

# Effects of temperature, nitrate and oxygen on the denitrification rate in shallow fresh water systems.

## A mesocosm and model study

Part of research project PLONS



March 2009

Department  
Aquatic Ecology and Water Quality Management



# **Effects of temperature, nitrate and oxygen on the denitrification rate in shallow fresh water systems.**

## **A mesocosm and model study**

Part of research project PLONS

*September 2008 - March 2009*

Student  
Supervision

Sander Glorius  
Annelies Veraart  
Jeroen de Klein

sander.glorius@wur.nl  
annelies.veraart@wur.nl  
jeroen.deklein@wur.nl

Department  
Aquatic Ecology and Water Quality Management



## Samenvatting

Door het overdadig gebruik van mest op landbouwgronden én door lozingen van industrieel en huishoudelijk afvalwater is de nutriëntenbelasting op het aquatische milieu toegenomen met als resultaat dat veel Nederlandse oppervlaktewateren op dit moment geëutrofeerd zijn. Waterplanten zijn gedeeltelijk of in zijn geheel verdwenen terwijl algenbloei en vissterfte steeds vaker voorkomen. Terwijl puntbronnen zoals huishoudelijk en industrieelafvalwater behandeld werden bleef de nutriëntenbelasting vanuit de landbouw grotendeels ongewijzigd. Deze bron van nitraatmissie vormt op dit moment zelfs het grootste aandeel van de totale stikstofbelasting naar oppervlaktewateren (Unie van waterschappen, 2008). Het verhogen van de natuurlijke zuivering in sloten zou een kosteffectieve oplossing kunnen zijn om de nutriëntenbelasting vanuit de landbouw te verminderen omdat 1. er een groot oppervlak aan sloten zijn in Nederland en 2. ontdekt is dat de denitrificatiesnelheid toeneemt stroomopwaarts (Ochea et al., 2006). Onderzoek wijst uit dat 50% van de stikstofbelasting verwijderd kan worden in sloten (Peeters et al., 2006). Kennis van de factoren die van invloed zijn op de denitrificatiesnelheid is benodigd wanneer getracht wordt om de natuurlijke zuivering van sloten te stimuleren. Temperatuur, zuurstof- en nitraatconcentratie zijn belangrijke factoren die invloed hebben op de denitrificatiesnelheid en vormen het onderwerp van deze studie.

Twee mesocosm experimenten zijn uitgevoerd in de laboratorium faciliteiten van de Wageningen Universiteit. In het eerste experiment werd de denitrificatiesnelheid gemeten onder vier zuurstofcondities (0.8 – 2.0 - 4.0 – 11.0 mg O<sub>2</sub>/l) in een situatie met alleen sediment. In het tweede experiment werd de denitrificatiesnelheid gemeten geassocieerd met de waterplant *Elodea Nuttallii*. In dit experiment zijn 2 nitraatconcentraties (1.7 en 3.3 mg NO<sub>3</sub>-N/l) gecombineerd met 4 temperatuur behandelingen (10 – 15 – 20 – 25 graden Celsius). De zuurstofconcentratie was in alle behandelingen teruggebracht tot onder 1.2 mg O<sub>2</sub>/l, hierbij werd gebruik gemaakt van helium. De denitrificatie snelheidsmetingen werden uitgevoerd volgens de isotoop paringstechniek zoals beschreven bij Nielsen (Nielsen, 1991). Hiernaast is ook een model gemaakt met als doel om de onderliggende processen beter te begrijpen. Gegevens van een experiment uitgevoerd door Mohamed werden gebruikt om het model te ijken. Het experiment dat uitgevoerd werd door Mohamed volgde exact dezelfde methode als het tweede experiment beschreven hier met als het enige verschil dat de zuurstofconcentratie niet gefixeerd werd tot < 1.2 mg O<sub>2</sub>/l.

Er is geen relatie gevonden tussen zuurstofconcentratie en denitrificatiesnelheid in een situatie met alleen sediment (P=0.94, ANOVA). De denitrificatiesnelheid was voor alle zuurstofbehandelingen ongeveer 1 μmol/m<sup>2</sup>/h. Een mogelijke verklaring voor deze lage denitrificatiesnelheid zou kunnen zijn dat denitrificerende bacteriën zich onvoldoende hebben kunnen ontwikkelen, mogelijk doordat de acclimatisatie periode hiervoor te kort was. Resultaten van het tweede experiment liet een toename in denitrificatiesnelheid zien bij een toename in temperatuur voor beide nitraatbehandelingen. Een Arrhenius temperatuur coëfficiënt van 1.15 (1.7 mg NO<sub>3</sub>-N/l) en 1.10 (3.3 mg NO<sub>3</sub>-N/l) was gevonden wat significant lager was in vergelijking tot de Arrhenius coëfficiënten gevonden door Mohamed, 1.24 (1.7 mg NO<sub>3</sub>-N/l) en 1.36 (3.3 mg NO<sub>3</sub>-N/l). Het enige verschil tussen beide experimenten was de zuurstofconcentratie. Er kan daarom geconcludeerd worden dat een groot deel van het positieve effect op de denitrificatiesnelheid bij een verhoging in temperatuur verklaard wordt door een afname in zuurstofconcentratie bij een toename in temperatuur.

In het model zijn de processen mineralisatie, nitrificatie, denitrificatie, re-aeratie, opname door macrofyten (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en totaal zuurstofgebruik opgenomen. Denitrificatiesnelheden gemeten door

Mohamed konden niet gefit worden voor de lage en hoge nitraatconcentraties tegelijk wanneer gebruik gemaakt werd van een monod vergelijking om de limitatie door nitraat op de denitrificatiesnelheid uit te drukken. Hiervoor in de plaats is een Type III functionele response gebruikt en gefit. De Arrhenius temperatuur coëfficiënt nam toe van 1.12 (gebruikte waarde in de denitrificatie vergelijking) tot 1.17 wanneer alle onderliggende processen meegenomen werden. Ook dit bevestigt dat het positieve effect op de denitrificatiesnelheid bij een verhoging in temperatuur versterkt wordt doordat de productiesnelheid van producten geproduceerd door onderliggende processen (nitrificatie, mineralisatie en zuurstof productie / consumptie) ook temperatuursafhankelijk zijn. Gemodelleerde denitrificatiesnelheden zijn, tot een nitraatconcentratie van ongeveer 2.0 mg NO<sub>3</sub>-N per liter, vergelijkbaar met waarden gemeten door de Klein in Nederlandse sloten (J. de Klein, 2008). Boven deze nitraatconcentratie geeft het model hogere denitrificatiesnelheden dan gemeten in het veld. In het veld zou mogelijk koolstoflimitatie (niet gemodelleerd) een belangrijke rol kunnen spelen, voornamelijk bij verhoogde nitraatconcentraties. Om fluctuaties in denitrificatiesnelheden nog beter te begrijpen wordt aanbevolen om de rol van organisch koolstof te onderzoeken. Omdat de nitraat- en zuurstofconcentratie in de waterkolom significant verschillend kunnen zijn met de concentratie in biofilms en het sediment, plekken waar denitrificerende bacteriën gelokaliseerd zijn, (Christensen et al., 1990) wordt tevens aanbevolen om de rol van diffusie verder te onderzoeken.

## Abstract

Excessive fertilizer use on agricultural fields and (untreated) wastewater discharges resulted in increasing nitrogen loads to surface waters who became eutrophicated. This has led to degradation of aquatic ecosystem leading to a decrease in species diversity and macrophyte abundance and an increase in harmful algae blooms and fish kills. As point sources, such as urban and industrial wastewaters, became treated diffuse nitrogen seepage from agricultural fields remained and became the largest contributor of all anthropogenic nitrogen load to water systems (Union of Waterboards, 2008). Increasing the natural purification in ditches (by stimulating denitrification) could be a cost effective solution in decreasing the nitrogen load to brooks, rivers and oceans. This could have significant impact because 1. a large amount of ditches are located in the Netherlands and 2. it has been discovered that rates of denitrification increases upstream (Ochea et al., 2006). Preliminary research reveal that up to 50% of the nitrogen load can be removed in ditches (Peeters et al., 2006). Understanding the factors that influence the denitrification rate is the first step to take in order to stimulate this nitrogen removal pathway in ditches. Temperature, oxygen- and nitrate concentration are believed to be important influencing factors for denitrification and are studied here.

Two mesocosms experiments were carried out at the laboratories of the Wageningen University. In the first experiment denitrification rates were measured at four oxygen concentrations (0.8 – 2.0 – 4.0 – 11.0 mg O<sub>2</sub>/l). The mesocosms in this experiment contained only sediment. In the second experiment two nitrate concentrations (1.7 and 3.3 mg N/l) were tested combined with four temperatures (10 – 15 – 20 and 25 °C) associated with the submerged macrophyte *Elodea nuttallii*. After an acclimatization period oxygen concentrations were set using helium. Denitrification measurements took place following the isotope pairing technique according to Nielsen (Nielsen, 1991). Besides both experiments a model was build as well to understand and predict denitrification rates at various oxygen, nitrate and temperature levels. Experimental data from a study carried out by A. Mohamed prior to this study was used to fit the model (Mohamed, 2009). The study of Mohamed followed the same set-up as the second experiment with the only difference that the oxygen concentration was not fixed for the different temperature treatments.

No relation could be found between oxygen concentration and denitrification rate associated with sediment alone ( $P=0.94$ , ANOVA). Moreover rates were very low, around 1  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{h}$  for all treatments which is considered as background denitrification. The acclimatization period could have been too short for sufficient development of denitrifying bacterial biomass. The second experiment revealed increasing denitrification rates at increasing temperatures for both nitrate treatments. A temperature Arrhenius coefficient of around 1.15 (low nitrate concentration) and 1.10 (high nitrate concentration) was found in experiment 2. This was significantly lower when compared to data of Mohamed who found an average Arrhenius coefficient of 1.24 for the low nitrate concentration and 1.36 for the high nitrate concentration. The only difference between both experiments were the oxygen conditions as explained previously. A big part of the positive effect of temperature on the denitrification rate can therefore be explained by the decrease in oxygen concentration under increasing temperatures.

The processes mineralization, nitrification, denitrification, re-aeration, uptake by macrophytes (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) and total oxygen consumption were incorporated in the model. Denitrification rates could not be fitted for the two nitrate concentrations at the same time using a monod equation, instead a Type III functional response was used. Overall Arrhenius temperature coefficient increased from 1.12 (used value for denitrification alone) to 1.17 when all modeled processes were considered. This shows also that the

effect of temperature on the denitrification rate is amplified due to temperature sensitivity of the underlying processes such as oxygen saturation, mineralization and nitrification. An Arrhenius coefficient of 1.34 (experiment Mohamed) however was not found. Modeled denitrification rate output is comparable to values measured by de Klein in a ditch located in the Netherlands (de Klein, 2008) although at a nitrate concentration exceeding 2.0 mg N/l model output gives an overestimation of the denitrification rate. This could be due to organic carbon limitation in the ditch. To understand variation in denitrification rates even better it is recommended to examine the role of diffusion limitation, since water column oxygen and nitrate concentration could be different from that in the sediments and biofilms where denitrifying bacteria are located (Christensen et al., 1990). In order to understand fluctuations in denitrification rates measured in the field it is recommended to examine the role of organic carbon as well.