

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Masteroppgave 2019 60 stp Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning

Test af fluorometer i en turbid og humøs sø

Kan et *in situ* fluorometer erstatte laboratoriemålinger af klorofyl a?

Jonas S. Reinemo Limnologi og vannressurser

Forord

Ferskvandsøkologi harløbende fået en større og større interesse for mig under min uddannelse. Det startede med nogle få mikroskopiske bunddyrundersøgelser i forbindelse med et bachelorprojekt i Danmark, og slutter nu af med en omfattende undersøgelse af en stor, norsk sø. Jeg er ikke i tvivl om, at jeg har valgt det rigtige område at arbejde med, og glæder mig allerede til de næste udfordringer.

Først en tak til:

Thomas Rohrlack (hovedvejleder, NMBU) for altid at være velforberedt, vidende og tilstede når man har brug for det. Din passion og viden om søer overgår alle jeg har mødt.

Ståle Haaland (medvejleder, NMBU/NIBIO) for at du fik skubbet mig i gang med oppgaven, din løbende opfølgning og vejledning her i slutspurten, og dit bidrag med statistiske beregninger.

Roger Roseth (medvejleder, NIBIO) for al din hjælp mens jeg har været her i Norge. Uden din hjælp er det sikkert at sige, jeg aldrig var nået hertil. En ekstra tak for lån af sensorer og vejledning i forbindelse med min master.

Inga Greipsland (nu Multiconsult) for din hjælp med udsættelse af sensor. En lang men god dag i fantastisk vejr.

Lena Søderlund og Halvor Fjeld for lån af båd og al jeres hjælp i forbindelse med det til tider lange og slidsomme feltarbejde.

Yderligere en tak til alle på NIBIO og NMBU som jeg har været så heldig at møde gennem dette studie.

Abstrakt

Overvågning af søer har de seneste årtier fået større og større opmærksomhed. Dette skyldes de stadigt stigende udfordringer i forbindelse med at holde den antropogene påvirkning ved et minimum. Både naturlige sæsonvariationer, kemiske processer, og antropogen påvirkning kan medføre hurtige ændringer i vandkemien. Dette kan gå ud over kvaliteten af vores bade- og drikkevand, med algeopblomstringer som i sidste ende kan påvirke forbrugerens helbred. Disse trusler mod vores vandkvalitet kræver hurtig og valid overvågning, sådan at passende foranstaltninger kan foretages.

Konventionelle overvågningsmetoder af fytoplankton omfatter månedlig eller i særlige tilfælde intensiveret vandprøvetagning og efterfølgende laboratorieanalyse. Denne proces er langsommelig, og når måske ikke at opfange ændringer i vandkvaliteten i tide. *In situ* overvågning med *real time* data kan være løsningen på dette problem, men der er flere faktorer som påvirker gyldigheden af målingerne.

Blandt andet kan CDOM absorbere og udsende fluorescens af det lys som benyttes til excitation af fytoplankton. Yderligere kan turbiditet have en effekt ved at sprede og absorbere lys, og derved give mere tilfældige data. Samtidigt kan vandrende arter også påvirke målingerne, da sensoren blot måler ved et enkelt punkt i vandsøjlen, mens arterne regulerer deres vertikale position dagligt for at optimere vækst.

Disse interferenser blev i denne opgave undersøgt i Isesjøen, en turbid og humøs sø, som har oplevet en stigende mængde af algen *Gonyostomum semen* de seneste årtier. I perioden fra d. 12. juni til d. 15. september blev der derfor indsamlet vandprøver til analyse af klorofyl a med HPLC. Yderligere blev sensoren MPS-K16 fra SEBA Hydrometrie med blåt excitationslys, udsat for at måle klorofyl a ved 4 meters dybde hvert kvarter.

Resultaterne blev sammenlignet statistisk med simple regressionsanalyser, for at finde ud af, i hvor stor grad de enkelte parametre påvirker *in situ* dataene. Dette studie fandt at særligt CDOM (R^2 =0,63) og vandrende arter (R^2 =0,45) spiller en rolle i forholdet mellem de to analysemetoder. I starten af måleperioden viste *in situ* metoden op mod fire gange højere koncentrationer end laboratoriemetoden (hhv. 8 og 2 µg/l), mens de tilnærmede sig hinanden i takt med øgede koncentrationer af *G. semen*.

En model blev opstillet for at korrigere for CDOM i *in situ* målemetodens overestimater af klorofyl a koncentrationerne. Modellen viste en god evne til at forudsige laboratorieanalyserne (R²=0,89), dog med stor usikkerhed grundet få data. *In situ* sensoren formåede at registrere *G. semens* døgnvandringer, men det blev ikke muligt at opstille en model til korrektion for algens indflydelse på forholdet mellem de to målemetoder.

Abstract

In the past few decades, lake monitoring has received an increased amount of attention. This is in part due to the challenges with regards to keeping anthropogenic causes at a minimum. Both natural seasonal changes, chemical processes and anthropogenic causes can quickly change water chemistry in a lake. This might influence the quality of our bathing and drinking water reservoirs, with mass blooms of phytoplankton, thus directly affect consumer health. These threats to our water quality require swift and valid monitoring, in order to take necessary precautions, to ensure consumer safety.

Conventional methods of monitoring phytoplankton are usually based on monthly or in special cases intensified water sampling and laboratory analysis. This both acts as a snapshot for the water quality and is a slow analytical process, which may not catch changes in water quality in time. *In situ* monitoring with *real time* data could be the solution for this issue. However, there are several factors that might affect measurement validity.

Among others, CDOM can absorb and fluoresce the light used for excitation of the phytoplankton. Furthermore, turbidity might have an effect by spreading and absorbing light, thus adding to the randomness of the data. At the same time, wandering species might affect the the measurements, due to the sensor just being able to analyse chlorophyll a at one specific depth, where the algae might not be.

This study takes on the task of investigating these interferences in Isesjøen, a turbid and humic sub-boreal lake with a high abundance of the species *Gonyostomum semen*. In the period between the 12th of june to 15th september, water samples were taken for analysis of chlorophyll a with HPLC. Further, the sensor MPS-K16 from SEBA Hydrometrie with blue excitation light was implemented at a 4 meters depth for chlorophyll a measurements every 15th minute.

These results were compared statistically with simple regressional analysis to test how the abovementioned parmeters affect the *in situ* data. This study found a high correlation between CDOM (R²=0,63) and wandering species (R²=0,45) in the relationship between the two methods for analysing chlorophyll. At the start of the measuring period, the *in situ* method showed up to four times higher values than the laboratory method, while they approximated eachother with the introduction of *G. semen*.

A model to correct for CDOM in the *in situ* overestimations was established. The model showed a high ability to predict the laboratory analyses ($R^2=0,89$), although with a low certainty due to few data. The *in situ* sensor was able to register the daily wanderings of *G. semen*, but this study was unable to propose a model to correct for this in the comparison between *in situ* and laboratory chlorophyll a analysis.

Indhold

Indledning
Metode 11
Prøvepunkt
In-situ data
Klorofyl a og turbiditet
Oxygen16
Eufotisk zone og temperaturstratifikation16
Vandprøver17
Indsamling og konservering 17
Laboratorienalyser af klorofyl a, pigmenter, farvetal, og næringsstoffer
Klimadata18
Resultater 19
Næringsstoffer
Temperaturstratifikation og eufotisk zone 20
Turbiditet
Farvetal
Oxygenmætning
Klorofyl a og pigmentsammensætning med HPLC 24
<i>In situ</i> måling af klorofyl a
Diskussion
Klorofyl a fra HPLC vs. MPS-K16 multiparametersensoren
Farveinterferens
7urbiditetsinterferens
Vandrende arter
Konklusion
Referencer
Bilag 40
Bilag 1: Nedbørfelt Isesjøen 40
Bilag 2: SEBA Hydrometrie datablad
Bilag 3: <i>G. semens</i> døgnvandringer vs MPS-K1642

Indledning

Overvågning af søers vandkvalitet har i den senere tid fået mere og mere opmærksomhed. Dette skyldes at mennesker aktiviteter gennem de seneste årtier, har påvirket mange søer drastisk (Bartram & Ballance, 1996). Et tema i overvågningen er blandt andet antropogen eutrofiering med en øget mængde næringsstoffer, i forhold til den naturlige tilstand til følger (Ansari et al., 2011). Dette skyldes at eutrofiering kan have særlige uønskede konsekvenser såsom iltsvind, opblomstringer af gift-producerende cyanobakterier, reduceret levetid for søen, og en lavere æstetisk værdi (Kalff, 2002). Der kan derfor opstå samfundsmæssige udfordringer i forhold til rekreation, drikke- og badevandsinteresser, men det kan samtidigt også påvirke den naturlige artssammensætning i økosystemet (Schindler, 1977; Davis & Shaw., 2010). De konventionelle metoder til overvågning af den trofiske tilstand i Norge er typisk baseret på vandprøveanalyser af blandt andet søens indhold af fosfor og klorofyl a, samt typer af fytoplankton, hvor indikatorarter beskriver næringsstofforholdene (Andersen et al., 1997; Miljødirektoratet., 2018). Den vanlige prøvetagningsprocedure fungerer ved, at man sejler ud på søens dybeste punkt, og tager en vandprøve fra epilimnion og evt. hypolimnion. I teorien bør vinden blande vandet i epilimnion godt, hvilket giver prøverne et repræsentativt billede af hele søens tilstand (Bengtsson, 1978). For fytoplankton kan det være nødvendigt med et planktonnet for at koncentrere prøven, mens prøver fra hypolimnion kan påvise om der lækkes labil fosfor ud fra bunden, hvilket kan medføre hurtige opblomstringer (Lampert & Sommer, 2007). Derefter bliver vandprøverne konserveret med skygge, nedkøling, og evt. lugol indtil de videre analyser på laboratorie, enten af en ekstern konsulentvirksomhed eller egne vandkemikere.

Typer af alger analyseres normalt ved mikroskopi hvor nogle ml metodisk gennemgås. Dette kræver virkelig god artskundskab, da der findes flere tusinde ferskvandsarter, hvoraf hundredvis forskellige arter med få karaktertræk, indgår i analysegrundlaget (Kalff, 2002; Miljødirektoratet., 2018). Derfor er der meget få personer som kan det. Metoden har vist sig at være relativt subjektivt præget, da flere personer som analyserer samme prøve kan få forskellige resultater, og det er ofte nødvendigt med kvalitetssikring (Willén., 1976; Brierley et. al., 2007; Suthers & Rissik, 2009). Dette er egentlig ikke ønsket i den limnologiske epistemologi, der foretrækker objektiv empirisme, hvor analyser af samme prøver skal kunne gentages med stort set samme resultater. Fosfor kan måles med flere forskellige metoder, men den mest almindeligt anvendte er med spektrofotometer (NS-EN ISO 6878., 2004). Her indsamles en vandprøve og der ekstraheres nogle ml, som ved tilsætning af en reagens, fx molybdat, giver ekstraktet et blåligt skær. Dette blålige skær estimeres derefter med spektrometeret, som måler hvor meget lys der absorberes af opløsningen ved en given bølgelængde. Klorofyl a kan ligeledes måles med flere forskellige metoder, blandt andet spektrofotometri eller high performance liquid chromatography (HPLC) (Wright et al., 1991). Her

tilsætter man prøven en alkohol, fx ethanol, metanol eller acetone, hvis polaritet gør at pigmentet klorofyl a ekstraheres hertil, mens interferens fra partikulært materiale bundfældes i vandet. Derefter måles lysabsorbans af opløsningen ved en given bølgelængde.

Når man må ind på et laboratorie for at analysere vandprøverne som beskrevet ovenover, kan det tage tid før resultaterne foreligger. Dette gælder specielt ved brug af eksterne konsulentvirksomheder, som i dag er blevet en udbredt fremgangsmåde blandt vandovervågningskonsulenter i Norge, ofte med det formål at spare penge. De eksterne konsulentvirksomheder skal først have leveret prøverne hos varemodtagelse, integreret dem i eget system, og evt. yderligere konservere dem inden afsendelse til analyselaboratorie, hvor de endeligt kan blive analyseret. Derefter kan der gå lidt tid, før vandforvalteren kan få leveret endelig rapportering. Denne proces kan tage flere uger, så der går lang tid før man ved noget om den vandprøve man tog, og til den tid kan vandkvaliteten allerede have ændret sig. Dette skyldes at vandprøver anses som udtryk for et øjebliksbillede; de siger noget om her og nu. For eksempel kan antropogene eller naturlige processer som ændrede vejrforhold og intern gødning give store variationer i vandkvaliteten (Svobodova et al., 1993). To prøver taget med et par dages interval, kan derfor vise helt forskellige resultater. Hvis man ønsker at opfange disse variationer, er der da et behov for *real time* overvågning, som konventionel vandprøvetagning- og analyse ikke opfylder.

Den teknologiske udvikling i det 20ende århundrede har medført nye metoder til at overvåge søers trofiske tilstand. En af disse metoder er fluorescens, hvor man ved hjælp af et fluorometer *in situ* kan måle vands indhold af blandt andet klorofyl a, og dermed mængden af alger (Holm-Hansen et al., 1965; Lorenzen, 1966). Fluorometeret placeres ved et fast målepunkt i søen, og herfra udsendes lys fra en monokromator med så høj intensitet, at algerne ikke klarer at benytte mesteparten af lyset til fotosyntese. Lyset exciterer klorofyl a, hvorefter mesteparten efterfølgende bliver emitteret igen som fluorescens, og opfanget af en detektor til estimering af klorofyl a-koncentrationen (Lakowicz, 2006). En enkelt analyse tager bare få sekunder, så man kan få en høj frekvens i klorofyl-analyserne. Nogle fluorometre kan forbindes telefonisk eller via internettet enten til hjemmesider og databaser, sådan at data kan blive tilgængelige flere gange i døgnet. Dette er en stærk forbedring i forhold til den tid det tager, at få resultater fra vandprøveanalyserne.

Real time data kan være fordelagtige i forbindelse med drikkevand, badevand eller sågar detektion af kortvarige udslip i forbindelse med fx anlægsbyggeri. I Norge har man forpligtet sig til at overholde vandrammedirektivet, og der stilles således nogle krav til vandkvaliteten i de norske søer (Direktiv 2000/60/EF, 2000; Miljødirektoratet, 2018). Hvis en forurener forværrer tilstanden i en sø, skal man enten selv betale for genoprettelse af den tilstand som var, før anlægsarbejdet begyndte, eller man kan blive

pålagt en bøde (forurensningsloven). Her kan det være at månedlig eller sågar ugentlig prøvetagning, ikke formår at koble vandforurening sammen med forureneren. Ligeledes kan man skabe en bedre tryghed hos forbrugeren, i forbindelse med drikkevand og badevand, at de ved, der er *real time* overvågning. For eksempel kunne man i en nær fremtid have en tavle ved et attraktivt badested, som viste de seneste timers algemålinger. Hvis en sådan fremtid skal være mulig, er det da vigtigt at gyldigheden af *real time* data er i orden.

Årsagen til at *in situ* overvågning af klorofyl a endnu ikke er blevet så udbredt kan være, at der er flere usikkerheder forbundet med målemetoden. Blandt andet kan farvet opløst organisk stof (CDOM) også emittere og absorbere lys ved samme bølgelængde, som fluorometre med blåt excitationslys måler klorofyl a på (Effler et al., 2010; Zhang et al., 2013). Der findes eksempler på at op mod hundrede procent af den målte klorofyl a-koncentration har været forårsaget af CDOM (Carlson & Shapiro, 1981; Proctor & Roesler, 2010). Rødt excitationslys er dog langt mindre sensitivt over for dette, men mange sensorer opererer stadig med blåt lys. Yderligere er det muligt at turbiditet kan påvirke målingerne. Turbiditet er et mål for uklarheden i vandet, og består af mindre partikler og organiske forbindelser, der både kan sprede og absorbere lys (Health Canada, 2012). Der har været forskellige studier af hvordan turbiditeten påvirker målingerne, men der er ikke noget som peger i én bestemt retning. Blandt andet fandt Roesler at turbiditeten ikke påvirkede klorofyl a-målinger, mens Choo et al. fandt, at det blev mere tilfældigt (Roesler, 2014; Roesler, 2016; Choo et al., 2018). Typisk har den anbefalede løsning været kalibrering af sensoren, men dette er både omkostningsfuldt, og kan give en fejlagtig tiltro til dataene, i søer med store sæsonvariationer. En tredje udfordring kan være vandrende arter, som måske ikke bliver opfanget af fluorometeret, da selve målepunktet er på blot få millimeter. Derfor kan dybden man vælger at sætte sensoren på, have stor betydning for resultaterne. Disse faktorer påvirker gyldigheden af målinger med in *situ* fluorometer, og vanskeliggør analyser af de data man får ind.

For at fremme gyldigheden af *in situ* klorofyl a-overvågning, er det da af afgørende betydning, at man får korrigeret for disse interferenser. Da der findes mange forskellige fluorometre, som kan være opbygget med forskellig struktur og benytter uens bølgelængder i deres målinger (Choo et al., 2018), kan det være vanskeligt at sige noget generelt om alle fluorometre. I dette studie bliver sammenhængen mellem klorofyl a-data fra multiparametersensoren MPS-K16 fra SEBA Hydrometrie og high performance liquid chromatography (HPLC), undersøgt. Der evalueres samtidigt på hvordan farve, turbiditet og den vandrende alge, *Gonyostomum semen* påvirker *in situ* målingerne. Data om næringsstoffer, oxygen, vandtemperatur, pH, lys, nedbør og vindforhold, bliver i den forbindelse også indsamlet, da de kan give en bedre forståelse for de processer, som er foregået under måleperioden.

Metode

Prøvepunkt

Der er udvalgt et prøvepunkt i den dybeste del af Isesjøen, som ligger nær Sarpsborg, i den sydøstlige del af Norge (figur 1). Søen har en størrelse på 7 km², og et nedbørfelt på ca. 141 km², hvor langt størstedelen udgøres af skov, mens en mindre del består af landbrug og mose (bilag 1). Søen ligger omkring 38 meter over havets overflade, under marin grænse. Jordsammensætningen er primært bestående af tyndt dække, med lidt tyk havafsætning i den nordlige ende, og lidt randmoræne samt marin strandafsætning i den sydlige ende (figur 2). Denne jordsammensætning gør det vanskeligt at benytte jorden til landbrug, men enkelte steder går der får og køer og græsser, blandt andet ved Fløvika, og Isesjøbråten (figur 1).



Figur 1: Oversigt over prøvepunkt i Isesjøen, markeret med rød cirkel. Kilde: Egen tilvirkning efter originalt kort fra Norgeskart.no.



Figur 2: Oversigt over jordsammensætningen I Isesjøens nedbørfelt. Det er primært bestående af tyk havafsætning og tyndt dække, mens den sydlige del har noget moræne og marin strandafsætning. Kilde: Ngu.no

Søens morfologi og batymetri medfører at den har 2 opdelte bassiner, hvor den del af søen nord for Rånes har en WRT på ca. 1 år (Bjørndalen et al., 1985), mens den del sydvest for Rånes, hvor prøvepunktet ligger, har en WRT på ca. 5 år (Grahn, 2016). Der er en middeldybde på 9 meter, og det dybeste punkt, som også er nogenlunde hvor prøvepunktet er sat, er på knapt 26 meter (figur 3). Det dybeste punkt der blev fundet i dette studie, var dog ca. 22 meter. Søen er dimiktisk og cirkulerer således frit to gange om året, hvorefter den stratificeres i de dybere dele af søen. Da søen er dannet af moræner, er det dog en meget ujævn batymetri (Løvstad et al., 1990), hvilket gør det vanskeligt at vurdere, hvor stor en del af søen der er temperaturstratificeret.



Figur 3: Isesjøens batymetri. Prøvepunktet er markeret med rød cirkel. Kilde: Borch & Blankenberg, 2003.

Der er 2 tilløbsbække, Øbybekken og Buerelva ved Skaentangen i den nordlige ende, og en enkelt, Tveterbekken, som afleder vand fra Tvetervann i den sydlige ende. Der er ikke meget information om disse bække, men Buerelva lader til at være anset som en vigtig naturtype, grundet dens mæandrerende form, der giver plads til en stor biologisk mangfoldighed (Svartedal et al., 2001).

Isesjøen er tidligere blevet karakteriseret som humøs (Faafeng et al., 1993; Schartau et al., 2012). Det store skovdække i nedbørfeltet medfører at der i perioder med regn kan skylles store mængder organisk stof ud i søen. Det er særligt ved forårssmeltning/regnskyl og efterårsregnskyl, at der kan ske store udvaskninger af organisk stof til Isesjøen, grundet det store skovdække i nedbørfeltet. Isesjøen har tidligere været beskrevet som eutrof (Schartau et al., 2012), men senere undersøgelser indikerer, at søen bevæger sig i en mere mesotrof retning (Arnesen et al., 2018; Arnesen et al., 2019). Næringsstofforholdene gør at der ofte er begrænset vækst af alger, grundet mangel på labil fosfor, og søen har dermed haft en lav klorofyl a-koncentration. Dette kan muligvis tilskrives den høje WRT samt det store skovdække der kan have en erosionsmindskende effekt (Risom et al., 2006). Tidligere rapporter nævner ikke noget om intern gødning i søen, så alger må være stærkt afhængige af erosion fra tilstødende jorder samt recirkulation af fosfor. De kraftige vinde fra Skagerrak gør søen relativt vindpåvirket, hvilket medfører at store mængder partikler kan bringes i resuspension ved vindturbation, og holdes der over længere perioder. Dertil kan der være noget erosion fra landbrugene i den sydlige del af søen ved regnskyl.

Den vandrende alge, *G. Semen*, har gennem de senere år udbredt sig gevaldigt i den sydlige del af Norge (Hagman et al., 2015). Det er en relativt stor alge med lange flagellater, der kan bruges som propeller til fremdrift (Salonen & Rosenberg., 2005; Pęczuła et al., 2018). Dette giver den en konkurrencemæssig fordel i forhold til meget andet fytoplankton, som for det meste blandes ligeligt i epilimnion af vindens omrøring. *G. semen* har også gjort sit indtog i Isesjøen, hvor den udgør op mod halvtreds procent af den totale årlige fytoplankton produktion (Brabrand et al., 1993; Hagman et al., 2015).

In-situ data Klorofyl a og turbiditet

Der blev benyttet en SEBA MPS-K16

multiparametersensor til studiet (datasheet i bilag 2) (figur 4). Klorofyl a-fluorometerets metodik baseres på en optisk teknik, hvor man udnytter klorofyls evne til at emittere lys (fluorescens) (Matorin et al., 2004). Derfor udsendes kraftige pulser af lys fra multiparametersensoren, enten blåt eller rødt, ved en specifik bølgelængde, og den fluorescens som tilbagestråles vil give et estimat for mængden af klorofyl a i ug/l ved det målte punkt. Den benyttede sensor brugte blåt excitationslys. Ifølge producenten er der en standard usikkerhed på omkring 3 procent.

Turbiditet måles ligeledes med en optisk teknik. Her benyttes en nefelometrisk analysemetode hvor der måles på tilbagefaldent spredt lys fra suspenderede stoffer i vandet, hvorved der gives et estimat for turbiditeten i NTU (Chianese et al., 2012). Ud over dette målte sensoren også pH og dybde under vandet.

Sensoren blev sat ud i slutningen af maj, 2018. En kasse til opbevaring af batteri og telefonforbindelse blev fortøjet med to ankre placeret ca. 10 meter fra hinanden. Dette var for at sikre, at kassen ikke blev



Figur 4: Billede af kassen indeholdende UniLogCom datalogger, bilbatteri og tilkoblet multimarametersensoren MPS-K16 fra SEBA Hydrometries (nederst). Billede taget fra Isesjøen, sommeren 2018

rystet for meget rundt af vinden/bølgerne. Multiparametersensoren blev fæstnet ved fire meters dybde, hvorfra der blev målt turbiditet, pH, dybde og klorofyl a hvert kvarter. Ved hjælp af en SEBA UniLogCom datalogger blev data transmitteret telefonisk til en privat hjemmeside fire gange i døgnet. En gang ugentligt blev multiparametersensoren renset blidt med børste, for at fjerne adsorberede elementer.

Oxygen

Iltkoncentration (DO) og -mætning (i procent) blev målt hver uge med en transportabel KLL-Q-2 (figur 5), der er et instrument til brug i feltundersøgelser, blandt andet i søer eller grundvand. Tilknyttet instrumentet var en MPS-D8 multiparametersensor (datasheet i bilag 2) (figur 6), som kan måle flere forskellige parametre, heriblandt pH og DO (optisk). Ifølge databladet er der en måleusikkerhed på omkring en procent ved over 2 mg/l.

Der blev gjort en dybdeprofil af parametrene for hver meter indtil 3 meters dybde, og derefter med halvanden meters afstand indtil bunden blev nået ved omkring 22 meter. Dette var både for at undersøge om der var potentiale for intern gødning fra hypolimnion, og fotosyntetisk aktivitet i epilimnion.



Figur 5: SEBA Hydrometrie KLL-Q-2 med sensor. Transportabelt måleinstrument til feltundersøgelser. Kilde: SEBA Hydrometrie



Conductivity/Temperature KLL

Figur 6: MPS-D8 multiparametersensor til brug ved feltundersøgelser eller stationær overvågning. Kilde: SEBA Hvdrometrie.

Eufotisk zone og temperaturstratifikation

HOBO Light and temperature 64k hukommelse data loggere blev sat ud ca. 10 meter fra MPS-K16 multiparametersensoren. Loggerne blev fastsat til et ca. 23 meter langt reb for hver halvanden meter fra 1,5 - 15 meters dybde, hvorefter afstanden blev ændret til 2 meter, indtil 21 meters dybde. Til rebet blev tilknyttet en bøje i den ene ende, og en 5 kg vægt i den anden, for at holde positionen stabil. Lys blev målt i lux (SI) og senere omregnet til fotosyntetisk foton flux densitet (PPFD), der er et mål for fotosyntetisk aktive fotoner på en given overflade for hvert sekund, med omregningsfaktor 0,0185. Sensorens lysdata skal ses som relative ændringer, og ikke absolutte værdier. Temperatur blev målt i grader °C, og havde en usikkerhed på omkring 0,1-0,2 afhængigt af temperaturen (bedst ved 20 grader °C). Sensorerne blev renset blidt med en børste ugentligt for at fjerne adsorberede elementer.

Vandprøver

Indsamling og konservering

Vandprøver blev indsamlet ugentligt fra d. 12. juni til og med d. 15. september 2018, hvor efterårscirkulationen fandt sted. Prøverne blev taget inden for nogenlunde samme tidsrum, for a undgå døgnvariationer. Der blev indsamlet vandprøver fra både hypolimnion og epilimnion med en dybdevandshenter ved 21 meter, og en blandprøve fra epilimnion ved 1, 2,5 og 4 meters dybde, som efterfølgende blev opbevaret i sorte vandbeholdere. Umiddelbart efter prøvetagning blev prøverne gemt væk i skygge, indtil videre konservering/analyse på laboratoriet.

Klorofyl a blev filtreret fra 500 ml af blandprøven taget i epilimnion med et 0,45 um glasfiberfilter ved lavt tryk, for at undgå ødelæggelse af fytoplanktonnet. Dernæst blev det nedfrosset ved -18 grader °C i et plastikrør indtil videre analyse.

125 ml prøvevolume til senere analyse af fosfat, ammonium og nitrat blev først filtreret med et 0,45 um polyethersulfon membranfilter, inden de blev frosset ned ved -18 grader.

Til total fosfor (TP) og totalt kvælstof (TN) blev der ekstraheret 10 ml med pipette, hvorefter der blev tilsat kaliumperoxodisulfat, inden en autoklave stabiliserede prøverne ved 121 graders Celsius og 1 bar overtryk. Slutteligt blev de frosset ned ved -18 grader indtil videre analyser.

Laboratorienalyser af klorofyl a, pigmenter, farvetal, og næringsstoffer

Klorofyl a og andre vandafvisende pigmenter blev analyseret ved brug af en High Performance Liquid Chromatograph (HPLC). Glasfiberfilteret blev frysetørret og tilført alkoholen acetone, som ekstraherer pigmenter der er vandafvisende. Derefter blev prøven sat i en centrifuge for at sedimentere suspenderede stoffer, der kan påvirke prøven. Alkoholen indeholdende pigmenterne blev efterfølgende ekstraheret og sat til analyse i HPLCen. Her adsorberer pigmenterne sig til en kolonne af silikat, da dette er ekstremt vandafvisende. Ved konstant tilførsel af 80 procent metanol og 20 procent vand, vil pigmenterne langsomt falde fra kolonnen, og de som er mindst vandafvisende vil først blive skyllet videre i systemet. Dette kan benyttes til at kvantificere og identificere forskellige pigmenter, og yderligere give en indikation for hvilke algearter, der har været i prøverne.

Farvetal blev analyseret i henhold til Norsk Standard (NS 4748). Vandprøven blev filtreret med et 0,45 μm polyethersulfon membranfilter, og derefter blev absorbansen målt med spektrofotometeret Shimadzu UV-1201, i en 5 cm cuvette ved bølgelængde 410 nm.

Selvom næringsstoffer ikke direkte kan kobles til problemstillingen i dette studie, fungerer de som gode støtteparametre til klorofyl a-dataene, og giver en generel idé om tilstanden i Isesjøen. Derfor blev der også

foretaget ugentlige analyser af TP, TN, ammonium, nitrat og fosfat. Alle næringsstof-analyser blev gjort samlet, i oktober måned 2018. De konserverede prøver blev langsomt optøet til stuetemperatur, hvorefter analyse af total fosfor, fosfat, totalt kvælstof, ammonium, og nitrat blev udført:

Total fosfor (TP) blev analyseret i henhold til Norsk Standard (NS-EN 1189). Prøverne blev tilsat ascorbinsyre, som skaber et surt miljø. Dernæst blev molybdat tilsat, hvilket reagerer med orthofosfaten og danner fosfor-molybdensyre i et surt miljø. Dette gav et blåligt skær afhængigt af orthofosfatkoncentrationen, som blev målt med spektrofotometeret Shimadzu UV-1201 ved bølgelængde 880 nm.

Fosfat blev analyseret i henhold til Norsk Standard (NS 4724). Ligesom med fosforen blev prøverne også tilsat ascorbinsyre og molybdat, og absorbans blev målt ved 880 nm. Prøverne blev dog som tidligere nævnt først filtreret med et 0,45 μm polyethersulfon membranfilter.

Total nitrogen (TN) blev analyseret i henhold til Norsk Standard (NS 4743). Der blev benyttet flow injection analysis (FIA) til analyse af TN. Efter tidligere behandling med kaliumperoxodisulfat, blev alle N-forbindelser omdannet til nitrat. Dernæst blev prøverne tilsat kadmium for at omdanne nitraten til nitrit. Nitritter blev derefter omdannet til diazoforbindelser ved brug af reaktanten sulfanilamid. Slutteligt blev disse forbindelser sat i reaktion med naphthylethylenediamine dihydrochloride, hvilket dannede et målbart rødviolet skær, ved bølgelængden 540 nm i spektrofotometeret Shimadzu UD-1201.

Ammonium blev analyseret i henhold til en modificeret version af Norsk Standard (NS 4746). Først blev prøven tilført hypoklorit hvorved der dannes chloramin. Dernæst blev der tilsat salicylat, og der blev dannet mesalazin. Slutteligt blev tilført natriumnitroprussid, som i reaktion med mesalazin gav en blågrøn farve. Absorbans blev derefter målt ved bølgelængden 655 nm med spektrofotometeret Shimadzu UD-1201.

Nitrat blev analyseret i henhold til Norsk Standard (NS-EN ISO 10304-1). Prøverne blev sat i en ionkromatograf, som benytter konduktivitet til at detektere nitraten. Nitraten blev adsorberet til anioner i ionkromatografen, og ved at tilføre elueringsvæsken bikarbonat, blev kationerne i prøven én efter én udskyllet, afhængigt af elementets adsorptionsevne. Konduktiviteten af den væske som skylles ud, blev konstant målt, hvorved en graf for koncentrationen af nitrat blev udført.

Klimadata

Information om nedbør og vind i prøvetagningsperioden blev hentet fra Norsk Meteorologisk Institutt gennem hjemmesiden Yr.no. Instituttet har en vejrstation tæt ved Isesjøen, som blandt andet måler lufttemperatur, nedbør og vind for hver time. Nedbørdata er et mål for den samlede mængde nedbør hver morgen, akkumuleret inden for de seneste 24 timer.

Resultater

Næringsstoffer

Prøvetagningsperioden var præget af ganske få ændringer i næringsstofforholdene (figur 7, 8). Resultaterne viser at der er meget begrænsede mængder TP, fosfat og ammonium i Isesjøen, mens TN og nitrat fremtræder i noget højere koncentrationer. Hen mod slutningen af august sker der et drastisk fald i nitratkoncentrationen, samtidigt med at ammonium øges. Dette indikerer at oxygenmætningen på søbunden er ved at slippe op, og der forekommer dissimilatorisk nitrat reduktion (Suhr & Pedersen., 2011). Omkring starten af august sker der næsten en fordobling i TP-koncentrationen, fra 10 til 19 µg/l, og lidt senere sker der også en kraftig øgning i TP-koncentrationen ved 21 meter, fra omkring 15 til 75 µg/l. Dette ændrer dog ikke noget ved fosfatniveauet, som forbliver ved de 2-4 µg/l gennem hele perioden.







Figur 8: Næringsstoffer nær bunden af Isesjøen (21 meter), sommeren 2018.

Temperaturstratifikation og eufotisk zone

Epilimnion har varieret en del gennem hele sommeren (figur 9). I midten af juni måned gik den ned til 4,7 meter, men den stærke vindpåvirkning d. 20. juni (figur 11, næste afsnit), formåede at blande vandet godt helt ned mod 9 meters dybde. Derefter stabiliserede epilimnion sig ved omkring 6 meters dybde, hvor den langsomt pressede sig længere ned mod de 7,5 meter. D. 10. august var der så høj vindhastighed i luften, at det formåede at blande vand helt ned mod 13,5 meters dybde sammen med de øvre vandlag. Omkring d. 12. maj indtraf efterårsfuldcirkulation.

Den eufotiske zone har generelt indtruffet mellem 1,5 og 3,2 meters dybde (figur 10). I midten af juli og indtil 10. august strakte den eufotiske zone sig lidt dybere end 3,2 meter, hvilket sammenfalder godt med at farvetallet også faldt. Ved 4,7 meters dybde var der så lidt lystilgængelighed, at meget få arter klarer at overleve der, og ved 6 meter kom der aldrig noget lys. Derudover har der hele måleperioden været godt med lys ved 1,5 meters dybde, med undtagelse af d. 10. til 18. august.



Figur 9: Temperatur malt ned gennem vandsøjlen i Isesjøen, sommeren 2018.



Figur 10: Lystilgængelighed malt ned til 6 meters dybde i Isesjøen, sommeren 2018.

Turbiditet

Der var lange perioder med lidt nedbør ved Isesjøen, så det blev en ganske tør sommer (figur 11). Dette kan have medvirket til at turbiditeten ikke viste så store variationer gennem størstedelen af måleperioden. Det er generelt høje værdier for turbiditet i en sø, men de få perioder med variationer, begrænser mulighederne for videre analyse af, om og hvordan klorofyl a påvirkes. Generelt lå turbiditeten på mellem 5 – 10 NTU, med enkelte større udsving. Den højest målte turbiditet på omkring 25 NTU skete d. 10. august. Dette skete samtidigt med høje vindhastigheder, og en smule nedbør, sandsynligvis et resultat af erosion og vindturbation. Selvom der var store mængder nedbør i slutningen af måleperioden, steg turbiditeten ikke i samme omfang, som den tidligere periode med høje vindhastigheder.



Figur 11: Turbiditet, nedbør og den daglige maksimale vindhastighed ved Isesjøen, fra perioden 12. juni – 15. september 2018. Turbiditeten er beregnet som et dagligt gennemsnit af måledata fra hvert karter med multiparametersensoren MPS-K16.

Farvetal

Farvetallet i epilimnion lå på omkring 62 mg Pt/l i starten af måleperioden (figur 12). Dette faldt gradvist til 57 hen mod en kort nedbørperiode i starten af juli, hvor farven igen øgedes til knapt 60 mg Pt/l. Herefter faldt farven støt til 48 over en længere periode med en meget lille mængde nedbør, hvilket har begrænset tilførslen af alloktont stof. Omkring 12. august begyndte farven i epilimnion så igen at stige til op mod 53, hvor den samtidigt faldt i hypolimnion. Her kan der være sket lidt omrøring i de øvre vandlag, som følger af de høje vindhastigheder målt i luften. Mod slutningen af prøvetagningsperioden ser det ud til at bunden og toppen blandes sammen, og farvetallet bliver troligt ens gennem hele vandsøjlen.



Figur 12: Farvetallet I Isesjøen, sommeren 2018.

Oxygenmætning

Der var flere episoder med overmætning i oxygenkoncentrationen (figur 13). Dette forårsages af fotosyntetisk aktivitet hvor fytoplanktonnet optager vand og kulstofforbindelser for at lave oxygen og energi (Christensen et al., 2004). Den 1. juli forekom den højest målte overmætning på 133 procent ved 2 meters dybde. Den 19. juli blev der målt en oxygenmætning på 125 ved de øverste 3 meters dybde. Derudover har oxygenmætningen i de øverste 6 meter været omkring 100-110 procent gennem den øvrige del af måleperioden, hvorefter den langsomt falder i den nedre del af vandsøjlen. Dette stemmer godt overens med, hvor epilimnion slutter, og metalimnion indtræder (figur 8).

Oxygenmætningen illustrerer også tydeligt, hvor dybt (10,5 meter) vinden formåede af skabe omrøring efter de høje vindstyrker d. 10. august. Denne episode ser ud til at have kickstartet processen mod efterårscirkulation ved at blande dele af vandlagende, hvorved temperaturen i store dele af vandsøjlen blev udjævnet. Den 26. august blev der målt stort set anoxiske forhold ved 21 meters dybde, hvilket kan kobles sammen med den øgede mængde fosfor og ammonium, samt nedadgående mængde nitrat målt ved 21 meters dybde (figur 8). Efterårsfuldcirkulationen indtrådte dog blot allerede få uger senere.



Figur 13: Oxygenmætning målt med multiparametersensoren MPS-D8 ned gennem vandsøjlen i Isesjøen, sommeren 2018.

Klorofyl a og pigmentsammensætning med HPLC

Data fra HPLCen viste meget lave klorofyl a-koncentrationer gennem hele prøvetagningsperioden (figur 14). Fra d. 12. juni til d. 12. juli var der bare omkring 2 μ g/l klorofyl a. Den 2. august blev der målt den højeste koncentration på 5,5 μ g/l, hvilket dog stadig er meget lidt. Senere varierede resultaterne fra med mellem 2 og 4,5 μ g/l klorofyl a.

Pigmentsammensætningen viser at der i starten af prøvetagningsperioden stort set bare var fucoxanthin, hvilket er et pigment i kiselalger og dinoflagellater (Reuss, 2005). Ved august skiftede pigmentsammensætningen drastisk, og diadinoxanthin, som er et pigment i blandt andet *G. semen*, viste sig i større koncentrationer (Sassenhagen et al., 2014). for Den vandrende alge, *G. semen*, begyndte at dominere algesamfundet d. 2. august, og stod for mellem 55-150 procent af den totale mængde fytoplankton indtil 5. september.

Den uproportionelt store andel af *G. semen d. 5.* september kan forklares ved, at estimatet for andelen af *G. semen* beregnes ud fra pigmentet heteroxanthin (Fiksdahl et al., 1984). Dette pigment nedbrydes langsommere end klorofyl a, hvilket ved et sammenbrud af algen, kan give udtryk for en større andel af *G. semen* end det reelt er tilfældet. Dette understøttes af at resultatet fra 15. september ikke viste nogen *G. semen*.



Figur 14: Venstre: Oversigt over pigmentsammensætning i Isesjøen fra prøver taget mellem d. 12. juni og 15. september, 2018. Højre: Klorofyl a i μg/l og beregnet andel G. semen, baseret på pigmentet heteroxanthin.

In situ måling af klorofyl a

Klorofyl a fluorometeret havde få, større udsving i målingerne, som generelt viste en meget lav koncentration (figur 15). Den laveste værdi blev målt til 5 µg/l i slutningen af september, og den højeste lå på 10 µg/l i starten af august. Fra juni til starten af juli sker en langsom nedgang fra knapt 8 til 6 µg/l klorofyl. En lille stigning fremkommer så i starten af juli, samtidigt med der forekommer lidt vindturbation og nedbør (figur 11). I starten af august begyndte sensoren at vise døgnvariationer på omkring 2-3 µg/l, hvilket kan være udtryk for en øget mængde vandrende algearter. Dette fortsætter stort set indtil slutningen af august, hvor variationerne bliver mindre, dog med enkelte undtagelser i midten af september.



Figur 15: Klorofyl a i Isesjøen, sommeren 2018, målt med multiparametersensoren MPS-K16 fra SEBA Hydrometrie. Diagrammet viser timegennemsnit af målinger taget for hvert kvarter fra d. 12. juni til d. 15. september.

Diskussion

Klorofyl a fra HPLC vs. MPS-K16 multiparametersensoren

Både *in situ*- laboratorieanalyserne viste lave klorofyl a koncentrationer gennem hele prøvetagningsperioden, hvilket samsvarer godt med analyserne af TP målt i epilimnion. Gennem stort set hele sommeren var der meget lidt nedbør. Dette sammenkoblet med det 80 procent store skovdække i nedbørfeltet samt den høje WRT på 5 år, kan have begrænset mængden af tilgængeligt fosfor. pH målt fra sensorens position viste ikke nogen store udsving, hvilket indikerer begrænset fotosyntetisk aktivitet. Der har dog været længere episoder med overmætning af oxygen på 110-130 procent ved 1-4,5 meters dybde. Der sker dermed noget algeproduktion, men zooplankton og fisk kan begrænse tilvæksten.

Selvom begge metoder viste lave klorofyl a koncentrationer, var der stadig en stor forskel på de koncentrationer der blev målt (figur 16). Det er især i starten af måleperioden, hvor farvetallet også er højest, at der er de største forskelle. Her målte *in situ* metoden op mod 4 gange så høje koncentrationer som HPLCen, en forskel på op mod 6 µg/l.



Figur 16: In situ og laboratorie klorofyl a opstillet mod hinanden. In situ data er gennemsnittet inden for 2 timer fra hvor vandprøven blev taget.

En regressionsanalyse af gennemsnittet for *in situ* klorofyl a inden for 2 timer fra hvor vandprøverne blev taget, sammenlignet med laboratorie klorofyl a, viste at der ikke var nogen sammenhæng mellem de to analysemetoder (R²=0,02) (figur 17). Det ser ud til at MPS-K16 multiparametersensoren overestimerer klorofyl a-koncentrationen i forhold til HPLCen, hvilket stemmer overens med teorien om, at *in situ* målinger kan være præget af interferens.



Figur 17: Sammenhæng mellem in situ og laboratorieanalyse af klorofyl a (n=12).

For at få nogle gyldige *in situ* målinger bliver det da nødvendigt at korrigere for disse interferenser. Alt hvad der kan bøje, absorbere eller sprede lys kan, som tidligere nævnt, i princippet interferere med en optisk måling, ved at påvirke det lys som sendes ud til excitation. Det blå lys som benyttes i dette studie, sendes ud ved en bølgelængde hvor CDOM, som tidligere nævnt, også både en høj absorption og fluorescens. Ydermere kan turbiditeten, som tidligere nævnt, også påvirke målingerne ved at sprede og absorbere lys, men tidligere studier har ikke kunnet fortælle noget konkret om hvordan klorofyl a-målingerne påvirkes. Noget som i sig selv indikerer at øget turbiditet medfører mere tilfældige målinger.

Farveinterferens

Isesjøen har gennem hele prøvetagningsperioden haft et relativt højt farvetal. Farvetallet er et mål for nedbrydningsproduktet CDOM, der kommer af enten allokton tilførsel eller autokton produktion. Det ser ud til at den hovedsagelige årsag til farvetallet i år har været alloktone tilførsler, der blandt andet kan kobles sammen med den store regnskylsperiode i 2017, samt lange WRT. De lave næringsstof- og klorofyl akoncentrationer giver ikke grundlag til at tro, at der har været nogen særlig autokton produktion. Grundet en lang periode i sommeren 2018 uden nedbør, har der været en langsom men stabil nedgang i farvetallet indtil midten af august. Dette kan skyldes at CDOM langsomt flokkulerer, hvorved det enten sedimenterer eller udgør fødegrundlag for zooplankton (Wachenfeldt & Tranvik, 2008). Da CDOM absorberer lys både før excitation og emission fra algerne, når der er lave klorofyl a-koncentrationer, kan denne absorption få stor betydning. Ligesom algerne, udsender CDOM også fluorescens ved samme bølgelængde, og dette kan give et overestimat af klorofyl a-koncentrationen (Carlson & Shapiro, 1981; Proctor & Roesler, 2010). Perioden fra d. 12. juni til d. 5. juli viste som tidligere nævnt de største forskelle blandt de to analysemetoder. Samtidigt var det også i denne periode, at farvetallet var højest. I en regressionsanalyse der vurderer om CDOM interfererer med klorofyl a ser der ud til at være en påvirkning (R²=0,63) (figur 18). Her er der altså en periode som indikerer, at ændringer i feltmålingerne muligvis bedre kan kobles sammen med CDOM.



Figur 18: CDOMs påvirkning på in situ målinger af klorofyl a (n=12).

En simpel model som forsøger at tage højde for forskelle mellem HPLC og in situ måling af klorofyl a blev opstillet. Modellen tilstræber at give en 1:1 sammenhæng mellem felt- og laboratoriemålingerne, for at se hvor tæt på laboratoriemålingerne man kunne komme med feltmålingerne:

$$K^*$$
 (felt klorofyl a)^{*a*} * (farve)^{*b*} – *c*

Potenserne tager højde for niveauforskelle mellem felt- og laboratorieresultaterne, for henholdsvis selve feltklorofyl a målingen (*a*) og interferens med farve (*b*). K justerer yderligere i niveauforskelle, mens *c* er en parameter som justerer for at give en 1:1 lineær model. Med denne opsætning og korrigering for CDOM, gav en enkel best fit parameterfremstilling eksponenterne: K = 4*105, a = 0.5, b = -3, og c = 4. Benævning for *c* og felt klorofyl a er µg/l, og benævning for farve er mg Pt/l. K får (mg Pt/l)⁻¹ som benævning. Ved brug

af denne model sker der både overestimeringer, og underestimeringer på op mod 1,5 μ g/l; 50 procent (R²=0,38, n=12) (figur 19).



Figur 19: Farvekorrigerede in situ klorofyl a-data i forhold til laboratoriedata (n=12)

Modellen kommer altså et godt stykke nærmere laboratoriedataene, så det er dermed ikke usandsynligt at CDOM påvirker feltklorofyl a. Den kan dog ikke alene forklare forskellene i felt- og laboratoriedata. Dette kan skyldes den senere periode fra d. 19. juli til d. 28. august, hvor laboratoriemålingerne af klorofyl a i perioder fordobles, uden at der sker ændringer i feltklorofyl a. Der må dermed være andre årsager til de store forskelle i klorofyl a målingerne.

Turbiditetsinterferens

Isesjøen var også ganske turbid gennem hele prøvetagningsperioden. Som tidligere nævnt er turbiditet et mål for uklarheden i vandet, og det består blandt andet af silt, småt organisk- og uorganisk stof, opløselige farvede organiske forbindelser, plankton og bakterier (Clescerl et al., 1999). De farvede dele af turbiditeten kan have samme effekt som farvetallet (Sadar, 2003; Moreno & Maradudin, 2007). For ikke at fejltolke turbiditetens effekt på klorofyl a målingerne, må man da have en idé om hvad turbiditeten i Isesjøen består af. Isesjøens nedbørfelt består af omkring 80 procent skovdække, som bør have en erosionsmindskende effekt, men der kan komme en del alloktone tilførsler ved store regnskyl. I 2018 var der en meget begrænset mængde nedbør, men i efteråret 2017 kan der være tilført store mængder organisk stof, da det ifølge Norges Meteorologiske Institutt var en periode med flere regnskyl. Det ser ikke ud til at de vindstyrker som kom indtil d. 10. august, har formået at skabe vindturbation (figur 11), så turbiditet indtil da kan være et produkt af blandt andet alloktont stof. Hvis dette er tilfældet, vil turbiditeten også have en øget effekt på klorofyl a målingerne. Efter vindturbationen d. 10. august kan turbiditets-sammensætningen så have ændret sig med mere silt fra søbunden, som har en lysspredende effekt. Sammenligner man trends i turbiditeten med trends i felt- og laboratorieanalyserne, kan der dog ikke ses nogen sammenhæng (R²=0,05) (figur 20). Dette stemmer overens med teorien om, at turbiditet ikke nødvendigvis giver hverken højere eller lavere klorofyl a-værdier. Det bliver simpelthen bare mere tilfældigt. Det skal dog ikke afvises af organisk seston kan have en påvirkning som medfører overestimater.



Figur 20: Turbiditets påvirkning på forholdet mellem in situ og laboratoriemålinger af klorofyl a (n=12).

Der bør dog være en grænse for hvor høj turbiditet der kan tillades, da usikkerheden kan blive for stor herefter (Choo et al., 2018). Hvis man fjerner de perioder, hvor turbiditet overstiger 10, og tilknytter dette til de farvekorrigerede *in situ* målinger (c i modellen ændret til 3,5 for at bevare den lineære trend), begynder der at komme en bedre relation til laboratorieanalyserne (R²=0,81, n=6) (figur 21).



Figur 21: Farvekorrigeret in situ klorofyl a sammenstillet med laboratorie klorofyl a efter fjernelse af episoder hvor turbiditet oversteg 10 (n=6).

Dette hænger imidlertid ikke sammen med antagelsen om, at turbiditen som vist i figur 20, ikke påvirker klorofyl a dataene. I flere af de episoder som blev udtaget grundet for høj turbiditet, skete der også en stor fremgang af algen *G. semen*. Det kan da være muligt, at den bedre relation mellem *in situ* og laboratorie klorofyl a, kan skyldes ændringer i algesamfundet, og ikke ændringer i turbiditeten.

Vandrende arter

I starten af prøvetagningsperioden bestod algesamfundet hovedsageligt af kiselalger (figur 14). Kiselalger er afhængige af vindens omrøring af epilimnion for at undgå at sedimentere (Fuchs et al., 2016). De kan således ikke bevæge sig frit i vandsøjlen. Derfor bør de blive blandet godt rundt i epilimnion ved vindpåvirkning, hvis ikke de langsomt bundfalder. Der er dermed ikke grund til at tro, at der har været en uens fordeling af algerne i vandsøjlen, i den periode hvor kiselalgerne dominerer (12. juni til 19. juli). Perioden med øgede laboratorie klorofyl a koncentrationer forekommer mens arten *G. semen* dominerer algesamfundet. Denne art placerer sig et sted i vandsøjlen hvor der er gunstige lys- og temperaturforhold.

Da der allerede ved 3,2 meters dybde er meget lidt lystilgængelighed (figur 10), er det sandsynligt at den placerer sig højere oppe i vandsøjlen. *In situ* sensoren måler blot vand inden for et meget lille område ved 4 meters dybde, hvilket betyder at laboratorie klorofyl a koncentrationer bør tilnærme sig *in situ* (bilag 3 for illustration). Dette er også noget som indikeres i dette studie: *In situ* og laboratorie klorofyl a bliver mere ens, i takt med, at *G. semen* kompenserer for de overestimater, som måles *in situ*. Sammenligner man ændringer i *G. semen*-andelen med trends i felt- og laboratorie klf_a, ser der da også ud til at være en sammenhæng (R²=0,45, n=12) (figur 22). Dette kan dog være en misvisende sammenhæng, som tilfældigvis passer på de koncentrationer som måles *in situ*, muligvis som følger af farveinterferens, og den øgede mængde klorofyl a som opfanges med laboratoriemetodikken.



Figur 22: G. semens påvirkning af in situ og laboratorieanalyser af klorofyl a (n=12)

Fjerner man da de episoder hvor *G. semen* blev detekteret i laboratoriet får man da en høj sammenhæng mellem farvekorrigeret feltklorofyl a med ovennævnte model, og laboratorieklorofyl a (R²=0,89, n=4) (figur 23). Studiet indikerer dermed at farve og vandrende arter spiller en stor rolle, i samspillet mellem felt- og laboratorieanalyser af klorofyl a. Dette er dog forbundet med meget stor usikkerhed, grundet få data.



Figur 23: Farvekorrigeret in situ klorofyl a sammenstillet med laboratorie klorofyl a efter fjernelse af episoder hvor turbiditet oversteg 10, og G. semen er fundet i aboratorieanalysen (n=4).

Når det bliver aften og lysforholdene forværres, vandrer *G. semen* formentligt dybere for at optage fosfor indtil næste morgen, og denne vandring bør *in situ* sensoren kunne opfange. I et uddrag af *in situ* dataene fra perioden 5. august – 15. august kan man også se store daglige variationer i klorofyl a målingerne (figur 24). Dette sker samtidigt med at *G. semen* består af minimum 50 procent af fytoplanktonsammensætningen.



Figur 24: Klorofyl a målinger i Isesjøen på 4 meters dybde med en MPS-K16 multiparametersensor, sommeren 2018. Der sker store daglige variationer som følger af vandrende af den vandrende alge, G. semen.

In situ sensoren ser altså ud til at opfange vandrende arter, men det bliver først muligt at få data om klorofyl a-ændringer sent på aftenen, eller ud mod formiddagen den følgende dag. Dette kan være problematisk i forbindelse med badning og drikkevandsovervågning, hvor idéen med at have en sensor opstillet, skulle være flere daglige opdateringer. Man kunne overveje at placere sensoren lidt højere i vandsøjlen en anden gang, men da lys- og temperaturforhold ændrer sig dagligt, kan det i sidste ende blive vanskeligere data at analysere (bilag 3). Ved en dybere placering undgår man at skulle spekulere over, hvor i vandsøjlen algerne er fra dag til dag, men det er klart at døgnvandringerne er noget der må medregnes for et mere retvisende billede af klorofyl a-forholdene. Argumenter for den ene eller den anden retning vil nok i sidste ende være stedspecifikke, da alle søer er unikke, og skal behandles som sådan.

Konklusion

Der viste sig at være en stor forskel på klorofyl a koncentrationen målt med *in situ* multiparametersensoren MPS-K16 og high performance liquid chromatograph ($R^2=0,02$). I perioder viste *in situ* sensoren op mod 4 gange så høje koncentrationer (8 µg/l) som laboratorieanalyserne (2 µg/l). Dette synes umiddelbart som meget, men det skal understreges at det var et år med meget lave klorofyl a koncentrationer, hvor interferens fra andre elementer kan have større indflydelse.

Af de tre undersøgte parametre viste farvetallet sig at have den største påvirkning på forholdet mellem de to analysemetoder (R²=0,63). Dette skyldes at *in situ* sensorens blå excitationslys blev stærkt påvirket af CDOM, der er i stand til at absorbere og udsende fluorescens på samme bølgelængder som fytoplanktonnet. Man kan overveje at bruge rødt excitationslys i en humøs sø i fremtiden, da det ikke påvirkes af CDOM i samme grad.

Den vandrende alge *G. semen* viste sig ligeledes at påvirke forholdet mellem *in situ* og laboratorie klorofyl a (R²=0,45). Dette skyldes blandt andet at *in situ* sensoren var placeret på en dybde, som vurderes at være usandsynlig for algen at opbevare sig i, grundet dårlige lysforhold. Det var ikke muligt at opstille en model som korrigerer for denne påvirkning i dette studie på trods af, at algens døgnvandringer tydeligt blev opfanget af *in situ* sensoren.

Det var ikke muligt at koble nogen ændringer i turbiditet sammen med forholdet mellem de to analysemetoder (R²=0,05). Den eneste episode med store ændringer i turbiditet blev overskygget af algen *G. semen,* der begyndte at dominere algesamfundet i samme periode.

Studiet viste dermed at *in situ* sensoren er stærkt følsom over for især CDOM og vandrende arter. Det kan således ikke anbefales at benytte sensoren som erstatning for konventionelle metoder. Med hensyn til CDOM blev der udarbejdet en model som korrigerer for farvetallet i vandet. Modellen viste sig at have en god evne til at forudsige laboratorieanalyserne (R²=0,89, n=4). Dersom man har en sensor der kan måle farve, er det muligt at man kan få nogle relativt gyldige data ved brug af denne model. Dette er dog omgivet af noget usikkerhed grundet få data.

Referencer

(2000) Direktiv 2000/60/EF Europa-Parlamentets og rådets direktiv.

Andersen, J. R., Bratli, J. L., Fjeld, E., Faafeng, B., Grande, M., Hem, L., Holtan, H., Krogh, T., Lund, V., Rosland, D., Rosseland, B. O., Aanes, K. J. (1997). Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann. *Statens forurensningstilsyn.* ISBN 82-7655-368-0.

Ansari, A. A., Lanza, G., Gill, S. S., Rast, W. (2011). Eutrophication: Causes, Consequences and Control Volume-1. *Springer*. ISBN 978-90-481-9625-8.

Arnesen, J. F. (2018). Årsrapport overvåking Glomma Sør for Øyeren 2017. Driftsassistansen i Østfold IKS.

Arnesen, J. F. (2019). Årsrapport overvåking Glomma Sør for Øyeren 2018. Driftsassistansen i Østfold IKS.

Bartram, J., Balance, R. (1996). Water Quality Monitoring – A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programme. *World Health Organisation*. ISBN 0 419 22320 7.

Bengtsson, L. (1978). Wind induced circulation in lakes. *Hydrology Research*. DOI: 10.2166/nh.1978.0007.

Bjørndalen, K., Hauger, T., Vallner, P. (1985). Fylkesmannen i Østfold, miljøvernavdelingen.

Brierley, B., Carvalho, L., Davies, S., Krokowski, J. (2007). Guidance on the quantitative analysis of phytoplankton in freshwater samples.

Carlson, R. E., Shapiro, J. (1981). Dissolved humic substances: A major source of error in fluorometric analyses involving lake waters. *American Society of Limnology and Oceanography, Inc.*

Chianese, A., Bravi, M., Fazio, E. (2012). Turbidimetry and nephelometry. DOI 10.1002/9783527645206.ch6.

Choo, F., Zamyadi, A., Newton, K., Newcombe, G., Bowling, L., Stuetz, R., Henderson, R. K. (2018). Performance evaluation of *in situ* fluorometers for real-time cyanobacterial monitoring. *H*₂*Open Journal*. Vol 1.

Christensen, T. B., Hansen, O. S., Ærtebjerg, G. (2004). Iltsvind. *Danmarks Miljøundersøgelser*. ISBN: 87-7739-734-7.

Clescerl, L. S., Eaton, A. D., Greenberg, A. E. (1999). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition. *American public health association*. ISBN-13: 978-0875532356.

Davis, J. L., Shaw, G. (2010). Impacts of eutrophication on the safety of drinking- and recreational water. Water and health – Volume 2. *Encyclopedia of Life Support Systems*. ISBN: 978-1-84826-633-9. Effler, S. W., Perkins, M., Peng, F., Strait, C., Weidemann, A. D., Auer, M. T. (2010). Light-absorbing components in lake Superior. *Journal of Great Lakes Research*. Vol. 36.

Faafeng, B., Brabrand, Å., Brettum, P., Hessen, D.O. (1993). Isesjø i Østfold tiltak for bedring av vannkvaliteten. Norsk institutt for vannforskning.

Fiksdahl, A., Withers, N., Guillard, R. R. L., Liaaenjensen, S. (1984). Carotenoids of the raphidophyceae – A chemosystematic contribution. Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology 78: 265-271.

Fuchs, A., Selmeczy, G. B., Kasprzak, P., Padisák, J., Caster, P. (2016). Coincidence of sedimentation peaks with diatom blooms, wind, and calcite precipitation measured in high resolution by a multi-trap. *Hydrobiologica*. DOI 10.1007/s10750-015-2388-9

Grahn, L. (2016). ROS-analyse. Risikovurdering før etablering av boligbbyggelse ved Isesjø. Sweco Norge AS.

Hagman, C. H. C., Ballot, A., Hjermann, D. Ø., Skjelbred, B., Brettum, P., Ptaenik, R. (2015). The occurence and spread of *Gonyostomum semen* (Ehr.) Diesing (Raphidophyceae) in Norwegian lakes. *Hydrobiologia*. DOI 10.1007/s10750-014-2050-y.

Health Canada (2012). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document — Turbidity. *Minister of Health.* ISBN: 978-1-100-21739-0.

Holm-Hansen, O., Lorenzen, C. J., Holmes, R. W., Strickland, J. D. H. (1965). Fluorometric Determination of Chlorophyll, *ICES Journal of Marine Science*, Volume 30.

Kalff., J. (2002). Limnology. Prentice-Hall, Inc. ISBN 0-13-033775-7.

Lakowicz, J. R. (2006). Principles of fluorescence spectroscopy. Springer. ISBN-10: 0-387-31278-1.

Lampert, W., Sommer, U. (2007). Limnoecology: The ecology of lakes and streams. *Oxford University Press*. ISBN-13: 9780199213931.

Lorenzen, C. J. (1966). A method for the continuous measurement of in vivo chlorophyll concentration. *Deep-Sea Res*earch. Vol 13.

Løvstad, Ø., Hauger, T., Vallner, P. (1990). Innsjøer i Østfold. Fylkesmannen i Østfold, miljøvernavdelingen. ISBN: 82-7395-0048-4.

Moreno, F., Maradudin, A. A. (2007). Light scattering and nanoscale surface roughness. *Springer*. ISBN 978-0-387-35659-4.

Matorin, D., Antal, T. K., Ostrowska, M. (2004) Chlorophyll fluorimetry as a method for studying light absorption by photosynthetic pigments in marine algae. *Oceanologia*.

Miljødirektoratet. (2018). Klassifisering av miljøtilstand i vann. Veileder 2:2018, Klassifisering. Direktoratsgruppen for gjennomføringen av vannforskriften.

Pęczuła, W., Grabowska, M., Zieliński, P., Karpowicz, M., Danilczyk, M. (2018). Vertical distribution of expansive, bloom-forming algae *Gonyostomum semen* vs. plankton community and water chemistry in four small humic lakes. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. DOI: 10.1051/kmae/2018017.

Proctor, C. W., Roesler, C. S. (2010). New insights on obtaining phytoplankton concentration and composition from in situ multispectral Chlorophyll fluorescence. *Limnology and Oceanography*. Vol. 8.

Reuss, N. (2005). Sediment pigments as biomarkers of environmental change. Ph.D. thesis. *National Environmental Research Institute*. Roskilde, Denmark.

Risom, R., Schack-Nielsen, L., Thomsen, A. V., Piekut, T. B. (2006). Biologisystemet BIOS. *Gyldendal*. ISBN 13 9788700484085.

Roesler, C. S. (2014). Calibration, correction and flagging from the chlorophyll fluorometer on GoMOOS Buoy A01. Boston: Massachusett Water Resources Authority.

Roesler, C. S. (2016). *In situ* chlorophyll fluorescence observations on NERACOOS Mooring A01. Boston: Massachusett Water Resources Authority.

Sadar, M. J. (2003). Turbidity Science. Hach Company.

Salonen, K., Rosenberg, M. (2000). Advantages from diel vertical migration can explain the dominance of *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae) in a small, steeply-stratified humic lake. Department of biological and Environmental Sciences, University of Jyväskylä. *Journal of Plankton Research* vol. 22.

Sassenhagen, I., Rengefors, K., Richardson, T. L., Pinckney, J. L. (2014). Pigment composition and photoacclimation as keys to the ecological success of *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae, stramenopiles). *Journal of Phycology*.

Schartau, A. K., Haande, S., Fløystad, L., Eriksen, T. E., Halvorsen, G., Jensen, T. C., Mjelde, M., Often, A., Petrin, Z., Rustadbakken, A., Saksgård, R., Sandlund, O. T., Selvik, J. R., Skjelbred, B., Solheim, A. L. (2012). Utprøving av system for basisovervåking i henhold til vannforskriften. Resultater for utvalgte innsjøer 2010. Miljøovervåking i vann. *Direktoratet for naturforvaltning. Klima og forurensningsdirektoratet*. Schindler, D. W., (1977). Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*. Vol. 195, no. 4275.

Suhr, K., Pedersen, P. B. Janning, K. (2011). Dambrugsteknologi – reduktion af kvælstof-udledning fra Modeldambrug. Test af denitrifikationsfiltre. Institut for Avatiske Ressourcer, DTU Aqua.

Suthers, I. M., Rissik, D. (2009). Plankton: a guide to their ecology and monitoring for water quality. *CSIRO PUBLISHING*. ISBN-10: 0643090584.

Svartedal, Sigrun., Pinaas, T., Strøm, J. O., Hasle, A., Bjor, Å., Arnesen, H-O., Hardeng, G., Agnalt, S., Rosten, H. O., Bjørre, C., Krog, W. (2001). Biologisk mangfold i Sarpsborg del 1 – mål og tiltak.

Svobodova, Z., Lloyd, R., Vykusova, J. M. B. (1993). Water quality and fish health. *Food and Agriculture Organization*. ISBN 92-5-103437-0.

Wachenfeldt, E., Tranvik, L. J. (2008). Sedimentation in boreal lakes – the role of flocculation of allochtonous dissolved organic carbon in the water column. *Ecosystems.* Vol. 11.

Willén, E. (1976). A simplified method of phytoplankton counting. *British Phycological Journal*. DOI: 10.1080/00071617600650551.

Wright., S. W., Jeffrey, S. W., Mantoura, R. F. C., Llewellyn, C. A. Bjørnland, D., Repeta, D., Welschmeyer, N. (1991). Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Marine ecology progress series*. Vol. 77.

Zhang, X. Y., Chen, X., Deng, H., Du, Y., Jin, H. Y. (2013). Absorption features of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) and tracing implication for dissolved organic carbon (DOC) in Changjiang Estuary, China. *Biogeosciences.* Vol. 10. doi:10.5194/bgd-10-12217-2013.

Bilag

Bilag 1: Nedbørfelt Isesjøen



Lavvannskart

Vassdragsnr.: 002.A5A			Feltparametere	
Kommune: Sarpsborg Fylke: Østfold			Areal (A)	14
Vassdrag: Isoa			Effektiv sjø (S _{eff})	
			Elvelengde (EL)	
			Elvegradient (EG)	
Vannføringsindeks, se merknader		Elvegradient ₁₀₈₅ (G ₁₀₈₅)		
N 111 - C 1 ((1 00)	10.0	1/(-#12)	Feltlengde(FL)	
Middelvannføring (61-90)	12,3	1/(s*km*)	H min	
Alminnelig lavvannføring	1,0	1/(s*Km²)	H 10	
5-persentil (hele aret)	1,6	1/(s*Km²)	H 20	
5-persentil (1/5-30/9)	1,1	1/(s*km²)	H 30	
5-persentil (1/10-30/4)	5,9	1/(s*km ²)	H 40	
Base flow	5,:	$5 l/(s^{*}km^{2})$	H 50	
BFI	0,5		H 60	
Klima			H 70	
Kinna			H 80	
Klimaregion		Ost	H 90	
Årsnedbør	837	mm	H _{max}	
Sommernedbør	384	mm	Bre	
Vinternedbør	453	mm	Dyrket mark	
Årstemperatur	5,6	°C	Myr	
Sommertemperatur	12,9	°C	Sjø	
Vintertemperatur	0,3	°C	Skog	
Temperatur Juli	15,6	°C	Snaufjell	
Femperatur August	14,7	°C	Urban	
				1

Det er generelt stor usikkerhet i beregninger av lavvannsindekser. Resultatene bør verifiseres mot egne observasjoner eller sammenlignbare målestasjoner.

I nedbørfelt med høy breprosent eller stor innsjøprosent vil tørrværsavrenning (baseflow) ha store bidrag fra disse lagringsmagasinene.

Figur 5: Kort over nedbørfelt til Isesjøen. Kilde: Nevina.nve.no.

Bilag 2: SEBA Hydrometrie datablad

Technical data of electrodes

Parameter	Measuring range	Accuracy	Resolution
water level	0-10, 20, 50, 100, 200m 0100/200 mWs Temperature: -550°C	+/-0,1% of end of measuring range	0,002%
temperature	Temperature: -550°C Pressure: 0500 mWs	+/- 0,1°C	0,01°C
conductivity	0200mS Temperature: -550°C Pressure: 0500 mWs	+/-1µS/cm (0200µS/cm) +/-0,5% (> 200µS/cm)	0,001mS/cm
total dissolved solids (TDS)	0200.000mg/l Temperature: -550°C Pressure: 0500 mWs		
salinity	070 Temperature: -550°C Pressure: 0500 mWs	+/- 0,2 (016) +/- 0,8% (>16)	0,01
water density	9881060 g/l Temperature: -550°C Pressure: 0500 mWs		
oxygen (amperometric)	040mg/l Temperature: 050°C Pressure: 0100mWs	+/-0,5% of end of measuring range	0,01mg/l
oxygen (optic)	025mg/l (bei 25°C, 1013hPa) 040mg/l (bei 3° C, 1013hPa) Temperature: -550°C Pressure: 0120 mWs	+/- 0,02mg/l (02mg/l) +/- 1% of measured value (>2mg/l)	0,001mg/l
oxygen saturation	0400% saturation Temperature: 050°C Pressure: 0100 mWs	+/-0,5% of end of measuring range	
рН	014 pH Temperature: 050°C Pressure: 0200 mWs	+/- 0,1pH	0,01pH
redox (ORP)	-1200mV1200mV Temperature: 050°C Pressure: 0200 mWs	+/- 10mV	0,1mV
ammonia	0,0117000mg/l Temperature: 050°C Pressure: 05 mWs	+/-0,2mg/l (24h) (010mg/l) +/- 2% of measured value (24h) (>10mg/l)	0,01mg/l
nitrate	0,460000mg/l Temperature: 040°C Pressure: 0200 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
chloride	135000mg/l Temperature: 050°C Pressure: 0200 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
ammonium	0,218000mg/l Temperature: 040°C Pressure: 010 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
sodium	0,220000mg/l Temperature: 050°C Pressure: 060 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
calcium	0.540000mg/l Temperatur:e 040°C Pressure: 010 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
fluoride	0,220000mg/l Temperature: 040°C Pressure: 010 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
potassium	0,439000mg/l Temperature: 040°C Pressure: 010 mWs	+/-2mg/l (24h) (040mg/l) +/- 5% of measured value (24h) (>40mg/l)	0,01mg/l
chlorophyll a (optical)	0,03500µg/l Chl a Temperature: -250°C Pressure: 0600 mWs	+/-3%	0,01µg/l
cyanobacteria (optical) - Phycocyanin (PC) - Phycoerythrin (PE)	2-40.000 ppb (PC) 0,15-750 ppb (PE) Temperature: -250°C Pressure: 0600 mWs	+/-3%	1 ppb (PC) 0,01 ppb (PE)
rhodamine WT (optical)	0,041000µg/I RWT Temperature: -250°C Pressure: 0600 mWs	+/-3%	0,01µg/l
turbidity (optical)	01000NTU Temperature: 050°C Pressure: 0100 with wiper 0200 without wiper	+/-0,3NTU (010NTU) +/-3% (>10NTU)	0,01NTU
Total suspended solids (TSS)	approx. 5 fold measured range turbidity mg/l Temperature: 050°C Pressure: 0100 with wiper 0200 without wiper		

Figur 6: Datablad for elektroder benyttet i SEBA Hydrometries multiparametersensorer. Det er ikke alle parametrene i hæftet, som har været tilgængelige i dette studie.

Kilde: SEBA Hydrometrie



Bilag 3: G. semens døgnvandringer vs MPS-K16

Figur 7: Illustration af målepunkter for in situ fluorometer vs. vandprøver Kilde: Egen tilvirkning.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet Noregs miljø- og biovitskapelege universitet Norwegian University of Life Sciences Postboks 5003 NO-1432 Ås Norway