

# Betydningen af oxidationsmetode for målinger af total kvælstof og total fosfor i marine prøver

---

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 19. februar 2018

Forfattere:

Jacob Carstensen, Martin Mørk Larsen, Jesper P. Christensen og Karen Timmermann

Institut for Bioscience

Rekvirent: Miljøstyrelsen

Antal sider: 37

Faglig kommentering: Peter Henriksen

Kvalitetssikring, centret: Poul Nordemann Jensen



AARHUS  
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000  
E-mail: [dce@au.dk](mailto:dce@au.dk)  
<http://dce.au.dk>

# Indhold

<b>Sammenfatning</b>	<b>3</b>
<b>1 Forord og problemstilling</b>	<b>6</b>
<b>2 Analyse af data, hvor autoklave og UV- metoder er anvendt på samme prøve</b>	<b>8</b>
2.1 Datagrundlag	8
2.2 Statistisk analyse	8
2.3 Resultater og diskussion	10
<b>3 Analyse af dansk, svenske og tyske data for Kattegat og Bælthavet</b>	<b>19</b>
3.1 Datagrundlag	19
3.2 Statistisk analyse	20
3.3 Resultater og diskussion	22
<b>4 Vurdering af de analysemetoder, som bruges i Danmark og nabolande</b>	<b>28</b>
4.1 Total nitrogen analysemetoden	28
4.2 Total fosfor analysemetoden	30
<b>5 Diskussion</b>	<b>32</b>
5.1 Kvantificering af underestimering af organisk kvælstof efter anvendelse af UV-oxidation	32
5.2 Kvantificering af afvigelser for organisk fosfor efter anvendelse af UV-oxidation	33
<b>6 Vurdering af implikationer</b>	<b>34</b>
6.1 Vurdering af implikationer for vandområdeplaner	34
6.2 Vurdering af implikationer for klassifikation af områdets økologisk tilstand	34
<b>7 Referencer</b>	<b>35</b>
<b>Bilag 1</b>	<b>37</b>

## Sammenfatning

Miljøstyrelsen har bedt om en vurdering af den systematiske afvigelse, der siden 2010 er sket ved at anvende UV-metoden frem for autoklavemetoden til oxidation af organisk materiale ved analyse af marine næringsstofprøver i det danske overvågningsprogram. Vurderingen er foretaget på baggrund af et datasæt på 50 prøver indsamlet af Miljøstyrelsen i efteråret 2017, hvor prøverne er analyseret både med UV- og autoklavemetoden. Endvidere er der udført en analyse af danske, svenske og tyske overvågningsdata på stationer i Kattegat og Bælthavet. I det følgende er besvarelsen af Miljøstyrelsens bestilling sammenfattet.

- *Vurdering af om de gennemførte parallelanalyser giver et retvisende billede af, hvorvidt der kan forventes afvigelser på analyseresultater, samt i givet fald størrelsen af afvigelser mellem de to oxidationsmetoder "autoklavering" og "UV-metoden".*

For organisk kvælstof (ON) og dermed total kvælstof (TN) giver parallelanalyserne et sikkert grundlag for at konkludere, at anvendelse af UV-metoden underestimerer koncentrationerne af ON i betydeligt omfang og dermed også koncentrationerne af TN. Den kvantitative vurdering på baggrund af de data, som indgår i denne analyse, er, at UV-metoden systematisk underestimerer ON-koncentrationen med omkring 16% i middel og en spredning på 9% på enkeltprøver. Da ON i middel udgør 81% af TN vil UV-metoden i middel underestimere TN-koncentrationen med 13%. Den aktuelle underestimering af TN afhænger af fraktionen af uorganisk kvælstof (DIN), idet en højere andel af DIN medfører en mindre underestimering af TN.

Selvom det for ON er muligt at estimere en gennemsnitlig procentvis forskel mellem UV- og autoklavemetoden, er der klare indikationer af, at forskellen mellem UV- og autoklave-oxidation er påvirket af systematiske afvigelser i relation til salinitet og dybde. Det er i overensstemmelse med vores viden om, at organisk stof i havvand over tid bliver mere resistent for nedbrydning. Derudover forventer vi også en systematisk sæsoneffekt, da der ved algeproduktion, som er størst i sommerhalvåret, dannes lettere omsætteligt organisk stof. En sådan effekt kan ikke analyseres på basis af det eksisterende datagrundlag.

Effekten af salinitet på korrektionen mellem UV og autoklave er dog ikke entydig, hvilket skyldes, at salinitet kun delvis er en god tilnærmelse for "alder siden ferskvandspåvirkning", da de hydrologiske forhold i danske farvande er komplekse med salinitetsgradienter fra inderfjorde til åbent vand, fra Østersøen mod Nordsøen samt fra overflade mod bund. Man vil derfor opnå bedre sikkerhed i en korrektion af data, hvis der indsamles prøver, som dækker et helt år på en række stationer og som undersøger problemstillingen under forskellige hydrologiske forhold. Analysen bør i givet fald udføres, så de optiske forhold og tiden fra ferskvandpåvirkning inddrages.

For organisk fosfor (OP) og total fosfor (TP) er der ifølge parallelanalyserne i middel ikke forskel på UV- og autoklavemetoden, og det er ikke muligt at estimere en meningsfuld forskel mellem metoderne. Datasættet giver ikke et tilstrækkeligt grundlag til vurdering af UV-metodens effektivitet

med hensyn til oxidation af OP. Dette skyldes, at det ikke er muligt at adskille laboratorieeffekter fra effekten af oxidationsmetode, samt at fortolkningen kompliceres af, at UV-metoden mod forventning måler højere OP-koncentrationer end autoklavemetoden ved lave OP-koncentrationer, hvilket resulterer i et positivt skæringspunkt i relationen. Vurderet ud fra de estimerede relationer vil metoderne ved høje OP-koncentrationer måle omtrent ens. En mulig årsag til, at autoklavemetoden mod forventning måler lavere koncentrationer end UV-metoden (observerbart ved lave OP-koncentrationer) er, at autoklavemetoden kan være udført uden at tage hensyn til interferens fra klorgasser, som udvikles under opvarmning og oxidation med autoklavemetoden, og som efterfølgende skal fjernes, inden analysen for ortofosfat. Dette underbygges yderligere af, at fejlen er stærkt korreleret til salinitet, idet højere salinitet vil give større udvikling af klorgas.

- *Vurdering af, hvorvidt der fagligt kan opstilles modeller for korrektion af analyse-data og om dette ud fra et fagligt synspunkt anbefales gjort.*

Det vurderes, at man kan lave en korrektion af TN-data. På baggrund af det foreliggende datamateriale kan man opstille en korrektionsmodel, som med rimelig præcision kan beregne en middel-korrektionsfaktor til omregning mellem ON-koncentrationer oxideret med UV-metoden til autoklavemetoden. Der er dog risiko for at begå systematiske fejl på min. 7% (svarende til næsten halvdelen af middelforskellen på 16%), som følge af afhængigheder til bl.a. salinitet, dybde og muligvis sæson. Analysen er baseret på et begrænset datagrundlag, hvilket potentielt kan have konsekvenser, når korrektionen ekstrapoleres til andre tidsmæssige perioder eller områder, som ikke er dækket af datasættet. Sikkerheden på de korrigerede ON- (og dermed TN-) data kan øges, såfremt der etableres et større repræsentativt datasæt dækkende et helt år, som analyseres med både UV- og autoklavemetoden.

En eventuel korrektion af TN-data målt med UV-metoden bør udføres ved at korrigere ON-koncentrationen, som efterfølgende omregnes til en korrigeret TN-koncentration ved at addere DIN-koncentrationen.

En korrektion af fosfor vil på baggrund af det eksisterende datamateriale med den større variation i data vurderes at være for usikker til at være meningsfuld.

- *Vurdering af om og i givet fald hvordan de konstaterede afvigelse har haft betydning for gennemførte NOVANA-rapporteringer, opgørelse af økologisk tilstand og målbelastning i vandområdeplanerne, samt dataindberetninger til EU, ICES m.fl.*

Den manglende effektivitet af UV-oxidationsmetoden har betydning for NOVANA-rapporteringerne, idet forbedringen i miljøtilstanden (beskrevet ved årsgennemsnit i TN-koncentrationer) siden 2010 er overvurderet for både fjorde og åbne havområder. Mest konkret har det betydning i forhold til HELCOMs vurdering af miljøtilstanden i Kattegat, Bælthavet og Øresund, hvor indikatoren "Total nitrogen" antagelig vil skifte fra "god" til "dårlig" tilstand efter en genberegning af data. Det vil dog ikke ændre den samlede HELCOM-klassifikation, som i forvejen vurderer havområderne til at være i "dårlig" tilstand. En mulig underestimering af TN- og

TP-koncentrationer har ingen betydning for opgørelsen af økologisk tilstand (*sensu* vandrammedirektivet), da TN og TP ikke indgår som indikator i tilstandsklassifikationen. I forhold til beregninger af indsatsbehov og målbelastning vurderes det, at afvigelserne pga. brug af UV-metoden er uvæsentlige. Dette skyldes, at en eventuel underestimering af TN koncentrationer kun kan have betydning for TN indikatoren og da denne er baseret på 15-25 års data vil en underestimering af max 3 års data være minimal. Derudover bygger beregningerne på en række forskellige indikatorer og er derfor relativt robuste over for eventuelle afvigelser i én af de anvendte indikatorer.

- *Endelig bedes i vurderingerne indgå de anvendte analysemetoder i forhold til andre landes (Sverige og Tyskland samt evt. Norge) analysemetoder for TN og TP.*

Hele problemstillingen viser, at det er kritisk at anvende en optimal metode for oxidation af organisk stof og dermed få en så komplet bestemmelse af TN og TP som muligt. Gennemgangen af de anvendte metoder i afsnit 4 viser, at Sverige og Tyskland også har haft problemer med metodeskift. Det er dog tydeligt på baggrund af gennemgangen, at Sverige holder sig til autoklavemetoden, og at Tyskland også anvender metoder, som giver en bedre oxidation end UV-metoden.

# 1 Forord og problemstilling

I naturlige vandprøver, som fx havvand, findes kvælstof og fosfor i opløst form som uorganiske salte og bundet i organiske forbindelser. Endvidere findes kvælstof og fosfor bundet i organiske partikler og adsorberet til overfladen af uorganiske partikler. Koncentrationer af begge stoffer er vigtige i vurderinger af miljøtilstanden og for forvaltning af akvatiske økosystemer i relation til næringsstoffer.

De uorganiske former kan relativt nemt måles. For kvælstof er det hovedsagelig ammonium, nitrit og nitrat. Summen af disse benævnes DIN-koncentrationen efter den engelske forkortelse for "dissolved inorganic nitrogen". For fosfor er den uorganiske form ortofosfat, som benævnes DIP - "dissolved inorganic phosphorus". Organisk bundet kvælstof og fosfor er vanskeligt at måle, og standardmetoden for disse stoffer har derfor i mange år været, at man oxiderer (ilter) alt organisk stof, således at alt kvælstof kommer over på nitratform og fosfor på ortofosfat-form. Derefter analyseres prøverne for nitrat og fosfat, og resultatet benævnes total kvælstof (TN) og total fosfor (TP). De oprindelige organisk bundne fraktioner (ON og OP) kan beregnes som forskellen mellem den oprindelige DIN- eller DIP-koncentration og henholdsvis TN- og TP-koncentrationerne i prøven.

En sand måling af TN og TP kræver en fuldstændig oxidation af ON og OP. Det er i praksis ikke muligt, og TN- og TP-koncentrationer repræsenterer derfor altid et minimumsestimat. I de fleste prøver, og med en korrekt gennemført oxidation, kan man dog normalt nå bestemmelser, som er tæt på 100% af de sande værdier.

Der findes forskellige metoder til oxidation, men i praksis har to været anvendt: oxidation ved opvarmning med et oxidationsmiddel (autoklavemetode) og oxidation ved bestråling med ultraviolet lys (UV-metode). Ved opvarmning med oxidationsmiddel kan man opnå en meget effektiv oxidation, specielt ved at anvende skrappe oxidationsmidler, lang tid og høj temperatur. For UV-metoden gælder, at den virker ved dels at excitere organiske stoffer, som absorberer lys i UV-området, så molekylerne går i stykker, og dels ved at der dannes frie iltradikaler, når vand UV-bestråles, som så oxiderer de organiske stoffer. Endvidere kan man også ved UV-metoden tilsætte et oxidationsmiddel. Også for UV-metoden gælder, at tid og intensitet af behandling påvirker effektiviteten af oxidationen.

For begge metoder gælder, at en effektiv oxidation kan forøge omkostningerne, når analysen gennemføres i praksis (Eurofins 2014). Analyselaboratorier har derfor en udfordring i at reducere analyseomkostninger og dermed prisen, uden at det påvirker effektiviteten af oxidationen og dermed analysens kvalitet.

Effektiviteten af oxidationen afhænger af de typer af organiske stoffer, som kvælstof og fosfor er bundet til. Det spænder fra let nedbrydelige stoffer som aminosyrer og sukkerstoffer til komplekse humusforbindelser. Endvidere er det sådan, at organiske stoffer i søer, men især i havet, naturligt er udsat for UV-lys. Det er således velkendt, at en stor fraktion af de organiske stoffer nedbrydes, når åvand strømmer ud en fjord. Det gælder især farvede forbindelser (Stedmon et al. 2006; Markager et al. 2011). Der sker derfor en selektion, hvor

de stoffer, som absorberer lys, forsvinder, mens ikke-absorberende stoffer forbliver i vandet på vejen fra grundvand, over vandløb og søer til fjorde og åbne marine områder (Massicotte et al. 2016).

Dette notat behandler den problemstilling, at de analyselaboratorier, som har analyseret marine prøver i det nationale overvågningsprogram, har skiftet fra at anvende autoklavemetoden til UV-metoden. Fra 2010 er alle prøver analyseret med UV-metoden ifølge Miljøstyrelsens oplysninger. Der er antagelig også i en periode anvendt forkerte koder for den anvendte metode ved dataindberetning til den nationale database, hvilket øger usikkerheden på vurdering af konsekvenserne af forskelle i analysemetoder. ALS laboratoriet overtog fra 2016 opgaven med at analysere marine prøver for næringsstoffer fra laboratoriet Eurofins, hvilket betød et skift i analysemetode for TP.

I dette notat vurderes den systematiske afvigelse, der er sket ved at anvende UV-metoden frem for autoklavemetoden til oxidation af marine prøver i det danske overvågningsprogram. Vurderingerne er foretaget på baggrund af et datasæt på 50 prøver fra fjorde og åbne havområder indsamlet af Miljøstyrelsen i efteråret 2017, hvor prøverne er analyseret både med UV- og autoklavemetoden. Endvidere er der udført en analyse af danske, svenske og tyske overvågningsdata på stationer i Kattegat og Bælthavet. Datamaterialet dækker derfor ikke på systematisk vis sæsonmæssige variationer eller alle geografiske forskelle relateret til den komplekse hydrografi i de danske farvande.

I notatet vurderes mulighederne for at korrigere data og betydningen af forskellene i analyseresultaterne for vurdering af miljøtilstanden, både i forhold til internationale aftaler og i forhold til forvaltning af danske marine områder.

Notatet er bestilt af Miljøstyrelsen den 21. december 2017 med planlagt levering den 23 januar 2018. Bestillingen er vedlagt som bilag (Bilag 1). Tidfrist for aflevering blev efterfølgende forlænget til 19/2 2018. Konkret ønsker Miljøstyrelse svar på følgende spørgsmål:

- *Vurdering af om de gennemførte parallelanalyser giver et retvisende billede af, hvorvidt der kan forventes afvigelser på analyseresultater, samt i givet fald størrelsen af afvigelser mellem de to oxidationsmetoder "autoklavering" og "UV-metoden".*
- *Vurdering af, hvorvidt der fagligt kan opstilles modeller for korrektion af analysedata og om dette ud fra et fagligt synspunkt anbefales gjort.*
- *Vurdering af om og i givet fald hvordan de konstaterede afvigelser har haft betydning for gennemførte NOVANA-rapporteringer, opgørelse af økologisk tilstand og målbelastning i vandområdeplanerne, samt dataindberetninger til EU, ICES m.fl.*
- *Endelig bedes i vurderingerne indgå de anvendte analysemetoder i forhold til andre landes (Sverige og Tyskland samt evt. Norge) analysemetoder for TN og TP.*

## 2 Analyse af data, hvor autoklave og UV-metoder er anvendt på samme prøve

For at undersøge eventuelle systematiske afvigelser mellem de to forskellige metoder for oxidation af TN- og TP-prøver har Miljøstyrelsen indsamlet prøver, hvor der er kørt parallelanalyser med autoklave- og UV-oxidation, udført af tre forskellige laboratorier. Da der er tale om bestemmelser udført på de samme prøver, behøver den statistiske analyse ikke tage højde for de store variationer i rum og tid, som kendetegner koncentrationerne af næringsstoffer i de danske havområder.

### 2.1 Datagrundlag

Datagrundlaget er 50 vandprøver, som er analyseret parallelt af Miljøstyrelsen og laboratorierne ALS og Eurofins. De 50 prøver er indsamlet mellem 12. oktober og 1. november 2017 i forskellige fjorde og åbne havområder fra dybder mellem 1 og 44 meter. For disse prøver gælder, at de tre laboratorier har analyseret delprøver af den samme vandprøve med en eller begge de to metoder for oxidering af organisk stof. *Tabel 2.1* giver en oversigt over de anvendte metoder. Af tabellen ses, at det kun er Eurofins, som for kvælstof har anvendt begge oxidationsmetoder, og at intet laboratorium har anvendt begge oxidationsmetoder for fosfor. Dette betyder, at for kvælstof vil en sammenligning af oxidationsmetoder kun være bestemt på basis af målinger fra Eurofins, hvis forskel mellem laboratorier skal kunne udelukkes. Tilsvarende kan en sammenligning af oxidationsmetoder for fosfor ikke foretages uafhængigt af en eventuel laboratorieeffekt.

**Tabel 2.1.** Oversigt over analyser og oxidationsmetoder anvendt på prøverne.

Laboratorium	Total kvælstof (TN)		Total fosfor (TP)	
	Autoklave	UV-metode	Autoklave	UV-metode
Miljøstyrelsen	X		x	
Eurofins	X	x	x	
ALS		x		x

Vandprøverne til sammenligning af metoder er indsamlet i forbindelse med den almindelige overvågning, og derfor er vandprøverne også analyseret for uorganiske næringsalte og klorofyl, foruden at vandprøvens salinitet og temperatur er bestemt. De uorganiske næringsalte er imidlertid ikke analyseret af de tre laboratorier hver for sig, men kun af Eurofins.

Da en eventuel effekt af oxidationsmetode kun påvirker den organiske fraktion i vandprøven, har vi beregnet koncentrationer af organisk kvælstof (ON) og organisk fosfor (OP) ved at trække den uorganiske fraktion fra total koncentrationerne. Selvom oxidationsmetoden kun påvirker den organiske fraktion, vil en evt. underestimering af ON og OP medføre en underestimering af TN og TP, og resultaterne af de statistiske analyser vil derfor også blive præsenteret for TN og TP.

### 2.2 Statistisk analyse

Formålet med den statistiske analyse er: 1) at undersøge om der er systematiske forskelle forårsaget af oxidationsmetoden, når der tages højde for alle an-



dre variationer i datasættet, og 2) at undersøge hvordan en eventuel systematisk forskel varierer over forskellige koncentrationsniveauer og i relation til andre faktorer.

### 2.2.1 Fordeling til beskrivelse af næringsstofkoncentrationer

Vi antager, at koncentrationerne af TN, ON, TP og OP er lognormal-fordelte. Lognormal-fordelte variable adskiller sig fra normal-fordelte variable ved, at variationen i fordelingen er skala-afhængig, dvs. at standardafvigelsen øges proportionalt med middelværdien. Lognormal-fordelingen benyttes ofte til at beskrive koncentrationer af næringsstoffer og andre miljøvariable, som kun antager positive værdier.

For at bekræfte antagelsen om lognormal-fordeling anvendes typisk et range-mean plot, hvor variationsbredden (range) afbildes mod middelværdien (mean) for grupper af observationer i fordelingen. I en normalfordeling er variationsbredden uafhængig af middelværdien, hvorimod variationsbredden vokser proportionalt med middelværdien for lognormal-fordelingen.

De 50 parallelle vandprøver af TN og TP kan deles op i grupper 1) for dobbeltbestemmelser (2 observationer pr. prøve, laboratorium og oxidationsmetode) og 2) for vandprøver analyseret med samme oxidationsmetode (typisk 2-4 observationer for hver vandprøve, som er analyseret af 1-2 laboratorier med dobbeltbestemmelse). Den første opdeling beskriver variationen på dobbeltbestemmelser, og den anden opdeling inkluderer desuden variationen mellem laboratorier med samme oxidationsmetode.

### 2.2.2 Systematisk effekt af oxidationsmetode

I denne analyse vil vi undersøge størrelsen af de forskellige variationer, som påvirker næringsstofkoncentrationerne (angivet med variabelen  $Y$ ) ved en variansanalyse (mixed model). Variationerne, som indgår i analysen, er den naturlige variation mellem prøverne, variation mellem laboratorier, variation mellem oxidationsmetode og variation på dobbeltbestemmelse (residual variation).

For kvælstof (TN og ON) kan variationerne beskrives ved følgende model for de log-transformerede koncentrationer:

$$\log(Y_{ijkl}) = p_i + l_j + m_k + P_i \times L_j + P_i \times M_j + e_{ijkl} \quad \text{Fig. 2.1}$$

Hvor  $p_i$  beskriver variationen mellem de 50 vandprøver,  $l_j$  beskriver systematiske forskelle mellem laboratorier,  $m_k$  beskriver forskellen mellem de to oxidationsmetoder,  $P_i \times L_j$  beskriver den tilfældige variation mellem laboratorier, når der er taget højde for den systematiske effekt,  $P_i \times M_j$  beskriver den tilfældige variation mellem de to oxidationsmetoder, når der er taget højde for den systematiske effekt, og  $e_{ijkl}$  beskriver usikkerheden på dobbeltbestemmelser. Da alle tre laboratorier har udført dobbeltbestemmelser, har vi desuden undersøgt, om variansen på dobbeltbestemmelserne er forskellige for de tre laboratorier. De systematiske forskelle mellem laboratorier og oxidationsmetoder er bestemt ud fra parameterestimaterne af  $l_j$  og  $m_k$ . Disse forskelle kan udtrykkes som relative forskelle ved tilbagetransformering, da analysen er udført på log-transformerede koncentrationer.

For fosfor (TP og OP) kan variationerne beskrives ved følgende model for de log-transformerede koncentrationer:

$$\log(Y_{ijk}) = p_i + l_j + P_i \times L_j + e_{ijk}$$

**Lig. 2.2**

Hvor  $p_i$  beskriver variationen mellem de 50 vandprøver,  $l_j$  beskriver systematiske forskelle mellem laboratorier og oxidationsmetode,  $P_i \times L_j$  beskriver den tilfældige variation mellem laboratorier og oxidationsmetode, når der er taget højde for den systematiske effekt, og  $e_{ijkl}$  beskriver usikkerheden på dobbeltbestemmelser. For fosforkoncentrationerne er det ikke muligt at adskille effekten af laboratorier fra effekten af oxidationsmetode, da hvert laboratorium kun har anvendt en oxidationsmetode (tabel 2.1). Ydermere er der ikke udført dobbeltbestemmelser for alle tre laboratorier og derfor antages det, at variansen på dobbeltbestemmelser er ens for de tre laboratorier. De systematiske forskelle mellem laboratorier er bestemt ud fra parameterestimererne af  $l_j$ . Disse forskelle kan udtrykkes som relative forskelle ved tilbagetransformering, da analysen er udført på log-transformerede koncentrationer.

### 2.2.3 Relation mellem UV- og autoklave-oxidation

I modsætning til den forrige analyse, hvor vi antog, at alle effekter var lineære (dvs. en relativ forskel mellem UV- og autoklave-oxidation som følge af log-transformationen), vil vi i denne analyse undersøge, om forskellen mellem de to oxidationsmetoder afhænger af måleværdien eller er konstant over hele målespektret.

Vi har derfor sammenstillet observationer målt med de to oxidationsmetoder ved for hver prøve at beregne 1) gennemsnit over alle målinger foretaget med hver af de to oxidationsmetoder eller 2) gennemsnit over alle målinger foretaget af Eurofins med hver af de to oxidationsmetoder. I den første tilgang opnås mere præcise estimater af koncentrationer, idet der indgår flere observationer i gennemsnittet, men en eventuel systematisk forskel mellem laboratorier vil kunne påvirke analysen. I den anden tilgang vil der være lidt større usikkerhed på observationerne, men til gengæld er der ingen laboratorieeffekt, da der kun indgår målinger fra Eurofins.

Vi anvender en fleksibel ikke-lineær model til at beskrive relationen mellem målinger foretaget med UV-oxidation ( $Y_{UV}$ ) og autoklave-oxidation ( $Y_{autoklave}$ ):

$$Y_{UV} = a + b \cdot Y_{autoklave}^c$$

**Lig. 2.3**

Modellen indeholder en potensfunktion samt et skæringspunkt ( $a$ ), og vi tester, om der er et offset i relationen ( $a = 0$ ), om de to metoder skalerer med hinanden ( $b = 1$ ) og om potensfunktionen er lineær ( $c = 1$ ) ved hjælp af en likelihood ratio test. Modellen reduceres, såfremt disse parametre ikke afviger signifikant fra de testede værdier for at opnå en simpel model med så få parametre som muligt. Da der er usikkerhed forbundet med både  $Y_{UV}$  og  $Y_{autoklave}$ , antager vi, at begge variable er lognormal-fordelte. Parametrene estimeres ved maximum likelihood estimation, hvor  $\log(Y_{UV})$  og  $\log(Y_{autoklave})$  er normalfordelte variable (ortogonal regression).

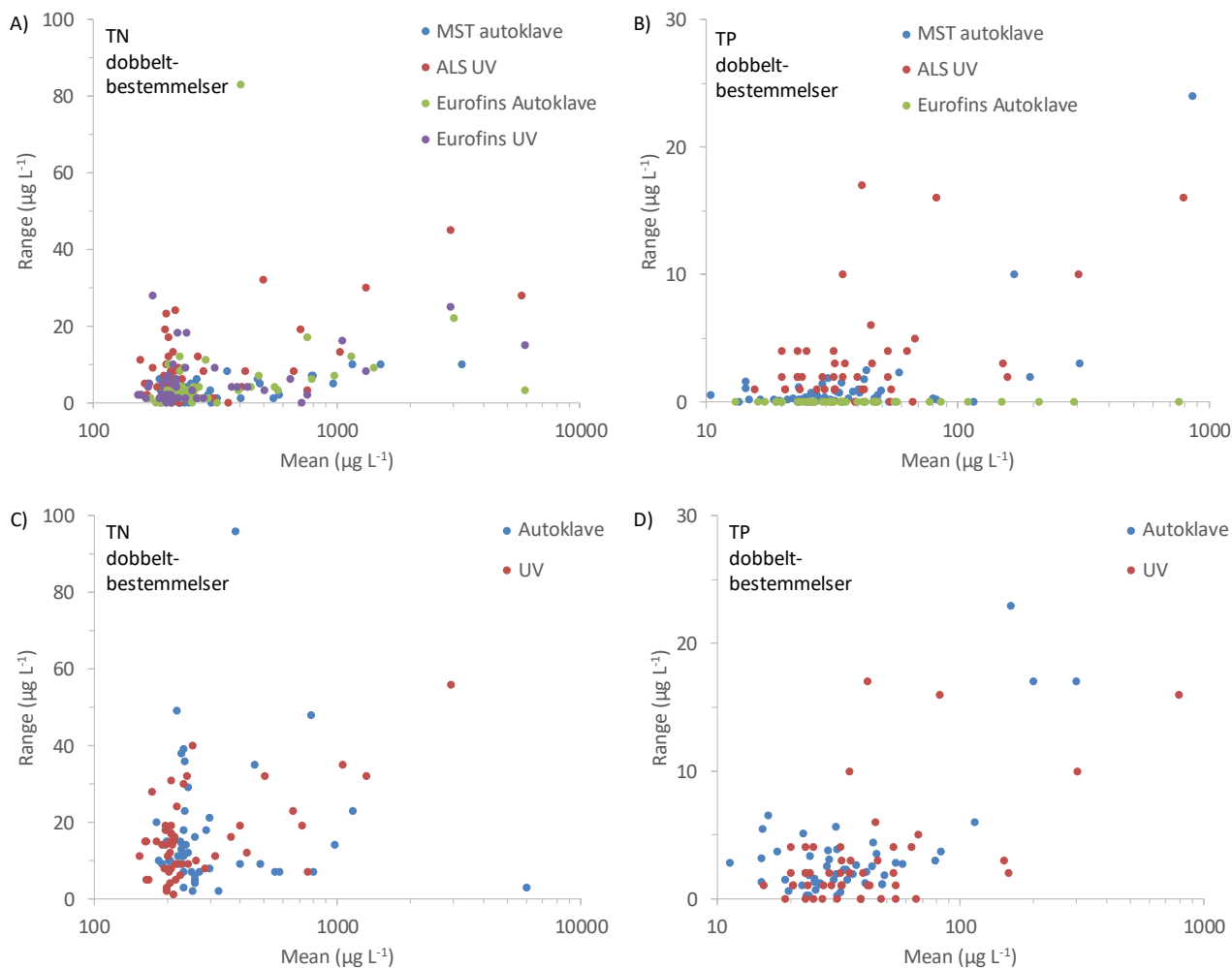
## 2.3 Resultater og diskussion

De 50 parallelle vandprøver er koblet med målinger af uorganiske næringsalte, men for en af prøverne var de uorganiske næringsalte ikke analyseret (Roskilde Fjord), og derfor er analyserne af ON og OP baseret på 49 observationer.

De uorganiske næringssalte, som ikke er påvirket af oxidationsmetoden, udgør en varierende del af TN og TP. Således udgør DIN mellem 1% og 88% af TN, og DIP udgør mellem 5% og 93% af TP. Den uorganiske fraktion udgør typisk en større andel i vandprøver, som er taget under springlaget.

### 2.3.1 Fordelingsantagelse

For både TN og TP er der en klar tendens til øget variation med middelniveauet på både dobbeltbestemmelser og for prøver analyseret af forskellige laboratorier med samme oxidationsmetode (figur 2.1). Den stigende variatiionsbredde med middelniveauet bekræfter derfor antagelsen om lognormalfordeling for både TN og TP.



**Figur 2.1.** Variationsbredde mod middelværdi for grupperinger af parallelprøver. A) og B) dobbeltbestemmelser af TN og TP opdelt på forskellige laboratorier og oxidationsmetoder. C) og D) laboratorier og dobbeltbestemmelser af TN og TP opdelt på forskellige oxidationsmetoder. Bemærk at der ikke er dobbeltbestemmelser for TP målt af Eurofins, og derfor er variationsbredden 0 for alle prøver.

### 2.3.2 Systematisk effekt af oxidationsmetode

For både TN og ON var der signifikant forskel mellem vandprøver ( $p_i$ ;  $P < 0,0001$ ), laboratorier ( $l_j$ ;  $P < 0,0001$ ) og oxidationsmetoder ( $m_k$ ;  $P < 0,0001$ ). Forskellen mellem laboratorier skyldtes hovedsageligt, at TN-målinger fra ALS og Eurofins var hhv. 3,8% og 3,0% lavere end MST's målinger (tabel 2.2), hvorimod der ingen signifikant forskel var mellem ALS og Eurofins. Tilsvarende var ON for ALS og Eurofins 6,0% og 4,0% lavere end MST, uden at der var signifikant

forskel mellem ALS og Eurofins. Selvom ALS og MST har anvendt forskellige oxidationsmetoder, kan vi godt sammenligne deres niveauer, når vi tager højde for forskellen mellem de to oxidationsmetoder, som er bestemt ud fra Eurofins' målinger. Disse viser en signifikant systematisk underestimering på 13% for TN og 17% for ON.

**Tabel 2.2.** Systematiske forskelle mellem laboratorier og oxidationsmetoder for kvælstof (lig. 2.1) og fosfor (lig 2.2). Forskellen er angivet for de log-transformerede værdier (øverst, rød) og som procentuel afvigelse med tilhørende P-værdi.

Systematisk effekt	Forskel	TN	ON	TP	OP
Laboratorier	ALS vs. Eurofins	-0,0087 ( $\pm 0,0075$ )	-0,0211 ( $\pm 0,0118$ )	0,0336 ( $\pm 0,0281$ )	0,0854 ( $\pm 0,0602$ )
		-0,9% (P=0,2502)	-2,1% (P=0,0777)	3,4% (P=0,2348)	8,9% (P=0,1597)
	ALS vs. MST	-0,0387 ( $\pm 0,0080$ )	-0,0617 ( $\pm 0,0123$ )	0,0804 ( $\pm 0,0274$ )	0,1400 ( $\pm 0,0581$ )
		-3,8% (P<0,0001)	-6,0% (P<0,0001)	8,4% (P=0,0042)	15,0% (P=0,0179)
	Eurofins vs. MST	-0,0300 ( $\pm 0,0071$ )	-0,0406 ( $\pm 0,0110$ )	0,0468 ( $\pm 0,0281$ )	0,0545 ( $\pm 0,0603$ )
		-3,0% (P<0,0001)	-4,0% (P=0,0004)	4,8% (P=0,0995)	5,6% (P=0,3679)
Oxidationsmetode	UV vs. autoklave	-0,1387 ( $\pm 0,0116$ )	-0,1859 ( $\pm 0,0166$ )		
		-13,0% (P<0,0001)	-17,0% (P<0,0001)		

Spredningen på de tilfældige effekter i modellerne beskriver, hvor stor variation der er på forskellene i tabel 2.2 mellem de enkelte vandprøver samt variationen på dobbeltbestemmelser. For eksempel er den systematiske underestimering for TN og ON henholdsvis 13% og 17% i middel, men for enkeltprøver varierer disse forskelle med  $\pm 5,7\%$  og  $\pm 8,2\%$  (tabel 2.3). Dette betyder, at underestimeringen på enkeltprøver typisk (95% konfidensniveau) ligger mellem 7,1% og 18,4% for TN, og tilsvarende mellem 8,1% og 25% for ON. Tilsvarende ses, at der er en tilfældig variation på enkeltprøver mellem laboratorier med oxidationsmetode på  $\pm 3,4\%$  for TN og  $\pm 5,3\%$  for ON. Spredningen på dobbeltbestemmelser var størst for ALS og Eurofins ( $\pm 2,4$ - $2,8\%$  for TN og  $\pm 3,1$ - $4,6\%$  for ON), hvorimod den var noget lavere for MST ( $\sim \pm 1\%$ ).

**Tabel 2.3.** Spredning for de tilfældige variationer i lig. 2.1 og 2.2 angivet som absolutte værdier for log-transformerede observationer og som relative variationer (i parentes). For TP og OP kunne den tilfældige variation i forskellen mellem oxidationsmetoder og laboratorie-specifik variation på dobbeltbestemmelser ikke estimeres.

Tilfældig effekt	Notation	TN	ON	TP	OP
Laboratorier	$\hat{\sigma}(P_i \times L_j)$	0,0331 (3,4%)	0,0517 (5,3%)	0,1317 (14,1%)	0,2701 (31,0%)
Oxidationsmetode	$\hat{\sigma}(P_i \times M_j)$	0,0555 (5,7%)	0,0790 (8,2%)		
Dobbeltbestemmelse	$\hat{\sigma}(e_{ijkl})_{ALS}$	0,0276 (2,8%)	0,0452 (4,6%)		
	$\hat{\sigma}(e_{ijkl})_{Eurofins}$	0,0234 (2,4%)	0,0306 (3,1%)	0,0534 (5,5%)	0,1400 (15,0%)
	$\hat{\sigma}(e_{ijkl})_{MST}$	0,0081 (0,8%)	0,0104 (1,0%)		

Der var, som forventet, signifikant forskel mellem vandprøver for både TP og OP (P<0.0001), hvorimod variationen mellem laboratorier (som også inkluderer skift mellem UV og autoklave) var på grænsen til at være signifikant (P = 0,0156 for TP og P = 0,0575 for OP). ALS målte de højeste TP-koncentrationer, som var 3,4% højere end Eurofins og 8,4% højere end MST (tabel 2.2). Eurofins målte også højere koncentrationer end MST (4,5 højere). Samme mønster viste sig for OP.

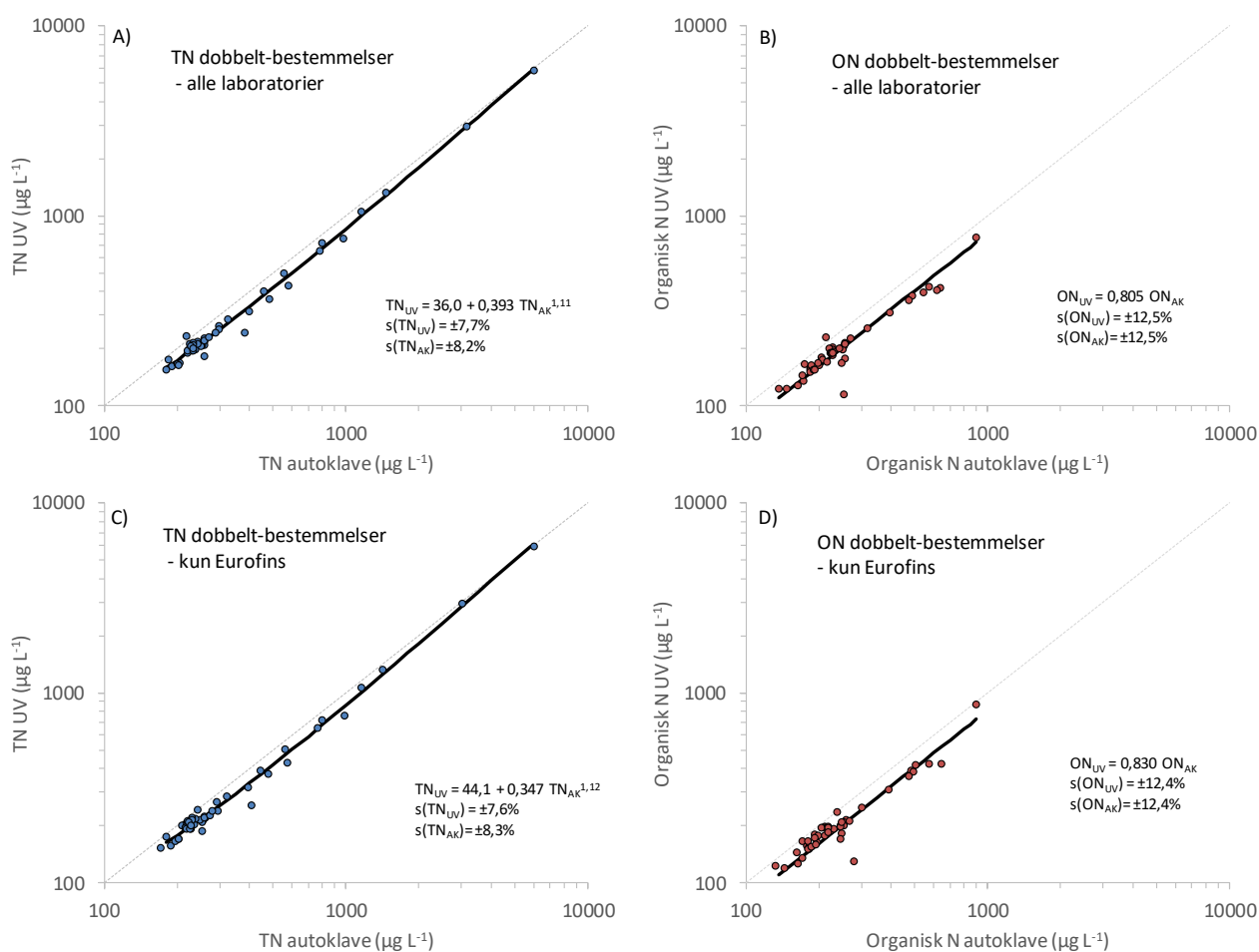
Udover de systematiske forskelle, var der også stor forskel mellem laboratorierne på enkeltprøver. Forskellen mellem laboratorier for en enkelt vandprøve varierede typisk  $\pm 14,1\%$  for TP og  $\pm 31,0\%$  for OP (tabel 2.3). Variationen på dobbeltbestemmelser var også høj for både TP og OP, henholdsvis 5,5% og 15,0%. Det er værd at bemærke, at TP-målinger er underlagt væsentlig større

variationer end TN-målinger (tabel 2.3). Det er også værd at bemærke, at de to laboratorier, som har anvendt autoklave til oxidation, måler de laveste TP-koncentrationer.

### 2.3.3 Relation mellem UV- og autoklave-oxidation

Umiddelbart var der god overensstemmelse mellem de to oxidationsmetoder for TN på tværs af de 50 parallelprøver (figur 2.2). Det skal dog bemærkes, at TN-prøverne spænder fra under 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  til næsten 6.000  $\mu\text{g L}^{-1}$ , dvs. en faktor  $>30$  i variationsbredde. Derimod varierer ON kun fra omkring 140  $\mu\text{g L}^{-1}$  til 900  $\mu\text{g L}^{-1}$ , dvs. omkring en faktor 5.

Den ikke-lineære model (lig. 2.3) kunne ikke reduceres til en mere simpel funktional formel for TN, hverken for gennemsnit over alle laboratorier eller for gennemsnit af Eurofins' målinger (figur 2.2). De estimerede relationer for TN viste et kurvet forløb på log-log skala, hvor afvigelsen var 10-12% for de laveste TN-koncentrationer, stigende til en maks. afvigelse på 16-17% omkring 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , hvorefter afvigelsen gradvist faldt mod 0% for de højeste TN-værdier. De høje TN-målinger indeholder en stor andel af uorganisk kvælstof, og derfor bliver den relative afvigelse mindre. Dette understreger, at forskellen i målt TN mellem de to metoder afhænger af mængden af uorganisk kvælstof, som varierer meget henover året, mellem områder og i dybden. For at reducere denne følsomhed er det derfor mere relevant at se på ON.

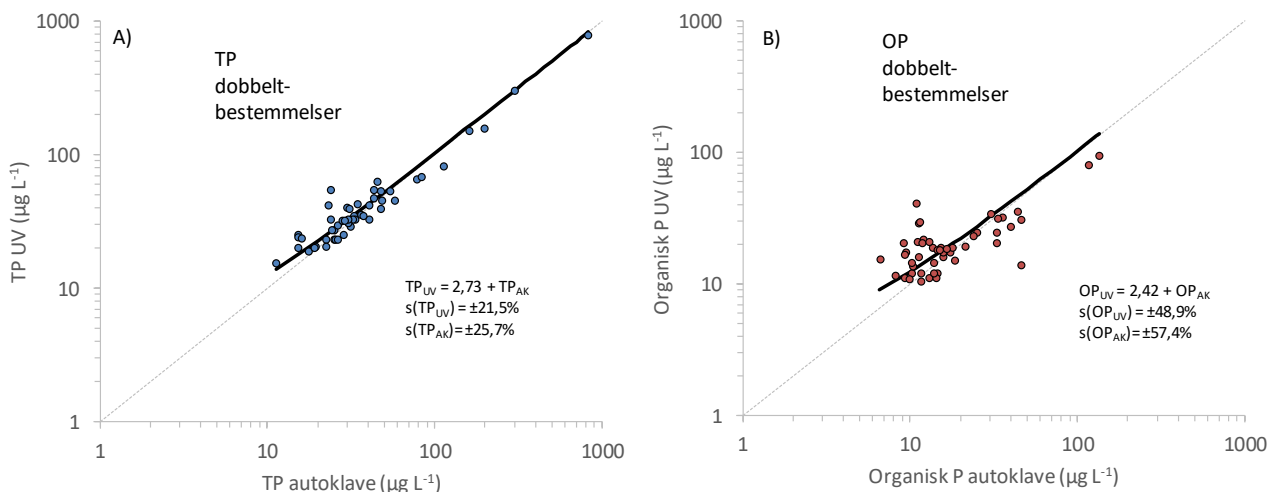


**Figur 2.2.** Relationer for TN- og ON-koncentrationer bestemt med henholdsvis autoklave- og UV-oxidation. Relationen er baseret på gennemsnit over alle laboratorier (A og C) og gennemsnit over Eurofins (B og D). De estimerede relationer og spredningen omkring relationen for begge variable er angivet i graferne. Den stiplede linje angiver 1:1 relationen mellem UV- og autoklavemetoden.

For ON var skæringspunktet (*a*) og potensen (*c*) i den ikke-lineære model (lig. 2.3) ikke signifikant forskellig fra henholdsvis 0 og 1, hvilket betyder, at modellen kunne reduceres til en proportional relation mellem de to oxidationsmetoder (figur 2.2). Dette var tilfældet for gennemsnit over alle laboratorier såvel som gennemsnit over kun Eurofins' målinger. ON-målinger med UV-oxidation var 19,5% lavere end målinger med autoklave-oxidation, når de to metoder sammenlignes ved gennemsnit over alle laboratorier (figur 2.2B). Derimod var forskellen kun 17,0%, hvis udelukkende Eurofins' målinger blev brugt (figur 2.2D). Denne forskel mellem disse to relationer for ON skyldes, at MST, som anvendte autoklave-oxidation, målte højere TN og ON end de to andre laboratorier, når der var taget højde for en systematisk effekt af oxidationsmetode (tabel 2.2). Da relationen mellem de to metoder (lig. 2.3) er baseret på gennemsnit, vil relationen for alle laboratorier (figur 2.2B) også indeholde en laboratorie-specifik effekt, og derfor er estimatet på 17% lavere ON-målinger med UV-oxidation mest korrekt.

Variationen for enkeltprøver omkring relationen for ON var  $\pm 12,4\%$  (figur 2.2D) for begge oxidationsmetoder. En enkelt observation afveg væsentlig fra den generelle tendens (prøve 43 på station VEJ0006870 og dybden 19,4 m). I denne bundprøve blev der målt forholdsvis høje koncentrationer af både ammonium og nitrat, hvilket resulterede i lave ON-koncentrationer for begge oxidationsmetoder. Det skal dog bemærkes, at der også var stor forskel på målingerne af TN i denne prøve, og at den ene af Eurofins' dobbeltbestemmelser var meget større end den anden og også meget større end MST's målinger. Udelades denne observation fra analysen finder vi, at ON målt efter UV-oxidation var 16,0% lavere end målinger med autoklave-oxidation. Endvidere blev variationen for enkeltprøver omkring relationen for ON reduceret til  $\pm 8,7\%$ . Denne variation for ON er lidt større end den tilsvarende variation for TN (figur 2.2A og C). Den aktuelle variation mellem UV- og autoklavemetoden for TN vil afhænge af DIN-koncentrationen. Eksempelvis vil variationen blive  $\pm 4,4\%$  på en prøve, hvor DIN udgør 50% af TN.

Der var umiddelbart større forskel imellem de to oxidationsmetoder for TP og OP (figur 2.3). De 50 parallelprøver varierede fra 10 til 1.000  $\mu\text{g L}^{-1}$  for TP, dvs. en faktor 100, hvorimod OP ikke var højere end omkring 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  svarende til en faktor 10 i variationsbredde. Der blev generelt målt højere TP-koncentrationer ved UV-oxidation for de lave værdier og højere TP-koncentrationer ved autoklave-oxidation for de høje TP-koncentrationer.



**Figur 2.3.** Relationer for TP- og OP-koncentrationer bestemt med henholdsvis autoklave- og UV-oxidation. De estimerede relationer og spredningen omkring relationen for begge variable er angivet i graferne. Det skal bemærkes, at målinger med henholdsvis UV og autoklave er udført af forskellige laboratorier.

For både TP og OP kunne den ikke-lineære relation (lig. 2.3) reduceres til, at de to metoder måler ens, dog med en nulpunktsforskydning på  $2,73 \mu\text{g L}^{-1}$  og  $2,42 \mu\text{g L}^{-1}$  for henholdsvis TP og OP (figur 2.3). Dette medfører, at fosforkoncentrationer målt med UV-oxidation var  $\sim 2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  højere over hele variationsområdet. Vurderet ud fra disse relationer, vil de to metoder måle ens ved høje TP-koncentrationer. Sammenhængen mellem de to metoder er dog overraskende, idet vi ville forvente en generel lavere oxidation med UV-metoden end med autoklave, og vi ville ikke forvente at UV-oxidation kunne give højere TP-koncentrationer end autoklave-oxidation medmindre, at TP-målingerne med autoklave-oxidation er systematisk for lave. Det er muligt, at denne nulpunktsforskydning skyldes forskelle mellem laboratorier, idet vi ikke kan adskille effekten af oxidationsmetode fra laboratorie-specifikke forhold. Endvidere er der udfordringer med håndtering af klorgas ved måling af TP efter autoklave-oxidation (afsnit 4), og en manglende håndtering af denne udfordring vil generelt give for lave TP-koncentrationer, specielt for prøver med høj salinitet. Dette vil blive diskuteret senere.

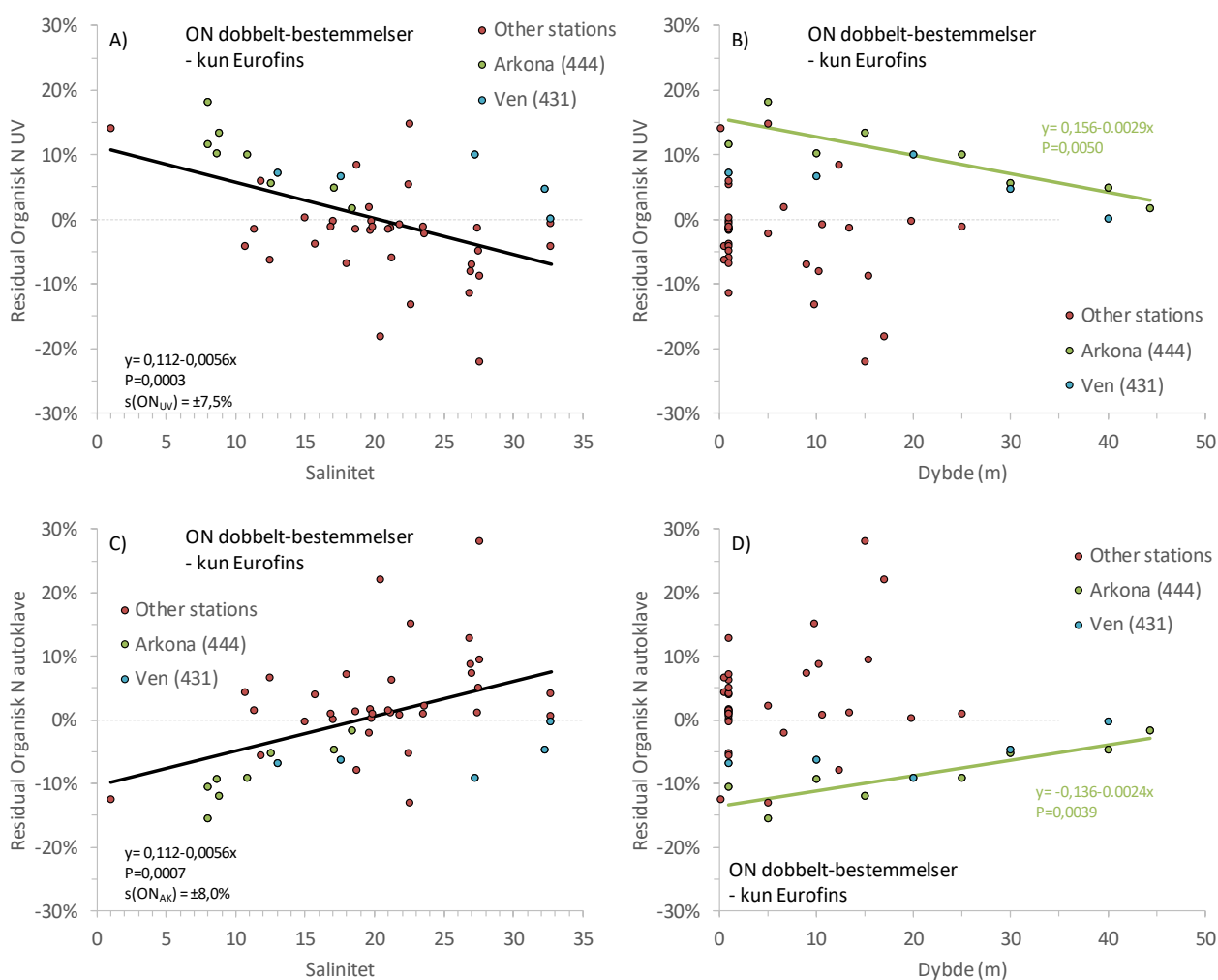
Variationen omkring de estimerede relationer er stor, hvilket betyder en forholdsvis ringe overensstemmelse mellem de to metoder på enkeltprøver. For TP er variationen på enkeltprøver omkring  $\pm 25\%$  og for OP er den tilfældige variation mellem enkeltprøver omkring  $\pm 50\%$ . Den store variation mellem de to oxidationsmetoder på enkeltprøver medfører, at de estimerede relationer ikke er bestemt med stor sikkerhed, hvilket betyder, at en omregning fra UV-oxidationsmetode til autoklave-oxidationsmetode vil give stor usikkerhed, både på enkeltmålinger (pga. den store variation på enkeltprøver) og på større datasæt (pga. usikkerheden i relationen).

### 2.3.4 Påvirkning fra andre faktorer

For at vurdere om de etablerede relationer mellem UV- og autoklave-oxidation er generelle, har vi undersøgt 1) residualerne fra regressionsanalysen af ON fra Eurofins (figur 2.2D) med udeladelse af den ene afvigende observation (station VEJ0006870 på dybden 19,4 m) og 2) residualerne fra analysen af OP (figur 2.3B). Residualerne er undersøgt i relation til dybde, salinitet og klorofylkoncentration, som er målt i prøver indsamlet samtidig med parallelprøverne. En potentiel relation til dybde er undersøgt for de to stationer, hvor der

blev taget flere (>2) vandprøver på forskellige dybder (station 431 i Øresund og station 444 i Arkonahavet).

Residualerne fra regressionsanalysen af ON (figur 2.2D) viste ingen klar sammenhæng med klorofyl (data ikke vist), men derimod var der en tydelig systematisk effekt af salinitet foruden en dybdeafhængighed på station 444 i Arkonahavet (figur 2.4). Disse residualrelationer indikerer tydeligt, at forskellen mellem de to oxidationsmetoder ikke er en konstant faktor, men at den afhænger af andre faktorer. Salt forventes ikke at have en direkte indflydelse på forskellen mellem de to metoder ved analyser af N, men salt er en indikator for den vandmasse, hvorfra prøven er udtaget. På samme måde er dybde en indikator for forskellige vandmasser i de åbne indre danske farvande, foruden at produktionen af organisk materiale varierer med dybden. Forskellen i typen af ON i de forskellige vandmasser kan derfor være en forklaring på forskellen i residualerne mellem de to metoder for station 444 (figur 2.4 B,D).



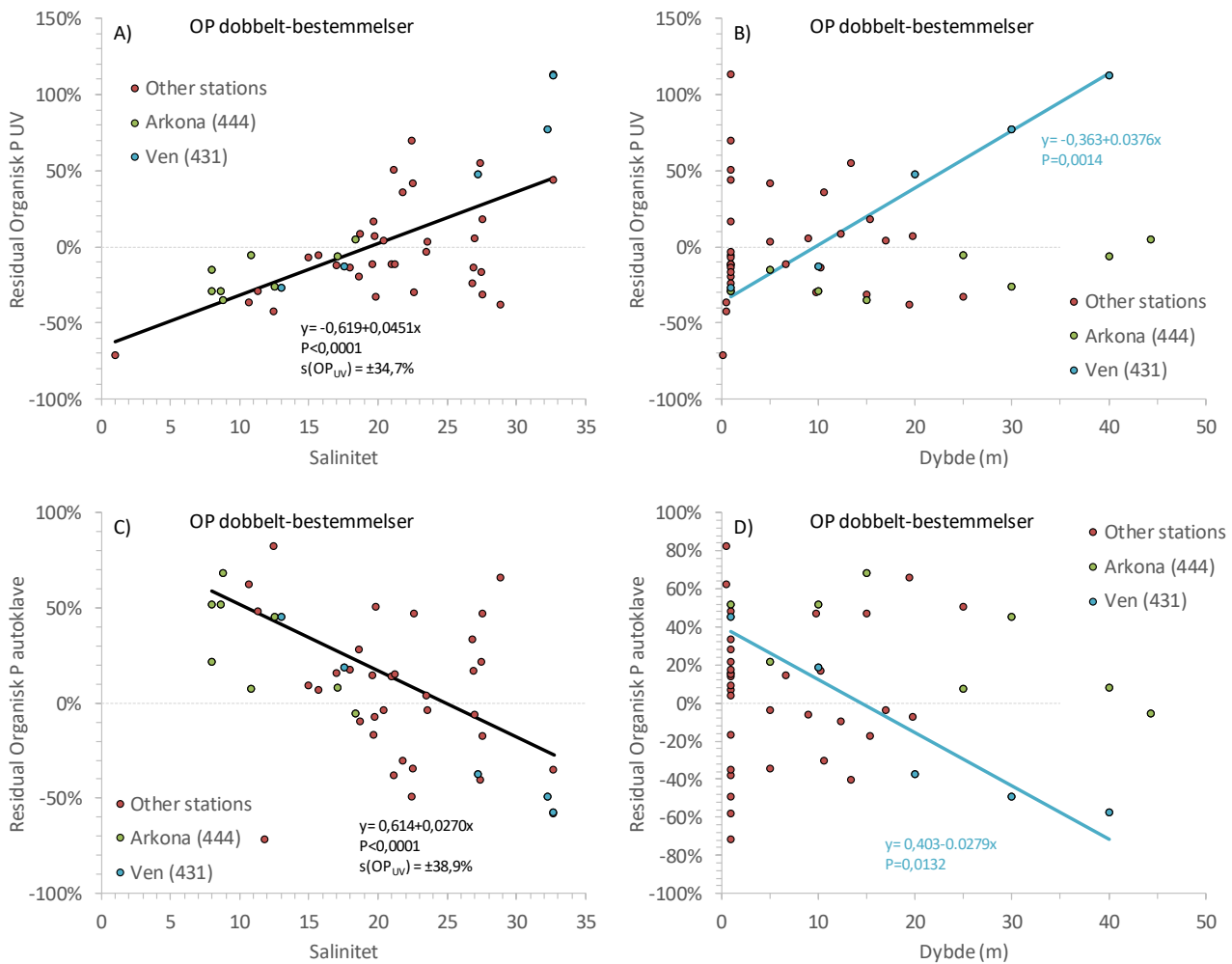
**Figur 2.4.** Residualer fra relationen mellem ON med UV- og autoklave-oxidation (fig. 2.2D) mod salinitet og dybde. A-B) residualer for ON med UV-oxidation og C-D) residualer for ON med autoklave-oxidation. To stationer med dybdeprofiler er fremhævet. Regressionerne i A) og C) er baseret på alle data, og regressionerne i B) og D) er kun for station 444 i Arkonahavet. Bemærk at residualerne fra de to oxidationsmetoder er næsten ens med modsat fortegn.

Analysen af ON-residualerne mod salinitet viser, at proportionaliteten mellem de to oxidationsmetoder typisk varierer fra -7% for prøverne med høj salinitet til +7% for prøver med en salinitet omkring 8-10. Afvigelsen kan til og



med være op til 10% for prøver med salinitet tæt på 0, men dette er mere usikkert, da der kun er en enkelt vandprøve med så lav salinitet. Dybdeprofilen på station 431 i Øresund indikerede en systematisk forskel på op til 12% mellem overflade- og bundvand. Salinitet er en indikator for vandmassens ophav og alder og dermed også en indikator for omsætteligheden af det organiske stof i prøven. Salinitet kan dog ikke entydigt benyttes til at identificere en vandmasses ophav for alle danske vandområder, da der ud over en gennemgående salinitetsgradient fra udvekslingen af vand fra Østersøen med vand fra Nordsøen findes en masse lokale gradienter, hvor ferskvand med en anden ON-signatur udveksles med en vandmasse for de åbne farvande. Derudover kan dybden have betydning for både produktionen af "frisk" organisk stof og UV-nedbrydning af organisk stof. Vores analyser af residualerne indikerer, at UV-oxidation i middel giver 16% lavere ON-koncentrationer, men at denne faktor kan variere systematisk fra omkring 9% til 23% over salinitet fra 8-10 op til 32. Derudover vil der på enkeltprøver være en tilfældig variationer på  $\pm 7-8\%$ .

Residualerne fra regressionsanalysen af OP (*figur 2.3B*) viste ingen klar sammenhæng med klorofyl (data ikke vist), men derimod var der en tydelig systematisk effekt af salinitet foruden en dybdeafhængighed på station 431 i Øresund (*figur 2.5*). Derimod var der ikke nogen dybdeafhængighed på station 444 i Arkonahavet, hvor salinitetsforskellen over dybden er mindre. Sammenlignet med residualerne for ON, så er residualerne for OP 5-10 gange større. Hvis forskellen mellem de to metoder hovedsageligt skyldes manglende oxidation af organisk materiale, så kunne vi forvente sammenlignelige relationer mellem de to metoder og afvigelse i samme størrelsesorden. Endvidere er relationerne til salinitet modsatrettede for ON og OP. For ON måles der relativt mindre med UV-oxidation for stigende salinitet (negativ hældning i *figur 2.4A*), hvorimod der måles relativt mere med UV-oxidation for OP med stigende salinitet (positiv hældning i *figur 2.5A*). Der er derfor tale om forskellige mekanismer, som styrer forskellen mellem UV- og autoklave-oxidation, i relation til salinitet.



**Figur 2.5.** Residualer fra relationen mellem OP med UV- og autoklave-oxidation (fig. 2.3B) mod salinitet og dybde. A-B) residualer for OP med UV-oxidation og C-D) residualer for OP med autoklave-oxidation. To stationer med dybdeprofiler er fremhævet. Regressionerne i A) og C) er baseret på alle data og regressionerne i B) og D) er kun for station 431 i Øresund.

Selvom de to oxidationsmetoder er anvendt på forskellige laboratorier, og en eventuel forskel imellem koncentrationer målt med de to metoder derfor kunne skyldes forskel mellem laboratorier, så er det usandsynligt, at en laboratorieforskel skulle være afhængig af salinitet. Udviklingen af klorgas under autoklavering vil dog forventes at være højere pga. det højere indhold af klorid i prøver med høj salinitet (normalt tiltagende med dybden). Den særprægede relation mellem de to oxidationsmetoder (figur 2.3), hvor der for lave OP-koncentrationer måles højere værdier ved UV-oxidation, kunne indikere, at der kan være problemer med autoklave-oxidationsmetoder for TP, specielt for høje saliniteter (figur 2.5A). Forskellen mellem de to metoder varierer fra -30% til 60% i salinitetsintervallet fra 8 til 32.

### 3 Analyse af dansk, svenske og tyske data for Kattegat og Bælthavet

For at undersøge eventuelle systematiske afvigelser mellem de forskellige metoder for oxidation af TN- og TP-prøver på et større datasæt, er målinger fra det danske overvågningsprogram sammenlignet med tilsvarende analyser foretaget af svenske og tyske institutioner.

Der er ikke foretaget nogen sammenligning med norske data fra IMR, da der er meget begrænset overlap mellem overvågningsstationer i Skagerrak. Siden introduktionen af UV-oxidation af TN-/TP-prøver i Danmark (omkring 2010) er der indsamlet et fåtal af prøver af Miljøstyrelsen i den centrale del af Skagerrak. Tilsvarende har IMR kun indsamlet et fåtal af prøver på de to kyststationer ved Hirtshals, som er overvåget regelmæssigt siden 2010 (NOR7715 og NOR7725). Derfor er datagrundlaget ikke stort nok til at foretage en sammenligning af niveauerne for TN og TP i danske og norske prøver. Dette skyldes, at der ikke er tale om parallelprøver, og der er derfor behov for et stort antal prøver på de samme stationer for at kunne bestemme middelniveauerne.

#### 3.1 Datagrundlag

Danmark, Sverige og Tyskland har i regi af HELCOM en række overvågningsstationer, som dækkes af landene i fællesskab. Analysen er derfor begrænset til 27 stationer i de åbne indre farvande såvel som Arkona og Bornholm bassinerne, hvor der findes data fra mindst to lande.

Danske vandkemidata er udtrukket fra ODA. Stationerne i de åbne farvande blev hovedsageligt overvåget af Danmarks Miljøundersøgelser (DMU) frem til februar 2010, hvorefter Miljøstyrelsen overtog denne del af overvågningen. DMU har anvendt autoklave til oxidation af TN-/TP-prøver igennem hele perioden. DMU havde dog erkendte problemer med TN-analysen før 1998, hvorfor der ikke er TN-data fra før 1998.

Derudover er der også indsamlet prøver af amter/regionale miljøcentre før 2010 på stationerne ved Læsø Rende (403), Ålborg Bugt (409), Gniben (925), Storebælt (939/6700053), Ven (431), Drogden (1728) og Bornholmsdybet (BMoPK2). Disse data er indsamlet af forskellige institutioner og analyseret af forskellige laboratorier. Antallet af laboratorier, som har analyseret TN-/TP-prøver, er faldet fra omkring 5 (vides ikke med sikkerhed, da det ikke altid er indrapporteret konsekvent i de tidligere år) til 1 laboratorium efter 2010. Frem til og med 2006 anvendtes udelukkende autoklavmetoden.

Fra 2007 indføres en ny autoklavemetode (DS/EN ISO 11905-1) af Eurofins i stedet for den gamle autoklavemetode (DS 221). Alle data frem til og med 2015 er angivet som udført med DS/EN ISO 11905-1. Imidlertid har Eurofins oplyst til Miljøstyrelsen, at alle data fra og med 2010 er analyseret med UV-metoden (DS/ISO 29441). Muligvis er UV-metoden indført gradvist i perioden 2007 til 2010. UV-metode (DS/ISO 29441) er først registreret i ODA fra 2016, da ALS-laboratoriet overtager analyserne i 2016. For at vurdere en eventuel afvigelse af prøver analyseret med DS/EN ISO 11905-1 fra før 2010, har vi markeret disse observationer i de efterfølgende analyser med ukendt oxidation.

Alle danske TP-prøver frem til og med 2015 blev oxideret med autoklave-metoden, dvs. også prøver analyseret af Eurofins. Derimod anvender ALS-laboratoriet UV-oxidation fra 2016 og frem til marts 2017, hvor de af Miljøstyrelsen bliver gjort opmærksom på, at UV-oxidation for TP-prøver ikke er godkendt.

DCE modtager hvert år vandkemidata fra SMHI for stationer i de indre åbne farvande, som benyttes i forbindelse med den årlige rapportering. Vi har i forbindelse med nærværende analyse fået oplyst, at SMHI overgik fra manuel analyse af TN/TP til en segmenteret flowanalyse (Alpkem RFA/2) i 1991, som blev udskiftet med en ny metode for analyse (Alpkem Flow Solution IV) i 2005. I alle tilfælde er der tale om autoklavemetoder. Effekten af det første metodeskift kendes ikke, men SMHI har vurderet, at det andet metodeskifte medførte højere TP-koncentrationer (en forøgelse på ca.  $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), hvorimod der ingen effekt var for TN. Endelig indførte SMHI i løbet af 2004 en ændring i deres måling af TP, idet prøverne skulle henstå i mindst en uge efter oxidation for at reducere effekten af klorgas på måling af fosfat.

Tyske data er downloadet fra ICES. Da der er flere tyske institutioner involveret i prøvetagning og analyser, som benytter forskellige metoder, er det tyske datasæt begrænset til data fra IOW, som foretager de fleste målinger i åbne farvande i Østersøen. IOW har i de senere år anvendt mikrobølger (MarsXpress) til oxidation af deres TN-/TP-prøver, men tidligere har de anvendt autoklave og andre metoder til oxidation. Det har ikke været muligt, at få klarlagt hvornår hvilken oxidationsmetode har været anvendt, men vi antager, at mikrobølger er anvendt siden 2009, hvor der findes mere konsistente målinger af TN/TP. IOW anfører, at de havde problemer med autoklavering og kogning af prøver, før de skiftede til mikrobølger.

### 3.2 Statistisk analyse

Da der er en permanent lagdeling af vandsøjlen i det undersøgte område med et springlag omkring 15 m i Kattgat, Øresund og Bælthavet, et springlag omkring 35 m i Arkona bassinet og omkring 60 m i Bornholm bassinet, så er data undersøgt ved en stratificeret analyse af overfladevand (0-10 m) og bundvand ( $\geq 20$  m i Kattgat, Øresund og Bælthavet,  $\geq 40$  m i Arkona bassinet og  $\geq 70$  m i Bornholm bassinet).

Vi har undersøgt følgende 6 variable, som alle kan tilnærmes med en lognormal fordeling:

1. DIN (summen af ammonium, nitrit og nitrat)
2. DIP (fosfat)
3. TN (total kvælstof)
4. TP (total fosfor)
5. organisk N (TN-DIN)
6. organisk P (TP-DIP)

Formålet med analysen er at beskrive 1) ændringer over tid i de åbne farvande baseret på målinger fra forskellige lande og 2) forskelle mellem anvendte me-

toder til analyse/oxidation af TN/TP. Det skal bemærkes, at fosforkoncentrationer ikke er analyseret for bundvand, da iltvind ofte forekommer i de indre farvande, hvilket giver store variationer i målingerne af DIP og TP og dermed påvirker den beregnede koncentration af OP.

### 3.2.1 Analyse af ændringer over tid

I denne analyse vil vi bestemme tidstrenden for de analyserede variable for prøver indsamlet af SMHI, IOW, DMU og Miljøstyrelsen (inkluderer alle amter/miljøcentre, som har foretaget prøvetagninger i de åbne farvande). Det antages, at den tidslige variation er ens over alle disse stationer, om end med forskelle i niveau, idet tidslige variationer i næringsstofkoncentrationerne hovedsageligt er styret af overordnede regionale effekter såsom udveksling af vandmasser mellem Østersøen og Nordsøen og afstrømning fra land. Derfor er variationer i de 6 variable beskrevet ved følgende model:

$$\log(Y) = \mu + station_i + year_j \times month_k + year_j \times institution_l + sali + e \quad \text{Lig. 3.1}$$

hvor  $station_i$  beskriver forskelle i koncentrationer mellem station,  $year_j \times month_k$  beskriver det overordnede tidslige forløb, hvor hver enkelt måned i hvert enkelt år har sin egen middelværdi,  $year_j \times institution_l$  beskriver specifikke forskelle i koncentrationerne mellem institutioner i de enkelte år,  $sali$  korrigerer for salinitetsvariationer i de enkelte prøver under antagelse af, at der er en lineær opblandingsrelation mellem Østersø- og Nordsøvand, og  $e$  er residualvariationen. Denne model beskriver de overordnede rumlige og tidslige variationer foruden en år til år effekt af, hvilken institution der har foretaget målingen. Udvikling over tid i de forskellige næringsstofvariable, når der tages højde for alle andre variationer, kan bestemmes for de fire institutioner ud fra en kombination af  $year_j \times month_k$  og  $year_j \times institution_l$ .

### 3.2.2 Analyse af forskelle mellem oxidationsmetoder

I denne analyse vil vi undersøge systematiske forskelle imellem metoder anvendt til oxidation (autoklave, mikrobølge, UV og ukendt). Metoden "ukendt" dækker over perioden 2007-2009, hvor metodekoden DS/EN ISO 11905-1, som beskrevet ovenfor, er anvendt ved dataindberetning fra flere laboratorier for Miljøstyrelsen uden at det med sikkerhed vides, hvilken oxidation der er brugt. Som i forrige analyse antages den tidslige variation at være ens for alle stationer, om end disse kan have forskellige niveauer. Derfor er variationer i de 6 variable beskrevet ved følgende model:

$$\log(Y) = \mu + station_i + year_j \times month_k + institution_l + metode_m(institution_l) + sali + RANDOM + e \quad \text{Lig. 3.2}$$

hvor  $institution_l$  beskriver den systematiske variation mellem de fire institutioner, og  $metode_m(institution_l)$  beskriver forskellen mellem oxidationsmetoder anvendt af de forskellige institutioner. Dette betyder, at  $metode_m(institution_l)$  beskriver den ændring, som forskellige oxidationsmetoder har for MST-målinger og som metodeskift i 2005 har for SMHI-målinger, når det antages, at disse to effekter ikke ændrer sig mellem stationer og over tid. Sagt på en anden måde, så beskriver  $metode_m(institution_l)$  relative ændringer ved metodeskift for oxidation af MST-prøverne, vurderet i forhold til den generelle tidslige udvikling og den generelle rumlige variation beskrevet ud fra data fra de andre institutioner.

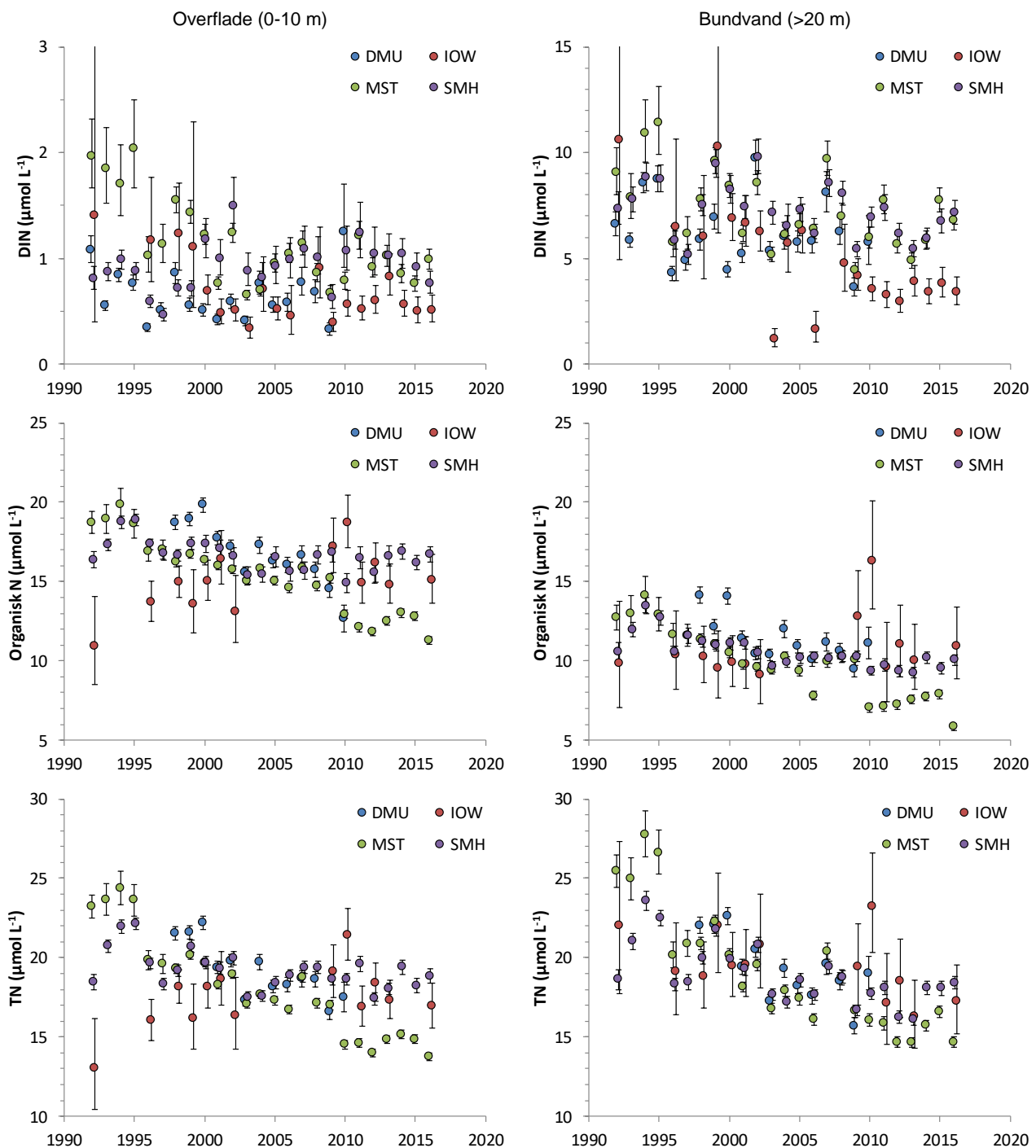
De andre systematiske faktorer i *lig. 3.2* er beskrevet i *afsnit 3.2.1*. Udover residualvariationen indgår der 4 tilfældige effekter, som er interaktioner mellem de systematiske faktorer (ikke beskrevet i detaljer her). Denne opsplitning i flere tilfældige effekter er nødvendig for en så korrekt beskrivelse af variansstrukturen i data og dermed korrekte teststørrelser for test af de systematiske faktorer i *lig. 3.2*.

### **3.3 Resultater og diskussion**

Generelt skal det bemærkes, at der er væsentlig færre målinger fra IOW end fra andre institutioner på de undersøgte stationer, da de kun overvåger de sydligste stationer. Dette medfører, at der er væsentlig større usikkerhed på middelværdierne, der repræsenterer institutionen IOW og mikrobølge som oxidationsmetode. Endvidere vil forskellige detektionsgrænser for de uorganiske næringsstoffer påvirke middelniveauerne for DIN.

#### **3.3.1 Forskelle over tid mellem institutioner**

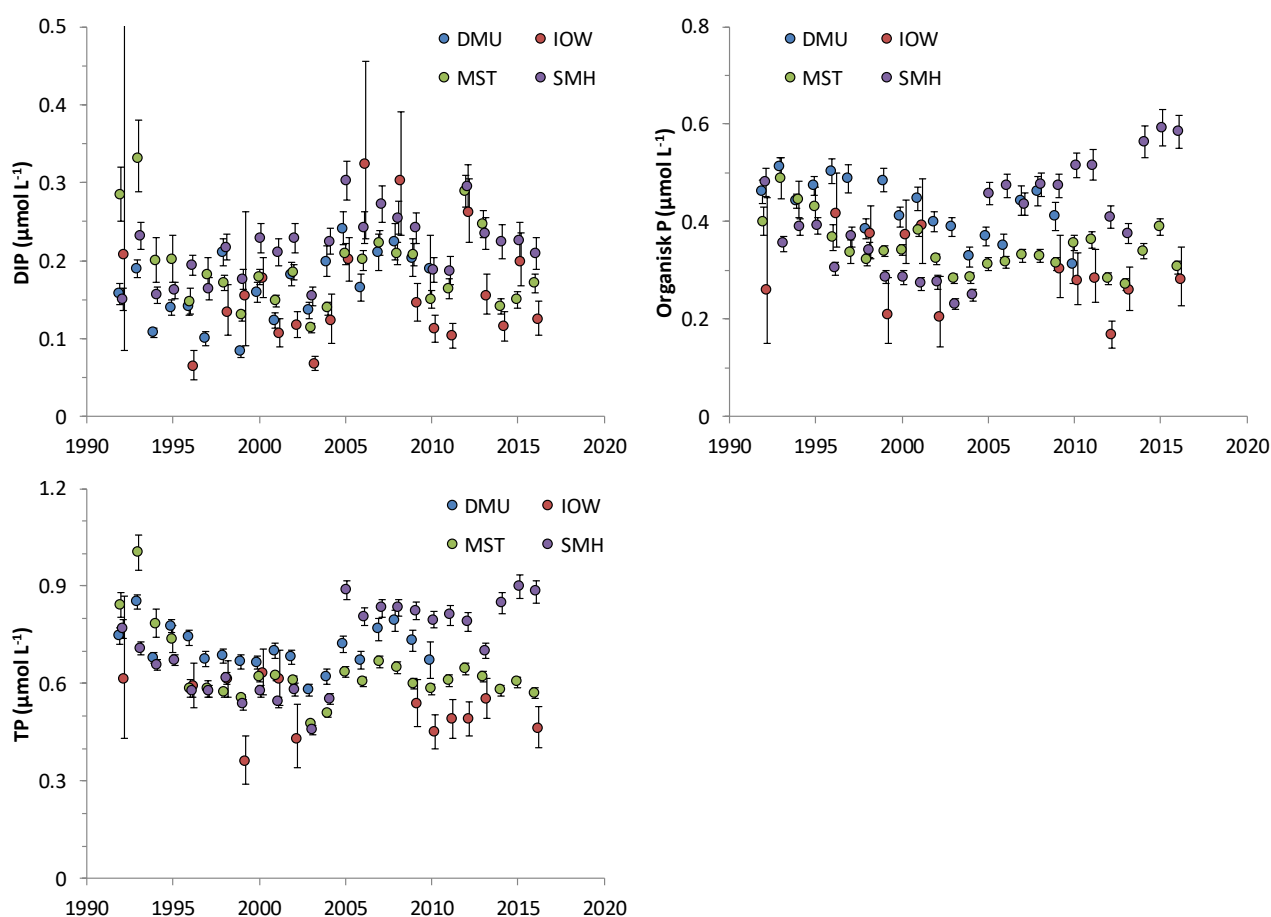
DIN årsmidler for overfladeprøver målt af Miljøstyrelsen var generelt højere end for de andre institutioner frem til omkring 2000, hvorefter MST-målinger var på niveau med SMHI (*figur 3.1*). Tilsvarende højere DIN-koncentrationer kunne ikke ses i bundvandet, hvor der næsten altid er målbare DIN-niveauer. De høje DIN-koncentrationer i overfladeprøverne målt af Miljøstyrelsen tilskrives derfor de relativt høje detektionsgrænser, som var gældende for mange målinger foretaget af Miljøstyrelsen (amterne) i 1990'erne. DIN-koncentrationen for IOW-målinger var lav fra 2010 til 2016 for både overfladevand og bundvand. Årsagen hertil er ikke kendt.



**Figur 3.1.** Udvikling over tid for uorganisk kvælstof (DIN), organisk kvælstof og total kvælstof (TN) i overfladevand og bundvand vurderet ud fra målinger foretaget af fire institutioner (DMU, IOW, MST og SMHI). Error bars angiver 95% konfidensgrænser for middelværdierne. Bemærk forskel i akseinddeling for DIN.

IOW målte generelt lave koncentrationer af TN og ON før ca. 2000, hvilket formentlig hænger sammen med, at der er anvendt ikke-optimale metoder til oxidation af prøverne. MST havde derimod højere koncentrationer af TN og ON frem til 1995, hvorefter målinger fra MST, DMU og SMHI afspejlede de samme overordnede tendenser frem til 2010. Siden 2010 har målinger foretaget af MST (Eurofins går over til UV-metode) været markant lavere end målinger foretaget af IOW og SMHI for både TN og ON. Største afvigelse var i 2016, hvor laboratoriet ALS analyserede prøverne for MST. Sammenholdt med IOW og SMHI var middelniveauet for ON og TN i MST-prøver (2010-2015) henholdsvis 22,2% og 20,9% lavere for overfladevand og 30,3% og 13,8% lavere for bundvand. I 2016 var MST's målinger af ON og TN henholdsvis

28,9% og 23,1% lavere i overfladevandet og 44,4% og 17,7% lavere i bundvandet. Den relative forskel mellem MST-prøver og IOW-/SMHI-prøver var noget større for ON end TN, da en del af TN udgøres af DIN, som ikke påvirkes af oxidationsmetoden (se også afsnit 1 og 2.3). Samtidig var den relative forskel større for ON i bundvand end i overfladevand (30,3% mod 22,2% for 2010-2015 og 44,4% mod 28,9% i 2016). Derimod var den absolutte forskel i ON mellem MST og IOW/SMHI af samme størrelsesorden for 2010-2015 (3,59  $\mu\text{mol L}^{-1}$  i overfladevand mod 3,23  $\mu\text{mol L}^{-1}$  i bundvand) og tilsvarende for 2016 (4,60  $\mu\text{mol L}^{-1}$  i overfladevand mod 4,65  $\mu\text{mol L}^{-1}$  i bundvand). Dette betyder, at forskellen mellem MST og IOW/SMHI næsten er konstant, og derved at en relativt større del af ON i overfladen er lettere nedbrydeligt. De højere niveauer af ON i overfladevandet skyldes planktonalgeproduktionen, og det må forventes, at dette "frisk producerede" ON i større grad kan oxideres med både UV og autoklave. Baseret på et forventet sammenfald i den tidlige udvikling mellem forskellige institutioner, vurderes det, at ON i MST-prøver er ca. 3,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$  lavere end IOW/SMHI for 2010-2015 og ca. 4,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$  lavere i 2016.



**Figur 3.2.** Udvikling over tid for uorganisk fosfor (DIP), organisk fosfor og total fosfor (TP) i overfladevand vurderet ud fra målinger foretaget af fire institutioner (DMU, IOW, MST og SMHI). Error bars angiver 95% konfidensgrænser for middelværdierne.

DIP-niveauerne for de forskellige institutioner viste den samme overordnede udvikling over tid (figur 3.2). Derimod var den tidlige udvikling for OP og TP forskellig alt efter hvilke institutionsdata, der benyttes. SMHI's metodeændring i 2005 gav en kraftig øgning af årsmidlerne for både OP og TP. Fra 1992 til 2004 sås et tydeligt fald i TP-koncentrationerne for alle fire institutioner, hvor de højeste niveauer blev målt af DMU - SMHI målte ca. 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  lavere, og MST lå midt imellem. Siden 2005 har der ikke været nogen generel



trend i OP og TP, men niveauerne er forskellige. I perioden 2005-2009 var middelniveauet for MST henholdsvis 0,32  $\mu\text{mol L}^{-1}$  og 0,63  $\mu\text{mol L}^{-1}$  for OP og TP, hvilket var højere end IOW (0,30  $\mu\text{mol L}^{-1}$  og 0,54  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) og lavere end SMHI (0,46  $\mu\text{mol L}^{-1}$  og 0,84  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Disse niveauer ændrede sig kun ganske lidt til perioden 2010-2015, og der var ingen større forskydninger mellem MST og de to andre institutioner. Derimod faldt niveauet for OP og TP i 2016 for MST's målinger (0,31 og 0,57  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) i forhold til de tidligere år, hvorimod data fra de to andre institutioner viste en stigning i 2016 i forhold til tidligere. I forhold til SMHI-målinger, så var OP og TP i MST-målinger 33% og 25% lavere i 2010-2015, men i 2016 steg forskellen til 48% og 35%. Det indikerer, at der opnås lavere OP og TP ved UV-oxidation, som den er udført af ALS laboratoriet. Ydermere er de store systematiske forskelle i TP-niveauer mellem institutioner bemærkelsesværdige og bør undersøges nærmere, men en sådan analyse ligger uden for dette notats formål.

### 3.3.2 Forskelle mellem oxidationsmetoder

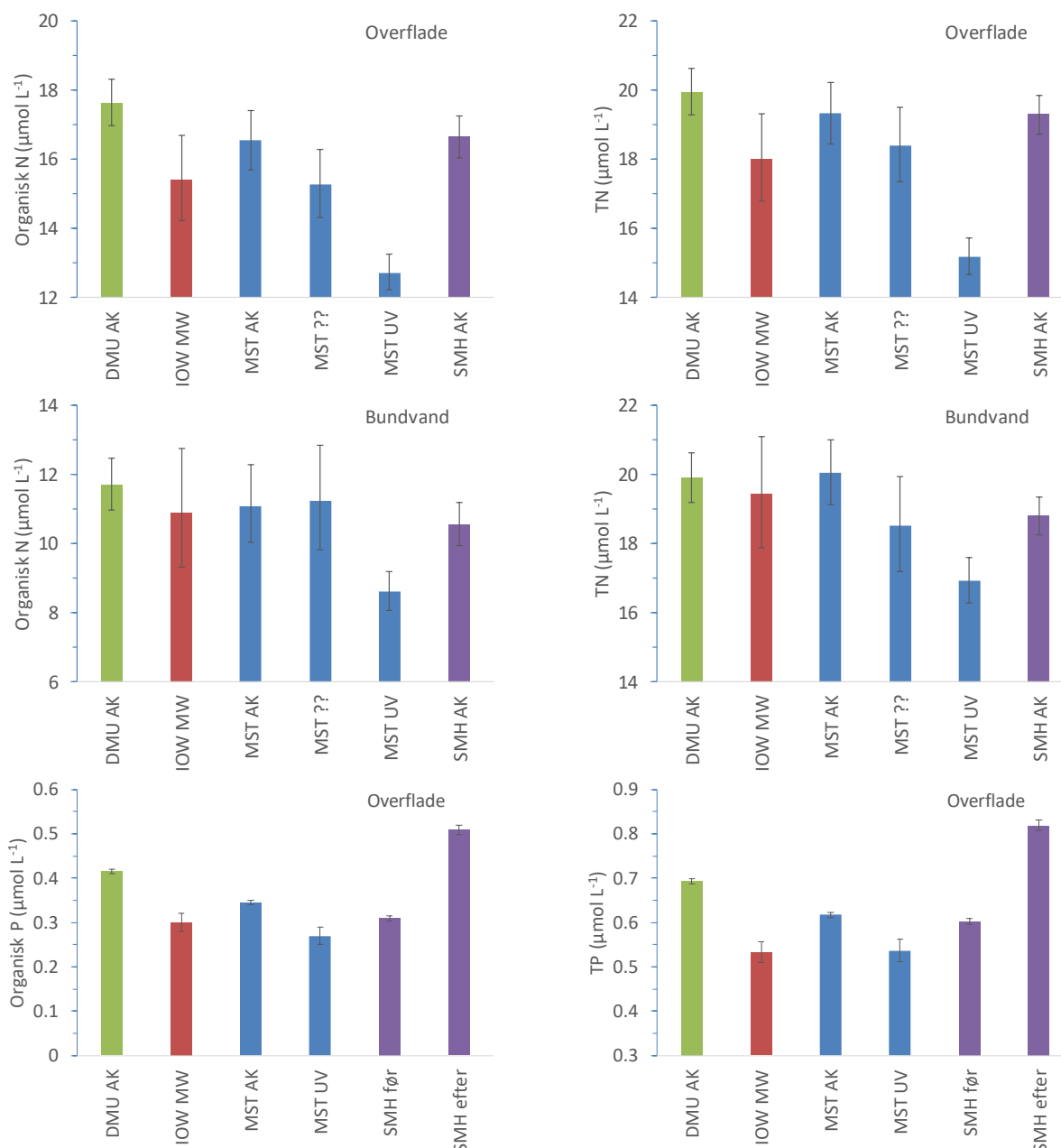
Der var signifikante variationer mellem stationer for alle undersøgte variable med undtagelse af ON i både overflade- og bundvand (tabel 3.1). Alle variable viste også en stærk signifikant sammenhæng med salinitet i prøven. Tilsvarende var de tidlige variationer signifikante for alle undersøgte variable med undtagelse ON i bundvandet, og ON i overfladen var på grænsen til at være signifikant. Dette indikerer, at koncentrationen af ON i de indre åbne farvande er forholdsvis konstant over tid. Der var systematiske forskelle mellem de fire institutioners målinger af kvælstof- og fosforkoncentrationer med undtagelse af ON og TN i bundvandet. Endelig viste analysen, at der var forskel mellem oxidationsmetoder for både TN og TP i MST-prøver, såvel som der var signifikant effekt af SMHI's metodeskift i 2005. Tilsvarende resultater gjorde sig gældende for de organiske fraktioner. Derimod udviste ingen af de uorganiske koncentrationer, som forventet, en effekt af oxidationsmetode eller SMHI's metodeskift, hvilket tyder på, at det er selve oxidationsmetoden, og ikke bestemmelsen af fosfat efterfølgende, der gav anledning til ændringen.

**Tabel 3.1.** Statistisk test af systematiske effekter i lig. 3.2, afsnit 3.2.2. er angivet ved P-værdi for forskellige kvælstof- og fosforfraktioner i overfladevand og bundvand. Signifikante effekter ( $P < 0,05$ ) er markeret med grå toning.

		<i>station</i>	<i>year × month</i>	<i>institution</i>	<i>metode(inst)</i>	<i>sali</i>
Overflade	DIN	0,0017	<0,0001	0,0006	0,6563	<0,0001
	ON	0,1808	0,0493	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	TN	0,0281	0,0042	0,0005	<0,0001	<0,0001
	DIP	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7701	<0,0001
	OP	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	TP	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Bundvand	DIN	<0,0001	0,0047	0,0099	0,1497	<0,0001
	ON	0,1942	0,0940	0,0953	0,0054	<0,0001
	TN	<0,0001	0,0036	0,0820	0,0019	<0,0001

Der var store forskelle mellem de fire institutioner for målinger af ON og TN (figur 3.3). Ligeledes var der store forskelle mellem de tre oxidationsmetoder for MST. Forskellen skyldtes hovedsageligt lavere koncentrationer ved UV-oxidation. For ON i overfladen var der ikke signifikant forskel mellem autoklave og ukendt metode ( $P = 0,0515$ ), hvorimod UV-prøver var signifikant lavere end både autoklave ( $P < 0,0001$ ) og ukendt ( $P = 0,0005$ ). For TN i overfladen var mønstret det samme – ingen forskel mellem autoklave og ukendt ( $P = 0,1728$ ), hvorimod UV var signifikant lavere end både autoklave ( $P < 0,0001$ ) og ukendt ( $P = 0,0001$ ). For ON i bundvandet var der ingen forskel mellem autoklave og ukendt ( $P = 0,8753$ ), hvorimod UV-oxidation gav lavere værdier

end både autoklave ( $P = 0,0033$ ) og ukendt ( $P = 0,0083$ ). For TN i bundvandet var der ingen forskel mellem autoklave og ukendt ( $P = 0,948$ ) og ukendt og UV ( $P = 0,0664$ ), hvorimod der var signifikant forskel mellem autoklave og ukendt ( $P = 0,0006$ ). ON målt med UV-oxidation var i gennemsnit 22-23% lavere end målt efter oxidation med autoklave. Forskellen var 21% for TN i overfladen og 15% i bundvandet. Den lille forskel mellem autoklave og ukendt oxidation indikerer, at størstedelen af prøverne i perioden 2007-2009 (DS/EN ISO 11905-1) er blevet oxideret med autoklavemetoden, men det er muligt at der er introduceret UV-oxidation tidligere end 2010 grundet de lidt lavere niveauer for ukendt i forhold til autoklave. Samlet indikerer analyserne, at TN-oxidation med UV giver ca. 22-23% lavere værdier for ON.



**Figur 3.3.** Forskelle mellem institutioner og anvendte metoder til oxidation af TN og TP. Error bars angiver 95% konfidensgrænser for middelværdierne. AK = autoklave, MW = mikrobølger, UV = UV nedbrydning og ?? er ikke kendt. SMHI har anvendt autoklave, men med et metodeskift i 2005 for TP analyser. Forkortelserne dækker over følgende perioder for kvælstof: DMU AK (1992-2010), IOW (2009-2016), MST AK (1992-2006), MST?? (2007-2009), MST UV (2010-2016) og SMH AK (1992-2016). For fosfor: DMU AK (1992-2016), IOW (2009-2016), MST AK (1992-2015), MST UV (2016), SMH før (1992-2004) og SMH efter (2005-2016).

For OP og TP var der store forskelle mellem institutioner og mellem oxidationsmetoder/analysemetoder (*tabel 3.1*). Der var et signifikant fald på 22% ( $P < 0,0001$ ) for OP og 13% ( $P < 0,0001$ ) for TP ved overgangen fra autoklave- til UV-oxidation af MST-prøver (*figur 3.3*). Reduktionen i OP ved overgang fra autoklave- til UV-oxidation (22%) er meget lig den tilsvarende observerede reduktion for ON. Dette kunne mere generelt indikere, at ca. 22% af det organiske materiale i marine prøver ikke bliver nedbrudt ved UV-oxidation. Metodeskiftet i 2005 hos SMHI gav tilsvarende en signifikant stigning på 64% ( $P < 0,0001$ ) for OP og 36% ( $P < 0,0001$ ) for TP.

Endvidere er der bemærkelsesværdig stor forskel i OP og TP mellem de fire institutioner, hvorfor der vil være behov for en uddybende analyse, som ligger uden for dette notats formål. Generelt er fosfatanalyser en af de mest robuste (når der ikke dannes klorgas som ved TP-autoklaving), og der forventes derfor, at der er større overensstemmelse mellem laboratorier end for nitrat-/TN-målinger.

## 4 Vurdering af de analysemetoder, som bruges i Danmark og nabolande

Kemiske analyser for TN og TP blev først beskrevet i 1975 og 1985 af Dansk Standardisering: DS 221 Bestemmelse af nitrogenindhold efter oxidation med peroxidisulfat og DS 292 for total fosfor. Begge standarder er harmoniseret med Sverige (SS 02 81 31 hhv. SS 02 81 27), Norge (NS 4743 og NS 4725) og Finland (SFS 3031 og SFS 3026) (Dansk Standardiseringsråd 1991). Begge metoder er siden overgået til DS/EN ISO standarder, som er fælles for hele Europa (DS/EN ISO 11905-1 hhv. DS EN ISO 6878), og de to oprindelige metoder er ophævet. Der er i metodedatabladene M010 Total nitrogen i vand og M11 Total fosfor i vand henviset til både DS/EN ISO og de udgåede DS-metoder. Ved en ændring i 2014 blev UV-metoden tilføjet M010 (version 03) med teksten "Der åbnes for anvendelse af DS/EN 29441-2010 på nær for ferskvand og søer".

Alle DS- og DS/EN ISO-metoderne beskriver "batch"-analyser, dvs. analyser hvor der analyseres en prøve ad gangen og med spektrofotometer til sidst. Det er der dog ikke længere nogen laboratorier, der anvender. I stedet anvendes enten segmenteret flow (CFA) eller flow injektion (FIA) autoanalysere (Grasshoff et al. 1999), hvor reagenserne tilsættes i et flow-system, hvor de enkelte reagenser blandes i med T-stykker til enten et flow adskilt af luftbobler (CFA) eller en konstant strøm af bærevæske og prøve (FIA). Detektion sker så med et spektrofotometer, hvor væskestrømmen kører igennem en flow-through cuvette, og absorptionen måles kontinuert.

For de nyeste CFA- og FIA-systemer er der sket yderligere automatisering, så den foreskrevne oxidation af prøven med peroxidisulfat kan foretages direkte i autoanalyseren med assistance af UV-bestråling og en varmekappe.

### 4.1 Total nitrogen analysemetoden

Analysen af TN foregår ved oxidation af prøven (omdannelse af organisk- og kompleks-bundet kvælstof til nitrat) ved oxidation med peroxidisulfat i basisk miljø med en af to metoder (jf. metodedatablad 10):

- DS/EN ISO 11905-1:1998 oxidation med peroxidisulfat i autoklave, dvs. opvarmning til 120 °C under tryk i 30 minutter
- DS/ISO 29441:2010 oxidation med peroxidisulfat og tilført energi til oxidationsprocessen ved opvarmning til 70 °C og UV-belysning, mens prøve og reagenser flyder gennem reaktionsspiraler.

Begge metoder inkluderer altså peroxidisulfat som oxidationsmiddel, men lavere temperatur + UV-bestråling i DS/ISO 29441-metoden (UV-metoden herefter). Eurofins (2010) undersøgte forskellene mellem de to metoder for spildevand og ferskvand og kom frem til, at UV-metoden var lidt mere påvirkelig af partikler/suspenderet stof, som kan interferere på målingen (maks. suspenderet stof ~30 mg/l), og detektionsgrænsen for metoden er 10 gange højere end DS/EN ISO 11905-1. Baseret på de ovenstående overvejelser konkluderer rapporten, at der på daværende tidspunkt (juni 2010) ikke var tilstrækkeligt fagligt grundlag for at åbne for anvendelse af DS/ISO 29441 pa-

rallelt med DS/EN ISO 11905 til bestemmelse af TN i vand inden for anvendelsesområdet for kvalitetsbekendtgørelsen (dengang bekendtgørelse 1353, nu erstattet af bekendtgørelse 1146).

Da den forventede detektionsgrænse med UV-metoden er 0,2 mg L<sup>-1</sup> og analysekvalitetskravet for kontrol/overvågning af marint vand er 0,02 mg L<sup>-1</sup>, kan metoden ikke anvendes til marint vand uden optimering af metoden til havvand.

Eurofins har gennemført en metodesammenligning for bestemmelse af TN i vand efter DS/EN ISO 29441 og DS/EN ISO 11905-1, der viste, at de to metoder giver samstemmende resultater (Eurofins 2014). Sammenligningen blev udført på 10 stoffer. På nær 4-nitrophenol er de 10 stoffer let nedbrydelige og ikke relevante for naturlige vandprøver. Netop for 4-nitrophenol fås også en lavere og ikke tilfredsstillende effekt af UV-nedbrydning. Der er ikke udført sammenligning af marint vand. I naturlige vandprøver er humus og fulvicforbindelse de dominerende kvælstofholdige stoffer, og de indeholder typisk mange phenol- og aromastisk ringstrukturer, som kan ligne 4-nitrophenol. Notatet konkluderer: "På den baggrund anbefaler referencelaboratoriet, at metodetablade M010 /7/ revideres således, at der åbnes for anvendelse af DS/ISO 29441 på nær for prøvetyperne ferskvand fra søer og vandløb." Denne formulering er åbenbart blevet tolket sådan af analysedelen i Eurofins, at referencelaboratoriet (også Eurofins) åbner for at anvende UV-oxidation på marine prøver, selvom det er indlysende, at problemerne med at anvende UV-oxidation her er endnu større end i ferskvand.

Det første forslag til at anvende UV-assisteret nedbrydning af TN i havvand var en batch-metode foreslået af Armstrong (1966). Forsøg med at anvende UV-assisteret nedbrydning af TN (Gustafsson 1984; Walsh 1989) viste generelle problemer med nedbrydning af komplekse kvælstofforbindelser (N-N og N=N bindinger). Der anvendes brintoverilte til reduktionen i begge metoder, og off-line bestemmelse ved højere temperatur (>80 grader i 20 timer). Forsøg med havvand viste dog, at batch-metoder med UV-nedbrydning kan være effektive til at måle TN med de kvælstofforbindelser, der findes i havvand omkring Hawaii og Californien (Walsh 1989), og optimering af metoden for brak- og ferskvand med hensyn til især halogenider og pH med en to-trins nedbrydning først i surt (svovlsyre) for TP og derefter basisk opløsning (borax/hydrogenperoxid buffer) for TN som den optimale metode (Gustafsson 1984). Bromid især og halogenider generelt interfererer. Efter optimeringen fandtes ca. 8% lavere indhold end andre TN-metoder i ferskvand (Kjeldahl-N adopteret til TN-bestemmelse), og sandsynligvis lidt lavere genfinding i brak- og havvand pga. det højere indhold af halogenider og især pga. højt indhold af ON i forhold til TN (Gustafsson 1984). Det skal bemærkes, at UV-belysningen gennemføres over 5 timer. Udvikling af in-line UV-nedbrydning af TN i spildevand blev præsenteret af Kroon (1993), som demonstrerede, at UV-nedbrydning (assisteret af 70 °C opvarmning med kaliumperoxidisulfat) var på niveau med Kjeldahl-N i 3-10 mg L<sup>-1</sup> niveauet for ferskvand og spildevand. Off-line UV-nedbrydning af havvand fra en dam, Cheesepeake Bay og Sargassohavet viste varierende resultater og lav succes for genfinding (Bronk et al. 2000), hvor det viste sig, at UV-nedbrydning gav 5-40% lavere resultater end kaliumperoxidisulfat. Højere temperatur og tilsætning af kaliumperoxidisulfat som oxidationsmiddel gav dog noget bedre resultater med en genfinding på 91 ± 12%.

Der er udviklet UV-assisteret peroxodisulfat-oxidation til TN (O I Analytical, 2013), men indikationerne er, at in-line UV-opvarmet peroxodisulfat-oxidation giver lavere genfinding af komplekse nitrogenforbindelser (testet for EDTA, urea, glycin, niacin) pga. den korte opholdstid i reaktoren, og at effekten af UV-belysning er minimal. Højere koncentration af peroxodisulfat og længere reaktionstid i varmekammeret giver bedre genfinding, men den manuelle forbehandling i reaktorkammeret giver stadig bedste genfinding.

Der findes en alternativ metode til bestemmelse af TN, hvor prøven opvarmes i iltatmosfære til mindst 680 °C. Derefter bestemmes den udviklede NO<sub>x</sub> i gasfasen med nær-infrarød eller termisk ledningsevne. På grund af de høje temperaturer forventes alt organisk materiale at være nedbrudt, og dermed er man ude over problemerne med UV eller peroxodisulfat reaktionernes effektivitet. I stedet er der dog problemer med katalyse af frit N til NO<sub>2</sub> i iltatmosfæren, så heller ikke denne metode er ideel.

Begge laboratorier, der har anvendt UV-oxidation, anvender ifølge egne oplysninger instrumenter fra SKALAR med tilsætning af peroxodisulfat og opvarmning til 107-110 °C samtidig med UV-belysningen. Det har ikke været muligt at finde specifikke informationer om de anvendte metoder, udover SKALARs hjemmeside (<http://www.skalar.com/news/skalar-san-cfa-analyser-for-the-analysis-of-nitrogen-and-phosphate>), som angiver god genfinding for simple organiske N-forbindelser. Det er værd at bemærke, at metoden, som SKALAR sælges på hedder "Total UV digestible Nitrogen", dvs. der er et indbygget forbehold for, at ikke alle kvælstofforbindelser nedbrydes med UV-belysning.

Aarhus Universitet vurderer, at anvendelse af DS/ISO 29441:2010 generelt resulterer i en lavere værdi for TN-koncentration, specielt hvis intensiteten af UV-oxidation ikke er høj nok til en tilstrækkelig oxidation (dvs. høj koncentration af peroxodisulfat og lang nok reaktionstid ved forhøjet temperatur), eller at partikulært materiale ikke er tilstrækkeligt fundet/homogeniseret, så det interfererer med målingen.

## 4.2 Total fosfor analysemetoden

Total fosfor-analysen består af en oxidation ved kogning i surt miljø med kaliumperoxodisulfat, som omdanner komplekst og organisk bundet fosfat til ortofosfat (DIP). Metoden foreskriver opvarmning til 200 hpa/120 °C i 30 minutter, fx i autoklave. Herefter bestemmes ortofosfat ved farvereaktion med molybdat og antimon(III), som danner en fosfor-molybdensyre, der ved reduktion med ascorbinsyre giver en proportional mængde molybdenblåt, som bestemmes spektrofotometrisk ved 880 eller 700 nm.

Der er i forskriften advaret om, at kogning af havvand med kaliumperoxodisulfat kan give opløst klorgas efter oxidationen, som vil reduceres ved reaktion med ascorbinsyre, dvs. man kan få falsk negative/for lave resultater, hvis klogassen ikke fjernes før ortofosfatanalysen.

For historiske prøver i Danmark udført af DMU blev fjernelsen af klorgas foretaget ved forsigtig udrystning med natriumsulfit i 4 timer. I Sverige har man fra 2004 håndteret det ved at vente 7 dage efter oxidationen med at analysere, for at klogassen kunne resorberes eller dampe ud af prøven.

I Sverige blev der samtidig, i 2005, skiftet fra en CFA-analysator til en FIAs-analysator (begge af mærket AlpKem), og der blev set en stigning i de målte

TP-koncentrationer på ca. 0,15 µM efter skiftet. Det er ikke helt klart om stigningen skyldes skiftet af analysator eller den ændrede procedure for at undgå lavere måling pga. klorgas i prøven efter autoklaving. Der er anvendt samme autoklaveringsmetode i hele forløbet, men QUASIMEME-resultaterne gik også fra at være konstant lavere end målværdien til at være på niveau eller højere. Sammenlignet med danske resultater fra samme stationer var resultaterne før 2004/5 generelt lavere, når målingerne blev gennemført af Sverige, og efter 2005 er de generelt lidt højere. DMU anvendte samme metode til oxidation som SMHI – en kombineret oxidation af TP i surt medie og TN i basisk medie på autoklave. Ved inspektion af ortofosfat-resultater i perioden før og efter 2005 kan det ses, at der ikke ser ud til at være sket et tilsvarende skred i DIP-koncentrationen, hvilket tyder på, at det er den indførte ventetid, som giver ændringen i TP-koncentrationer før og efter skift af autoanalyser.

I Tyskland er der ikke nogen generel metodevejledning til TN og TP, og der anvender nogle laboratorier, fx i Slesvig Holstein, UV-nedbrydning, men der er ikke lavet nogen undersøgelser af betydningen af de forskellige metoder i Tyskland.

Der er udviklet UV-assisteret peroxodisulfat-oxidation til TP (O I Analytical, 2013), men indikationerne er, at in-line UV-opvarmet peroxodisulfat-oxidation giver lav genfindning af hydrolysebare fosfatforbindelser pga. den korte opholdstid i reaktoren, og at metoden kun kan forbedres ved længere tid ved højt tryk/høj temperatur som i de manuelle metoder.

I et nyt review af fosforanalyser (Worsfold et al. 2016) beskrives metoderne med peroxodisulfat-autoklaving som den mest almindelige, og det anbefales for havvand at gennemføre oxidationen, så der startes alkalisk og fortsættes indtil peroxodisulfaten er nedbrudt til hydrogensulfat og dermed lavt pH, så også kondenserede fosforforbindelser, der ikke nedbrydes ved højt pH, omdannes til fosfat. Oxidation med peroxodisulfat i mikrobølgeovn, autoklave eller på vandbad giver samme resultater (inden for 5% ifølge referencen Maher et al. 2002), og forskellige in-line metoder med høj-temperatur (op til 160 °C) peroxodisulfat-nedbrydning er vist. Omkring anvendelsen af UV-oxidation er der mange metoder både med og uden opvarmning. Ifølge Worsfold et al. 2016 er disse acceptable for spildevand og ferskvand, men der rapporteres matrixproblemer for jordvand med højt indhold af jern og aluminium og naturligt havvand, sandsynligvis pga. højt indhold af calcium- og magnesiumioner. Fortynding og kombination af UV og varme med sur peroxodisulfat-oxidation kan måske løse problemet for havvand. Vores vurdering er dog, at UV-baserede metoder ikke kan anbefales for naturligt overfladevand, af de årsager som er beskrevet i indledningen.

Alternative metoder til TP inkluderer ICP-OES og ICP-MS, men følsomheden er ikke god nok til at erstatte de nuværende spektrofotometriske metoder for havvand.

Aarhus Universitet vurderer, at der ikke vil være forskel på anvendelse af mikrobølgeovn og autoklave til oxidationen med peroxodisulfat, men at in-line UV-nedbrydning for TP kan give for lave resultater. Denne metode anvendes dog ikke af de danske laboratorier, så p.t. er det ikke et problem, og metoden er heller ikke tilladt efter M011.

## 5 Diskussion

Resultaterne peger entydigt på, at UV-metoden giver en ufuldstændig oxidation af organisk kvælstof i vandprøver fra naturligt marint overfladevand. Både de direkte sammenligninger i *afsnit 2*, gennemgangen af overvågningsdata fra Sverige, Tyskland og Danmark i *afsnit 3* og gennemgangen af metoder i *afsnit 4* støtter denne konklusion. For fosfor vil vi også forvente, at UV-metoden resulterer i en ufuldstændig oxidering af det organiske stof og dermed en underestimering af OP, men størrelsen af den forventede underestimering kan ikke estimeres på baggrund af de eksisterende data. Betydningen af den ufuldstændige oxidation ved at bruge UV-metoden for total koncentrationerne er dog størst for kvælstof, da den organiske fraktion er større (ca. 81%) end for fosfor (ca. 50%). For fosfor påvirkes forskellen mellem oxidationsmetoder for TP af, at der er indikationer på problemer med udførelsen af autoklavemetoden i parallelanalyserne. Analysen (*afsnit 2*) indikerer, at der er et negativt offset på OP- og TP-data fra Eurofins, og at forskellen mellem de to metoder er stærkt afhængig af salinitet. Gennemgangen af analysemetoder (*afsnit 4*) kan tyde på, at det skyldes interferens fra klorgasser, som udvikles i stigende grad med salinitet og giver et negativt offset for målinger med autoklavemetoden, hvis der ikke sikres tilstrækkelig fjernelse af klorgas i prøven inden måling af fosfatkoncentration. Effekten af klorgas er velkendt og beskrevet allerede i DS 292 (Dansk Standardiseringsråd 1991).

### 5.1 Kvantificering af underestimering af organisk kvælstof efter anvendelse af UV-oxidation

Den mest direkte sammenligning er for data fra Eurofins, som har brugt både UV- og autoklavemetoden (2017-data). Her viser data, at UV-metoden i gennemsnit underestimerer ON-koncentrationer med 16-17% og TN-koncentrationer med ca. 13% i forhold til autoklavemetoden (*tabel 2.2*). For TN vil den aktuelle underestimering for en enkelt prøve primært afhænge af DIN-fraktionen. For ON vil den aktuelle underestimering afhænge af typen (og alderen) af det organiske stof og dermed variere som følge af fx salinitet, dybde og sandsynligvis årstid. Analyse af parallelprøverne viser systematiske afvigelser mellem UV- og autoklavemetoden, som afhænger af salinitet, hvilket indikerer, at omregningen fra UV- til autoklavemetoden sandsynligvis kan forbedres ved at inddrage salinitet.

Beregningerne i *afsnit 3* (*afsnit 3.3.2*) viser samme resultat: at UV-oxidation underestimerer ON-koncentrationerne i forhold til autoklavemetoden, og at underestimeringen i middel er på ca. 22-23%. Afvigelsen mellem danske værdier (MST) og svenske og tyske værdier var relativt større for bundvand (> 20 m) end overfladevand. Da bundvand i gennemsnit har højere salinitet end overfladevand, så giver de to analyser samme resultat: en underestimering ved brug af UV-metoden og en bestyrkelse af, at underestimeringen afhænger af salinitet/dybde.

Ovenstående vurdering er hovedsagelig baseret på prøver fra efteråret. Der er således kun meget lidt viden om sæsonvariationen i effekten af oxidationsmetode. I sommerperioden er fytoplanktons produktion den væsentligste kilde til opløst organisk stof (Markager et al. 2011). Frisk produceret organisk materiale vil sandsynligvis være lettere at oxidere, hvorved forskellen mellem UV-metoden og autoklavemetoden vil mindskes. I et naturligt miljø vil det "friske" organiske materiale imidlertid være under intens naturlig fotokemisk



nedbrydning, da lysintensiteten er høj om sommeren, hvilket fremmer remineraliseringen af organisk kvælstof og efterlader en relativt større andel ON, som er sværere at oxidere. Dette kan medføre en lavere effektivitet af UV-metoden og dermed større forskel mellem de to metoder.

I vores analyser er der den diskrepans, at der i den direkte analyse (*tabel 2.2*) ikke findes nogen forskel mellem UV-metoden, som er udført af Eurofins og ALS-laboratoriet. Omvendt finder analysen i *afsnit 3*, at den relative afvigelse mellem danske og udenlandske data stiger fra 22,3 til 28,9% for overfladevand og fra 28,9 til 44,4% for bundvand i 2016, hvor analyserne overgår fra Eurofins til ALS. Vi har ikke nogen forklaring på dette forhold.

## **5.2 Kvantificering af afvigelser for organisk fosfor efter anvendelse af UV-oxidation**

Generelt viser analyserne, at det er vanskeligere at analysere for OP end for ON. Vi vil dog forvente, at UV-metoden giver en mindre effektiv oxidering og dermed en underestimering af OP-koncentrationen i forhold til autoklavemetoden. I Danmark er UV-metoden kun anvendt af ALS-laboratoriet fra 1. januar 2016 til marts 2017. Analysen i *afsnit 3.3.1* viser, at forskellen til svenske data stiger med 15% i 2016, og effekten af metoden (*figur 3.3*) viser en nedgang i effektiviteten af oxidationen af OP på 22%. Parallelanalyserne viser, at der i middel ikke er forskel på UV- og autoklavemetoden, og datasættet giver ikke umiddelbart grundlag for at kunne kvantificere en eventuel forskel mellem UV- og autoklavemetoden for forfor, idet variationen omkring de estimerede relationer er stor, hvilket betyder en forholdsvis ringe overensstemmelse mellem de to metoder på enkeltprøver. For TP er variationen på enkeltprøver omkring  $\pm 25\%$  og for OP er den tilfældige variation mellem enkeltprøver omkring  $\pm 50\%$ . Den store variation mellem de to oxidationsmetoder på enkeltprøver medfører, at de estimerede relationer ikke er bestemt med stor sikkerhed. Det betyder, at en omregning fra UV-oxidationsmetode til autoklave-oxidationsmetode vil give stor usikkerhed, både på enkeltmålinger (pga. den store variation på enkeltprøver) og på større datasæt (pga. usikkerheden i relationen). Der er indikationer på, at der er problemer vedrørende bestemmelse af ortofosfat efter autoklave-oxidation, som bidrager til den store variation. Ifølge *afsnit 4* kan dette skyldes udvikling og interferens fra klor dannet under oxidationen. Det er ikke muligt at kvantificere dette forhold præcist, da der potentielt også kan være et, om end mindre, problem med en negativ interferens fra udviklet klor for UV-metoden, og der mangler systematiske data ved helt lave TP-koncentrationer.

## 6 Vurdering af implikationer

### 6.1 Vurdering af implikationer for vandområdeplaner

De beregninger, som ligger til grund for vandområdeplanerne, blev udført i 2013 og anvender kun data frem til og med 2012. En underestimering af TN-koncentrationer på ca. 15% fra 2010-2012 vurderes at have minimal til ingen betydning for de konklusioner, som anvendes i vandområdeplanerne.

Det er kun de statistiske metoder, som direkte anvender TN-koncentrationer i beregning af indsatsbehov, og TN er kun anvendt til estimering af indsatsbehovet for 8 ud af 119 vandområder. For de vandområder, hvor TN indgår i fastlæggelse af indsatsbehov, er det kun underestimeringen i årene 2010-2012, som kan have en betydning. Afvigelsen i disse år betyder, at relationer mellem TN-tilførsler og TN-koncentrationer er blevet overestimeret, hvilket principielt betyder en underestimering af indsatsbehovet. Til relationerne mellem TN-tilførsler og TN-koncentrationer er der imidlertid anvendt minimum 15 års, og ofte 20-25 års, data, hvorfor en potentiel underestimering af data fra 3 år forventes at have uvæsentlig betydning for bestemmelse af koefficienterne for relationer mellem TN-tilførsler og TN-koncentrationer. Denne vurdering gælder selvom fejlen på TN-målinger formodentligt vil være på de laveste TN-værdier i de anvendte tidsserier. Endvidere bygger indsatsbehovsberegningerne på en række af indikatorer, hvorved en eventuel fejl/usikkerhed på en enkelt indikator (fx TN) bliver endnu mindre i den samlede beregning af indsatsbehov for det enkelte vandområde.

For de vandområder, hvor mekanistiske modeller er benyttet til fastlæggelse af indsatsbehov, indgår TN-data ikke direkte i beregningerne af indsatsbehov, men alene til kalibrering/validering. Der er anvendt data i perioden 2001-2011 i kalibrering/validering, hvorved fejl på 2 års TN-data hovedsagligt har betydning for vurderingen af, hvor godt modellerne beskriver data. Den mest sandsynlige konsekvens af fejl på TN-målinger er således, at modellernes evne til at beskrive data har været en smule underestimeret.

### 6.2 Vurdering af implikationer for klassifikation af områders økologisk tilstand

Den manglende effektivitet af UV-oxidationsmetoden har betydning for NO-VANA-rapporteringerne, idet forbedringen i miljøtilstanden (beskrevet ved årsgennemsnit i TN-koncentrationer) siden 2010 er overvurderet for både fjorde og åbne havområder. For åbne områder som Øresund, Storebælt og Kattegat kan en korrektion betyde, at indikatoren "TN-koncentration", anvendt i HELCOM, skifter status fra "god" til "dårlig" tilstand. For fjordene betyder det, at den rapporterede fremgang i miljøtilstanden (baseret på bl.a. et fald i TN-koncentrationerne) er overvurderet (se fx Hansen et al. 2016). Da TN- og TP-koncentrationer ikke indgår i den nuværende vurdering af miljøtilstanden i forhold til vandrammedirektivet, har en eventuel underestimering af TN og TP koncentrationer ingen betydning for tilstandsvurderingen over for EU.

## 7 Referencer

Armstrong FAJ, Williams PM & Strickland JDH (1966) Photo-oxidation of Organic Matter in Sea Water by Ultra-violet Radiation, Analytical and Other Applications Nature 211:481-483.

Bronk DA, Lomas MW, Glibert PM, Schukert KJ & Sanderson MP (2000) Total dissolved nitrogen analysis: comparisons between the persulfate, UV and high temperature oxidation methods. Marine Chemistry 69: 163-178.

Dansk Standardiseringsråd (1991) Standarder for Vand & Miljø. Fysiske og kemiske metoder, bind 1 ISBN 87-7310-117-6.

DS/EN ISO 6878 (2004) Water quality - Determination of phosphorus - Ammonium molybdate spectrometric method (ISO 6878:2004)

DS/EN ISO 11905-1 (1998) Water quality - Determination of nitrogen - Part 1: Method using oxidative digestion with peroxodisulfate.

Eurofins (2010) By- og Landskabsstyrelsens Referencelaboratorium. Betydning af ny DS/ISO standard. Total nitrogen i vandige prøver 2 sammenlignet brugen af de to metoder (DS/ISO 29441 og DS/EN ISO 11905-1).

Eurofins (2014) Total nitrogen i vand. NOTAT fra Naturstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske og Mikrobiologiske Miljømålinger.  
[http://www.reference-lab.dk/media/10350236/notat\\_tn\\_i\\_vand\\_2014.pdf](http://www.reference-lab.dk/media/10350236/notat_tn_i_vand_2014.pdf)

Grasshoff K, Kremling K & Ehrhardt M (1999) Methods of sea water analysis 3rd edition. Wiley-WCH.

Gustafsson L (1984) Interferences in the determination of total nitrogen in natural waters by photo-oxidation to nitrate-nitrite mixture. Talanta 31(11):979-986.

Hansen JW (red.) (2016) Marine områder 2015: NOVANA. Videnskabelig rapport fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi, nr. 208, Aarhus Universitet, DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi.

Kroon H (1993) Determination of nitrogen in water: comparison of a continuous-flow method with on-line UV digestion with the original Kjeldahl method. Analytica Chimica Acta 276:287-293.

Maher W, Krikowa F, Wruck D, Louie H, Nguyen T & Huang WY (2002) Determination of total phosphorus and nitrogen in turbid waters by oxidation with alkaline potassium peroxodisulfate and low pressure microwave digestion, autoclave heating or the use of closed vessels in a hot water bath: comparison with Kjeldahl digestion. Analytica Chimica Acta 463:283-293.

Markager S, Stedmon C & Søndergaard M (2011) Seasonal dynamics and conservative mixing of dissolved organic matter (DOM) in the temperate eutrophic estuary Horsens Fjord. Estuarine and Coastal Shelf Science 92:376-388. doi: 10.1016/j.ecss.2011.01.014.

Massicotte P, Asmala E, Stedmon CA & Markager S (2017) Global distribution of dissolved organic matter along the aquatic continuum: across rivers, lakes and oceans. *Science of the Total Environment* 609:180-191  
doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.07.076.

O I Analytical (2013) Application Note 39420813. Automated In-line Digestion and Analysis of Total Phosphorous (TP) and Total Nitrogen (TN) in Environmental Water Samples. Presented at the 2013 Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy, Philadelphia, Pennsylvania, USA

Stedmon CA, Markager S, Borch NH, Laubel A, Søndergaard M, Vang T & Windelin A (2006) Dissolved organic matter (DOM) export to a temperate estuary: Seasonal variations and implications of land use. *Estuaries and Coasts* 29:388-400.

Valderrama JC (1981) The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10:109-122.

Walsh TW (1989) Total Dissolved Nitrogen in Seawater: a New-High-temperature Combustion Method and a Comparison with Photo-Oxidation. *Marine Chemistry* 26:295-311.

Worsfold P, McKelvie I & Monbet P (2016) Determination of phosphorus in natural waters: A historical review. *Analytica Chimica Acta* 918:8-20.

# Bilag 1

## Bestilling til DCE

### MST's servicecheck af marine TN- og TP-analyser

I forlængelse af meddelelsen om, at laboratoriet ALS har anvendt en forkert metode i 2016 til at forbehandle vandprøver til måling af det samlede indhold af kvælstof (total kvælstof/TN) i ferskvand har Århus Universitet (AU) meddelt, at de vurderer, at anvendelse af en mangelfuld metode til at forbehandle marine prøver, kan være årsagen til uforklarligt lave målinger af koncentrationen af total kvælstof (TN) i 2016 i kystvande og åbne havområder. Målingerne er usædvanligt lave i 2016, men også målinger siden 2010 indikerer et systematisk fald, som kan skyldes ændret analysemetode. Målingerne fra 2010-15 indikerer således et systematisk fald i niveau på 15-20 % i forhold til årene før 2010. Tilsvarende er der konstateret usædvanlig lave målinger af totalfosfor (TP) i marine prøver i 2016.

I 2010/11 overtog laboratoriet Eurofins analyserne af TN og TP i marine prøver fra øvrige laboratorier. I 2016 blev de marine prøver analyseret af laboratoriet ALS. Der er en risiko for, at de lave målinger af TN og det systematiske fald skyldes, at laboratorierne Eurofins og ALS har anvendt en anden analysemetode end de tidligere laboratorier. For fosfor er det konstateret, at ALS i 2016 og frem til marts 2017 har brugt en ikke godkendt UV-metode i forbindelse med analyse for TP.

Med henblik på at afdække størrelsen og betydningen af de konstaterede afvigelser for TN og TP har MST i efteråret 2017 gennemført en række parallelanalyser for TN og TP. MST har endvidere bedt Miljøstyrelsens referencelaboratorium om at forholde sig til parallelanalyserne for TN i relation til de anvendte metoder. MST vil eftersende Referencelaboratoriets udkast til rapport til orientering.

./.

Resultater af parallelprøvningerne for TN og TP vedlægges.

### Bestilling

DCE bedes udarbejde et teknisk notat, som forholder sig til de gennemførte parallelanalyser, resultaterne heraf samt vurderingen af konsekvenserne for anvendelse af pågældende TN- og TP-data i NOVANA-rapporteringen. Endvidere ønskes i relation til vandmiljøforvaltningen efter Vandrammedirektivet, DCE's vurdering af betydningen af de afvigende analyser for den beregnede målbelastning mv.

Konkret ønskes følgende:

- Vurdering af om de gennemførte parallelanalyser giver et retvisende billede af, hvorvidt der kan forventes afvigelser på analyseresultater, samt i givet fald størrelsen af afvigelser mellem de to oxidationsmetoder "autoklavering" og "UV-metoden".
- Vurdering af, hvorvidt der fagligt kan opstilles modeller for korrektion af analysedata og om dette ud fra et fagligt synspunkt anbefales gjort.
- Vurdering af om og i givet fald hvordan de konstaterede afvigelser har haft betydning for gennemførte NOVANA-rapporteringer, opgørelse af økologisk tilstand og målbelastning i vandområdeplanerne, samt dataindberetninger til EU, ICES m.fl.
- Endelig bedes i vurderingerne indgå de anvendte analysemetoder i forhold til andre landes (Sverige og Tyskland samt evt. Norge) analysemetoder for TN og TP.

Miljøstyrelsen skal anmode om at det tekniske notat fra DCE foreligger senest tirsdag den 23. januar 2018.