



GO-SHIP Repetir Hidrografía Manual de Nutrientes: El Preciso y Determinación Precisa de Disuelto Nutrientes inorgánicos en agua de mar, Uso del análisis de flujo continuo Métodos

Susan Becker^{1*}, Michio Aoyama^{2,3}, E. Malcolm S. Woodward⁴ Stephen , Karel Bakker^{5,6} ,
Coverly⁷, Claire Mahaffey⁸ and Toste Tanhua⁹

OPEN ACCESS

Editado por:
julieta hermes,
ambiental sudafricano
Red de Observación (SAEON),
Sudáfrica

Revisado por:
Ana M. Aguilar Islas,
Universidad de Alaska Fairbanks,
Estados Unidos
Eduardo Mawji,
Universidad de Southampton,
Reino Unido

*Correspondencia:
Susan Becker
sbecker@ucsd.edu

Sección de especialidades:
Este artículo fue enviado a
Ocean Observation, una
sección de la revista
Fronteras en Ciencias Marinas

Recibido: 09 julio 2020
Aceptado: 07 de octubre de 2020
Publicado: 30 de octubre de 2020

Citación:
Becker S, Aoyama M,
Woodward EMS, Bakker K,
Coverly S, Mahaffey C y Tanhua T
(2020) GO-SHIP Repetir hidrografía
Manual de nutrientes: el preciso
y Determinación Precisa
de Nutrientes Inorgánicos Disueltos en
Agua de Mar, Utilizando Métodos de Análisis
de Flujo Continuo.
Frente. Ciencia de marzo. 7:581790.
doi: 10.3389/fmars.2020.581790

¹ Institución Scripps de Oceanografía, UC San Diego, San Diego, CA, Estados Unidos, ² Instituto de Investigación para el Cambio Global (RIGC), Agencia Japonesa de Ciencias y Tecnologías Marinas y Terrestres (JAMSTEC), Yokosuka, Japón, ³ Centro de Investigación en Isótopos y Dinámica Ambiental (CRIED), Universidad de Tsukuba, Tsukuba, Japón, ⁴ laboratorio marino de plymouth, Plymouth, Reino Unido, ⁵ Departamento de Sistemas Oceánicos, Instituto Real de los Países Bajos para la Investigación del Mar (NIOZ), Den Burg, Países Bajos, ⁶ Universidad de Utrecht, Den Burg, Países Bajos, ⁷ BLTEC Korea Limited., Seúl, Corea del Sur, ⁸ Departamento de Ciencias de la Tierra, el Océano y Ecológicas, Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad de Liverpool, Liverpool, Reino Unido, ⁹ GEOMAR Centro Helmholtz de Investigación Oceánica Kiel, Kiel, Alemania

El manual de nutrientes GO-SHIP cubre todos los aspectos del análisis de nutrientes desde la recolección y el almacenamiento de muestras básicas, específicamente para el análisis de flujo continuo usando un analizador automático, y describe algunos métodos de nutrientes específicos para nitrato, nitrito, silicato, fosfato y amonio que están en uso. por muchos laboratorios que realizan análisis en el mar y repiten secciones de hidrografía en todo el mundo. La atención se centra en los analizadores de flujo segmentados, no en los analizadores de inyección de flujo. También cubre las mejores prácticas de laboratorio, incluidos los procedimientos de control y garantía de calidad (QC/QA) para obtener los mejores resultados, y sugiere protocolos para el uso de materiales de referencia (RM) y materiales de referencia certificados (CRM).

Palabras clave: nutrientes, mejores prácticas, GO-SHIP, metodología, materiales de referencia, hidrografía y trazadores

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de macronutrientes inorgánicos {nitrato (NO₃), fosfato (PO₄), ácido silícico [Si(OH)₄] comúnmente conocido como "silicato", amonio (NH₄) y nitrito (NO₂)} en las aguas oceánicas superiores frecuentemente limita y regula la cantidad de carbono orgánico fijado por el fitoplancton, constituyendo así un mecanismo clave de control del ciclo del carbono y biogeoquímico. Hay una serie de regiones biogeográficas en el océano abierto caracterizadas por diferentes regímenes de macronutrientes, que limitan el crecimiento del fitoplancton de forma permanente o estacional (Moore, 2016). La medición precisa de los cambios temporales en las concentraciones de macronutrientes es esencial para limitar la producción biológica neta y los flujos de exportación, detectar cambios en los regímenes biogeográficos y monitorear los fenómenos de eutrofización. Para el trabajo en mar abierto, el Programa de Investigaciones Hidrográficas Globales Ocean Ship-based (GO-SHIP) debe aspirar a una precisión analítica del 1%. (Talley et al., 2016; Sloyan et al., 2019) para permitir una cuantificación fiable de las tendencias decadales en el

océano profundo. Se ha logrado una consistencia interna de los datos de nutrientes del orden del 1% al 3% a través de procedimientos de control de calidad secundario (QC) implementados en los Proyectos GLODAP y CARINA (Tanhua et al., 2010).

El Estudio de Secciones Geoquímicas del Océano (GEOSECS) en la década de 1970 fue uno de los primeros esfuerzos para proporcionar un estudio global de trazadores químicos, isotópicos y radioquímicos en los océanos del mundo. Desde entonces ha habido numerosas colaboraciones internacionales para mapear y estudiar diferentes aspectos químicos, físicos y biológicos de los océanos. Estos programas incluyen el Estudio conjunto del flujo oceánico global (JGOFS) a finales de los años 80, el Experimento mundial de circulación oceánica (WOCE) a mediados o finales de los 90, y los programas globales actuales que incluyen Previsibilidad y variabilidad climática (CLIVAR), GEOTRACES y GO -BARCO. Además de estos grandes esfuerzos internacionales, sigue habiendo muchos otros programas dirigidos por laboratorios individuales y países para estudiar áreas y procesos específicos en los océanos del mundo, incluidas estaciones de series temporales oceánicas y transectos.

Todos estos esfuerzos han llevado a grandes estudios de síntesis de datos, incluido el dióxido de carbono en el océano Atlántico (CARINA, Key et al., 2010), el carbono interior del océano Pacífico (PACIFICA, Suzuki et al., 2013), GLODAPv1 (Key et al., 2004) y GLODAPv2 (GLODAPv2; Olsen et al., 2016, 2019). Estos estudios incluyen análisis de diferentes laboratorios internacionales. Es imperativo que los conjuntos de datos producidos por los diferentes laboratorios sean comparables, y que las diferencias en las concentraciones en el tiempo o el espacio sean reales y no artefactos de diferentes métodos, estándares o instrumentación. En un esfuerzo por verificar la comparabilidad de los conjuntos de datos de nutrientes, se han realizado varios ejercicios de comparabilidad entre laboratorios (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura UNESCO, 1965, 1967; Consejo Internacional para la Exploración del Mar [ICES], 1967, 1977; Kirkwood et al., 1991; Aminot y Kirkwood, 1995). Existen soluciones estándar de stock de nutrientes disponibles comercialmente, por ejemplo, OSIL1 y otros programas suministran soluciones estándar de stock que permiten a los laboratorios validar sus métodos (Topping, 1997). Sin embargo, se necesitaba un material de referencia para los nutrientes que permitiera a los laboratorios comparar y monitorear de cerca la calidad de los datos.

Ha habido estudios de comparación entre laboratorios que utilizan materiales de referencia, uno de los primeros fue MOOS certificado por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica/Consejo Nacional de Investigación de Canadá (NOAA/NRC). El Instituto de Investigación Meteorológica (MRI) de Japón ha liderado una serie más reciente de comparaciones internacionales entre laboratorios en 2003, 2006, 2008 y 2012 (Aoyama, 2006, 2010; Aoyama et al., 2007, 2008). La motivación de los ejercicios dirigidos por MRI fue el desarrollo de materiales de referencia para nutrientes en agua de mar (RMNS). En 2014/2015 y 2017/2018, el Proyecto Internacional de Coordinación del Carbono Oceánico (IOCCP) y la Agencia Japonesa para la Ciencia y Tecnología de la Tierra Marina (JAMSTEC) realizaron estudios de comparación entre laboratorios de CRM de nutrientes en el agua de mar. Estos dos ejercicios de intercomparación utilizaron MRC como muestras conocidas en 2014/2015 (Aoyama et al., 2016), o como muestras desconocidas.

muestras en 2017/2018. La disponibilidad y el uso de estos CRM ha sido fundamental para mejorar la comparabilidad global de los conjuntos de datos de nutrientes. Estos ejercicios recientes se llevaron a cabo como parte de los términos de referencia del grupo de trabajo internacional SCOR #147: Hacia la comparabilidad de los datos globales de nutrientes oceánicos (COMPONUT)2.

Los métodos analíticos y químicos básicos que se utilizan para determinar las concentraciones de nutrientes inorgánicos en el agua de mar están bien establecidos. Strickland y Parsons describieron los métodos manuales en su libro, "Un manual práctico de análisis de agua de mar" (Strickland y Parsons, 1972). Numerosos autores han cambiado, optimizado y automatizado los métodos químicos a lo largo de las décadas, pero la química básica sigue siendo la misma y se basa en reacciones colorimétricas. La excepción a esto son los métodos más nuevos para la determinación de amonio/amoniaco, que se basan en la fluorometría.

El nitrato se determina usando un procedimiento descrito por Armstrong et al. (1967), que implica pasar una muestra de agua de mar a través de una columna de reducción de cobre-cadmio donde el nitrato se reduce a nitrito. Luego, el nitrito se diazota con sulfanilamida y se acopla con diclorhidrato de N-1-naftil-etilendiamina (N-1-N/NEDD) para formar un colorante azo rojo, y la absorbancia se mide entre 520 y 540 nm.

El fosfato se determina agregando molibdato de amonio acidificado a la muestra de agua de mar para producir ácido fosfomolibdico, que luego se reduce a un complejo azul de fosfo-molibdeno luego de agregar sulfato de dihidracina (Bernhardt y Wilhelms, 1967), o ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962), que fue optimizado por Zhang et al. (1999). La absorbancia se mide entre 850 y 880 nm.

El silicato se analiza según dos métodos. El esquema del método en Armstrong et al. (1967) produce un ácido silicomolibdico con la adición de molibdato de amonio. A continuación, se forma un complejo de silicomolibdeno tras la adición de cloruro estannoso y se mide la absorbancia a aproximadamente 660 nm. Alternativamente, el método publicado en Grasshoff et al. (1983) utiliza ácido ascórbico para reducir el ácido silicomolibdico al complejo azul y la absorbancia se mide a aproximadamente 820 nm.

Hay dos métodos de amonio de uso común, colorimétrico y fluorométrico. El método colorimétrico utiliza la reacción de Berthelot e implica la reacción de hipoclorito y fenol con amonio en una solución alcalina para formar un compuesto de azul de indofenol. La absorbancia de la muestra se mide a aproximadamente 660 nm. Este método es una modificación del procedimiento de Grasshoff et al. (1983). Se desarrolló el método fluorométrico de alta sensibilidad que utiliza la difusión de amoniaco a través de una membrana de teflón con detección fluorométrica (Jones, 1991), pero resultó difícil obtener la membrana.

Una técnica simplificada que usa fluorometría pero sin el uso de una membrana, fue publicada por Holmes et al. (1999), que fue adaptado de Kerouel y Aminot (1997). En este método, la muestra de agua de mar se combina con un reactivo de trabajo que contiene ortoftaldialdehído (OPA), sulfito de sodio y tampón de borato, y se calienta a 75 °C. Fluorescencia proporcional a la

1<http://osil.com/>

2http://www.scor-int.org/SCOR_WGs_WG147.htm

la concentración de amonio se mide a partir de la emisión a 460 nm después de medir la excitación a 370 nm.

Los laboratorios comenzaron a utilizar CFA y Auto-Analyzers (AA) mediados de la década de 1970. Las dos formas principales de CFA son la inyección de flujo (FIA) y los analizadores de flujo segmentados por gas. Mientras que algunos laboratorios actualmente usan FIA para el análisis de nutrientes, la mayoría de los laboratorios globales que llevan a cabo análisis "en el mar" usan analizadores de flujo segmentados por gas. Este manual se centra principalmente en los métodos para los analizadores de flujo segmentados por gas.

El capítulo sobre análisis de nutrientes mediante análisis de flujo segmentado de Aminot et al. (2009) en "Pautas prácticas para el análisis de agua de mar" proporciona una excelente base para el análisis de flujo continuo. Recomendamos al lector revisar también este documento ya que contiene información útil sobre los aspectos técnicos del(de los) instrumento(s), la medición de nutrientes, así como detalles sobre las fuentes de error y contaminación. También hay un manual GO-SHIP anterior de Hydes et al. (2010) que puede ser referenciado.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Recolección de muestras Se debe

revisar la sección Descripción general de la adquisición de datos del manual GO-SHIP (Swift, 2010) para obtener detalles sobre las prácticas de muestreo de rosetas/botellas Niskin. Las muestras de nutrientes se deben recolectar de la roseta de conductividad temperatura profundidad (CTD)/botellas Niskin inmediatamente después de la recolección de muestras para gases disueltos. Esto puede ser un desafío si también se toman muestras de propiedades orgánicas o materiales biológicamente sensibles. Idealmente, las muestras se recogen en recipientes de plástico nuevos y estériles [polietileno de alta densidad (HDPE) o polipropileno (PP)] que luego encajarán directamente en el muestreador automático AA, o se submuestrearán en recipientes más pequeños. Los recipientes de muestra se pueden reutilizar si se siguen los procedimientos de limpieza adecuados entre estaciones. El uso de un nuevo contenedor de muestra podría producir una gran cantidad de desechos plásticos, especialmente en los cruceros de investigación hidrográfica de larga duración y estos impactos ambientales deben ser considerados.

Para el análisis de nutrientes en concentraciones micromolares (μM), es suficiente enjuagar los recipientes de muestra con agua ultrapura (agua destilada desionizada o de sistemas disponibles en el mercado) seguido de un enjuague con ácido clorhídrico al 10 % (HCl, 1,2 M). Esto detiene cualquier crecimiento biológico en las botellas de muestra. Luego, estos deben enjuagarse bien con agua ultrapura antes de la recolección del siguiente conjunto de muestras. No se deben usar recipientes de muestra de vidrio si se mide silicato. Si se miden concentraciones de nutrientes nanomolares, pueden ser necesarios otros procedimientos de limpieza y recolección de muestras (ver Becker et al., 2019).

Cuando tome muestras de agua de mar de las botellas de CTD/roseta, enjuague los recipientes de muestra limpios y las tapas tres veces antes de llenarlos. Evite tocar los grifos de muestreo de las botellas de CTD y tenga cuidado de enjuagar los grifos, así como los recipientes de muestras de nutrientes. Las muestras se pueden recolectar con el uso de un tubo de muestreo Tygon o de silicona. Si se utiliza un tubo de muestreo, enjuáguelo bien antes de salir a la roseta para tomar una serie de muestras y asegúrese de enjuagarlo con cada muestra de agua de mar antes de recolectar la muestra. Una vez enjuagado, llenar la muestra

recipientes dos tercios llenos y tapar inmediatamente. Las muestras deben analizarse después de que se hayan equilibrado a la temperatura ambiente del laboratorio. Si el análisis se demorará más de un par de horas (>2), almacene las muestras en un lugar oscuro y fresco, por ejemplo, en un refrigerador; sin embargo, las muestras deben volver a estar a temperatura ambiente antes del análisis. Entre los eventos de muestreo de CTD, es importante limpiar los tubos de muestreo con agua desionizada limpia y HCl al 10 %.

NB El humo del cigarrillo puede contaminar las muestras, especialmente por amonio y nitrato/nitrito, por lo que es imperativo prohibir fumar cerca del área donde se recolectan las muestras.

Del mismo modo, las personas que han estado fumando recientemente deben mantenerse alejadas de las muestras abiertas.

Filtrado y guantes Algunos laboratorios

filtran muestras de nutrientes, mientras que muchos otros laboratorios no lo hacen. En general, el filtrado no es necesario para las muestras tomadas en el océano abierto (sub)tropical, donde la carga de partículas es baja en estos entornos oligotróficos. La decisión de filtrar o no depende de la carga de partículas en el agua que se está muestreando. Por ejemplo, las muestras de entornos productivos o cercanos a la costa pueden requerir filtrado. En estos casos, se debe tener mucho cuidado de no contaminar las muestras durante el proceso de manejo y filtrado de las muestras. Los tubos de recogida de muestras, los portafilos y los filtros deben estar limpios y bien enjuagados con HCl al 10 % y agua ultrapura antes de la recogida de muestras. Los tipos de filtros utilizados para filtrar el agua de mar incluyen acetato de celulosa, membrana Gelman de polipropileno hidrofílico y filtros de jeringa Acrodisc (PALL). NO deben utilizarse filtros de fibra de vidrio (GFF) (contaminación por silicatos) o filtros de nitrato de celulosa (contaminación por nitratos). El tamaño del filtro es otra consideración, comúnmente se usa un filtro con un tamaño de poro de 0,45 μm , y en el pasado se consideraba el tamaño de filtro ideal para eliminar la mayoría de las partículas. Sin embargo, nuevos conocimientos de la microscopía y la genómica han determinado que un filtro de 0,45 μm no captura todas las bacterias y el fitoplancton. Un filtro de 0,2 μm es ahora el tamaño de filtro recomendado, y se recomienda la filtración por gravedad, baja presión o bajo vacío para evitar la ruptura de la celda y la contaminación de la muestra.

Es imperativo que se realicen pruebas para verificar que el método de filtrado, el tipo de filtro y el tamaño del filtro no conduzcan a la contaminación de las muestras. Otra técnica sencilla para minimizar las interferencias de partículas es centrifugar las muestras antes del análisis. En este caso, se recomienda que la muestra se coloque directamente en el muestreador, asegurándose de que la altura de la sonda de muestra sea tal que no extraiga nada del sedimento que ahora está en el fondo.

Los guantes son otra fuente de contaminación potencial. Nunca deben usarse guantes de neopreno ni de nitrilo coloreado para la toma de muestras de nutrientes; son una alta fuente de contaminación especialmente por nitrato, nitrito y amonio. Si se tiene cuidado, se puede recolectar una muestra limpia con las manos descubiertas sin el uso de guantes; sin embargo, se recomiendan encarecidamente los guantes de vinilo sin talco para usar en el laboratorio y para la recolección de muestras en el mar.

En general, es una buena práctica usar guantes cuando se toman muestras de agua y solo los científicos experimentados que confían en sus técnicas deben considerar tomar muestras sin guantes.

Asimismo, es importante que para cualquier procedimiento de muestreo (como el muestreo de gases) que se lleve a cabo antes del muestreo de nutrientes

de las botellas de CTD, entonces esos científicos también deben usar guantes que no contaminen los nutrientes (por ejemplo, vinilo sin polvo).

Conservación de muestras La mejor

práctica es analizar las muestras de nutrientes en el mar, poco después de que se recolecten, sin embargo, a menudo hay casos en los que el análisis de nutrientes en el mar no es posible o se retrasa por varias razones. Si el análisis se retrasará más de 24 h, las muestras deben conservarse. Existen muchos tipos diferentes de métodos de conservación, incluidos el envenenamiento, la acidificación, la pasteurización (Daniel et al., 2012) y la congelación. No recomendamos la acidificación (las muestras deberán neutralizarse antes del análisis) ni el envenenamiento de las muestras con cloruro mercurio (riesgo medioambiental). La congelación es el método más utilizado y existen estudios que demuestran que la congelación puede ser un método fiable de conservación de muestras (Aminot y Kerouel, 1995; Dore et al., 1996), siendo este el procedimiento recomendado.

Si se congelan muestras, es imperativo que haya suficiente espacio libre en las botellas para permitir la expansión del agua de mar.

Congele las muestras en posición vertical y verifique que las tapas estén apretadas antes y después de que las muestras se hayan congelado. No congele las muestras en un congelador que haya tenido material orgánico (muestras de pescado o alimentos) almacenado en él. Analice las muestras congeladas lo antes posible después de regresar al laboratorio.

Todavía hay debate dentro de la comunidad de nutrientes sobre los efectos de congelar muestras en la exactitud y precisión de la concentración de nutrientes, especialmente para el silicato. Es bien sabido que la sílice reactiva polimeriza cuando se congela, especialmente a altas concentraciones (Burton et al., 1970; MacDonald y McLaughlin, 1982; MacDonald et al., 1986). Las variables que afectan la recuperación de sílice de muestras congeladas incluyen la salinidad, la turbidez, el tamaño de la botella y la concentración de silicato. Gran parte del debate actual se centra en las técnicas de descongelación recomendadas para despolimerizar la sílice reactiva y obtener una recuperación completa. Muchos laboratorios han realizado estudios de técnicas de descongelación para recuperar sílice, pero solo hay unas pocas referencias publicadas. Sakamoto et al. (1990) recomiendan que las muestras se descongelen durante la noche, en la oscuridad, a temperatura ambiente, o en un baño de agua durante 30 min (50 °C) y luego se enfríen nuevamente a temperatura ambiente antes del análisis real. Sin embargo, Zhang y Ortner (1998) sugirieron que podría llevar hasta 4 días descongelar las muestras a temperatura ambiente para recuperar completamente la sílice. Becker et al., 2019 muestran resultados experimentales de estudios recientes realizados en NIOZ y Scripps Institution of Oceanography (SIO). Las pruebas realizadas en SIO confirman la recomendación de 1990 de Sakamoto de descongelar las muestras congeladas en un baño de agua a 50 °C durante 30 a 45 minutos y luego permitir que las muestras vuelvan a la temperatura ambiente antes del análisis. Se necesitan más pruebas sistemáticas para determinar los efectos del almacenamiento a largo plazo en las concentraciones de nutrientes individuales, así como las mejores técnicas de descongelación para varios tipos de muestras (costeras, estuarinas, oligotróficas, etc.).

INSTRUMENTACIÓN

Amino et al. (2009) proporcionan una descripción detallada de los componentes específicos de AA, incluidos los problemas potenciales de

análisis. La mayoría de los laboratorios marítimos utilizan actualmente SEAL, Skalar, Alpkem o sistemas analíticos similares. Los usuarios deben consultar los manuales del fabricante para obtener información específica sobre métodos, operación y mantenimiento. Un autoanalizador de nutrientes de cualquier fabricante constará de los mismos componentes básicos enumerados y descritos aquí.

Muestreador EI

muestreador debe ser robusto y capaz de manejar vasos de muestra de diferentes tamaños y un número "razonable" de muestras (entre 24 y 36 muestras, que a menudo es una estación de muestreo CTD), además debe tener un lavado desde el cual el agua se refresca continuamente. Se debe usar una sonda no metálica o de platino, y el diámetro interno de la sonda normalmente no debe ser mayor que el del tubo de la bomba de muestra más grande. Tener un muestreador modificado para aceptar las botellas que se usaron para tomar muestras directamente de la roseta CTD eliminará los posibles problemas de contaminación al decantar una muestra en otro recipiente de muestreo.

Bomba La

bomba peristáltica de velocidad continua con el tubo de bomba instalado suministra la muestra/agua de referencia y los reactivos a los colectores para cada canal/ químico y en todo el sistema AA. Para mediciones precisas a bajas concentraciones, un patrón de burbujas regular y una línea de base estable son absolutamente clave, y esta es un área que es extremadamente importante corregir para obtener buenos análisis.

La composición y la calidad de los tubos de la bomba pueden variar entre fabricantes y de un lote a otro. El desgaste del tubo también afectará el caudal y la sensibilidad del método, por lo que se debe ejecutar un conjunto completo de estándares con cada estación/conjunto de muestras. Reemplazar los tubos de la bomba de un método puede mejorar la sensibilidad y las características del flujo de burbujas. En general, los tubos de la bomba deben cambiarse con regularidad, ya que la entrega correcta de la muestra, y en particular para algunos reactivos que se bombean a través de algunos de los tubos de la bomba de menor diámetro (p. ej., naranja/verde o naranja/amarillo), será mucho más difícil. menos preciso a medida que se desgastan los tubos. Para un rendimiento óptimo, cambiar los tubos después de 50 a 60 h (según el material y el fabricante de los tubos de la bomba en uso) garantizará que el suministro de líquido siga siendo fiable. Los tubos de bomba sin fallos más nuevos ahora disponibles comercialmente tienen una vida útil confiable mucho más reducida en comparación con los tubos Tygon originales. No es una buena práctica hacer funcionar los tubos de la bomba hasta el final de su vida útil. Los resultados analíticos no serán tan buenos ni tan fiables con los tubos viejos como con los nuevos, por lo que se recomienda cambiar con frecuencia los tubos de la bomba. Algunos laboratorios realizan un cambio completo de tubos de bomba y reactivos al mismo tiempo para coordinar el tiempo de inactividad de la máquina.

Colector EI

colector consta de piezas de vidrio y accesorios de inyección y es el sitio de las reacciones químicas entre las muestras de agua de mar y los reactivos. Es imperativo que las piezas de vidrio, las bobinas de reacción y los conectores se mantengan con regularidad para proporcionar patrones de flujo regulares y una mezcla constante y permitir que las reacciones alcancen un estado estable, lo que garantiza un desarrollo completo del color.

La introducción de burbujas de aire o nitrógeno minimiza el flujo laminar en los serpentines de vidrio y permite una mezcla completa entre los segmentos. Las burbujas deben ser lo suficientemente grandes para evitar que se trasladen o se corran de un segmento a otro, pero si son demasiado largas, tenderán a romperse en el colector.

La forma de la burbuja depende de si la tubería que transporta el flujo segmentado está mojada por el líquido que pasa a través de ella. Las burbujas que son redondas en la parte delantera y trasera, ya sea que se muevan o estén estacionarias, indican que el tubo o el material de vidrio están humedecidos correctamente. Las burbujas que aparecen directamente en el borde posterior cuando se mueve son una indicación de que el material de vidrio y el tubo no se humedecieron correctamente. Es muy importante mantener un patrón de burbujas regular en todo el sistema para reducir el ruido y optimizar la sensibilidad. El software de algunos instrumentos contiene un programa de "control de agua" que mide y registra la regularidad del patrón de burbujas y expresa el resultado como % de variación.

Para obtener los resultados más uniformes, este valor debe estar por debajo del 1 %. Siempre se hace referencia a las burbujas de gas segmentadas como burbujas de "aire", sin embargo, idealmente, estas burbujas segmentadas deberían ser nitrógeno u otro gas inerte para evitar la posible contaminación del aire. Algunos laboratorios tienen líneas de gas conectadas directamente desde los cilindros para entregar el gas, pero una solución más simple es usar pequeñas bolsas de plástico Tedlar (o similares) que contienen hasta 5 L de nitrógeno. Estos son particularmente útiles cuando se trabaja en el mar, ya que se pueden recargar fácilmente.

Hay muchos factores a considerar al construir un colector para garantizar un flujo constante y un patrón de burbujas. A continuación se muestra una lista de consideraciones:

1. Haga coincidir el diámetro interno (ID) de la tubería utilizada desde la bomba hasta los accesorios de inyección y dentro de la cristalería en el colector lo más cerca posible.
 2. Utilice la longitud de tubería más corta posible entre las conexiones. Las corrientes largas no segmentadas causan problemas hidráulicos, que se manifestarán de varias formas (p. ej., manchas o arrastre de muestras).
 3. Asegúrese de que no haya huecos/espacios muertos entre las conexiones. Es importante que todas las uniones de vidrio a vidrio se mantengan juntas con fundas de plástico.
 4. Agregue suficiente agente humectante en cada canal analítico para mantener los bordes redondeados en la parte delantera y trasera de cada burbuja a lo largo de todo el flujo, incluido el drenaje hacia el desecho.
 5. Las burbujas de segmentación deben llenar completamente el tubo por el que pasan. La longitud de la burbuja en contacto con las paredes del tubo debe ser aproximadamente 1,5 veces el diámetro del tubo.
 6. Mantenga limpios los serpentines de vidrio para garantizar un flujo fluido de la muestra y el flujo de reactivo. El vidrio sucio puede hacer que las burbujas se adhieran o se rompan.
 7. Limpiar los colectores periódicamente con un detergente de laboratorio sin fosfatos y consultar las recomendaciones del fabricante. También se puede utilizar una lejía diluida o una solución ácida para los canales de nitrato, nitrito y amonio.
- Los canales de silicato y fosfato se pueden limpiar con hidróxido de sodio diluido más etilendiaminotetraacético

solución ácida (EDTA). Se evitarán muchos problemas analíticos con un protocolo de limpieza regular, que se recomienda después de cada conjunto diario de análisis.

Los analistas también deben consultar el manual de usuario del fabricante para conocer los procedimientos de mantenimiento recomendados.

8. La línea de desechos de la celda de flujo segmentada debe abrirse a la atmósfera aproximadamente a la altura del banco o de la celda de flujo.
9. Reemplace las piezas de vidrio viejas que continúan provocando que las burbujas de aire se adhieran o rompan. Los tubos y bobinas de vidrio pueden grabarse con ácido y provocar formas de pico irregulares.

Detectores Los

detectores constan de una fuente de luz [p. ej., una lámpara, un diodo emisor de luz (LED)], una celda de flujo, un fotómetro y un tubo de entrada y salida (ya sea de plástico o de vidrio). La mayoría de los fabricantes ofrecen lámparas tradicionales y LED para la fuente de luz. El LED se recomienda para análisis realizados en el mar, ya que los LED son más estables en un barco en movimiento y vibrando. Al igual que con el colector, no debe haber espacios en las conexiones y debe haber un patrón regular de burbujas que se mantenga desde el colector a través de la unidad detectora hasta el desecho. Dependiendo del fabricante, la capacidad de monitorear los cambios en la salida de luz, el voltaje y otras variables a través del software puede estar disponible y debe utilizarse. En el pasado, el flujo de muestra siempre se eliminaba de las burbujas inmediatamente antes de que la muestra entrara en las celdas de flujo, pero ahora los desarrollos de software de algunos fabricantes han permitido que las burbujas de aire también pasen a través de las celdas, eliminando la necesidad de eliminar las burbujas. La capacidad de retener el patrón de burbujas a través de la celda de flujo reduce el arrastre y las manchas de muestra a muestra. Esto, junto con el diseño óptico de los nuevos fotómetros y celdas de flujo, casi ha eliminado la necesidad de blancos de índice de refracción (RIB), y algunos otros efectos que han interferido con la detección de picos en el pasado. Para obtener más detalles sobre estas correcciones, consulte la sección "Correcciones posteriores al procesamiento".

Software El AA

vendrá instalado con software del fabricante para controlar todo el sistema, programar el muestreador automático, adquirir la salida de datos sin procesar de los detectores, mostrar la salida en tiempo real, realizar algunas correcciones y calcular los valores de concentración iniciales, etc.

Por lo general, hay diferentes opciones para el ajuste de calibración para usar dentro de los paquetes de software. Si se utiliza un ajuste lineal o un ajuste de orden superior, la concentración de nutrientes en la matriz y los blancos tanto para la matriz como para las muestras debe determinarse cuidadosamente y corregirse. La mayoría de los programas de software corregirán las variaciones de arrastre, línea de base y sensibilidad, pero es posible que no tengan opciones para realizar otras correcciones, como RIB o concentraciones de matriz distintas de cero. Consulte el manual del software de su propio tipo de analizador para conocer las especificaciones de su instrumento.

Los ajustes de calibración y las correcciones en blanco se analizan en más detalle en Becker et al., 2019.

MEDICIÓN Y DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES

Los pasos básicos para el análisis de muestras se enumeran a continuación, y los detalles se proporcionan en las secciones siguientes:

- (1) Establezca una línea base constante con agua ultrapura.
 - b. Establezca una línea de base estable con agua ultrapura más reactivos. C. Compruebe el blanco de reactivo (diferencia entre agua ultrapura y agua ultrapura más reactivos).
- (2) Determinación de la curva de calibración a partir de concentraciones estándar y alturas máximas medidas.
- (3) Medición de las alturas de los picos de muestra.
- (4) Correcciones por arrastre, línea de base y deriva de sensibilidad.
- (5) Determinación de las concentraciones iniciales de las muestras en función de la curva de calibración y las alturas de los picos de las muestras.
- (6) Aplicación de otras correcciones incluyendo RIBs, efecto salino, etc.

Determinaciones de línea de base Una

solución de línea de base común utilizada en toda la comunidad de análisis de nutrientes es el agua dulce ultrapura. Sin embargo, en algunos casos, los analistas usan agua de mar baja en nutrientes (LNSW) si tienen suministros abundantes. Algunos laboratorios fabrican su propia agua de mar "artificial" (ASW) agregando sales al agua ultrapura. Un ejemplo de receta de ASW es 41 g de cloruro de sodio más 168 mg de bicarbonato de sodio por litro. Aquí discutimos el uso de agua ultrapura como agua de referencia, ya que es un "cero" confiable y recomendado para los nutrientes, y se puede obtener fácil y rápidamente dentro de un laboratorio de investigación.

Se recomienda que estos sistemas de agua ultrapura reciban mantenimiento regularmente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y que se verifique la pureza del agua, especialmente en los

casos en que se analice el agua de mar. La determinación de la línea de base debería ser sencilla si se siguen los procedimientos correctos. El agua ultrapura debe tener una resistencia de al menos 18,2 megaohmios y estar libre de sustancias orgánicas. Se prefiere la esterilización ultravioleta (UV), pero no es estrictamente necesaria. La mayoría de los sistemas de purificación de agua disponibles en el mercado proporcionarán agua ultrapura aceptable para establecer una línea de base cero.

Cabe señalar que el recipiente de lavado del muestreador y el recipiente que alimenta el recipiente de lavado pueden contaminarse.

Se recomienda limpiarlos una vez al día enjuagándolos con una solución de HCl al 10% y luego enjuagándolos con agua ultrapura. Algunos fabricantes ofrecen un "lavabo de viaje", que es un sistema sellado y, por lo tanto, permanece limpio y sin contaminar durante las operaciones diarias, por lo que podría ser una opción a considerar. En casos excepcionales, es posible que el agua ultrapura no sea pura, incluso si la lectura de resistividad es de 18,2 megaohmios, por ejemplo, el silicato puede pasar a través del cartucho de filtración pero no afectará la lectura de megaohmios. Puede ser difícil determinar si el agua ultrapura no es tan pura como se requiere, por lo que los analistas deben comparar la diferencia entre la línea base ultrapura y la línea base ultrapura con reactivos diariamente. Otro posible indicador de agua de referencia de mala calidad son las lecturas de absorbancia negativas para muestras con bajas concentraciones de nutrientes. Esto podría

indicar que es necesario reemplazar los cartuchos de filtración del sistema de agua ultrapura.

La línea de base del agua se determina después de que el instrumento haya estado funcionando el tiempo suficiente con agua ultrapura fresca y las líneas de base se hayan estabilizado, y generalmente se recomienda que sea de al menos 15 a 20 minutos. Esto también permite comprobar si hay fugas en todo el sistema antes de añadir los reactivos. En casos excepcionales, puede ser necesario agregar un agente humectante al agua ultrapura para establecer un buen patrón de burbujas y líneas de base estables. Una vez que se ha estabilizado la línea base de agua ultrapura, se pueden agregar los reactivos y determinar la línea base de reactivos más agua ultrapura.

A menudo es útil agregar los reactivos uno a la vez para ver si alguno de ellos genera un blanco de reactivo grande. La línea de base del reactivo es la referencia para cuando se determina la curva estándar y el cálculo posterior de las concentraciones de la muestra. Es una buena práctica definir un procedimiento de configuración regular para el analizador que se pueda seguir todos los días y en todas las ejecuciones. Para minimizar el blanco de reactivo, se deben utilizar productos químicos de grado analítico (o mejores) y agua fresca ultrapura.

Es crucial que las concentraciones de nutrientes para LNSW o ASW se calculen si se utilizan como referencia en lugar de agua ultrapura. Aoyama et al. (2015) detallaron un procedimiento que incluye analizar un valor conocido de cada estándar agregado al LNSW, seguido de una línea base de LNSW con y sin reactivo de color, y una línea base de agua ultrapura con y sin reactivo. Las diferencias se utilizan para calcular la concentración de cada nutriente en LNSW (Becker et al., 2019).

Hay diferentes formas de obtener LNSW. Una opción es recolectar grandes lotes de agua de mar superficial de aguas oligotróficas durante un crucero de investigación. Se recomienda filtrar y esterilizar el agua para garantizar que los niveles de nutrientes permanezcan bajos, por ejemplo, bombeada a través de un filtro de 0,45 µm, pasando por una fuente de luz ultravioleta y luego a través de un filtro de 0,1 µm, y recirculada durante aproximadamente 16 h. Alternativamente, es posible recolectar agua de mar superficial filtrada usando un filtro de 0.1 o 0.2 µm y luego permitir que el agua de mar envejezca (casos en que se analice el agua de mar) durante un período de tiempo (1–2 años) permitiendo que disminuyan las concentraciones de nutrientes del agua que ya son oligotróficas. Las bombonas utilizadas para almacenar el agua de mar deben permitir la penetración de la luz (transparente u opaca).

El agua de mar superficial debe filtrarse nuevamente antes de su uso, y el agua que se utilizará siempre se analizará como muestra para asegurarse de que, de hecho, tiene un bajo contenido de nutrientes.

Calibración Se

debe analizar una serie de al menos cuatro estándares de trabajo con cada conjunto de muestras. Las concentraciones estándar deben distribuirse uniformemente en todo el rango de concentración y no sesgarse hacia ninguno de los extremos, con el estándar de concentración superior que tiene una concentración ligeramente más alta que la muestra. Los estándares generalmente se analizan al comienzo de una serie analítica con los protocolos configurados en el software del analizador. Los estándares de trabajo deben prepararse frescos al menos una vez al día, o cada 8 a 12 horas cuando el analizador de nutrientes está en funcionamiento las 24 horas del día, por ejemplo, cuando se trabaja en el mar. Los estándares de trabajo se preparan a partir de estándares primarios o secundarios concentrados que se preparan previamente en agua ultrapura (consulte la sección "Preparación de estándares y estandarización" para conocer las preparaciones estándar). para el trabajo

curva estándar, los estándares concentrados se diluyen usando agua que tiene una matriz similar a las muestras. Por ejemplo, si se trabaja en una región oceánica oligotrófica, se debe utilizar LNSW envejecido o agua de mar superficial como matriz estándar. No se recomienda utilizar ASW o agua ultrapura como matriz para los estándares de trabajo. La curva estándar debe cubrir el rango completo de concentraciones de muestra esperadas. Es importante que se use LNSW para las diluciones. Se recomienda encarecidamente que los estándares y las muestras se analicen desde concentraciones bajas a altas para evitar el arrastre. Una vez que se han medido las alturas de los picos de los estándares, se puede generar la curva de calibración. El software analítico de los fabricantes de analizadores modernos proporcionará la curva de calibración, pero lea sus notas de orientación para obtener más detalles. Hay muchos factores que afectan la calibración (consulte Becker et al., 2019) para obtener detalles sobre cómo determinar el mejor ajuste de calibración.

Medición de las alturas de los picos de muestra La mayoría del software utiliza un algoritmo para determinar la altura de los picos y colocará automáticamente un marcador de pico donde considere que es la altura de pico correcta. Sin embargo, los marcadores de pico siempre deben ser verificados por el analista utilizando el software del sistema para asegurarse de que el software lee los picos con precisión y también para corregir los picos y otras anomalías que pueden afectar la validez de la altura inicial del pico. Consulte el manual del software para obtener detalles sobre cómo se miden los picos y cómo ajustar y guardar las lecturas si es necesario.

Correcciones para cualquier desviación de la línea base, desviación de sensibilidad y arrastre Los cálculos de la desviación de la línea base corregirán cualquier desviación lineal entre las mediciones sucesivas de la línea base, y estas deben colocarse regularmente a lo largo de la ejecución. La deriva de sensibilidad se mide por cualquier cambio entre las muestras de "deriva", que generalmente se analizan cerca del comienzo y el final de la ejecución, si no con más frecuencia. La muestra de deriva debe estar entre el 50 y el 75 % del estándar más alto. El arrastre se basa en las diferencias de altura de los picos entre dos picos bajos sucesivos medidos directamente después de un pico alto.

Determinación de las concentraciones iniciales de las muestras Al determinar las concentraciones iniciales de la muestra, la mayoría del software del instrumento tendrá la opción de aplicar correcciones de referencia, arrastre y deriva, y puede proporcionar concentraciones de muestra tanto corregidas como no corregidas. Se recomienda que los usuarios revisen cómo se aplican los cálculos para garantizar la validez de las correcciones posteriores a la ejecución.

Puede ser necesario generar los datos sin procesar para aplicar correcciones y calcular concentraciones en un paquete de software diferente, por ejemplo, Excel.

Correcciones de posprocesamiento

Los blancos de índice de refracción (RIB) deben determinarse por separado para cada canal y, si es necesario, restarse o sumarse al

concentraciones de muestra. El procedimiento para determinar estos valores para cada canal implica el análisis de muestras mediante la eliminación de uno de los reactivos químicos formadores de color (Aminot et al., 2009). Para muchos sistemas, estos valores suelen ser positivos, aunque muy pequeños, y deben determinarse y luego aplicarse cualquier corrección a los resultados antes de finalizar las concentraciones de la muestra. En los métodos fluorométricos, como el del amoníaco, no se produce RIB.

Los detectores y celdas de flujo modernos minimizan los efectos de la salinidad en el análisis de muestras de agua de mar con un lavado con agua ultrapura, y es posible que no sea necesaria una corrección; sin embargo, debe verificarse. El efecto óptico causado por la mezcla de dos soluciones de diferentes densidades, como agua de lavado ultrapura con una muestra de agua de mar, se denomina efecto Schlieren. Este efecto se reduce en gran medida en los analizadores modernos mediante celdas de flujo y detectores que permiten que la burbuja entre muestras pase a través de ellos. El uso de un eliminador de burbujas, como el instalado antes de la celda de flujo en los analizadores más antiguos, aumentará el efecto Schlieren, lo que provocará colas en los picos.

MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICOS

Los métodos analíticos, incluidas las recetas de reactivos y las configuraciones de las bobinas, los suministran los fabricantes de todos los instrumentos AA. Algunos laboratorios tienen métodos analíticos optimizados para su propio uso y requisitos específicos y estos a menudo se transmiten durante muchos años a través de diferentes analistas. Una razón para optimizar o cambiar los métodos es, por ejemplo, permitir una mayor sensibilidad a concentraciones de nutrientes más bajas si se trabaja principalmente en aguas oligotróficas. Véase Becker et al. (2019) Apéndices F y G para métodos detallados en uso por un par de laboratorios de referencia. Estos solo se proporcionan como ejemplos para permitir la comparación con los métodos y recetas de reactivos propios de los analistas, pero no se recomiendan específicamente.

La química del método depende de los analistas individuales para decidir.

Análisis de nitratos y nitritos La mayoría de los laboratorios utilizan actualmente un método analítico en el que se hacen reaccionar N-1-N (NEDD) y sulfanilamida con la muestra para formar un colorante rojo, que se mide a una absorbancia de 520–540 nm.

Para el análisis de nitrato, el nitrato se reduce primero a nitrito mezclando la muestra con una solución tampón (por ejemplo, cloruro de amonio o imidazol) y pasándola por una columna de cadmio que ha sido tratada con sulfato de cobre, que cataliza la reacción de reducción. Luego se analiza el nitrito resultante y el resultado final para el canal de "nitrato" es una suma de nitrato y nitrito. Por lo tanto, es importante analizar el nitrito por separado para que el nitrato pueda determinarse restándolo de la concentración total de nitrato más nitrito.

La eficiencia de reducción de la columna de cadmio también debe determinarse y monitorearse a lo largo del tiempo. Esta eficiencia se mide analizando dos muestras separadas, una para nitrato y otra para nitrito, cada una con la misma concentración alta (por ejemplo, 25 μM). La diferencia en las concentraciones medidas permitirá al analista calcular la eficiencia de reducción de la columna. Si la eficiencia de reducción de la columna es inferior al 95%, la columna de cadmio debe reacondicionarse o reemplazarse.

Análisis de fosfato Existen

dos métodos comúnmente utilizados para la determinación de fosfato. En ambos métodos, se agrega una solución ácida de molibdato, seguida de la adición de un compuesto reductor (sulfato de dihidracina o ácido ascórbico) para formar un complejo azul de fosfomolibdeno con una absorbancia medida a aproximadamente 820 u 880 nm, según el método y Disponibilidad de filtros.

Se recomienda encarecidamente que los analistas verifiquen su método de fosfato para detectar cualquier interferencia de silicato. Esto se puede verificar agregando una muestra de LNSW con estándar de silicato para obtener una concentración alta (p. ej., 100 μ M) y analizando la salida en el canal de fosfato para asegurarse de que la concentración de fosfato no cambie debido a la adición del silicato. Si hay una influencia en el resultado, se debe verificar y cambiar la química del método para asegurarse de que el silicato no lo afecte.

Análisis de silicatos Al

igual que con el fosfato, existen dos métodos comúnmente utilizados para la determinación de silicatos. Se agrega molibdato de amonio acidificado a una muestra de agua de mar para producir ácido silicomolibdico, que luego se reduce a un complejo azul de silicomolibdeno luego de agregar cloruro estannoso o ácido ascórbico, y se mide a 660 nm para cloruro estannoso o 820 nm para ácido ascórbico.

Nota: Es importante asegurarse de que los reactivos analíticos de silicato y fosfato estén correctamente preparados. La reacción de fosfato debe tener lugar a un pH de < 1,0, para garantizar que no haya una reacción competitiva de los iones de silicato. El ácido oxálico o tartárico se utiliza para evitar interferencias de fosfato en los diferentes métodos de silicato. Los métodos con reactivos incorrectos pueden causar interferencias cruzadas y, por lo tanto, informar concentraciones incorrectas de fosfato y silicato. Véase Aoyama et al. (2015) para obtener detalles sobre las interferencias de fosfato y silicato.

Análisis de amonio Los dos métodos comunes para determinar las concentraciones de amonio son la determinación colorimétrica basada en fenol y un método fluorométrico.

Método colorimétrico El

amonio se analiza a través de la reacción de Berthelot en la que el hipoclorito de sodio y el fenol reaccionan con el amonio en una solución alcalina para formar un complejo de azul de indofenol con calentamiento a 55 °C. La absorbancia de la muestra se mide a 640 nm. El método es una modificación del procedimiento descrito en Grasshoff et al. (1983).

Método fluorométrico En el

método fluorométrico, sin utilizar ninguna difusión de membrana, la muestra se combina con un reactivo de trabajo compuesto por OPA, sulfito de sodio, un tampón de borato y luego se calienta a 75 °C .

La fluorescencia proporcional a la concentración de amonio se mide a 460 nm después de la excitación a 370 nm. + iones en la muestra

difusión por membrana, el NH₄ se convierte en Para el método de gas NH₃ con la posterior difusión a través de una membrana de teflón en una corriente de OPA. el producto es

medido fluorométricamente a 460 nm después de la excitación a 370 nm. Este método es para análisis nanomolar (Jones, 1991).

PREPARACIÓN ESTÁNDAR Y ESTANDARIZACIÓN

No es posible obtener datos de alta calidad sin el debido cuidado y atención a los detalles al preparar las soluciones estándar en el laboratorio, tanto en el mar como en tierra.

Los matraces volumétricos de vidrio deben ser de calidad clase A porque sus tolerancias nominales son de 0,05% o mejores. Los matraces de Clase A están hechos de vidrio de borosilicato, y las soluciones estándar deben transferirse a botellas de plástico lo más rápido posible después de completar el volumen y mezclarlas. Esto se hace para evitar una disolución excesiva de silicato del vidrio. El cálculo del volumen contenido por los matraces de vidrio a varias temperaturas, distintas de las temperaturas de calibración, se realiza utilizando el coeficiente de expansión lineal del vidrio de borosilicato.

Debido a sus mayores coeficientes de temperatura de expansión, los matraces volumétricos de plástico utilizados también deben calibrarse gravimétricamente en el rango de temperatura de uso previsto, por ejemplo, si se utilizan matraces de polimetilpenteno (PMP) para preparar soluciones estándar, deben usarse dentro de los 4 °C de la temperatura de la habitación cuando fueron calibrados. El agua ultrapura utilizada para la calibración también debe estar a temperatura ambiente.

Es importante determinar la concentración exacta de las soluciones estándar teniendo en cuenta las correcciones de flotabilidad, las calibraciones de cristalería, las calibraciones de pipetas y las correcciones de temperatura. Véase Becker et al. (2019) Apéndices A y B para más detalles.

Todas las pipetas, ya sean manuales o electrónicas, deben calibrarse regularmente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y deben estar dentro de esas tolerancias.

La calibración puede ser realizada por el analista o por empresas comerciales que proporcionarán certificados. Ciertamente, antes de emprender un crucero de investigación, las pipetas deben revisar sus calibraciones y también en momentos regulares durante el año. Si las pipetas se caen, deben dejar de usarse regularmente hasta que se verifique su calibración. Las pipetas normalmente tienen tolerancias de calibración de 0,1% o mejores. Estas tolerancias deben comprobarse con calibración gravimétrica.

Si usa pipetas para preparar soluciones de trabajo en LNSW o ASW, primero enjuague previamente la punta de la pipeta en su posición máxima antes de usarla.

Patrones primarios Los

patrones primarios deben prepararse como mínimo una vez cada 3 meses, aunque algunos laboratorios preparan patrones primarios con menos frecuencia si confían en su estabilidad. Se debe tener especial cuidado para garantizar que los estándares mantenidos durante estos períodos más largos no se vean comprometidos y se deben verificar periódicamente. Las soluciones estándar primarias se mantienen mejor en la oscuridad ya temperatura ambiente. Si se almacenan en un refrigerador, deben llevarse a temperatura ambiente antes de su uso. Algunos laboratorios usan cloroformo como conservante (200 μ l por litro), pero el

la comunidad está recomendando una reducción en el uso de materiales tóxicos y/o venenosos.

Las sales primarias de grado estándar para fosfato (dihidrogenofosfato de potasio anhidro, KH_2PO_4), nitrato (nitrato de potasio, KNO_3) y nitrito (nitrito de sodio, NaNO_2) están disponibles con purezas del 99,995 % o mejores. No se necesitan correcciones de pureza si se utilizan sales de esta calidad al preparar patrones primarios. Los estándares de silicato se fabrican con hexafluorosilicato de sodio de grado analítico o de una solución estándar de silicato (SiO_2). Los estándares de amonio se fabrican con sulfato de amonio de grado analítico [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$], que está disponible con una pureza de > 99,0 %. La pureza de la sal o solución utilizada para los patrones primarios en estos casos debe ajustarse según corresponda y debe indicarse claramente en la documentación. Se debe tener cuidado para neutralizar la solución estándar de sílice si la proporciona el fabricante en hidróxido de sodio diluido.

Las sales estándar deben secarse durante 2 a 4 horas a 105 °C y enfriarse a temperatura ambiente en un desecador antes de pesarlas. Las sales estándar primarias deben pesarse con una precisión de 0,1 mg y luego disolverse en agua ultrapura. Se debe registrar la temperatura de la solución y se deben utilizar matraces volumétricos de vidrio clase A calibrados.

Ajuste el peso de la sal para la flotabilidad del aire al determinar la concentración final exacta de las soluciones estándar primarias (consulte Becker et al., 2019 para obtener detalles completos).

Los siguientes son ejemplos de preparaciones de patrones primarios y se proporcionan aquí solo como una guía. Debe registrar la temperatura de las soluciones finales y calcular la concentración del estándar primario utilizando el volumen del matraz volumétrico, la temperatura y la masa real de sal. Cada solución debe transferirse a una botella de HDPE limpia y seca y almacenarse lista para usar.

Los estándares de silicato nunca deben almacenarse en vidrio.

Estándar de nitrato (aproximadamente 15 000 $\mu\text{mol/L}$): en un matraz volumétrico clase A calibrado de 1 L, disuelva 1,5xxx g de nitrato de potasio seco de alta pureza en agua ultrapura para obtener una solución de volumen final de 1 L.

Estándar de nitrito (aproximadamente 5000 $\mu\text{mol/L}$): en un matraz volumétrico clase A calibrado de 1 L, disuelva 0,34xx g de nitrito de sodio seco de alta pureza en agua ultrapura para obtener una solución de volumen final de 1 L.

Estándar de fosfato (aproximadamente 6000 $\mu\text{mol/L}$): en un matraz volumétrico de clase A calibrado de 1 litro, disuelva 0,81xx g de fosfato de potasio seco de alta pureza en agua ultrapura para obtener una solución de volumen final de 1 litro.

Estándar de amonio (aproximadamente 4000 $\mu\text{mol/L}$): en un matraz volumétrico de clase A calibrado de 1 L, disuelva 0,26xx g de sulfato de amonio seco de alta pureza en agua ultrapura hasta obtener una solución de volumen final de 1 L.

Estándar de silicato (10.000 $\mu\text{mol/L}$): En un matraz volumétrico de plástico HDPE de 1 L, disuelva 1,88xx g de fluorosilicato de sodio en aproximadamente 400 ml de agua ultrapura. Esto tomará un mínimo de 5 h para disolverse usando ultrasonidos,

o por agitación. Lleve la solución disuelta a 1 L con agua ultrapura.

Un estándar de silicato líquido alternativo está disponible comercialmente en el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST): Agregue 40 ml de una solución de 1 g Si/kg a

500 ml de agua ultrapura para una concentración de 2860 $\mu\text{mol/L}$. Para neutralizar la solución, agregue 2,9979 ml de HCl 1 N antes de diluir la solución a 500 ml.

Estándares secundarios (subprimarios) Dependiendo de las concentraciones deseadas para los estándares de trabajo finales, se pueden preparar estándares de nutrientes separados o un estándar secundario mixto diluyendo los estándares primarios con agua ultrapura. Las soluciones estándar secundarias se pueden preparar diariamente o con la misma frecuencia que los estándares primarios. El estándar secundario para nitrito y amonio debe prepararse cada vez que se requiera un conjunto de estándares de trabajo, es decir, cada corrida analítica.

La concentración final de los estándares secundarios debe tener en cuenta las calibraciones de la pipeta y el material de vidrio (ver Becker et al., 2019).

Estándares de trabajo Los estándares de trabajo se preparan con agua de la misma salinidad que las muestras. LNSW es la matriz recomendada para crear soluciones estándar de trabajo. Estos se preparan a partir de las soluciones secundarias o primarias, dependiendo de cuáles sean las concentraciones finales deseadas. Se deben analizar al menos cuatro concentraciones diferentes de estándares de trabajo con cada conjunto de muestras.

CONTROL DE CALIDAD Y CALIDAD EVALUACIÓN (CC/GC)

Definiciones y determinación Los procedimientos de control de calidad y la evaluación de la calidad de los datos proporcionan un medio para determinar la exactitud y precisión de las mediciones.

Se proporcionan definiciones ya que es importante que el analista comprenda la diferencia entre control de calidad, evaluación de calidad, exactitud y precisión. Estos están tomados del Capítulo 3 de la "Guía de mejores prácticas para la medición de CO_2 en el océano" (Dickson et al., 2007):

Control de calidad—El sistema general de actividades cuyo propósito es controlar la calidad de una medición para que satisfaga las necesidades de los usuarios. El objetivo es garantizar que los datos generados tengan una precisión conocida en algún grado de probabilidad cuantitativo establecido y, por lo tanto, proporcionen una calidad satisfactoria, confiable y económica.

Evaluación de la calidad—El sistema general de actividades cuyo propósito es brindar seguridad de que el control de calidad se está realizando de manera efectiva. Proporciona una evaluación continua de la calidad de los análisis y del rendimiento del sistema analítico.

Precisión: es una medida de cuán reproducible es un procedimiento experimental en particular. Puede referirse a un particular

etapa del procedimiento, por ejemplo, el análisis final, o a todo el procedimiento, incluido el muestreo y la manipulación de muestras. Se estima realizando mediciones repetidas y estimando una media y una desviación estándar de los resultados obtenidos.

La precisión, sin embargo, es una medida del grado de concordancia de un valor medido con el valor "verdadero". Un método preciso proporciona resultados imparciales. Es una cantidad mucho más difícil de estimar y solo se puede inferir prestando especial atención a las posibles fuentes de error sistemático.

Procedimientos operativos estándar (POE)

El control de calidad comienza con la configuración del instrumento y la atención a los detalles que se describen en las secciones "Múltiple" relacionadas con el montaje de los múltiples y los procedimientos de mantenimiento. Una vez que el instrumento está configurado y funcionando, se debe establecer un conjunto de SOP y seguirlos siempre para el análisis de las muestras.

Los POE deben incluir:

- Calibración de cristalería y pipetas. • Determinación cuidadosa de patrones y ajustes de calibración. • Comprobaciones diarias del sistema, incluida la inspección visual de los patrones de burbujas, el seguimiento de la línea de base con y sin reactivos y una muestra de prueba (generalmente un estándar alto) para garantizar que todo funcione correctamente y con las mismas configuraciones y sensibilidades que se obtuvieron anteriormente para eso. muestra de prueba Esta es una buena medida estándar de control de calidad. Cuando se utiliza la misma concentración de muestra de prueba, la configuración de sensibilidad (ganancia) del analizador debe permanecer igual, incluso después de cambiar los reactivos o los tubos de la bomba. Si la sensibilidad cambia, es una indicación temprana de que hay un problema que debe investigarse, probablemente asociado con cualquier cambio que se haya realizado (p. ej., se preparó incorrectamente un reactivo o se reemplazaron tubos de bomba incorrectos, etc.).
- Se debe utilizar un protocolo de bandeja establecido en el software, consulte el ejemplo en la Figura 1 a continuación. Esto es para garantizar que los estándares, las muestras y otros picos se incluyan y ejecuten en el mismo orden para cada análisis y para cada ejecución. Puede incluir remanente, deriva, línea de base y otras correcciones.

Comprobaciones internas Las

comprobaciones internas deben utilizarse para garantizar la calidad de los datos en el transcurso de un crucero. Los diferentes tipos de controles internos incluyen el análisis de muestras duplicadas, el uso de una muestra de control (consulte a continuación) y el análisis de un estándar interno con cada ejecución. El análisis de muestras duplicadas debe llevarse a cabo en corridas de análisis de muestras separadas. La desviación del análisis de muestras duplicadas entre ejecuciones generalmente será mayor y producirá una medida más precisa de la calidad de los datos entre ejecuciones y durante el transcurso de un crucero.

La desviación entre las ejecuciones se puede reducir mediante el uso de una "muestra de control" o un "estándar de seguimiento" y la normalización de los datos y las muestras de la ejecución a esos valores.

Muestra de verificación (seguimiento) Una opción

para obtener una muestra de verificación es recolectar aguas profundas (aproximadamente 1000 m) de uno de los primeros moldes CTD de crucero.

El agua debe tener valores razonablemente altos (pero a escala) para todos los nutrientes. Luego se debe envenenar con una solución saturada de cloruro de mercurio (1 mL por 10 L), y luego se deben analizar alícuotas de esta muestra con cada corrida analítica. En este caso, el cloruro mercuríco es el medio más efectivo para preservar la muestra y se recomienda a pesar de los esfuerzos por buscar alternativas al veneno. La ejecución de una muestra envenenada con cada ejecución no afectará la eficiencia de la columna de reducción de cadmio ni interferirá con las otras químicas. Hacer un seguimiento del valor de esta muestra a lo largo del tiempo puede ayudar a alertar al operador sobre cualquier problema con la química y el rendimiento del analizador. Se debe compilar una tabla para el informe de crucero, que muestre el valor promedio y la desviación estándar para cada canal analítico. Como se mencionó, los datos de la muestra para una ejecución en particular se pueden normalizar si el valor de esta muestra cae fuera de la precisión deseada. Los valores de ejecución individuales deben estar dentro del 1% del valor promedio general del crucero.

El uso de un estándar interno se desarrolló aún más en NIOZ. Su procedimiento requiere la preparación de una cantidad suficiente de estándar de nutrientes concentrados mixtos en agua ultrapura, que luego se conserva mediante la adición de cloruro de mercurio. Se prepara independientemente de los estándares primarios y de trabajo que se utilizan para calibrar las ejecuciones de análisis individuales. Esta solución de seguimiento luego se diluye en LNSW y se mide como parte de cada ejecución de análisis. La solución de seguimiento se prepara mediante una dilución de un solo paso, lo que significa que la reproducibilidad debe ser de alrededor del 0,1 % y las variaciones solo se deben a los errores de pipeteo inherentes. Al final del crucero, se calcula un valor medio para la solución de seguimiento o la muestra de control y los datos de cada serie de análisis se pueden normalizar a ese valor medio calculando y aplicando un factor de serie a serie. NIOZ ha utilizado con éxito estos protocolos estándar internos durante más de 20 años (Hoppema et al., 2015). Tenga en cuenta que el uso de esta solución de seguimiento solo es válido si su valor se encuentra en el mismo rango que las muestras que se analizan y en un rango de alrededor del 60 al 80 % de los valores de escala completa.

La solución de seguimiento o la muestra de verificación deben analizarse al menos tres veces dentro de una ejecución de análisis para controlar el rendimiento dentro de cada ejecución, así como entre ejecuciones y durante el transcurso del crucero. Estas comprobaciones internas se pueden utilizar para normalizar los datos de cada conjunto de muestras. Al final del crucero se calcula un valor medio para el control interno. Luego, los datos de cada ejecución se normalizan por la relación del valor de la muestra de verificación interna para esa ejecución frente al valor medio de todo el crucero.

Cabe señalar que este es un control de calidad interno y no sustituye el uso de CRM.

Controles de calidad externos Los controles

externos ayudan a evaluar la comparabilidad de los datos de diferentes cruceros y diferentes laboratorios. La participación en ejercicios de intercomparación (intercalibración) nacionales o internacionales es un ejemplo de verificación externa y se recomienda encarecidamente. Otra verificación externa recomendada es incluir el análisis de CRM o RM dentro de una ejecución analítica.

Los materiales de referencia son muestras de agua de mar preservadas con concentraciones de nutrientes bien definidas. Los materiales de referencia certificados también tienen concentraciones bien definidas, pero los valores se han verificado comparándolos con una solución estándar conocida que

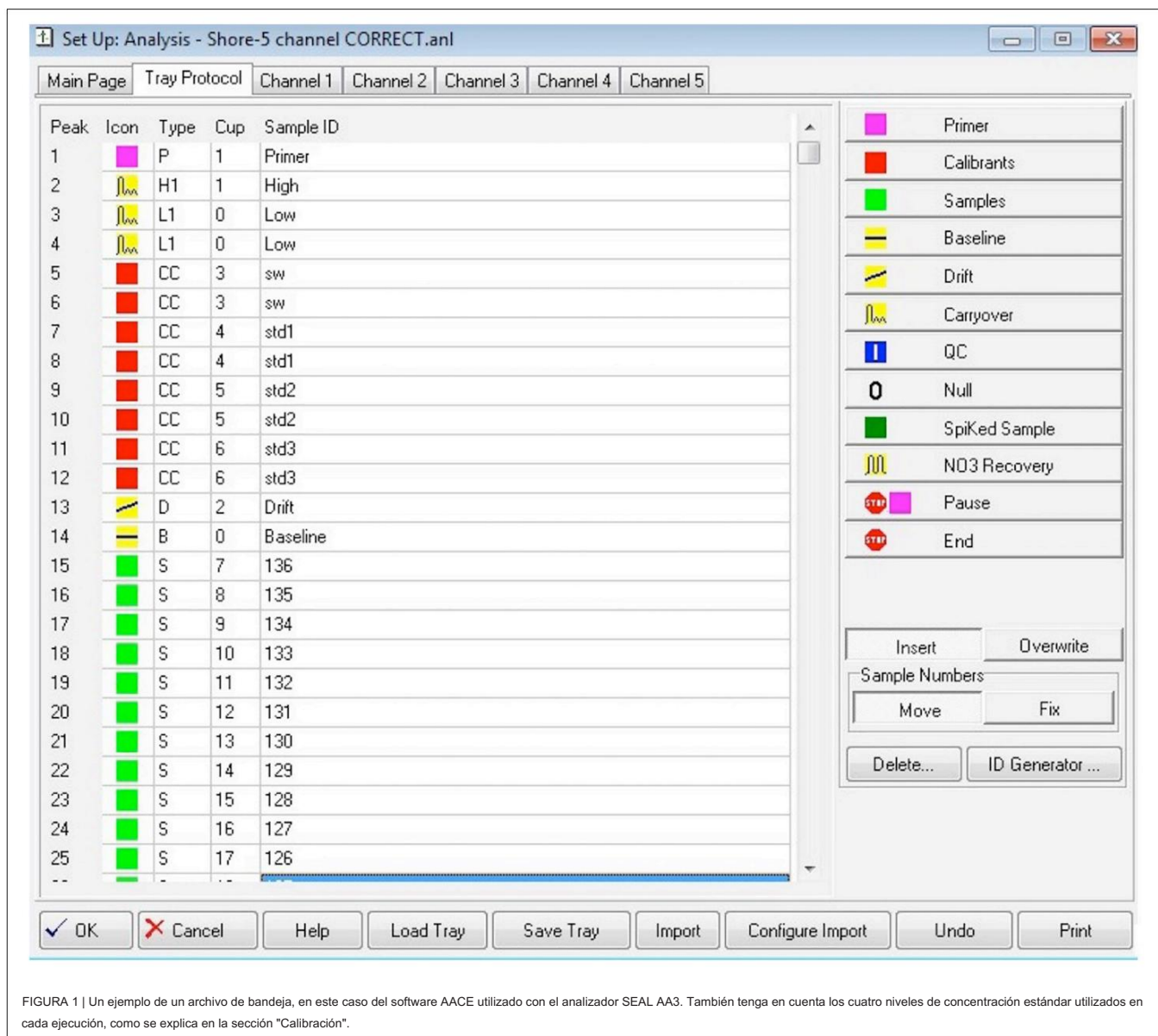


FIGURA 1 | Un ejemplo de un archivo de bandeja, en este caso del software AACE utilizado con el analizador SEAL AA3. También tenga en cuenta los cuatro niveles de concentración estándar utilizados en cada ejecución, como se explica en la sección "Calibración".

es trazable al Sistema Internacional de Unidades (SI) o ha sido determinado por un método de análisis independiente. Los valores certificados para la mayoría de los CRM de nutrientes se establecen utilizando soluciones estándar rastreables. Se recomienda que los CRM se utilicen sobre los RM si están disponibles. El analista debe saber cómo se han determinado y verificado los valores de los materiales. Tanto los RM como los CRM se utilizan para garantizar la coherencia de las mediciones dentro de un crucero (es decir, de estación a estación, después de que se haya preparado un nuevo lote de reactivos o estándares, etc.) y entre diferentes cruceros, muy probablemente ejecutados por diferentes grupos de laboratorio. Los MRC se pueden obtener en varias concentraciones y con varias matrices de agua de mar, que representan diferentes condiciones o salinidades del océano. Se recomienda enfáticamente utilizar CRM de nutrientes para todos los cruceros de investigación y para análisis de laboratorio, especialmente para cruceros donde se requieren datos precisos y de alta calidad, como para los programas de hidrografía repetida GO-SHIP (CLIVAR) y GEOTRACES.

KANSO Technos inicialmente desarrolló materiales de referencia de nutrientes y, en los últimos años, ha producido los materiales de referencia de nutrientes certificados. El grupo de trabajo de SCOR Nutrient #147 (ver nota al pie) en asociación con JAMSTEC, ha producido recientemente una serie de 5 conjuntos de CRM de nutrientes, con 2 soluciones de rango de concentración del Pacífico y 3 del Atlántico. Estos se venden sin fines de lucro para beneficiar a la comunidad mundial de nutrientes y fomentar un uso más amplio de los CRM de nutrientes. Están disponibles para su compra a través de JAMSTEC3 y se han producido para hacer que el uso de los CRM sea más económico y, por lo tanto, más accesible para un mayor número de laboratorios globales. Estos vienen en envases de PP de 100 ml y sellados en una bolsa de aluminio hermética. Los MRC deben abrirse y transferirse a tubos de muestra limpios y analizarse con cada ejecución, o al menos una vez al día. El

3<https://www.jamstec.go.jp/scor/>

los valores analíticos de nutrientes deben ser rastreados para que cualquier valor que se desvíe de las concentraciones certificadas indicadas sea anotado e investigado. Hay otros materiales de referencia disponibles, por ejemplo, del Instituto Coreano de Ciencias y Tecnologías Oceánicas (KIOST), MOOS-3 (NRC Canadá) y Eurofins Scientific.

Los valores certificados de SCOR-JAMSTEC CRM y KANSO CRM son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI). Las soluciones estándar con incertidumbres establecidas del Sistema de Servicio de Calibración de Japón (JCSS) del Instituto de Evaluación e Investigación de Productos Químicos (CERI) y el Instituto Nacional de Metrología de Japón (NMIJ) se utilizan para certificar los valores de nitrato, nitrito y fosfato. Se utiliza una solución estándar de silicio producida por Merck KGaA y una solución estándar de silicio (SRM3150) del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) para certificar los valores de silicato. Cada solución tiene un valor de incertidumbre establecido.

Cómo usar los CRM/RM Los CRM deben

ejecutarse como una muestra dentro de cada análisis, de forma similar a la muestra de verificación interna o al estándar de seguimiento descrito anteriormente. Se debe ejecutar un CRM o RM al menos una vez al día e, idealmente, se debe abrir una nueva botella de (C)RM para cada nueva ejecución. Un uso menos deseable de los CRM es utilizar

múltiples lotes como estándares de trabajo para cada corrida analítica. Se deben abrir botellas nuevas para cada ejecución, pero esto sería prohibitivamente costoso para la mayoría de los laboratorios. Los laboratorios de SIO y NIOZ han descubierto que un frasco de (C)RM previamente abierto se puede utilizar durante 1 o 2 días. Se debe tener cuidado de que las botellas abiertas de (C)RM no se contaminen y se deben almacenar bien tapadas a temperatura ambiente para garantizar que la concentración de nutrientes permanezca sin cambios.

Se debe incluir una tabla con el informe del crucero que muestre los valores verdaderos o asignados de los CRM, el valor promedio de los CRM determinados durante el crucero y las desviaciones estándar para cada canal analítico. Idealmente, los valores obtenidos para los CRM concuerdan con el valor asignado y, por lo tanto, no sería necesario normalizar los datos.

Si los valores de los materiales de referencia obtenidos en las corridas de análisis no concuerdan con el valor asignado, entonces esto debe anotarse. Todavía hay debate sobre el mejor método para normalizar los datos al valor de CRM. Si se sigue el uso recomendado del CRM (analizado como un valor desconocido con cada ejecución), entonces el conjunto de datos deberá normalizarse al valor real o asignado del material. Los analistas que ejecutan las muestras son los más informados sobre las condiciones analíticas y cualquier normalización realizada en los conjuntos de datos, basada en el uso de CRM, debe ser realizada por ese analista. Es imperativo que cualquier normalización realizada esté bien documentada. Se deben informar los valores originales de los CRM, así como los valores normalizados obtenidos. Los detalles sobre cómo se realizaron los ajustes deben incluirse en el informe de metadatos del crucero.

Si los CRM o RM se utilizan para la estandarización, el efecto es que el conjunto de datos se normaliza a los valores del material utilizado. Esto debe describirse de manera específica y clara en los metadatos y en el informe del crucero.

Los analistas deben saber que algunos valores asignados de CRM se informan en $\mu\text{mol/kg}$ y las concentraciones iniciales de muestras de nutrientes de los AA se calculan en $\mu\text{mol/L}$. Es

Es importante asegurarse de que las normalizaciones realizadas en los datos se basen en los valores asignados de CRM y estén en las mismas unidades que los datos obtenidos de la ejecución analítica.

Evaluación de la calidad de los datos Una

vez que se hayan completado las verificaciones y correcciones iniciales, se deben realizar verificaciones de evaluación de la calidad (QA) primarias y secundarias. El control de calidad primario es un proceso en el que se examinan los datos para identificar valores atípicos y errores obvios. Los valores atípicos se marcan o los datos se actualizan si se puede identificar un error corregible, por ejemplo, si un pico de muestra se leyó incorrectamente y no se identificó, o se ajustó cuando se procesó la ejecución del análisis. El control de calidad secundario es un proceso en el que el analista revisa objetivamente los datos para cuantificar los sesgos sistemáticos en los valores informados (p. ej., Tanhua et al., 2010). La mayoría de los laboratorios marítimos han desarrollado sus propios métodos y herramientas para realizar controles de calidad primarios y secundarios. Sin embargo, hay algunas herramientas de software diferentes que están disponibles para descargar para ayudar en las comparaciones de control de calidad primarias y secundarias, que incluyen: Ocean Data View (Schlitzer, 2020), JavaOcean Atlas (Osborne et al., 2020) y la caja de herramientas descrita por Lauvset y Tanhua (2015).

Comprobaciones primarias

de control de calidad Los datos de cada canal/químico deben trazarse en función de la presión o la profundidad para dilucidar cualquier anomalía que pueda ocurrir debido a que la botella del CTD se dispara incorrectamente, tiene fugas o tiene problemas de contaminación. Luego, estos datos se pueden trazar y comparar con otras propiedades físicas y químicas de las muestras analizadas a bordo. Se recomienda comparar los perfiles de nutrientes con los perfiles de salinidad, temperatura, oxígeno y carbono inorgánico disuelto, para ver si también se observan características o valores atípicos en esos parámetros.

Las gráficas de nitrato más nitrito (y amonio si se analiza) versus fosfato, y las gráficas de silicato versus valores de oxígeno, también permiten la identificación de cualquier valor problemático. Esto se puede hacer para cada estación una vez que todos los datos de los otros parámetros que se están midiendo estén disponibles. Los valores de las estaciones concurrentes también deben examinarse para garantizar que cualquier cambio en los valores sea real y no una indicación de un problema de sensibilidad, análisis o contaminación.

Comprobaciones secundarias de

control de calidad Se puede realizar una comparación de los datos actuales con los datos oceanográficos históricos para perfiles verticales y relaciones de nutrientes para detectar sesgos sistemáticos. Los registros de GO-SHIP (anteriormente CLIVAR) y los transectos de WOCE que cubren todos los océanos del mundo están en el registro público y se puede acceder a ellos a través de bases de datos como CCHDO4, aunque se recomienda utilizar el producto de datos ajustados por sesgo de CCHDO4. Si se detecta un posible sesgo en los datos durante el crucero, se deben realizar esfuerzos para identificar cualquier posible problema en el procedimiento analítico. GLODAP recomienda encarecidamente que no se aplique ninguna corrección de sesgo a los datos informados de un crucero, sino que se debe hacer una nota en los metadatos para cualquier posible problema de sesgo.

⁴ cchdo.ucsd.edu

⁵ <https://www.glodap.info/>

DOCUMENTACIÓN

Informes de cruceros

Lo siguiente debe incluirse en la sección de nutrientes de los informes de crucero:

(i) Designación (ID) del crucero e investigador(es) principal(es). (ii)

Si no figura en el informe del crucero en otra parte, la información de la estación CTD, incluida la posición de la estación, la hora, las profundidades de muestreo, el

número de botellas, etc. (iii) Nombres y afiliaciones

de los analistas. (iv) Número de muestras analizadas, lotes de estándares utilizados,

Cambios de columna y tubo de bomba.

(v) Equipo, metodología y reactivos utilizados. (vi)

Muestreo y cualquier procedimiento de

almacenamiento. (vii) Información, métodos y valores del estándar de

calibración. (viii) Procedimientos de recogida y tratamiento

de datos. (ix) Detalles de cualquier problema y solución de problemas que

ocurrió. (x) control de

calidad/garantía de la calidad:

- exactitud y precisión analítica declaradas; • límites de detección;
- valores de muestras de control y/o patrones de seguimiento;
- valores medidos de los materiales de referencia (incluido qué lote se utilizó y los valores asignados o certificados);
- si y cómo se hicieron normalizaciones a los datos, con base en las muestras internas de control/seguimiento o el CRM.

(xi) Referencias científicas.

Archivos de datos de botellas

Los datos de los análisis de nutrientes deben combinarse en archivos con valores de viaje de botella CTD, incluidos la profundidad y el número de botella CTD, los datos del sensor CTD y otros parámetros químicos que se miden durante el crucero/expedición de investigación. Cada parámetro debe incluir un campo para indicadores de control de calidad asociados.

Se medirán los nutrientes y los resultados iniciales informados por el AA estarán en $\mu\text{mol/L}$, por lo que es imperativo medir y registrar también la temperatura analítica del laboratorio para que pueda usarse junto con la salinidad para el cálculo y el informe final de los resultados en $\mu\text{mol/kg}$.

La conversión de unidades de volumen (litros) a masa (kg) debe calcularse con base en la densidad del agua de mar y la ecuación de estado (Millero et al., 1980). La ecuación de estado ha sido actualizada en Roquet et al. (2015). Se puede utilizar cualquiera de estas dos ecuaciones, pero se debe indicar claramente cuál se implementó y hacer referencia en los metadatos.

Si se analizaron materiales de referencia, el fabricante, el número de lote y los valores dados deben incluirse en el archivo de la botella.

CONCLUSIÓN

Se pueden obtener datos de nutrientes de alta calidad siguiendo los procedimientos descritos en este manual. Si la atención a los detalles de

configuración del instrumento autoanalizador de nutrientes para el control de calidad final de los datos, es posible obtener datos de macronutrientes inorgánicos de alta calidad (exactos y precisos) que requieren los programas internacionales a escala global, incluidos GO-SHIP y GEOTRACES, así como los programas que estudiar áreas y procesos específicos en los océanos del mundo, como estaciones de series temporales oceánicas y transectos.

DECLARACIÓN DE DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los datos sin procesar que respaldan las conclusiones de este artículo están puestos a disposición de los autores, sin reservas indebidas, para cualquier investigador calificado.

CONTRIBUCIONES DE AUTOR

SB, EMSW, KB y MA coordinaron y llevaron a cabo la revisión final y la finalización del manuscrito en un taller realizado en la Institución SCRIPPS en 2019. SB, EMSW, MA, KB, CM y TT eran todos miembros del Grupo de Trabajo Internacional SCOR #147 del cual este manual es uno de los resultados finales. Todos los autores contribuyeron a la redacción del manuscrito inicial y proporcionaron revisiones y contribuciones a las versiones revisadas.

FONDOS

El trabajo de WG #147 presentado en este artículo es resultado, en parte, de la financiación proporcionada por los comités nacionales del Comité Científico de Investigación Oceánica (SCOR) y de una subvención a SCOR de la Fundación Nacional de Ciencias de EE. UU. (OCE-1840868), más apoyo de la Fundación Nacional de Ciencias de EE. UU. (Grant OCE 1546580). Este manual ha sido respaldado por el Panel de expertos en biogeoquímica del IOCCP/GOOS como una mejor práctica para realizar todos los aspectos del análisis de nutrientes específicamente para el análisis de flujo continuo utilizando un autoanalizador de flujo segmentado.

EXPRESIONES DE GRATITUD

Este Manual de Nutrientes fue escrito y revisado por miembros del WG #147: Hacia la comparabilidad de los datos globales de nutrientes oceánicos (COMONUT) del Comité Científico de Investigación Oceánica (SCOR). Agradecemos las contribuciones realizadas por otros miembros del WG #147: Andrew Dickson, Bernadette Sloyan, Karin Bjorkman, Anne Daniel, Hema Naik y Raymond Roman.

Para hacer que este nuevo Manual sea lo más globalmente inclusivo posible, hubo una fase de 4 meses de disponibilidad pública para comentar hasta la primavera de 2019, donde el borrador del manuscrito estuvo disponible para descargar en los sitios web de IOCCP y GO-SHIP, y también en Ocean.

Sitio de mejores prácticas (OBP). Agradecemos a todos los colegas que revisaron el manuscrito y proporcionaron comentarios y sugerencias útiles para mejorar la versión final.

REFERENCIAS

- Aminot, A. y Kirkwood, DS (1995). Informe sobre los resultados del quinto estudio de intercomparación ICES para nutrientes en el agua de mar. *Cooperativa CIEM. Res. Rep.* 213:79.
- Aminot, A. y Kerouel, R. (1995). Material de referencia para nutrientes en agua de mar: estabilidad de nitrato, nitrito, amonio y fosfato en muestras autoclavadas. *Mar. Chem.* 49, 221–232. doi: 10.1016/0304-4203(95)00004-b
- Aminot, A., Kerouel, R. y Coverly, S. (2009). "Nutrients in seawater using segmented flow analysis," en *Practical Guidelines for the Analysis of Seawater*, ed. W. Oliver (Florida: CRC Press), 143–178.
- Aoyama, M. (2006). 2003. Ejercicio de intercomparación de material de referencia para nutrientes en agua de mar en una matriz de agua de mar. *tecnología Rep. Meteorol. Res. Inst.* 50:91.
- Aoyama, M. (2010). 2008 Estudio de comparación entre laboratorios de un material de referencia para nutrientes en agua de mar. *tecnología Rep. Meteorol. Res. Inst.* 60:134.
- Aoyama, M., Abad, M., Anstey, C., Ashraf, MP, Bakir, A., Becker, S., et al. (2016). IOCCP-JAMSTEC 2015 Ejercicio de calibración entre laboratorios de un material de referencia certificado para nutrientes en agua de mar. *Yokosuka: Agencia Japonesa de Ciencias y Tecnologías Marinas y Terrestres.*
- Aoyama, M., Bakker, K., van Ooijen, J., Ossebaer, S. y Woodward, EMS (2015). Informe de un taller internacional de nutrientes centrado en el análisis de fosfatos. *Japón: Desastre nuclear de Fukushima Daiichi.*
- Aoyama, M., Barwell-Clarke, J., Becker, S., Blum, M., Braga, ES, Coverly, SC, et al. (2008). Ejercicio de intercomparación de 2006 para material de referencia de nutrientes en agua de mar en una matriz de agua de mar. *tecnología Rep. Meteorol. Res. Inst.* 58:104.
- Aoyama, M., Becker, S., Minhan, D., Hideshi, D., Louis, IG, Kasai, H., et al. (2007). Comparabilidad reciente de datos de nutrientes oceanográficos: resultados de un ejercicio de intercomparación de 2003 utilizando materiales de referencia. *Analy. ciencia* 23, 1151–1154. doi: 10.2116/analsci.23.1151
- Armstrong, FAJ, Stearns, CA y Strickland, JDH (1967). La medición de surgencias y procesos biológicos posteriores mediante el Autoanalyzer Technicon y equipos asociados. *Resolución de aguas profundas.* 14, 381–389. doi: 10.1016/0011-7471(67)90082-4 Becker, S., Michio Aoyama, E., Malcolm, S., Woodward, Karel
- Bakker, Stephen Coverly, et al. (2019). Manual de nutrientes de hidrografía repetida de GO-SHIP: la determinación precisa y precisa de nutrientes inorgánicos disueltos en agua de mar, utilizando métodos de análisis de flujo continuo, en *Manual de hidrografía repetida de GO-SHIP: una colección de informes y directrices de expertos*, disponible en línea en: <https://www.oceanbestpractices.net/handle/11329/1023> (consultado el 5 de diciembre de 2019).
- Bernhardt, H. y Wilhelms, A. (1967). La determinación continua de bajo nivel de hierro, fosfato soluble y fosfato total con el AutoAnalyzer. *tecnología Síntoma* 1, 385–389.
- Burton, JD, Leatherland, TM y Liss, PS (1970). La reactividad del silicio disuelto en algunas aguas naturales. *Limnol. Oceanogr.* 15, 472–476.
- Daniel, A., Kerouel, R. y Aminot, A. (2012). Pasteurización: un método confiable para la conservación de nutrientes en muestras de agua de mar para aplicaciones entre laboratorios y de campo. *Mar. Chem.* 128–129, 57–63. doi: 10.1016/j.marchem.2011.10.002 Dickson, AG, Sabine, CL y Christian, JR (eds) (2007). *Guía de mejores prácticas para las mediciones de CO₂ en los océanos.* PICES Espec. publ. 3:191.
- Dore, JE, Houlihan, T., Hebel, DV, Tien, G., Tupas, L. y Karl, DM (1996). La congelación como método de conservación de muestras para el análisis de nutrientes inorgánicos disueltos en agua de mar. *Mar. Chem.* 53, 173–185. doi: 10.1016/0304-4203(96)00004-7 Grasshoff, K., Kremling, K. y Ehrhardt, M. (eds) (1983). *Determinación de nutrientes.* En *Métodos de análisis de agua de mar.* Alemania: Wiley-VCH.
- Holmes, RM, Aminot, A., Kerouel, R., Hooker, BA y Peterson, BJ (1999). Un método simple y preciso para medir el amonio en ecosistemas marinos y de agua dulce. *Poder. J. Pescador.* Agua. ciencia 56, 1801–1808. doi: 10.1139/99-128 Hoppema, M., Bakker, K., v.Heuven, SMAC, v.Ooijen, JC y de Baar, H. (2015). Distribuciones, tendencias y variabilidad interanual de nutrientes a lo largo de una sección repetida a través del Mar de Weddell (1996–2011). *Mar. Chem.* 177, 545–553. doi: 10.1016/j.marchem.2015.08.007 Hydes, DJ, Aoyama, M., Aminot, A., Bakker, K., Becker, S., Coverly, S., et al. (2010). Determinación de nutrientes disueltos (N, P, Si) en agua de mar con alta precisión e intercomparabilidad utilizando analizadores de flujo continuo segmentados por gas. *Manual de hidrografía repetida de GO-SHIP: una colección de informes y directrices de expertos.* Informe IOCCP n.º 14, serie de publicaciones de la OIPC n.º 134, versión 1. Consejo Internacional para la Exploración del Mar [CIEM] (1967). Informe sobre el análisis de fosfato en los ensayos de intercalibración de métodos químicos del ICES celebrados en Copenhague, 1966. ICES CM 1967/C: 20. Dinamarca: ICES.
- Consejo Internacional para la Exploración del Mar [CIEM] (1977). El ejercicio internacional de intercalibración para métodos de nutrientes. ICES Cooperative Research Report No. 67, 44 pp. Dinamarca: ICES.
- Jones, R. (1991). Un método de fluorescencia mejorado para la determinación de concentraciones nanomolares de amonio en aguas naturales. *Limnol. Oceanogr.* 36, 814–819. doi: 10.4319/lo.1991.36.4.0814
- Kerouel, R. y Aminot, A. (1997). Determinación fluorométrica de amoniaco en aguas marinas y estuarinas mediante análisis directo de flujo segmentado. *Mar. Chem.* 57, 265–275. doi: 10.1016/s0304-4203(97)00040-6
- Key, RM, Kozyr, A., Sabine, CL, Lee, K., Wanninkhof, R., Bullister, JL, et al. (2004). Una climatología global del carbono oceánico: Resultados del Proyecto de Análisis de Datos Globales (GLODAP). *globo Biogeoquímica. ciol.* 18:GB4031.
- Key, RM, Tanhua, T., Olsen, A., Hoppema, M., Jutterström, S., Schirnick, C., et al. (2010). El proyecto de síntesis de datos CARINA: introducción y descripción general. *Sistema Tierra. ciencia Datos* 2, 105–121. doi: 10.5194/essd-2-105-2010
- Kirkwood, DS, Aminot, A. y Perttilä, M. (1991). Informe sobre los resultados del cuarto ejercicio de intercomparación ICES para nutrientes en el agua de mar. *Cooperativa CIEM. Res. Rep.* 174:83.
- Lauvset, SK y Tanhua, T. (2015). Una caja de herramientas para el control secundario de calidad de la química oceánica y los datos hidrográficos. *Limnol. Oceanogr. Métodos* 13, 601–608. doi: 10.1002/lom3.10050 MacDonald, RW y McLaughlin, FA (1982). El efecto del almacenamiento por congelación en fosfato inorgánico disuelto, nitrato y silicato reactivo para muestras de aguas costeras y estuarinas. *Agua Res.* 1, 95–104. doi: 10.1016/0043-1354(82)90058-6
- MacDonald, RW, McLaughlin, FA y Wong, CS (1986). Almacenamiento de muestras de silicatos reactivos por congelación. *Limnol. Oceanogr.* 31, 1139–1142. doi: 10.4319/lo.1986.31.5.1139
- Millero, FJ, Chen, C.-T., Bradshaw, A. y Schleicher, K. (1980). Una nueva ecuación de estado de alta presión para el agua de mar. *Resolución de aguas profundas. Parte A* 27, 255–264.
- Moore, CM (2016). Diagnóstico de la deficiencia de nutrientes oceánicos. *Filosofía Trans. Una Matemática. física Ing. ciencia* 374:20150290. doi: 10.1098/rsta.2015.0290
- Murphy, J. y Riley, JP (1962). Un método modificado de solución única para la determinación de fosfato en aguas naturales. *Analy. quim. Acta* 27, 31–36. doi: 10.1016/s0003-2670(00)88444-5 Olsen, A., Key, RM, van Heuven, S., Lauvset, SK, Velo, A., Lin, X., et al. (2016). Un producto de datos consistente internamente para el océano mundial: el Proyecto de análisis de datos oceánicos globales, versión 2 (GLODAPv2). *Sistema Tierra ciencia Datos Discutir.* 8, 1–78. doi: 10.1007/1-4020-4028-8_1 Olsen, A., Lange, N., Key, RM, Tanhua, T., Álvarez, M., Becker, S., et al. (2019). GLODAPv2.2019: una actualización de GLODAPv2. *Sistema Tierra ciencia datos* 11, 1437–1461.
- Osborne, J., Swift, J. y Osborne, M. (2020). *Java OceanAtlas 5.5 [Software informático].* Disponible en línea en: <https://joa.ucsd.edu> (consultado en junio de 2020).
- Roquet, F., Madec, G., McDougall, TJ y Barker, PM (2015). Expresiones polinomiales precisas para la densidad y el volumen específico del agua de mar utilizando el estándar TEOS-10. *modelo oceánico.* 90, 29–43. doi: 10.1016/j.ocemod.2015.04.002
- Sakamoto, CM, Friederich, GE y Codispoti, LA (1990). Procedimientos MBARI para análisis automatizados de nutrientes utilizando un analizador de flujo rápido Alpkem Serie 300 modificado. *Monter. Bahía Aquar. Res. Inst. tecnología Rep.* 9:84.
- Strickland, JDH y Parsons, TR (1972). *Un manual práctico de análisis de agua de mar (2ª edición).* J. Pescado. Res. Bd. Poder. 167:311.
- Schlitzer, Reiner (2020). *Vista de datos oceánicos.* Disponible en línea en: odv.awi.de.
- Stoyan, BM, Wanninkhof, R., Kramp, M., Johnson, GC, Talley, LD, Tanhua, T., et al. (2019). El programa mundial de investigaciones hidrográficas oceánicas a bordo de buques (GO-SHIP): una plataforma para la ciencia oceánica multidisciplinaria integrada. *Frente. Ciencia de marzo.* 6:445. doi: 10.3389/fmars.2019.00445
- Suzuki, T., Ishii, M., Aoyama, A., Christian, JR, Enyo, K., Kawano, T., et al. (2013). Proyecto de Síntesis de Datos PACIFICA, ORNL/CDIAC-159, NDP-092, Centro de Análisis de Información de Dióxido de Carbono, Oak Ridge: Laboratorio Nacional de Oak Ridge.

- Swift, JH (2010). Datos de muestra de agua de calidad de referencia: notas sobre adquisición, mantenimiento de registros y evaluación. Manual de hidrografía repetida de GO-SHIP: una colección de informes y directrices de expertos. Informe IOCCP n.º 14, serie de publicaciones de la OIPC n.º 134, versión 1.
- Talley, LD, Feely, RA, Sloyan, BM, Wanninkhof, R., Baringer, MO, Bullister, JL, et al. (2016). Cambios en el calor del océano, el contenido de carbono y la ventilación: una revisión de la primera década de hidrografía global repetida de GO-SHIP. *Rev. Mar. Sci.* 8, 185–215. doi: 10.1146/annurev-marine-052915-100829
- Tanhua, T., van Heuven, S., Key, RM, Velo, A., Olsen, A. y Schirnick, C. (2010). Procedimientos y métodos de control de calidad de la base de datos CARINA. *Sistema Tierra ciencia Datos* 2, 35–49. doi: 10.5194/essd-2-35-2010
- Topping, G. (1997). QUASIMEME: medidas de calidad para la monitorización marina. Revisión del proyecto de la UE 1993-1996. Contaminación de marzo. *Toro*. 35, 1–201.
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura UNESCO (1965). "Informe sobre las mediciones de intercalibración", Documentos técnicos de la UNESCO en ciencias marinas, (París: UNESCO).
- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura UNESCO (1967). 'Informe sobre medidas de intercalibración', Documentos técnicos de la UNESCO sobre ciencias marinas, (París: UNESCO).
- Zhang, JZ, Fischer, CJ y Ortner, PB (1999). Optimización del rendimiento y minimización de la interferencia de silicatos en el análisis de fosfato de flujo continuo. *Talanta* 49, 293–304. doi: 10.1016/S0039-9140(98)00377-4 Zhang, JZ y Ortner, PB (1998). Efecto de las condiciones de descongelación en la recuperación de ácido silícico reactivo a partir de muestras de agua natural congelada. *Agua Res.* 32, 2553–2555. doi: 10.1016/S0043-1354(98)00005-0
- Conflicto de intereses: SC fue empleado de la empresa BLTEC Korea Limited.
- Los restantes autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.
- Copyright © 2020 Becker, Aoyama, Woodward, Bakker, Coverly, Mahaffey y Tanhua. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de Creative Commons Attribution License (CC BY). Se permite el uso, distribución o reproducción en otros foros, siempre que se acredite al autor o autores originales y a los propietarios de los derechos de autor y se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada. No se permite ningún uso, distribución o reproducción que no cumpla con estos términos.