklaring voor de verloop van deze curves is moeilijk te geven. Waarschijnlijk is de nalevering van stikstof uit het sediment voor elk monster anders. Bij het overbrengen van een slootprofiel vanuit de steekbuis naar de glazen cilinder van het meetvat is het mogelijk dat er luchtballen worden ingesloten in het moeder materiaal. Enkele malen is een luchtbel zichtbaar geweest tegen de glaswand. Door het concentratieverschil is het mogelijk dat stikstof vanuit

de ingesloten luchtbel naar het oppervlak diffundeert en op deze manier bijdraagt aan nalevering van stikstof. Hierdoor kan mogelijk het verschil in de steilheid van de curve aan het begin van de experimenten worden verklaart. Zeven dagen na de start van het experiment zijn meetvaten 4 en 6 belast met nitraatoplossing. Het is duidelijk dat het monster in meetvat 6 hierop reageert. Monster 2 reageert hier minder sterk op. Dit is duidelijk te zien in meetvat 2, waarin de stikstoftoename voor en na belasting vrijwel gelijk is. In meetvat 8 is echter een veel sterkere toename waarneembaar, ondanks het feit dat er geen nitraat aan het meetvat zou zijn toegevoegd. Het vermoeden bestaat dat er onbedoeld toch nitraat in dit systeem is terecht gekomen. Na het één voor één legen van de monsterlopen van alle systemen worden deze gevuld met slootwater of een nitraatoplossing. De vloeistof wordt door middel van één slangenpomp door de leidingen en monsterlopen gepompt. De monsterloop van systeem 4 is als eerste gevuld. Hiervoor werd enkele milliliters nitraatoplossing door de monsterloop gepompt, waarna de kraan omgezet werd om de monsterloop van systeem 6 te vullen. Nadat beide monsterlopen gevuld waren, zijn deze twee monsterlopen in de systemen opgenomen. Het vat met de nitraatoplossing is vervangen door een vat met slootwater en de leidingen zijn gedurende enkele milliliters gespoeld met water. Hierna is de monsterloop van systeem 8 gevuld, gevolgd door monsterloop van systeem 2. Waarschijnlijk is door deze werkwijze niet de juiste hoeveelheid nitraat in de systemen 4 en 6 terecht gekomen, en teveel in systeem 8. Dit is mogelijk doordat achterblijvend water uit de bemonstering de nitraatoplossing in monsterloop 4 heeft verdund. In monsterloop 8 is waarschijnlijk nitraat terecht gekomen doordat er nog nitraat in de leidingen is achtergebleven. Deze wijze van bemonstering dient daarom te worden verbeterd.

Gedurende dit experiment zijn regelmatig problemen geweest met de waterpompen. Deze problemen (gebroken plunjers en oververhitting) zijn op verschillende manieren getracht op te lossen. Hierdoor zijn helaas geen watermonsters genomen en was het niet mogelijk de nitraatconcentratie in de meetvaten te vergelijken met berekende nitraatvoorraad op basis van de stikstofconcentratie in de luchtfase.

Het tweede experiment met monsters uit de Rosep laat eenzelfde variatie in stikstofconcentratie voor de belasting met nitraat zien. In meetvat 2 is een duidelijke toename van stikstof waargenomen gedurende de eerste 8 dagen, waarna de sprong naar de volgende meetpunten, maar ook de spreiding tussen de verschillende meetpunten dermate groot is dat het niet duidelijk is of hier een stabilisatie heeft plaatsgevonden, of dat de stikstoftoename nog steeds plaatsvindt. De sprong na vier dagen is veroorzaakt door het oplossen van problemen met de gaspomp. De gaspomp in dit systeem functioneerde niet, waardoor het gehele systeem moest worden geopend en een nieuwe pomp moest worden geplaatst. Uitgebreid spoelen van dit systeem na de plaatsing van een nieuwe pomp, was niet mogelijk, zodat wat atmosferisch stikstof in het meetvat is terechtgekomen. Ook in meetvat 2 is een duidelijke stikstoftoename, die na 4 dagen echter minder sterk is. Er is echter nog steeds een toename van stikstof, dus een nalevering vanuit het sediment. In meetvat 6 is de stikstoftoename echter nauwelijks waarneembaar. De spreiding tussen de meetpunten is echter wel groot, maar een toename is hier niet uit te halen. In meetvat 8 is na een beperkte toename gedurende de eerste 4 dagen echter een lichte afname in de periode daarna. Het blijkt dat alle monsters of alle meetvaten op verschillende

wijze reageren. Een verklaring voor de verschillen is mogelijk dat niet alle meetvaten volledig gasdicht waren, maar dat dit niet in de druk waarneembaar is (bijvoorbeeld meetvat 2 en 4). De oorzaak hiervan zou kunnen zijn dat er een kleine lekkage is in het meetvat als gevolg van zand tussen de onderkap en de cilinder. Na ruim 14 dagen zijn de monsters in de vier meetvaten belast met nitraat. Aanvankelijk was het de bedoeling twee van de vier vaten te belasten met nitraat, maar per ongeluk zijn aan alle meetvaten nitraat toegevoegd. De vier monsters reageren duidelijk op de nitraatgift. Na ongeveer 5 dagen neemt de stikstoftoename in alle systemen af. Op basis van slechts enkele meetpunten blijkt dat er geen stikstoftoename in de gasfase plaatsvindt. Besturingsproblemen zijn verantwoordelijk dat vele gasanalyses niet zijn uitgevoerd. Door zowel besturingsproblemen met de computer, als problemen met de waterpompen is besloten het experiment te staken. Ook dit experiment ging gepaard met vele problemen met de waterpompen, waardoor watermonsters niet genomen zijn.

Verskil tussen beide studies is dat de basislijn bij de monsters uit het Schuitembeekgebied binnen enkele dagen vrijwel horizontaal liepen, terwijl die bij de monsters uit de Rosep in veel gevallen niet eens afnamen en horizontaal gingen lopen. Nalevering van stikstof uit de bodem van de monsters uit de Rosep lijkt dus een veel belangrijkere bijdrage te leveren aan de stikstofhoeveelheid in het water dan bij de monsters uit het Schuitembeekgebied. Op grond hiervan kon bij de experimenten met de Schuitembeekmonsters eerder worden besloten tot belasting met nitraat over te gaan.

#### ***Bijdrage van denitrificatie in de slootbodem aan de reductie van N-belasting op het oppervlaktewater.***

Uit de literatuur blijkt dat denitrificatie in de slootbodem een belangrijke rol kan spelen bij de reductie van de stikstofbelasting op het oppervlaktewater. De hoeveelheid die denitrificeert is in belangrijke mate afhankelijk van de hoeveelheid zuurstof in de slootbodem, de hoeveelheid makkelijk afbreekbaar organische materiaal en de temperatuur (Van Luijn, 1997).

In het kader van de N-desk studie (Roest & Groenendijk, 1995) is onderzoek gedaan naar de stikstofverwijdering in slootbodems. In deze studie is met behulp van het oppervlaktewaterkwaliteitsmodel NUSWA berekend wat de bijdrage van de denitrificatie is aan de reductie van de N-belasting op het oppervlaktewater. Hieruit is gebleken dat er een lineair verband is tussen de belasting van de slootbodem met stikstof en de denitrificatiesnelheid. De vorm waarin stikstof de slootbodem bereikt (als  $\text{NH}_4$  en org-N, of als  $\text{NO}_3$ ) heeft grote invloed op de denitrificatiesnelheid. Daarnaast bepaalt ook de dikte van de waterbodemplaat de denitrificatiesnelheid. Bij een gemiddeld belastingsniveau van  $45 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , N in de vorm van alleen  $\text{NO}_3$  en een dikte van de waterbodem van 40 cm verdwijnt 54 % van de aangevoerde N in de bodem als gevolg van denitrificatie.

De in het kader van de N-desk studie berekende denitrificatiesnelheid varieert van 7 tot  $40 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ , afhankelijk van het belastingsniveau en de vorm waarin N de waterbodem bereikt. In het Schuitembeekgebied worden denitrificatiesnelheden van 173

tot  $269 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  gemeten met behulp van de in dit rapport beschreven opstelling, bij een N-belasting van  $550 \text{ mg N-NO}_3 \text{ m}^{-2}$  ( $= 1,7 \text{ mg N} / 0,0031 \text{ m}^{-2}$ ). In de Hilver worden denitrificatiesnelheden variërend tussen 408 en  $980 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  gemeten bij een gelijke belasting. Op basis van balans onderzoek in de proefsloten wordt een denitrificatiesnelheid berekend van  $2-260 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  afhankelijk van het trofieniveau.

Door het RIZA is onderzoek gedaan naar de gekoppelde nitrificatie-denitrificatie in het Wolderwijd (Van Luijn, 1997). Een beschrijving van de in dit onderzoek gebruikte meetopstelling is gegeven in hoofdstuk 2. Hierbij worden ongestoorde sedimentmonsters in de meetopstelling geplaatst, wordt het bovenstaande water verwijderd en wordt water zonder nutriënten toegevoegd. In verschillende ongestoorde sedimenten worden denitrificatiefluxen variërend van  $6,72$  tot  $77 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  gemeten. Dit is het gevolg van nalevering van  $\text{NH}_4$  uit de waterbodem, nitrificatie in het bovenstaande water, diffusie van  $\text{NO}_3$  naar de waterbodem alwaar dan denitrificatie kan plaatsvinden. Deze nalevering van  $\text{NH}_4$  is geforceerd omdat in het bovenstaande water alle nutriënten zijn verwijderd. In één van de monsters in het Schuitenbeekgebied wordt een nalevering gemeten van  $15,7 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . Doordat in het bovenstaande water nog, hoewel in een zeer lage concentratie, nutriënten aanwezig zijn is deze nalevering relatief laag ten opzichte van de metingen uitgevoerd door Van Luijn (1997).

In experimenten waarbij stikstof in de vorm van  $\text{NO}_3$  is toegevoegd aan het systeem berekent Van Luijn een denitrificatie-capaciteit van  $14 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  bij een  $\text{NO}_3$  belasting van  $35,4 \text{ mg N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ .



## 6 Conclusies en aanbeveling

### *Conclusies*

Uit literatuur blijkt dat denitrificatie in waterbodems een belangrijke bijdrage kan leveren aan het verwijderen van stikstof in oppervlaktewatersystemen. Aangezien nog weinig kwantitatieve gegevens bekend waren betreffende de grootte van deze stikstofverwijdering is door het SC-DLO een meetopstelling ontwikkeld waarmee continue het denitrificatieproces in ongestoorde waterbodemmonsters kon worden gevolgd.

In eerste instantie is deze meetopstelling opgezet voor het doormeten van een enkel monster. Hiervoor was het nodig om te experimenteren met materialen om het systeem gasdicht te krijgen. Geconcludeerd kon worden dat deze enkelvoudige meetopstelling goed heeft gefunctioneerd. Het grote nadeel van deze opstelling was echter dat met het doormeten van één enkel monster geen inzicht wordt verkregen in de variatie in denitrificatiesnelheid in een slootsysteem op korte afstand. Daarom is de enkelvoudige meetopstelling uitgebreid tot een viervoudige meetopstelling. Dit systeem bleek behoorlijk storingsgevoelig te zijn, met name vanwege het feit dat de lengte van de gas- en waterleiding behoorlijk is vergroot waardoor de pompen te veel weerstand ondervonden. Het bleek echter wel mogelijk om de opstelling gasdicht te krijgen. Gedurende de experimenten hebben we veel experimenten vroegtijdig moeten beëindigen vanwege het feit dat één van de pompen kapot was gegaan.

Met behulp van de enkelvoudige en de viervoudige meetopstelling zijn een aantal monsters doorgemeten. De denitrificatiesnelheid in de waterlopen in het Schuitensbeekgebied (Noord Veluwe) blijkt te variëren tussen de 7,2 en 11,2  $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{u}^{-1}$ . Deze metingen zijn uitgevoerd met de enkelvoudige meetopstelling en de snelheden zijn dus op verschillende tijdstippen bepaald. De bepaalde variatie kan daarmee het gevolg zijn van variatie in tijd en ruimte aan denitrificerende bacteriën en organisch materiaal.

Met behulp van de viervoudige meetopstelling zijn de monsters in de Rosep in het stroomgebied van de Hilver (Noord-Brabant) doorgemeten. De gemeten denitrificatiesnelheid in deze monsters varieerde tussen de 17 en 41  $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{u}^{-1}$  (gebaseerd op 2 maal 3 monsters). Echter, gezien de technische problemen van het systeem is de betrouwbaarheid van deze metingen kleiner dan de metingen die zijn uitgevoerd met het enkelvoudige systeem.

Op basis van dit onderzoek en bevindingen van Van Luijn (1997) kan worden geconcludeerd dat de denitrificatiesnelheid in de kleine waterlopen in het landelijk gebied beduidend hoger is dan de denitrificatiesnelheid die is bepaald in the Wolderwijd. Echter, de belasting van kleine waterlopen in agrarische gebieden met nutriënten is ook vele malen hoger.

### ***Aanbevelingen***

Gezien het belang van denitrificatie aan de verwijdering van stikstof uit het oppervlaktewatersysteem lijkt het zinvol te werken aan een systeem waarmee denitrificatieconstanten kunnen worden afgeleid, die worden gebruikt in de waterkwaliteitsmodellen.

Uit de verschillende experimenten die in het kader van het in dit rapport beschreven onderzoek zijn uitgevoerd, is gebleken dat de methode voor het bepalen van de denitrificatiesnelheid zoals hier ontwikkeld in potentie geschikt is. Indien de opstelling of de techniek in de toekomst gebruikt moet gaan worden is het aan te bevelen het systeem op een aantal wezenlijke punten te verbeteren. Met name het inkorten van het gas- en waterleidingsysteem is hiervoor noodzakelijk. Met een korter leidingcircuit ondervinden de pompen minder weerstand, waardoor de problemen die hierbij optreden aanzienlijk minder zullen zijn. De opstelling, en met name het leidingsysteem, moet echter wel overzichtelijk blijven (geen spaghetti van leidingen). Daarnaast moet worden gezien of met het viervoudig systeem ook blanco's moeten worden doorgemeten, gezien de gevoeligheid van het systeem.

## Literatuur

Chan, Y.K. & Knowles, R. 1979. *Measurement of Denitrification in Two Freshwater Sediments by an In Situ Acetylene Inhibition Method*. Department of Microbiology Macdonald Campus of McGill University, Quebec Canada,. Applied and Environmental Microbiology 37(6): 1067-1072

Cooper, A.B., 1990. *Nitrate depletion in the riparian zone and stream channel of a small headwater catchment*. Water Quality Centre, Department of Scientific and Industrial Research, Hamelton New Zealand. Hydrobiologica 202: 13-26

DeLaune, R.D. & Smith, C.J., 1987. *Simultaneous Determination of Nitrification and Nitrate Reduction in Sediment-Water Columns by Nitrate <sup>-15</sup> Dilution*. Journal Environmental Quality 16(3): 227-230

Devol, A. H., 1991. *Direct measurement of nitrogen gas fluxes from continental shelf sediments*. School of Oceanography, University of Washington, Seattle, Washington, USA, Nature 349: 219 -321

Koike, I. & Hattori, A., 1978. *Simultaneous Determinations of Nitrification and Nitrate Reduction in Coastal Sediments by a <sup>15</sup>N Dilution Technique*. Ocean Research Institute, University of Tokyo, Japan. Applied and Environmental Microbiology 35(5): 853-857.

Luijn, F. van, 1992. *Stikstofomzettingen in sediment en water*. RIZA Lelystad, verslag van een literatuurstudie, werkdocument 92.017 x.

Luijn, F. van, 1997. *Nitrogen removal by denitrification in the sediments of a Shallow Lake* PhD-thesis LandbouwUniversiteit Wageningen

Roest, C.W.J. & Groenendijk, P., 1995. *De weg naar een schone toekomst*. In: Schoute, J.F.Th., Berg, L.M. van den, Farjon, H. & Steenvoorden, J.H.A.M. (eds) *Waarheen met het landelijk gebied*. SC-DLO Wageningen en Samson HD Tjeenk Willink

Seitzinger, S., Nixon, S., Pilson, M. E. Q. & Burke, S. 1980. *Denitrification and N<sub>2</sub>O production in near-shore marine sediments*. Graduate School of Oceanography, University of Rhode island, Kingston USA. Geochimica et Cosmochimica Acta 44:1853-1860

Snodgrass, W.J. & Klapwijk, A. 1986 *Lake Oxygen Model 1: Modelling Sediment Water Transport of Ammonia, Nitrate and Oxygen*. In: Sly, P.G. (ed) Proc 3 int symp. int sed & water 1984, chapter 21

Visser, C.M., 1989 *Is eutrofiering te bestrijden door middel van stikstof-aanpak?* Landbouw Universiteit Wageningen, vakgroep Waterzuivering