



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och
jordbruksvetenskap

Frysning av vattenprover – effekt på vattenkemiska tidsserier

Freezing of water samples – effect on water chemical series

Jennifer Nyström

Frysning av vattenprover – effekt på vattenkemiska tidsserier

Jennifer Nyström

Handledare: Lars Lundin

Btr handledare: Stefan Löfgren

Examinator: Jens Fölster

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i miljövetenskap

Kurskod: EX0688

Program/utbildning: Kandidatprogram i biologi och miljövetenskap

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: frysning, vattenprover, konserveringsmetod, laboratoriebyte, analysmetod

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap
Institutionen för vatten och miljö

Sammanfattning

Frysning är en vanligt förekommande konserveringsteknik, för kortvarig respektive långvarig förvaring av vattenprover, vilken förekommer vid både forsknings- och miljöövervakningsändamål. Syftet med denna studie är att undersöka frysningens effekter på ett antal utvalda variabler vilka beskriver vattnets kemiska kvalitet, genom att undersöka om provernas sammansättning påverkats eller inte av att ha varit frysta under en lång period. Vattenprover, från avrinningsområdet Gusseltjärn, har sedan 1980-talet insamlats för analys. Under en femårsperiod frystes vattenprover för långvarig förvaring då analys inte kunde genomföras vid insamlingstillfället. Nästintill 20 år senare analyserades dessa prover och lades till i den existerande tidsserien. För att undersöka frysningens effekt på dessa vattenprover skapades en regressionsmodell för varje enskild variabel, vilken kunde prediktera koncentrationen hos den kemiska variabeln innan provet frystes ned. Eftersom Gusseltjärns vattenprover inte analyserats ofrysta under denna tidsperiod nyttjades data från två liknande avrinningsområden, Lill Fämtan och Risfallet, som referenser. De predikterade värdena jämfördes därefter med t-test mot de nedfrysta värdena för att avgöra huruvida det föreligger en signifikant skillnad mellan frysta och icke frysta prover. Modellen visade att pH-värdet ökade signifikant med 0,21 enheter om provet varit nedfryst och att sulfatkoncentrationen minskade signifikant med 0,30 mg/l. Då byte av laboratorium mellan och inom de olika avrinningsområdenas vattenprover förekommit kan inga uttalanden göras om huruvida det är frysningens effekt eller effekten av laboratoriebyte som modellen ger utslag på. Data var således inte lämplig för denna typ av studie.

Nyckelord: frysning, vattenprover, konserveringsteknik, laboratoriebyte, analysmetod

Abstract

Freezing is considered an effective preservation method for long time storage of water samples, but it may however affect the chemical composition of the sample. The aim with this study is to evaluate the effects of freezing on a restricted number of chemical variables, which are used for both research purposes as well as environmental monitoring of water quality. The catchment Gusseltjärn, located in central Sweden, had water samples freeze stored for approximately 20 years before analysis. As no non-frozen samples were analysed at time of collection this study utilised the catchments Lill Fämtan and Risfallet, as references. In order to evaluate the effects of freezing a regression model was created for each individual chemical variable of interest, using data from the reference catchments. The model was then used to calculate expected concentration of what the variables should have been without freezing and storage. A t-test was utilised to evaluate whether the differences were of statistical significance or not. The models indicate that the concentration for sulphur should have been 0,30 mg/l lower and that pH should have been 0,21 units higher if the samples would not have been frozen. As Gusseltjärns water samples were analysed by different laboratories over time, with changes of laboratory procedures as well, this study could not distinguish whether the differences shown from the models was caused due to long time frozen storage or change of laboratory and laboratory procedures.

Keywords: freezing, water samples, preservation techniques, change of laboratory

Innehållsförteckning

Sammanfattning	4
Abstract	5
Förkortningar	7
1 Inledning	8
1.1 Bakgrund	8
1.2 Syfte och frågeställningar	9
1.3 Avrinningsområdena Gusseltjärn, Risfallet och Lill Fämtan	9
1.4 Teori	11
2 Metod och material	13
2.1 Beskrivning av data och databas	13
2.2 Statistisk analys och tillvägagångssätt	16
3 Resultat	19
3.1 Aluminium	20
3.2 ANC	21
3.3 Järn	21
3.4 Kalcium	22
3.5 Klorid	22
3.6 Konduktivitet	22
3.7 Natrium	23
3.8 NH ₄ -N, NO ₃ -N och N-Org	23
3.9 pH	24
3.10 Totalfosfor	25
3.11 Kisel	25
3.12 Sulfat	25
4 Diskussion	27
5 Slutsats	30
Referenslista	31
Tack	33

Förkortningar

Al	Aluminium
Ca	Kalcium
Cl	Klorid
EC	Konduktivitet
Fe	Järn
GT	Avrinningsområdet Gusseltjärn
LF	Avrinningsområdet Lill Fämtan
N-Org	Organiskt kväve
NH ₃	Ammoniak
NH ₄ -N	Ammoniumkväve
NO ₂ -N	Nitritkväve
NO ₃ -N	Nitratkväve
P-tot	Totalfosfor
RF	Avrinningsområdet Risfallet
Si	Kisel
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
SO ₄	Sulfat
SS	Suspenderade fasta ämnen
TNK	Total Kjeldhalkväve

1 Inledning

1.1 Bakgrund

Fyra grundläggande faktorer påverkar kvaliteten av vattenmiljödata, där samtliga kan bidra till att sänka standarden och ge en missvisande bild av miljötillståndet. Dessa faktorer är provtagningsmetod, konserveringsteknik, laboratorium och hantering av data (United States Environmental Protection Agency, 1982). Frysning är en vanlig förekommande konserveringsteknik vilken har använts i flertalet studier, t.ex. Rochelle-Newall & Fisher (2002), Mitchell & Lamberti (2005) och Spencer et al. (2007), för kortvarig förvaring av vattenprover. Den amerikanska myndigheten EPA, *Environmental Protection Agency*, erkänner inte frysning som en generell konserveringsmetod då sammansättningen av både filtrerbara och icke-filtrerbara substanser kan komma att påverkas (United States Environmental Protection Agency, 1982). Anledningen till att frysning av vattenprover ändå sker kan bero på flera olika saker: möjlighet saknas för omedelbar analys och frysningen sker för att behålla integriteten hos provet, bankning av vattenprover för framtida analys eller så kan pengarna för analys saknas.

I början av 1980-talet etablerades avrinningsområdet Gusseltjärn (GT), som är beläget i mellersta Sverige, för forskningsändamål. Under en femårsperiod kunde kemisk analys ej genomföras och vattenprover från den perioden frystes och lagrades i cirka 20 år. Genom senare utförd analys av dessa prover kunde luckan i tidsserien äntligen fyllas. Frysning av vattenprover förekommer dock inte endast i forskningsändamål utan kan även förekomma vid produktion av miljödata vilken senare ligger som underlag för beslutsfattning och tolkning. Om det visar sig att frysningen har en effekt på vattenprover kan detta leda till feltolkning av resultat. Studier kring frysningens effekt på vattenkemiska variabler har tidigare utförts (Salley *et al.*, 1986 och Avanzino & Kennedy, 1993). Dock undersöker dessa stu-

dier endast kortare perioder av nedfrysning, en dag till en vecka respektive mellan fyra till åtta år. För att kunna försäkra sig om att GT långa tidsserie faktiskt lämpar sig som framtida underlag är det av relevans att studera huruvida den långvariga nedfrysningen av vattenprover påverkat resultatet av analyserna för vattenkemi.

1.2 Syfte och frågeställningar

Syftet med denna studie är att undersöka frysningens effekter på vattenkemi och undersöka hur frysning av vattenprover påverkar vattenkemiska tidsserier.

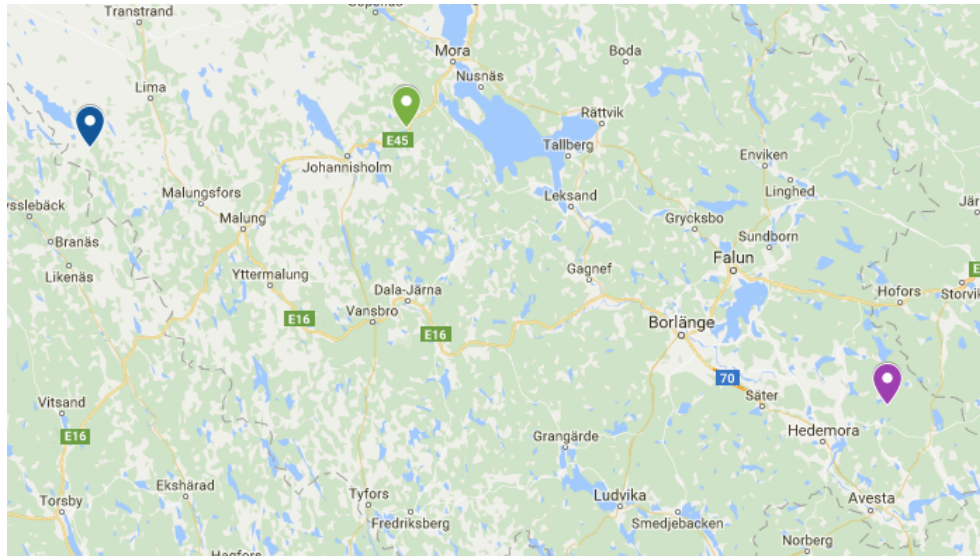
Målet är att klargöra skillnader mellan frysta och ofrysta vattenprovers vattenkvalitet för 14 kemiska variabler.

Därtill sattes tre frågeställningar upp för att nå målet med studien. Dessa var:

- Påverkas vattenkemin av att frysa vattenprover före analys?
- Spelar längden på nedfrysningen roll?
- Påverkas tidsserier av byte av laboratorium?

1.3 Avrinningsområdena Gusseltjärn, Risfallet och Lill Fämtan

För att undersöka frysningens effekter på vattenkemin har data från avrinningsområdena Gusseltjärn, Risfallet (RF) och Lill Fämtan (LF) nyttjats. Samtliga tre avrinningsområden är belägna i Dalarnas län, i Sveriges boreala barrskogsbälte och befinner sig geografiskt relativt nära varandra (*Figur 1.1*). Avrinningsområdet GT etablerades redan 1973 som ett referensavrinningsområde och är en del av Siljansfors försökspark (SLU). Här har vattenprover kontinuerligt samlats in för provtagning sedan start (Bergqvist & Grip, 1975). I oktober 1986 tog forskningspengarna slut och kemisk analys kunde således inte genomföras. Dåvarande projektansvarig åtog sig att fortsätta samla in prover på månadsbasis och frös ned dessa i förhoppning att de någon gång i framtiden skulle analyseras. Följaktligen skulle då inte heller den tidigt startade tidsserien brytas. Insamling och nedfrysning av vattenprover från GT pågick fram tills december 1992. År 2009 fanns medel i ett forskningsprojekt och vattenproverna, som varit nedfrysta mellan 17 till 22 år, analyserades. GT lämpar sig väl som referens för studier som rör skogsbruk och dess miljöpåverkan, då antropogen påverkan har varit begränsad (Bergqvist & Grip, 1975). Efter att de nedfrysta proverna analyserats har dessa lagts till tidsserien och nyttjats som referens vid några studier, t.ex. Lundin & Nilsson (2014).



Figur 1.1. Avrinningsområdena Lill Fämtan (blå markering), Gusseltjärn (grön markering) och Risfallet (lila markering) i Dalarna. (Foto: Google Maps. Redigerad: Jennifer Nyström).

Avrinningsområdet LF ingår i delprogrammet Trendvattendrag, vilken utgör en del av programområdet Sötvatten som tillhör den nationella och samordnade miljöövervakningen i Sverige (Naturvårdsverket, 2007). LF som även kan gå under namnet Tandövala ligger på positionen $N60^{\circ}50'$; $E13^{\circ}07'$ och har den högsta latituden av de tre avrinningsområdena på 451-643 m.ö.h. (Tabell 1.) Hela området ligger över högsta kustlinjen. Årsmedeltemperaturen ligger på $+1,6^{\circ}\text{C}$ och har en korrigerade årsmedelnederbörd på 697 mm, vilket är den största nederbörden för de tre avrinningsområdena (Snäll, 1997). LF har även den största årsavrinningen som under perioden 1961-90 låg på 400 mm (Vedin & Raab, 1995).

Avrinningsområdet RF, med positionen $N60^{\circ}21'$; $E16^{\circ}14'$, har varit del av flera forskningsprojekt där man bland annat undersökt försurningens effekter på skogsmark och hur ytvattenkemin påverkas genom läckage efter skogsgödning. Området på 45 ha ligger på en altitud mellan 255-270 m.ö.h. och hela avrinningsområdet ligger över högsta kustlinjen. Dominerande jordmåner är histosoler och podsoler vilka ligger ovanpå berggrunden som huvudsakligen består av gnejsisk granit efterföljt av leptiter. Markvegetationen består företrädesvis av olika arter lägre grästyper och år 2014 dominerades den högre vegetationen av ca 35 år gammal tall (*Pinus sylvestris*). Korrigerad nederbörd för senaste perioden 1961-1990 hade ett medelvärde på 616 mm där de största nedfallen skedde under perioden juli till september och den lägsta nederbörden under februari och mars månad (Maxe *et al.*, 1995).

Avrinningsområdet GT, $N60^{\circ}52'$; $E14^{\circ}21'$, etablerades redan år 1973. Avrinningsområdet omfattar 87 ha och är beläget över högsta kustlinjen på en altitud

mellan 265 till 365 m.ö.h. och domineras av rikblockig morän, hållmark och myr (Bergqvist & Grip, 1975). Berggrunden består huvudsakligen av porfyr. Vegetationen domineras av träd, där merparten är över 100 år gamla, och den mindre andelen ungskog har en ålder på runt 60 år, där de dominerande trädslagen är tall och gran. Årsnederbörden under senaste mätperioden 1961-1990 hade en korrigerad medelnederbörd på 660 mm, vilket är en aning mer än för RF men mindre mängd om man jämför med LF. Även här är avrinningen högre om man jämför med RF, 380 mm under samma mätperiod (Lundin & Nilsson, 2014). Eftersom GT är en del av en försökspark har den främst bevarats orörd och i mindre grad utsatts av mänsklig påverkan genom skogsbruk. Detta gör avrinningsområdet till en lämplig referens för bland annat skogsforskning.

Även om både klimat, geologi och vegetation skiljer sig ifrån varandra mellan avrinningsområdena är dessa skillnader inte alltför stora och att jämföra områdena med varandra med syftet att undersöka om vattenkemiska variabler påverkas av frysningens effekter bör vara möjligt (*Tabell 1*).

Tabell 1. Karakteristika för avrinningsområdena Gusseltjärn (GT), Risfallet (RF) och Lill-Fämtan (LF).

	Gusseltjärn, GT	Risfallet, RF	Lill-Fämtan, LF
Geografiskt läge, Lat./Long.	N60°52'; E14°21'	N60°21'; E16°14'	N60°50'; E13°07'
Altitud, m.ö.h.	265-365	255-270	451-643
Area, ha	87	45	58
Årsmedeltemperatur, °C	+3,1	+4,0	+1,6
Årsnederbörd, mm	660	616	697
Årsavrinning, mm	380	300	400

1.4 Teori

Orsakerna till att analysera ytvattenkemi i avrinningsområden som domineras av skog varierar stort. För avrinningsområden såsom GT och RF sker övervakning av vattenkemin på grund av skogsrelaterad forskning. Utformningen av denna typ av provtagning ser därför olika ut och är specifikt anpassade till det enskilda försöket. För avrinningsområden, såsom LF, som ingår i nationell miljöövervakning syftar långvarig monitoring av ytvattnet till att beskriva tillståndet i miljön och således också fånga upp förändringar i ytvattenkemin (Marklund, 2004). Analysen av dessa prover bör ske av ackrediterade laboratorier och således ska analysmetoden, rutinerna och personalen hålla en jämn och hög standard. Med andra ord ska på-

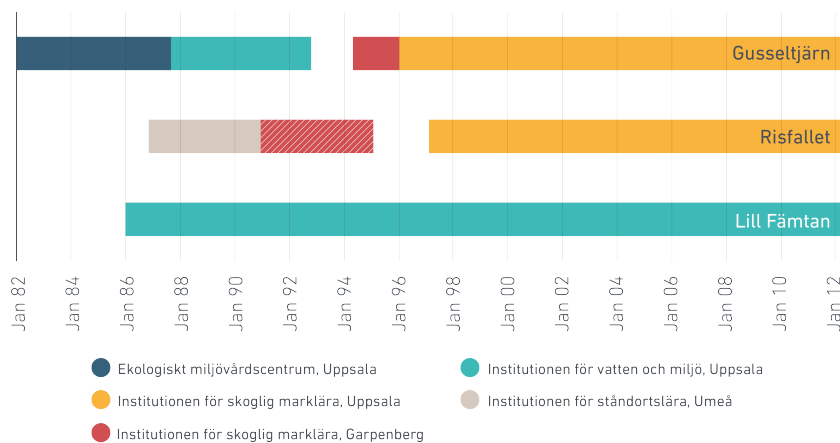
verkan av analysmetoden och hanteringen av proverna vara så minimal som möjligt. Institutionen för vatten och miljö vid SLU, Uppsala, är idag ackrediterade av SWEDAC, i enlighet med internationella standarder (ISO-standarder) för att försäkra sig om att analyser vid laboratoriet håller en hög kvalitet. ISO-standard SS-EN ISO 5667-3:1994, beskriver riktlinjer för hur korrekt hantering och bevaring av vattenprover ska gå till. Dessa riktlinjer godkänner frysning av vattenprover (-20 °C) om perioden för nedfrysning och upptining av provet sker under kontrollerade former för att se till att provets kemiska sammansättning inte ska påverkas. Dock gäller detta inte för alla typer av vattenparametrar – biologiska som kemiska. För nedfrysning av exempelvis organiskt kol och permanganat rekommenderas frysningsperioden att inte överskrida en månad. Därtill bedöms även att nedfrysning kan leda till utfällning av olika substanser, vilken kan påverka resultaten. För analys av kemiska variabler såsom aciditet/alkalinitet, ammonium (NH₄), konduktivitet (EC), nitrit och nitrat (NO₂ och NO₃), fosfor (P) och sulfat (SO₄) bör konservering av vattenprover ske genom nedkylning till mellan +2 °C till +5 °C, och inte frysning. Konserveringsperioden för dessa vattenprover förkortas därför också och landar på upp till 24 h efter insamling (SS-EN ISO 5667-3, 1996).

Försök att undersöka frysningens effekter har gjorts på flera håll. En studie undersökte frysningens effekter på näringsämnen efter 7 respektive 28 dagar av nedfrysning. Dessa ämnen var: nitrit (NO₂), nitrit och nitrat (NO₂+NO₃), totalfosfor (P-tot), totalt löst fosfor (TDP), ammoniak (NH₃), total Kjeldhals kväve (TNK), kisel (Si) och suspenderade fasta ämnen (SS). För flera av de undersökta näringsämnena sågs signifikanta skillnader för majoriteten av mätstationer, med en signifikansnivå på 0,05. Statistisk skillnad konstaterades för NO₂+NO₃ som minskade, (inga mätbara statistiska skillnader för endast NO₂). P-tot och Si minskade i koncentration både för prover som varit nedfrysta 7 och 28 dagar. Trots att skillnad kunde påvisas ansågs endast Si vara den som faktiskt påverkats så pass negativt att man inte kan förlita sig på uppmätta Si-koncentrationer för frysta prover. Att frysningen inte ansågs ha påverkat P-tot och NO₂+NO₃ trots att skillnad förelåg var för att de uppmätta koncentrationerna delvis föll inom US EPAs riktlinjer för vad som kan anses acceptabelt för denna typ av konserveringsmetod (Salley *et al.*, 1986). Avanzino & Kennedy (1993) undersökte om en längre frysningsperiod, på 4 respektive 8 år, påverkar vattenprovets kemi. Här testades ortofosfat (OP), NO₂+NO₃ och NH₃-N. Även här sågs skillnader i NH₃-N och NO₂+NO₃ koncentration som dock inte kunde anses orsaka problem då avvikelser från icke nedfrysta prover inte var större än den dubbla standardavvikelsen. Signifikanta förluster sågs dock för OP vars vattenprover insamlats under näringsrika och anaeroba förhållanden.

2 Metod och material

2.1 Beskrivning av data och databas

Data över vattenkemiska variabler har kontinuerligt samlats in och analyserats i forsknings och/eller miljöövervakningssyfte för samtliga avrinningsområden; för Gusseltjärn (GT) under åren 1982 till 2016; för Risfallet (RF) från november 1986 till maj 2012 (i juni 2012 genomfördes vid RF skogsgödsling (Lundin & Nilsson, 2014)); för Lill Fämtan (LF) under åren 1986 till 2016. Under oktober 1987 fram tills december 1992 frystes samtliga vattenprover från avrinningsområdet GT då pengar saknades för analys. Provtagningsfrekvensen för GT och RF var en gång, i mitten av månaden och två gånger i månaden för LF. Dessvärre saknades data under en längre tidsperiod för både GT och RF; för GT mellan åren 1993 fram till april 1994; för RF saknas data från januari 1991 och fram till april 1997 (*Figur 2.1*). Gällande RF extensiva lucka så finns mätvärden för ett fåtal kemiska variabler under perioden 1991 till 1995. Dock saknas mätvärden för de allra flesta av variabler för denna period varför datasetet anses sakna data helt och hållet under perioden 1991-97. Därtill förekom sporadiska dataluckor månadsvis, för olika variabler och olika avrinningsområden.



Figur 2.1. Infärgad linjering beskriver den sammanhängande tidsserien och existerande luckor för avrinningsområdena Gusseltjärn, Risfallet och Lill Fämtan. De olika färgerna beskriver vilket laboratorium som analyserat proverna vid olika tidpunkter. Samtliga laboratorier tillhör SLU. Vitsträckning av infärgad linje beskriver att data saknas för denna period. Grafen beskriver endast vilket laboratorium som analyserat proverna och inte vilken analysmetod som nyttjats för de olika variablerna under tidsperioden.

LFs vattenprover har analyserats vid Institutionen för vatten och miljö vid SLU, Uppsala sedan miljöövervakningens start men för både GT och RF har olika laboratorier nyttjats under olika tidsperioder¹ (Tabell 2). För en sammanställande beskrivning över vilket laboratorium som använts under vilken tidsperiod för avrinningsområdena se Figur 2.1. Utefter årens gång har dessutom analysmetoden för respektive variabel ändrats i takt med att nyare och bättre teknik tagits i bruk, vilket inte illustreras i varken Tabell 2 eller Figur 2.1.

Tabell 2. Laboratorier för analys av vattenprover från GT, RF och LF, under olika perioder. Samtliga laboratorier tillhör SLU och återfinns vid Institutionen för vatten och miljö (Uppsala), Institutionen för skoglig marklära (Garpenberg), Institutionen för skoglig marklära (Uppsala), Institutionen för ståndortslära (Umeå) och Ekologiskt miljövärdscentrum (Uppsala).

Laboratorium	Gusseltjärn	Risfallet	Lill Fämtan
Institutionen för vatten och miljö SLU, Uppsala	1987-10 – 1992-12	-	1986 – 2016
Institutionen för skoglig marklära SLU, Garpenberg	1994-05 – 1996	1991 – 1995	-
I Institutionen för skoglig marklära SLU, Uppsala	1996 – 2013	1997 – 2013	-
Institutionen för ståndortslära SLU, Umeå	-	1986 – 1990	-
Ekologiskt miljövärdscentrum SLU, Uppsala	1982 – 1987-09	-	-

¹ Muntlig källa prof. Lars Lundin.

För att undersöka huruvida frysning av vattenprover påverkar vattenkemiska variabler valdes i början 14, både organiska och oorganiska, variabler ut vilka är vanligt förekommande inom forskning och miljöövervakning och som beskriver vattnens status. Dessa ämnen var: aluminium (Al), acid neutralizing capacity (ANC), klorid (Cl), kalcium (Ca), järn (Fe), konduktivitet (EC), natrium (Na), ammoniumkväve (NH₄-N), nitratkväve (NO₃-N), organiskt kväve (N-Org), pH, kisel (Si), sulfat (SO₄) och totalfosfor (P-tot). Vid början av projektet erhöles miljöövervakningsdata över vattenkemiska variabler från GT, LT och RF. För att på ett överskådligt vis tydliggöra data skapades en databas med samtliga vattenkemiska variabler som skulle analyseras för varje avrinningsområde. Data delades in i tre faser utifrån om vattenprovet varit fryst eller ej; Fas I: från januari 1982 till september 1987; Fas II: från oktober 1987 till december 1992; Fas III: från maj 1994 till juni 2012. Under Fas I och III hade inga vattenprover frysts för något av avrinningsområdena, däremot för Fas II har vattenprover frysts ned för GT men inte för RF eller LF. För varje avrinningsområde sågs samtliga faser som stickprovpopulationer där det föreligger en viss korrelation mellan varje enskilt stickprov (Helsel & Hirsch, 1992).

Data harmoniserades i databasen så att data för varje ämne hade samma enhet för de tre stationerna. Detta för att få data jämförbara mellan avrinningsområdena. För variablerna såsom Al, Cl, Fe, NH₄-N, NO₃-N, Org-N, Si och SO₄ användes mg/l medan kationerna Na och Ca omvandlades till mekv/l. För RF och GT beräknades ANC vilket är data LF redan hade. ANC beräknades genom att addition av kationerna Ca²⁺, Na⁺, Mg²⁺ och K⁺ varpå summan subtraherades med summan anjoner SO₄²⁺ och Cl⁻. Enheten för samtliga variabler är mekv/l. Vanligtvis räknas även ammoniumkoncentrationen till kationerna och nitrit- och nitratkoncentrationerna till anjonerna men då båda variablernas koncentrationer var låga och de uteslöts därför från ANC-beräkningarna (Eriksson *et al.*, 2011). Data över konduktivitet omvandlades från mS/m till µS/cm. Gällande data över ammoniumkväve för LF betecknades några stickprovsvärden med tecknet ”mindre än” (<). För att kunna använda sig av dessa värden i uppsättningen av statistiska modeller beräknades ett korrigerat värde för dessa stickprov genom att dividera värdet med två. Detsamma gällde för ett fåtal av LFs nitratkvävevärden.

Gällande nitratkvävekoncentrationerna för samtliga avrinningsområden så har nitratkoncentrationen analyserats tillsammans med vattnets nitritkoncentration. Nitrit (NO₂) är en instabil mellanprodukt som bildas både vid nitrifikation och denitrifikation (Eriksson *et al.*, 2011). Koncentrationen nitrit är således låg och kan försummas i näringsfattiga vatten, vilket är fallet för avrinningsområdenas

vatten. Därför ansågs summan nitrit-och nitratkväve representativ för endast nitratkvävekoncentrationerna. Gällande rådata över organiskt kväve för LF presenterades data i kolumner utefter analysmetod; från 1986 fram tills 2006-12-10 analyserades vattenproverna genom persulfatmetoden och från och med 2007-01-13 analyserades totalkväve genom TNb-metoden (Wallman *et al.*, 2009). Då analysmetoden hade förändrats i de flesta laboratorier, och för de flesta variablerna, under tidsperiodens gång sammanfogades data över organiskt kväve för LF för att få en sammanhängande tidsserie över halterna organiskt kväve.

2.2 Statistisk analys och tillvägagångssätt

För att undersöka om frysningen haft någon effekt på GT vattenkemiska variabler användes Mixed model (JMP Pro 12), vilket är en linjär regressionsmodell med LF och RF som referenser och fryst/icke-fryst som kategorier. För generell beskrivning av modellen som nyttjas se *Ekvation 1*. R beskriver den referens som nyttjats (antingen LF eller RF) och bFrozen[Y] beskriver residualen som helt enkelt testats på om provet varit fryst respektive icke fryst. Modellerna används för att prediktera värdena under frysningsperioden för GT och sedan undersöka huruvida dessa värden skilde sig från de faktiskt uppmätta, analyserade frysta värdena. Modellen grundas på metoden kalibreringsperiod och kontrollområde vilken nyttjats i flera studier (Löfgren *et al.*, 2009 och Lundin & Bergquist, 1990). För varje variabel sattes två linjära modeller upp, en där RF agerade referens (Modell GT-RF) och den andra där LF agerade referens (Modell GT-LF). Vid modeller baserade på data från GT och RF analyserades Fas I (icke fryst) och Fas II (GT fryst) och för modeller som baserades på data från GT och LF analyserades Fas II (GT fryst) och Fas III (icke fryst).

$$GT = k + aR + bFrozen[Y] \quad (\text{Ekv. 1})$$

Data analyserades genom att sätta upp en Mixed model för varje vattenkemisk variabel. Modellen är en anpassad linjär regressionsmodell där hänsyn togs till att data utgörs av tidsserier och att det därmed föreligger korrelation mellan mätvärden som insamlats vid närliggande provtagningstillfällen. Datumet för provtagningstillfället användes för att korrigera för detta genom att använda funktionen ”Repeated structure” och ”Spatial power” som ger lägre vikt till värden som insamlats med stora tidsmellanrum. Analysen genomfördes endast på data från de månader då provtagningar utförts i de båda jämförda avrinningsområdena. Detta eftersom tidsserierna innehöll sporadiska dataluckor. Således rensades de månader bort för GT-RF och GT-LF som inte stämde överens med varandra. De månader

som behövs var de som tidsmässigt låg närmast varandra, vanligen resultat från provtagningen som utförts i mitten av månaden. Detta resulterade i varierande stickprovsstorlekar, men generellt varierade modellen GT – RF för Fas I mellan 10 och 11 vattenprover och för Fas II runt 34-36 vattenprover. För GT-LF var stickprovsstorlekarna för Fas II och III lika stora, mellan 61-62 stycken stickprov för vardera fas och variabel. Se *Tabell 3* för en överblick över vilka tidpunkter data hämtats ifrån och för respektive variabel.

Vid analys av konduktivitet plockades en outlier bort (75,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$) vilken skilde sig markant från resterande värden och kraftigt påverkade modellresultatet. Värdet representerar provtagningen i GT 1995-10-16 och således påverkade outliern endast modellen GT-LF. Eftersom de olika avrinningsområdenas vattenprover analyserats av olika laboratorier, under olika tidsperioder med olika analysmetoder, varierade noggrannheten i antalet värdesiffror för de olika variabelernas värden. För att modellerna inte skulle påverkas av de analysresultat som redovisats med högst noggrannhet så avrundades de till att matcha antalet siffror från analysresultaten med lägst noggrannhet.

Regressionsanalys kräver normalfördelade residualer, vilket inte uppfylldes för flertalet av modellerna. För de modeller där residualerna ej var normalfördelade logaritmerades värdena och modellen kördes igen. Inte heller logaritmerade data uppfyllde ovannämnda krav, men för många variabler var residualerna nästintill normalfördelade varpå normalfördelning antogs. Residualernas normalfördelning testades med funktionen goodness of fit i JMP.

Tabell 3. Stickprovsstorlekar indelade utifrån vardera modell (GT-RF och GT-LF) som nyttjats för att analysera varje enskilda variabel. Tidsperioden från vilken data är hämtad finns också beskriven.

Variabel	Fas	Modell GT-RF		Fas	Modell GT-LF	
		Tidsperiod	Stickprov Antal		Tidsperiod	Stickprov Antal
Al	I	1986-11 – 1987-09	11	II	-	-
	II	1987-10 – 1990-12	35	III	-	-
ANC	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	34	III	1994-05 – 1992-12	62
Ca	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	36	III	1994-05 – 1992-12	62
Cl	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	36	III	1994-05 – 1992-12	62
EC	I	-	-	II	1987-10 – 1992-12	61
	II	-	-	III	1994-05 – 1992-12	62
Fe	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	34	III	1994-05 – 1992-12	62
Na	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	35	III	1994-05 – 1992-12	62
NH ₄ -N	I	1986-11 – 1987-09	10	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	36	III	1994-05 – 1992-12	62
NO ₃ -N	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	35	III	1994-05 – 1992-12	62
N-Org	I	1986-11 – 1987-09	10	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	34	III	1994-05 – 1992-12	62
pH	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	36	III	1994-05 – 1992-12	62
Si	I	-	-	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	-	-	III	1994-05 – 1992-12	62
SO ₄	I	1986-11 – 1987-09	11	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	1987-10 – 1990-12	35	III	1994-05 – 1992-12	62
P-tot.	I	-	-	II	1987-10 – 1992-12	62
	II	-	-	III	1994-05 – 1992-12	62

Förutom analys av existerande data har en tillhörande litteraturstudie genomförts för att undersöka vad tidigare gjorda studier kommit fram till. Litteratursökningar har huvudsakligen gjorts genom vetenskapliga och akademiska sökmotorer såsom Google Scholar, Web of Science och Scopus. Därtill har statliga källor och organ nyttjats.

3 Resultat

För presentation, och även analys av resultaten från de uppsatta modellerna för respektive variabel, valdes de modeller ut där residualerna varit normalfördelade eller så nära normalfördelningen att de kan antas normalfördelade. Därtill valdes de modeller där korrelationen mellan avrinningsområdena varit så stor som möjligt. Fördelaktigt, i den mån möjlig utifrån ovannämnda krav, valdes resultaten från modellerna uppsatta med data från Gusseltjärn och Lill-Fämtan (GT-LF) då stickprovsstorlekarna dels var jämnstora men dels också större än för modellerna som baserades på data från Gusseltjärn och Risfallet (GT-RF). Resultaten presenteras utifrån varje vattenkemisk variabel, som har analyserats tillsammans med vilken modell som använts. För varje variabel användes den uppsatta modell för att beräkna ut de predikterade värdena för de prover vilka frysts ned. För såväl predikterade som faktiskt uppmätta koncentrationerna beräknades medelvärde, median och standardavvikelse vilka presenteras i *Tabell 4*.

För att statistiskt påvisa skillnader i koncentration mellan frysta och icke-frysta prover sattes signifikansnivån till $\alpha < 0,05$.

Tabell 4 Medelvärde, median, standardavvikelse och signifikansgrad för samtliga vattenkemiska variabler. U beskriver koncentrationen för de uppmätta frysta proverna och P för de predikterade ofrysta koncentrationerna. Signifikansgraden beskrivs som saknas - (där modellen inte kunde köras) och * (där * = 0,01, ** = 0,001 och *** = 0,0001)

Variabel	Modell	Medelvärde	Median	Standardavvikelse	Signifikansnivå
Al (mg/l)	U	0,055	0,055	± 0,006	0,1149
	P	0,071	0,069	± 0,013	
ANC (mekv/l)	U	0,086	0,085	± 0,020	0,1125
	P	0,079	0,080	± 0,010	
Fe (mg/l)	U	0,126	0,130	± 0,043	0,8193
	P	-	-	-	
Ca (mekv/l)	U	0,076	0,075	± 0,011	0,1702
	P	0,077	0,077	± 0,001	
Cl (mg/l)	U	0,980	0,975	± 0,225	0,0676
	P	1,039	1,040	± 0,080	
EC (µS/cm)	U	19,2	19,1	± 2,5	-
	P	-	-	-	
Na (mekv/l)	U	0,060	0,060	± 0,008	0,0888
	P	0,060	0,060	± 0,003	
NH ₄ -N (mg/l)	U	0,004	0,003	± 0,002	-
	P	-	-	-	
NO ₃ -N (mg/l)	U	0,028	0,017	± 0,028	-
	P	-	-	-	
N-Org (mg/l)	U	0,141	0,135	± 0,040	-
	P	-	-	-	
pH (enheter)	U	6,03	6,01	± 0,31	***
	P	5,83	5,80	± 0,10	
Si (mg/l)	U	0,062	0,040	± 0,078	-
	P	-	-	-	
SO ₄ (mg/l)	U	3,026	3,120	± 0,785	***
	P	3,330	3,330	± 0,351	

3.1 Aluminium

För aluminium valdes modellen med data från Gusseltjärn och Risfallet, Fas I och Fas II. Modellen visar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i aluminiumkoncentration mellan frysta och icke-frysta vattenprover (Tabell 5). Residualerna är normalfördelade.

Tabell 5. Resultaten från modellen GT-RF, jämförelse mellan Fas I och Fas II. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (RF) och om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	0,055	0,008	<,0,001*	0,038	0,071
RF	0,136	0,053	0,0137*	0,029	0,243
Frozen[Y]	-0,009	0,006	0,1149	-0,020	0,002

3.2 ANC

För ANC valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för icke-logaritmerade värden var approximativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i ANC-koncentrationen mellan frysta och icke frysta vattenprover (Tabell 6).

Tabell 6. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover (Frozen [Y]). * signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	0,074	0,005	<,0,001*	0,065	0,084
LF	0,549	0,212	0,0107*	0,130	0,970
Frozen [Y]	0,006	0,004	0,1125	-0,002	0,014

3.3 Järn

Modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III väljs för analys av järn. Residualerna för de logaritmerade värdena var approximativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i koncentrationen järn mellan frysta och icke frysta vattenprover (Tabell 7).

Tabell 7. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	-0,669	0,074	<,0001*	-0,815	-0,523
LF	0,561	0,143	0,0002*	0,277	0,844
Frozen [Y]	-0,006	0,024	0,8193	-0,056	0,045

3.4 Kalcium

För kalcium valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för icke-logaritmerade värden var approximativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i kalciumkoncentration mellan frysta och icke frysta vattenprover. Det förelåg inget samband mellan kalciumhalterna i GT och LF (Tabell 8).

Tabell 8. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och om det föreligger någon skillnad mellan frysta och icke-frysta prover (Frozen [Y]). *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	0,073	0,006	<,0001*	0,061	0,085
LF	0,169	0,194	0,3873	-0,219	0,560
Frozen[Y]	-0,003	0,002	0,1702	-0,007	0,001

3.5 Klorid

För klorid valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för klorids logaritmerade värden var approximativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i kloridkoncentration mellan frysta och icke frysta vattenprover (Tabell 9). En viss tendens till att frysningen medförde lägre halter kan dock spåras i och med att signifikansen låg strax över 0,05.

Tabell 9. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och hur om det föreligger någon skillnad mellan frysta och icke-frysta prover (Frozen [Y]). *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	0,708	0,109	<,0001*	0,491	0,925
LF	0,481	0,160	0,0033*	0,164	0,800
Frozen[Y]	-0,060	0,031	0,0676	-0,124	0,005

3.6 Konduktivitet

För analys av konduktiviteten valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för konduktivitetens logaritmerade värden var approxi-

mativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det föreligger en signifikant skillnad i koncentration av konduktivitet mellan frysta och icke frysta vattenprover. Korrelation mellan GT och LF konduktivitetvärden saknas (Tabell 10).

Tabell 10. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och hur om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	19,204	0,981	<,0001*	17,261	21,147
LF	-0,034	0,042	0,4314	-0,118	0,049
Frozen[Y]	0,785	0,372	0,00476*	0,009	1,560

3.7 Natrium

För analys av natrium valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för natriums icke-logaritmerade värden var approximativt normalfördelade. Modellen uppvisar att det inte föreligger någon signifikant skillnad i natriumkoncentrationen mellan GT frysta och icke frysta vattenprover (Tabell 11). En viss tendens till att frysningen medförde lägre halter kan dock spåras i och med att signifikansen låg strax över 0,05.

Tabell 11. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och hur om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	0,044	0,006	<,0001*	0,032	0,056
LF	0,413	0,150	0,0078*	0,113	0,712
Frozen[Y]	-0,003	0,001	0,0888	-0,005	0,0004

3.8 NH₄-N, NO₃-N och N-Org

Residualerna för ammoniakkväve, nitratkväve och organiskt kväve var varken normalfördelade eller kunde approximeras normalfördelade, varpå kravet för att kunna genomföra en linjärregressionsanalys faller. Detta gällde både logaritmerade och icke-logaritmerade värden. Således erhöles inga resultat och inga uttalanden kan göras gällande skillnader mellan frysta och ofrysta vattenprover. Att modellerna inte lämpade sig för analys av kvävehalterna beror troligtvis på att

vattnen är kvävefattiga och att analysmetodens lägsta detektionsnivå var för hög vilket resulterade i låg variation av kvävehalter.

3.9 pH

För analys av pH valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. För de icke-logaritmerade värdena var residualerna normalfördelade. Modellen påvisar att det föreligger signifikant skillnad i pH-värde mellan frysta och icke frysta vattenprover. I GT leder frysningen till att pH i snitt blir 0,21 enheter högre (Tabell 12).

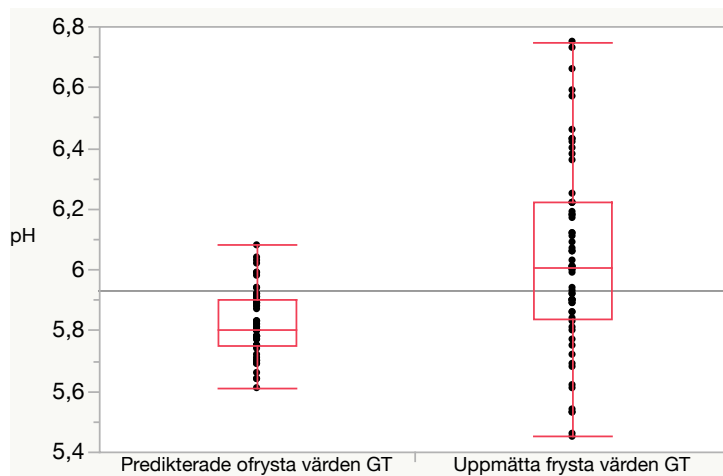
Tabell 12. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och hur om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	4,020	0,443	<,0001*	3,144	4,900
LF	0,391	0,095	<,0001*	0,203	0,580
Frozen[Y]	0,205	0,034	<,0001*	0,135	0,275

För varje fryst vattenprov i GT pH predikteras enligt följande formel:

$$GT = 4,020 + LF \times 0,391 + Frozen[Y] \times 0,205$$

De predikterade icke-frysta proverna presenteras i Figur 3.9.



Figur 2.9. Predikterade ofrysta och uppmätta frysta pH-värden för GT. Predikterade värden baseras på modellen GT-LF.

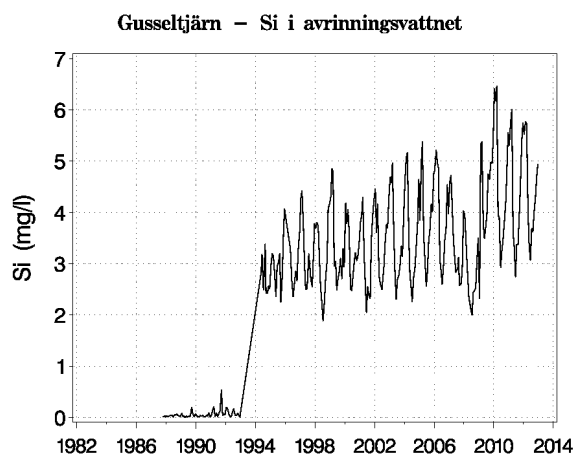
3.10 Totalfosfor

För analys av totalfosfor valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna var varken normalfördelade för logaritmerad och icke-logaritmerad data och kunde heller inte anses approximativt normalfördelade. Kravet för att kunna analysera data med en linjär regressionsmodell faller och därför kan inga uttalanden göras över om frysningen påverkat P-tot koncentrationen.

3.11 Kisel

Modellen, vilken nyttjar data från GT och RF, kunde inte köras då kisel inte mätts under Fas I i GF. För modellen vilken använder sig av data från GT och LF var varken logaritmerade eller icke-logaritmerade värden normalfördelade och inte heller kunde normalfördelning antas då residualerna låg för långt ifrån normalfördelning. Kravet för att kunna använda en linjär regressionsmodell faller och således kan inga uttalanden göras över huruvida frysningen av GT vattenprover påverkat kiselhalten.

Genom att analysera Si-data grafiskt är det dock rimligt att tro att de frysta proverna har påverkats (se *Figur 3.11*).



Figur 3.11. Si koncentrationen i GT, där frysning av prover skett mellan 1986-10 – 1993-12. (Graf: Torbjörn Nilsson, SLU)

3.12 Sulfat

För analys av sulfat valdes modellen med data från GT och LF, Fas II och Fas III. Residualerna för icke-logaritmerade värden var ej normalfördelade men låg till-

räckligt nära för att normalfördelning skulle kunna antas. Modellen påvisar att det föreligger statistisk signifikant skillnad i sulfatkoncentration mellan frysta och icke frysta vattenprover. I GT var sulfathalten i snitt 0,30 mg/l lägre i de frysta än i de ofrysta proverna (Tabell 13).

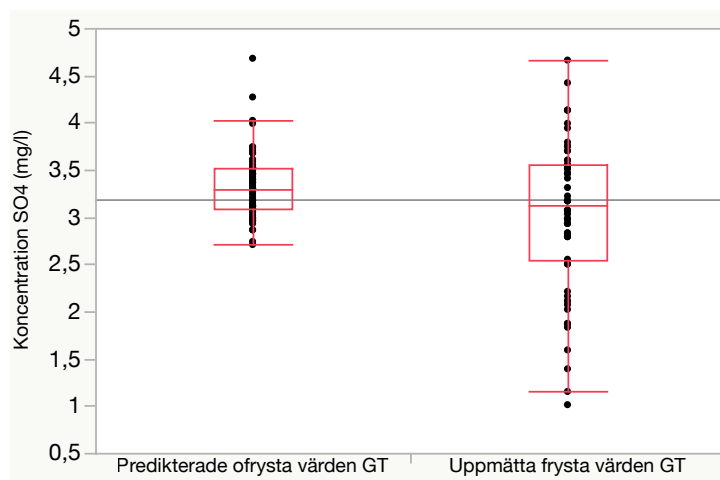
Tabell 13. Resultaten från modellen GT-LF, jämförelse mellan Fas II och Fas III. Termerna som modellen beskriver är ekvationens intercept, korrelationen mellan referensavrinningsområdet (LF) och om det föreligger någon skillnad mellan frysta (Frozen [Y]) och icke-frysta prover. *signifikant skillnad mellan avrinningsområdena föreligger.

Term	Estimate	Std. Error	Prob> t	95% Lower	95 % Upper
Intercept	1,300	0,320	<,0001*	0,664	1,930
LF	0,651	0,115	<,0001*	0,425	0,878
Frozen[Y]	-0,302	0,077	0,0002*	-0,454	-0,149

För varje fryst vattenprov i GT sulfatkoncentrationen predikteras enligt följande formel:

$$GT = 1,300 + LF \times 0,651 - 0,302 \times \text{Frozen}[Y]$$

Ekvationen användes för att beräkna predikterade, icke frysta värden och dessa värden presenteras i Figur 3.12.



Figur 3.12. Predikterade ofrysta och uppmätta frysta SO_4 -värden (mg/l) för GT. Predikterade värden baseras på modellen GT-LF.

4 Diskussion

En av de största utmaningarna med denna studie har varit att använda sig av data vilken inte är upplagt som ett försök. Genom att inte ha några referensdata från tidpunkten för provtagning introduceras flera osäkerhetsaspekter vilka måste tas i beaktning vid tolkning av resultaten. Vid statistisk analys av sulfat och pH användes modellen GT-LF, vilket medför att för Fas II analyserades data av samma laboratorium, dock inte med samma analysmetod (Sveriges Lantbruksuniversitet, 2016). För Fas III har dessvärre inte samma laboratorium använts, och spekulativt kanske inte heller samma analysmetod. Huruvida förändringen i genomsnittliga värden hos de båda variablerna beror på frysning eller analysmetodsbyte kan den här studien inte svara på. Detsamma gäller för natrium och klorid, även om dess skillnader inte var signifikanta. Även om modellen GT-RF hade nyttjats hade samma problem kvarstått och därtill har Fas II analyserats av olika laboratorier. Därför kan inte denna studie svara på om det faktiskt är frysningen som haft någon effekt på vattenkemin eller om det är byte av analysmetod som är orsaken till de statistiskt signifikanta förändringarna som ses hos variablerna sulfat och pH. Likaså kan inte heller denna studie svara på om byte av laboratorium påverkar vattenkemiska tidsserier eller inte då den effekt som ses kan bero på frysning.

Låt oss leka med tanken att samma laboratorium, med samma analysmetod, faktiskt hade analyserat samtliga vattenprover för de tre avrinningsområdena. Av samtliga analyserade variabler har pH-värdet och sulfatkoncentration påverkats genom långvarig nedfrysning av vattenproverna. pH-värdet för de frysta vattenproverna beräknades till att signifikant bli 0,21 enheter högre än för de icke frysta proverna. Det finns rekommendationer om att analys av pH bör göras omgående efter insamling av vattenprover för att förhindra att det sanna värdet ska påverkas av diverse faktorer (Emteryd, 1989). Likaså säger ISO-standard 5667-3 att konservering av vattenprover med avseende på att analysera pH ska ske genom nedkylning till 2-5°C och inte frysning och analyseras inom 24 timmar. Att frysningens effekter påverkat pH är därför en rimlig slutsats. Gällande sulfathalten, sågs en signifikant minskning på 0,30 mg/l för de frysta vattenproverna i förhållande till

de icke frysta vattenproverna. Liknande rekommendationer för omgående analys finns dock inte för sulfat men även här ska konservering av provet ske genom nedkylning och inte frysning, enligt ISO 5667-3. En möjlig tanke till varför dessa förändringar skett skulle kunna bero på olika snabb förändring i sulfatdeposition över avrinningsområdena vilket ska ha kunnat påverka modellen. Sulfatdepositionen har över tiden minskat i Sverige (Zetterberg *et al.*, 2007). Eftersom modellen nyttjat data som täcker ett längre tidsspänn är det dock möjligt att tänka sig att detta påverkat modellen och varför det också då föreligger signifikanta skillnader mellan frysta och predikterade mätvärden. För de ämnen vilka statistisk analys fullständigt kunde genomföras på sågs inga signifikanta skillnader mellan de nedfrysta och icke nedfrysna proverna. Värt att nämna är dock att för både natrium och klorid sågs en tendens till påverkan, p-värde på 0,0888 respektive 0,0676, vilket alltså är en tendens till minskning av värden hos båda variablerna. 1993 skedde en kraftig havssaltsdeposition över huvudsakligen de södra delarna av Sverige (Zetterberg *et al.*, 2007). Eftersom modellerna som nyttjats för både Na och Cl använt sig av data som insamlats under denna period skulle detta vara en möjlig förklaring till att en tendens till påverkan setts. Att kvävehalter, varken i form av nitratkväve, ammonium och organiskt kväve, kunde analyseras beror troligtvis på att samtliga vatten är näringsfattiga och använd analysmetod plockade inte upp de faktiska värdena på grund av en för hög lägsta detektionsnivå. Nästintill alla uppmätta värden hamnade därför på samma nivå (runt 0,02 mg/l) och den minsta avvikelse från detta värde störde modellen så pass kraftigt att residualerna varken var eller kunde anses normalfördelade. Om de förändringar som sågs för pH och sulfat (och tendens till förändring för natrium och klorid) faktiskt beror på frysningens effekter eller om det beror på byte av laboratorium kan den uppsatta modellen, som tidigare nämnts, inte svara på.

Det faktum att olika laboratorier analyserat vattenproverna spelar roll. Att analysmetoden förändrats tack vare introduktion av nyare och modernare teknik är redan en aspekt vilket påverkar data, även om laboratoriet inte förändras. Därtill introduceras dessutom den mänskliga faktorn som en till parameter att beakta; insamlingsrutiner och teknik förändras med tiden och rutinerna kan ha förändrats på själva laboratoriet och även om personalen är utbildad kan kompetensen förändras (Wahlin & Grimvall, 2008). Även om analyser genomförs av ackrediterade laboratorier skiljer sig samtliga rutiner och analyser. Alla dessa aspekter måste beaktas vid tolkning av resultaten. Den exakta analysmetoden för varje variabel, under periodens gång hos de olika laboratorierna har dock inte gått att ta redan på (förutom från Institutionen för vatten och miljö och Institutionen för mark och vatten, SLU) då exempelvis Ekologiskt miljövärdscentrums laboratorium inte längre finns kvar idag. Ett annat problem som detta dataset dessutom tillför är att tidpunkten för provinsamlingen inte skett på samma dag för de flesta av provtag-

ningarna. Även om provtagningen skett så nära i mitten på månaden som möjligt så inför man trots det en till osäkerhet då jämförelsen av vatten har skett genom parvis jämförelse. Därtill existerar inte endast sporadiska bortfall av data för någon månad utan Gusseltjärn saknar helt data hela år 1993 fram tills maj 1994, vilket gör att det blir en lucka i tiden mellan de prover som frysts ned och de som analyserats omgående därefter. Detta är av betydelse eftersom vattenkemiska variabler är beroende av varandra.

Gällande den kraftigt förändrade kiselhalten i GT under Fas II (*Figur 3.11*) är det rimligt att tro att frysningen kan ha haft en påverkan på variabelns koncentration. Modellen GT-LF visade på signifikanta skillnader mellan frysta och icke frysta prover men då korrelationen mellan vattnen inte var signifikant går detta resultat inte att lita på. I enlighet med tidigare utförda studier (Salley *et al.*, 1986) fann man att kiselkoncentrationen var lägre för de prover som frysts in i jämförelse med de prover vilka analyserats omgående efter insamling. Därför är det rimligt att tro att frysningen faktiskt påverkat kiselkoncentrationerna, även om detta inte kan statistiskt bekräftas.

Eftersom denna studie inte kan skilja på effekten mellan frysning av vattenprover från effekten av laboratoriebyte kan därför inga av frågeställningarna besvaras. Däremot kan möjligen konstateras att skillnader i analysresultat för ofrysta och frysta prov varit relativt liten varför effekter av frysning och/eller byte av laboratorier inte är allt för stora.

5 Slutsats

Denna studie har inte kunnat påvisa om frysning av vattenprover påverkat vattenkemin. Det studien har kunnat påvisa är att sulfatkoncentrationerna minskade och pH-värdet ökade, och resterande vattenkemiska variabler förblev opåverkade, för de prover som frysts ned. Om förändringen i dessa två parametrar är orsakade av frysningens effekter eller om de beror på byte av laboratorier, eller naturliga fluktuationer mellan avrinningsområden, kan dessvärre inte klargöras. För att upprätthålla långa tidsserier med korrekt data bör därför analys av vattenprover ske omgående och att analysen sker vid samma laboratorium under hela tidsseriens gång. För att kunna utvärdera frysningens effekter krävs att data är upplagt som ett försök. Förslagsvis skulle vattenprover samlas in parallellt där det ena provet analyseras omgående samtidigt som det andra provet fryses in. Även i detta fall bör analysen av vattenproverna utföras av samma laboratorium och med samma analysmetod.

Det som skulle kunna konstateras är att skillnader mellan frysta och icke frysta prover har varit relativt liten. Därför bör inte den potentiella effekten av frysning och/eller byte av analysmetod resultera i att Gusseltjärns vattenkemiska tidsseries anses som en olämplig referens vid framtida skogsrelaterade studier.

Referenslista

- Avanzino, R. J. & Kennedy, V. C. (1993). Long-term frozen storage of stream water samples for dissolved orthophosphate, nitrate plus nitrite, and ammonia analysis. *Water Resources Research*, 29(10), pp 3357–3362.
- Bergqvist, E. & Grip, H. (1975). *Gusselbäckstationen - En konstruktion för noggrann och störningsfri avrinningsmätning*. Uppsala: Swedish Coniferous Forest project. (Internal Report; 33).
- Emteryd, O. (1989). *Chemical and physical analysis of inorganic nutrients in plant, soil, water and air*. Umeå: Institutionen för skoglig ståndortslära. (ISSN 0280-9168).
- Eriksson, J., Dahlin, S., Nilsson, I. & Simonsson, M. (2011). *Marklära*. Lund: Studentlitteratur. ISBN 978-91-44-06920-3.
- Helsel, D. R. & Hirsch, R. M. (1992). *Statistical methods in water resources*. 1 ed. Amsterdam. (Hydrologic Analysis and Interpretation; 4). ISBN ISBN 0444885285.
- Lundin, L. & Bergquist, B. (1990). Effects on water chemistry after drainage of a bog for forestry. *Hydrobiologia*, 196(2), pp 167–181.
- Lundin, L. & Nilsson, T. (2014). Initial effects of forest N, Ca, Mg and B large-scale fertilization on surface water chemistry and leaching from a catchment in central Sweden. *Forest Ecology and Management*, 331, pp 218–226.
- Löfgren, S., Ring, E., von Brömssen, C., Sørensen, R. & Högbom, L. (2009). Short-term Effects of Clear-cutting on the Water Chemistry of Two Boreal Streams in Northern Sweden: A Paired Catchment Study. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 38(7), pp 347–356.
- Marklund, H. (2004). Handledning för miljöövervakning - Vattenkemi i vattendrag, Version 1:2 (2004-01-16). Naturvårdsverket. Available from: <http://www.naturvardsverket.se/upload/stod-i-miljoarbe-be-tet/vagledning/miljoovervakning/handledning/metoder/undersokningstyper/tidigare%20versioner/vattenk-v-v1-2.pdf>. [Accessed 2017-05-24].
- Mitchell, N. L. & Lamberti, G. A. (2005). Responses in dissolved nutrients and epilithon abundance to spawning salmon in southeast Alaska streams. *Limnology and Oceanography*, 50(1), pp 217–227.
- Naturvårdsverket (2007). Beskrivning av delprogrammet Trendvattendrag. Naturvårdsverket. Available from: <https://www.havochvatten.se/download/18.64f5b3211343cffddb280006189/1348912811403/Beskrivning+av+delprogrammet+Trendvattendrag.pdf>.
- Rochelle-Newall, E. J. & Fisher, T. R. (2002). Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. *Marine Chemistry*, 77(1), pp 23–41.

- Salley, B. A., Bradshaw, J. G. & Nielson, B. J. (1986). *Results of comparative studies of preservation techniques for nutrient analysis on water samples* [online]. Gloucester Point, Virginia: Virginia Institute of Marine Science.
- Snäll, T. *Regional övervakning av skogsområden i Dalarna*. Falun: : Länsstyrelsen i Dalarnas län. (Länsstyrelsen i Dalarnas, Miljöförvaltningsenheten, 1101-3044).
- Spencer, R. G. M., Bolton, L. & Baker, A. (2007). Freeze/thaw and pH effects on freshwater dissolved organic matter fluorescence and absorbance properties from a number of UK locations. *Water Research*, 41(13), pp 2941–2950.
- SS-EN ISO 5667-3 (1996). *Vattenundersökningar - Provtagning - Del 3: Riktlinjer för bevaring och hantering av vattenprover (ISO 5667-3:1994)*. Stockholm: SIS.
- Sveriges Lantbruksuniversitet, S. *Detaljerade metodbeskrivningar*. [online] (2016) (Externwebben). Available from: <http://www.slu.se/institutioner/vatten-miljo/laboratorier/vattenkemiska-laboratoriet/vattenkemiska-analysmetoder/beskrivningar/>. [Accessed 2017-06-13].
- United States Environmental Protection Agency (1982). *Handbook for Sampling and Sample Preservation of Water and Wastewater* [online]. Cincinnati OH 45268: Environmental Monitoring and Support Laboratory. (EP A-600/4-82-029).
- Vedin, H. & Raab, B. (1995). *Sveriges nationalatlas - Klimat, sjöar och vattendrag*. Stockholm: Sveriges Nationalatlas (SNA). (Sveriges nationalatlas). ISBN 97-87760-31-2.
- Wahlin, K. & Grimvall, A. (2008). Uncertainty in water quality data and its implications for trend detection: lessons from Swedish environmental data. *Environmental Science & Policy*, 11(2), pp 115–124 (Monitoring and modelling diffuse pollution from agriculture for policy support: UK and European experience.).
- Wallman, K., Löfgren, S., Sonesten, L., Demandt, C. & From, A.-L. (2009). *Totalkväveanalyser vid Institutionen för vatten och miljö* [online]. Uppsala. (2009:8).
- Zetterberg, T., Westling, O. & Moldan, F. (2007). *Försurningsepisoder i södra Sverige - Nuvarande omfattning och framtida betydelse* [online]. Stockholm: IVL Svenska Miljöinstitutet AB. (IVL Rapport B1676).

Tack

Jag skulle vilja tacka mina handledare, Lars Lundin och Stefan Löfgren. Båda har varit till stor hjälp och har på ett effektivt och lärorikt vis lotsat mig genom de svårigheter som uppkommit under arbetets gång. Jag vill även tacka Claudia von Brömsen för all tid och stöd hon lagt ned för att hjälpa mig och mina handledare med detta kandidatarbete. Hennes hjälp har verkligen varit ovärderlig. Ett sista tack går till Emma Mattsson och Johanna Rosenqvist för allt mentalt stöd och alla roliga stunder som verkligen satt guldkant på tillvaron under uppsatsskrivningens gång.