

ACCESO ABIERTO

EDITADO POR

julieta hermes,  
 ambiental sudafricano  
 Red de Observación (SAEON), Sur  
 África

REVISADO POR

Isabel menor,  
 Universidad de Minnesota Duluth,  
 Estados Unidos  
 morimaru kida,  
 Universidad de Kobe, Japón

\*CORRESPONDENCIA

Elisa Halewood  
 wallner@ucsb.edu  
 Craig A. Carlson  
 craig\_carlson@ucsb.edu

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

SECCIÓN DE ESPECIALIDADES

RECIBIDO 04 Octubre 2022

ACEPTADO 23 noviembre 2022

PUBLICADO 12 Diciembre 2022

CITACIÓN

Halewood E, Opalk K, Custals L, Carey M,  
 Hansell DA y Carlson CA (2022) Determinación de  
 carbono orgánico disuelto y nitrógeno disuelto total  
 en agua de mar mediante análisis de combustión a  
 alta temperatura. *Ciencia de marzo*. 9:1061646.  
 doi: 10.3389/fmars.2022.1061646

DERECHOS DE AUTOR

© 2022 Halewood, Opalk, Custals,  
 Carey, Hansell y Carlson. 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 el uso,  
 distribución o reproducción que no  
 cumpla con  
 estos términos.

# Determinación de carbono orgánico disuelto y nitrógeno disuelto total en agua de mar utilizando alta temperatura

Análisis de combustión

Elisa Halewood<sup>1\*</sup>, Keri Opalk<sup>1</sup>, Lillian Custals<sup>2</sup>,  
 Maverick Carey<sup>1</sup>, Dennis A. Hansell<sup>2</sup> y Craig A. Carlson<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciencias Marinas, Departamento de Ecología, Evolución y Biología Marina, Universidad de California Santa Bárbara, Santa Bárbara, CA, Estados Unidos, <sup>2</sup> Departamento de Ciencias Oceánicas, Escuela Rosenstiel de Ciencias Marinas y Atmosféricas, Universidad de Miami, Miami, FL, Estados Unidos

Este documento describe las mejores prácticas para el análisis de materia orgánica disuelta (carbono orgánico disuelto y nitrógeno total disuelto) en muestras de agua de mar.

Se incluyen SOP para la recolección y almacenamiento de muestras, detalles para análisis de laboratorio utilizando análisis de combustión a alta temperatura en analizadores de TOC Shimadzu y sugerencias de mejores prácticas en control y garantía de calidad. Aunque está escrito específicamente para las prácticas de la comunidad oceanográfica GO-SHIP, muchos aspectos de la recolección y el procesamiento de muestras son relevantes para la determinación de DOM en todos los regímenes oceánicos y este documento tiene como objetivo proporcionar una metodología actualizada para la comunidad marina en general.

PALABRAS CLAVE

carbono orgánico disuelto (DOC), nitrógeno disuelto total (TDN), materia orgánica disuelta, análisis de combustión a alta temperatura, GO-SHIP, mejores prácticas, metodología

## 1. Introducción

La materia orgánica disuelta (DOM), definida operativamente como materia orgánica que pasa a través de un filtro submicrónico, es una mezcla compleja de moléculas orgánicas compuesta por carbono, hidrógeno y oxígeno, así como nitrógeno, fósforo y azufre. Resolver la dinámica de cada fracción de DOM ayuda a dilucidar las cuestiones más importantes del ciclo biogeoquímico de DOM. A  $-662 \pm 32$  Pg (1015 g) C, el carbono orgánico disuelto oceánico (DOC) es uno de los depósitos biorreactivos de carbono más grandes del océano (Williams y Druffel, 1987; Hansell y Carlson, 1998; Hansell et al., 2009), y es comparable a la masa de C inorgánico en la atmósfera (MacKenzie, 1981; Eppley et al., 1987; Fasham et al., 2001).

Las perturbaciones en las fuentes o sumideros de la reserva oceánica de DOC afectan el equilibrio entre el CO<sub>2</sub> oceánico y atmosférico, lo que quizás lo haga significativo desde el punto de vista climático (Ridgwell y Arndt, 2014). Además, la mayor parte de la reserva permanente de nitrógeno fijo en la superficie del océano (<200 m) se encuentra en forma de nitrógeno orgánico disuelto (DON) (Bronk, 2002; Aluwihare y Meador, 2008; Letscher et al., 2013). Como tal, es importante comprender los procesos que controlan la distribución, los inventarios y los flujos de DOC y DON en el océano global.

Antes de la década de 2000, faltaban datos de alta calidad para describir y cuantificar adecuadamente la DOM en el océano. En la década de 1980, la controversia sobre los métodos de DOC y los análisis de nitrógeno total disuelto (TDN) en el agua de mar (Williams y Druffel, 1988) resultó en esfuerzos por parte de la comunidad de geoquímica marina para mejorar la precisión de la medición y establecer la comparabilidad entre conjuntos de datos (Sharp, 1993; Sharp et al., 1995; Sharp et al., 2002a; Sharp et al., 2002b), procedimientos en blanco adecuados (Benner y Strom, 1993) y métodos que utilizan materiales de referencia (Hansell, 2005). El método de combustión a alta temperatura (HTC) que utiliza instrumentos comerciales como el analizador de carbono orgánico total (TOC) de Shimadzu ahora es común para medir DOC y TDN en agua de mar. Los avances en la habilidad analítica y el aumento de la frecuencia del muestreo oceánico global (a través de sitios de series temporales y en conjunto con programas a escala de cuenca como el Programa de Investigación Hidrográfica de Barcos de Océanos Globales de EE. UU. (US GO-SHIP)) han mejorado considerablemente la resolución temporal y espacial de la variabilidad DOC (Hansell et al., 2009; Carlson et al., 2010; Hansell et al., 2021). Además, se han iluminado las contribuciones de DOM a la ecología y la biogeoquímica de la columna de agua del océano (Baetge et al., 2021; Liu et al., 2022).

Este documento describe los procedimientos para la recolección y medición de DOC y TDN (este último se usa junto con las mediciones de nitrato, nitrito y amoníaco para derivar la concentración de DON) en muestras discretas de agua de mar. Es adecuado para el ensayo de niveles oceánicos de DOC (típicamente <80  $\mu\text{mol C kg}^{-1}$ ) y nitrógeno total disuelto (<40  $\mu\text{mol N kg}^{-1}$ ). Presenta las mejores prácticas para lograr una mejor determinación utilizando el método HTC siguiendo el enfoque de Carlson et al. (2010), que se ha utilizado en los cruceros GO-SHIP de EE. UU. desde 2003. El enfoque básico sigue siendo el mismo, pero los analizadores se han optimizado a lo largo de los años. Los instrumentos analizados y los procedimientos descritos son los específicos de los métodos empleados en el Laboratorio Hansell de la Escuela Rosenstiel de Ciencias Marinas y Atmosféricas de la Universidad de Miami y el Laboratorio Carlson de la Universidad de California en Santa Bárbara. Este documento se basa en las pautas existentes para el análisis de DOC en agua de mar (Tappin y Nimmo, 2019) y busca proporcionar actualizaciones detalladas y protocolos paso a paso sobre la recolección y almacenamiento de muestras, optimizando los sistemas de TOC de Shimadzu para un alto rendimiento de muestras de agua de mar y calidad. prácticas de evaluación/control de calidad (QA/QC) usando calibración y materiales de referencia. Además, presentamos

procedimientos metodológicos para el análisis de TDN acoplado utilizando sistemas TOC de Shimadzu. Hemos elegido destacar los instrumentos científicos de Shimadzu debido a la facilidad de uso de sus instrumentos TOC listos para usar y su excelente límite de detección, pero también pueden ser apropiados instrumentos de otros fabricantes con capacidades de detección equivalentes o máquinas hechas a la medida. Una versión anterior de este manuscrito (Halewood et al., 2022) se publicó como parte de la Colección de Prácticas Hidrográficas Repetidas de GO-SHIP. Esta versión es aplicable a una audiencia marina más amplia.

## 2 Recolección y almacenamiento de muestras

Las técnicas de muestreo y el manejo adecuados son esenciales para proporcionar datos de alta calidad. Las aguas de mar abierto contienen concentraciones relativamente bajas de DOC (~35-80  $\mu\text{mol C kg}^{-1}$ , Hansell et al., 2009) en comparación con el carbono inorgánico disuelto (DIC) (~1900-2200  $\mu\text{mol kg}^{-1}$ ) y se contaminan fácilmente a través de mala manipulación, aparato limpiado inadecuadamente, exposición atmosférica inadvertida a contaminantes volátiles o condiciones de almacenamiento inadecuadas. Los métodos descritos aquí tienen como objetivo minimizar estos fuentes de error.

### 2.1 Botellas de muestra

Se recomienda que las muestras se filtren directamente desde la botella de recolección (es decir, botella Niskin) a través de un filtro en línea (ver a continuación) y dentro de una botella de muestra previamente limpiada. Para minimizar la manipulación, recomendamos viales de vidrio precombustidos de 40 ml que se ajusten al muestreador automático Shimadzu TOC. Estos viales están hechos de vidrio de borosilicato tipo I químicamente inerte. Si bien estos se pueden comprar limpios certificados (cumpliendo con los requisitos de la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. (EPA) para la prueba de contaminantes ambientales potencialmente dañinos en muestras de agua o suelo y análisis de TOC), hemos encontrado que no son lo suficientemente limpios para mediciones de DOC oceánico de baja concentración. . Preparamos viales en casa como se indica a continuación para que estén limpios y libres de sustancias que puedan influir en el análisis. Si el vidrio es un desafío logístico, las muestras también se pueden recolectar en botellas de polietileno de alta densidad (HDPE) o policarbonato (PC) lavadas con ácido. Las pruebas han demostrado que la concentración de DOC medida en botellas de vidrio, PC y HDPE es comparable a la resolución  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Apéndice A complementario). Tanto los recipientes de muestra de vidrio como los de plástico son reutilizables. Antes del primer uso, o entre usos, las botellas de HDPE o PC deben empaparse en ácido clorhídrico 1 M (grado HCl certificado ACS Plus, consulte el Apéndice B), enjuagarse con agua con bajo TOC (UV-Nanopure™ o UV-MilliQ® generado y en lo sucesivo, "agua ultrapura/UW"), y secado al aire por completo antes de tapar. Los viales de vidrio son los más fáciles de preparar y aseguran que estén limpios. Estos se vacían, se enjuagan 3 veces con UW, se secan y se calientan a 450 °C durante  $\geq$

4 horas para eliminar los compuestos orgánicos (la temperatura de trabajo máxima recomendada por el fabricante para este tipo de vidrio de borosilicato es de 500 °C). En HCl 1 M, enjuagado con agua ultrapura y secado entre usos. Consulte [el material complementario](#) para conocer los procedimientos de limpieza detallados (SOP1) y el equipo sugerido ([Apéndice B](#)).

## 2.2 Filtros

DOM se define operativamente como la fracción de materia orgánica total que pasa a través de un filtro submicrónico (es decir, 0,22 - 0,7 mm). En la práctica, los oceanógrafos suelen utilizar filtros Whatman® GF/F (tamaño de poro nominal de 0,7 mm) como punto de corte entre las fracciones de partículas y materia orgánica disuelta ([Knap et al., 1996](#)). Estos filtros de fibra de vidrio de borosilicato se usan más comúnmente para medidas a granel de DOC y TDN ([Carlson et al., 1998](#)), ya que se pueden preparar fácilmente mediante precombustión y el caudal a través de los filtros es ideal para un muestreo rápido en línea. Los filtros GF-75 (tamaño de poro nominal de 0,3 mm, Advantec MFS, EE. UU.) también son apropiados, ya que pueden quemarse y pueden ser los preferidos cuando se miden simultáneamente subfracciones de DOM (como aminoácidos) donde se requiere la máxima exclusión de partículas del conjunto disuelto, deseado.

Para las concentraciones de materia orgánica disuelta a granel, no resolvemos las diferencias entre el uso de GF-75 y GF/F. El GF-75 y/o los filtros GF/F se preparan quemándolos a 450 °C durante 4 horas en paquetes de aluminio. No superamos los 450°C porque la matriz del filtro puede alterarse a temperaturas más altas. Después de enfriar los paquetes de filtros, el paquete de aluminio que contiene los filtros se sella en bolsas de plástico secundarias hasta su uso. Se recomienda empacar solo los filtros necesarios para una sola colada en cada paquete de aluminio para evitar una exposición prolongada de los filtros quemados a contaminantes orgánicos volátiles en el aire. En preparación para el muestreo, se coloca un filtro en un cartucho de filtro de policarbonato de 47 mm previamente limpiado. Siempre se recomienda la filtración por gravedad para evitar la ruptura de las células y el desgarro de los filtros. Consulte los [SOP1](#) y [SOP2 complementarios](#) para obtener detalles sobre la preparación del filtro y la limpieza del cartucho en línea, y el [Apéndice B](#) para obtener información relevante sobre el producto.

## 2.3 Procedimiento de muestreo Niskin

Es importante seleccionar un espacio de trabajo limpio de DOM en el laboratorio a bordo (es decir, bien ventilado y libre de sustancias orgánicas volátiles, fijadores orgánicos, pintura fresca, marcadores permanentes, humo, etc.) y mantener esta área limpia para el almacenamiento, limpiando y preparando el equipo de muestreo diariamente.

Cubra la parte superior del banco con un forro absorbente y reemplácelo con frecuencia. El equipo de muestreo (p. ej., portafiltros, tubos de silicona) debe limpiarse en una solución ácida diluida (HCl 1 M) antes de cada uso ([SOP1 complementario](#)). Se recomienda que antes

se utilicen etiquetas impresas; como alternativa, el etiquetado con marcadores solo debe realizarse cuando los viales estén bien cerrados, ya que los marcadores permanentes contienen disolventes que pueden contaminar las muestras.

Se deben usar guantes durante la recolección y manipulación de DOM para minimizar la contaminación. Los guantes de nitrilo sin talco, polietileno y vinilo sin látex son opciones seguras ya que tienen una lixiviación orgánica baja cuando se exponen al agua de mar. Debido a que las muestras de DOM se pueden contaminar fácilmente, se recomienda que la recolección de la roseta CTD se realice lo antes posible después del muestreo de gas. También se recomienda que cualquier persona que tome muestras de la roseta antes de la recolección de muestras de DOM use guantes.

Si eso no es posible, se debe hacer todo lo posible para no tocar el grifo de la botella de Niskin (es decir, la ruta del chorro de agua, desde Niskin hasta la botella de muestra, debe mantenerse muy limpia). Lo que es más importante, cualquier muestreo anterior a DOM debe evitar el uso de grasa o tubos Tygon®, ya que se sabe que contaminan DOM a nivel  $\mu$ molar. Si Tygon® es inevitable para otros muestreadores, el suministro de una pequeña sección de tubo de silicona como adaptador

se aconseja entre Niskin y Tygon®. La grasa mecánica de las operaciones del barco (p. ej., el lubricante para cables CTD) nunca debe entrar en contacto con la válvula de muestreo o el grifo de la botella Niskin.

El hecho de que una muestra se filtre o no antes del análisis depende del objetivo de la medición. Si DOC y TDN son las variables de interés, se deben filtrar todas las muestras.

Sin embargo, la manipulación de filtros y aparatos puede aumentar el potencial de contaminación, por lo que en algunos casos se puede omitir la filtración ([Mopper y Qian, 2006](#)). En la mayoría de las aguas oligotróficas o profundidades > 250 m de los márgenes del océano, el DOC es el componente dominante del TOC, superando el inventario de carbono de las partículas orgánicas en varios órdenes de magnitud ([Cauwet 1978; Hansell et al., 2012](#)). En áreas de alta productividad, una porción sustancial de carbono orgánico en la zona eufótica puede estar presente en forma de partículas, y muchas de esas partículas pueden ser grandes y distribuidas heterogéneamente en una muestra, de modo que estos tipos de muestras deben filtrarse.

El [Apéndice A complementario \(Figura A2\)](#) presenta perfiles verticales de TOC y DOC en regiones contrastantes como ejemplo. Como componentes importantes de los ciclos globales del carbono, la medición precisa de cada fracción es fundamental para restringir el balance de masa de carbono en los modelos oceánicos. Para mantener la coherencia al muestrear en entornos tanto oligotróficos como eutróficos, se recomienda filtrar, como mínimo, para todas las muestras de  $\leq 250$  m. En entornos oligotróficos, se puede reutilizar un filtro para varias muestras consecutivas alrededor de la roseta para conservar los recursos. Se recomienda filtrar las muestras desde la mayor profundidad hasta la menor; las concentraciones de partículas generalmente aumentarán más cerca de la superficie del océano, lo que podría causar que el filtro se obstruya o que las partículas se interrumpen, lo que requerirá el uso de más filtros para una estación. Los estudios han demostrado que DOC

puede absorberse en sitios activos en los filtros GF/F, lo que plantea la cuestión de si la filtración a través de GF/F elimina la materia orgánica del filtrado DOC ([Turnewitsch et al., 2007; Novak et al., 2018](#)).

Se pasan aproximadamente 60 ml de muestra a través de un filtro nuevo durante el procedimiento de lavado y enjuague del vial. Las pruebas después del paso de enjuague del filtro y la botella muestran que no se puede resolver una mayor extracción de carbono orgánico del filtrado DOC al nivel de  $\mu\text{mol kg}^{-1}$  (Figura complementaria A3). Estos resultados sugieren que la sorción de materia orgánica disuelta en filtros GF/F quemados satura rápidamente los sitios activos en un filtro quemado (dentro de ~ 60 ml) y no es un problema de eliminación de DOC cuando se filtran muestras para análisis de DOM a granel.

Las muestras se deben filtrar por gravedad en la roseta a través de un cartucho de filtro en línea que alberga un filtro GF/F quemado y se deben conectar directamente a la espiga Niskin a través de un tubo de silicona platinizado limpio con ácido (Cole-Parmer, Apéndice B complementario). Este tipo de tubo de silicona curada con platino ofrece durabilidad y minimiza lixiviación orgánica en comparación con Tygon®. Enjuague el recipiente de muestra y la tapa tres veces con agua de muestra antes de llenarlo tres cuartas partes (consulte el SOP 2 complementario para obtener instrucciones paso a paso). Es importante recolectar un volumen suficiente para el análisis y minimizar la relación entre el área de la superficie y el volumen del recipiente (un mínimo de 15 ml en un vial de vidrio o 30 ml en una botella de HDPE para cada analito deseado, DOC o TDN) y al mismo tiempo tener cuidado para no sobrellenar el recipiente de la muestra. Vale la pena repetir que se debe tener cuidado durante el muestreo para evitar cualquier contaminante obvio como el humo del cigarrillo, los vapores de pintura, el exceso de gases del motor en el área de muestreo o los solventes orgánicos en los laboratorios, etc. Equipo de muestreo (filtros quemados y material de vidrio en particular) deben mantenerse cuidadosamente sellados hasta el momento del muestreo para evitar la absorción de contaminantes en el aire sobre las superficies limpias. Siempre registre eventos inusuales con respecto a las muestras; agregue notas que puedan ser útiles para explicar los resultados.

### 2.3.1 Ejemplo de plan de recolección

Para las secciones del GO-SHIP de EE. UU., se toman muestras de 24 a 36 botellas Niskin (24 a 36 profundidades en toda la columna de agua) en estaciones alternas (es decir, el muestreo de estación para DOM ocurre a intervalos de ~60 millas náuticas). Para otras campañas, las decisiones de muestreo con respecto a la resolución horizontal o vertical dependerán de los objetivos científicos del proyecto. Para evaluar el error de manejo de la muestra, se recomienda que las muestras repetidas se recolecten al azar de un subconjunto de profundidades sobre un perfil hidrográfico. Para las secciones actuales de GO-SHIP de EE. UU., la práctica estándar es replicar 2 botellas Niskin por cada 36 botellas moldeadas (~6 % de replicación en el conjunto de muestras).

## 2.4 Conservación y almacenamiento de muestras

Muchos instrumentos analíticos DOM no son lo suficientemente estables para realizar análisis en el mar; por lo tanto, el almacenamiento seguro de las muestras es esencial. Después de la recolección en la roseta, las muestras pueden conservarse y almacenarse para su posterior análisis en un laboratorio en tierra utilizando varios métodos.

### 2.4.1 Almacenamiento congelado

Las muestras de agua de mar recogidas en vidrio no deben almacenarse a temperaturas inferiores a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ya que las temperaturas más frías (p. ej.,  $< -40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) pueden provocar la rotura del vidrio al descongelarse. Si el almacenamiento a temperaturas  $< -20\text{ }^{\circ}\text{C}$  es la única opción disponible, entonces el uso de recipientes de muestreo de plástico (HDPE o PC) es una alternativa segura para los análisis DOC/TDN a granel. Las muestras congeladas que han sido acidificadas solo deben almacenarse en vidrio, ya que el plástico se lixiviará con la exposición prolongada al ácido. Para las muestras recolectadas en plástico y no acidificadas, es importante congelarlas lo antes posible después de la recolección para evitar cambios en la materia orgánica debido a la actividad biológica. Al almacenar muestras congeladas, es imperativo que estas muestras no se llenen en exceso ya que el agua se expandirá con la congelación. Las pruebas han demostrado que se establece un gradiente de salinidad durante la congelación con un alto contenido de salmuera/agua con DOC alto que potencialmente se desplaza a través de las roscas de la tapa si la botella se llena en exceso (Apéndice complementario, Figura A4). Esta extrusión da como resultado una concentración de DOM diluida, lo que hace que la muestra se vea comprometida. Se debe tener cuidado de congelar las muestras en posición vertical y verificar que las tapas estén bien selladas antes de congelarlas y almacenarlas y nuevamente antes de enviarlas. Separe las muestras congeladas de cualquier otro material orgánico volátil almacenado para evitar la contaminación orgánica volátil transportada por el aire.

Las muestras congeladas se pueden almacenar de forma segura durante períodos de años (consulte las pruebas de almacenamiento de muestras, Apéndice A complementario). Antes del análisis, las muestras congeladas deben descongelarse completamente a temperatura ambiente y homogeneizarse. Es ideal el uso de un dispositivo mecánico como un mezclador de vórtice. El mezclador debe configurarse a una velocidad lo suficientemente alta como para que se vea un vórtice y se extienda desde la superficie de la muestra hasta el fondo del recipiente.

### 2.4.2 Almacenamiento acidificado y líquido

El envío de muestras congeladas es costoso y, a menudo, poco fiable; así, una alternativa al almacenamiento en congelación es la recolección en viales de vidrio, la acidificación y el almacenamiento en forma líquida. Las muestras deben acidificarse poco después de la recolección agregando  $2\ \mu\text{l}$  de ácido clorhídrico 4 M (ACS o trazas de metal) por 1 ml de muestra. Esta proporción de ácido/muestra debe llevar la muestra a un pH de 2-3. Revise periódicamente las muestras para asegurarse de que se alcance este pH bajo. Esto se puede hacer extrayendo unos pocos ml de muestra (usando una punta no estéril y una pipeta limpia DOC) y usando este volumen para humedecer una tira de pH. Nunca sumerja una tira de pH directamente en una muestra, ya que esto provocará la contaminación. A un pH de 2-3, la actividad biológica se detiene, lo que garantiza un almacenamiento seguro, y las especies de carbono inorgánico se convierten en  $\text{CO}_2$  y luego se desgasifican de la solución de la muestra con un rociado en el sistema de TOC en el momento del análisis (no se recomienda el rociado en el momento de la recolección de la muestra). Se recomienda ya que menos manipulación es mejor para prevenir la contaminación). Se recomienda una pipeta repetidora con una punta limpia con ácido para la adición de ácido (consulte el SOP 2 complementario para obtener más detalles). Se recomienda preparar un lote de 100 a 500 ml de HCl 4 M usando agua de alta pureza.

ácido (ACS Plus certificado, [apéndice B](#) complementario) diluido con agua ultrapura y luego alícuotar y sellar el HCl 4 M en ampollas de vidrio precombustidas de 1-2 ml. Se recomienda utilizar una nueva ampolla para cada nueva estación de muestreo y desechar los restos no utilizados para evitar la contaminación.

El momento de la acidificación dependerá de la actividad biológica del sistema ambiental, pero las muestras de mar abierto permanecen estables si se acidifican dentro de la hora posterior a la recolección. se aconseja que las muestras se almacenen en un espacio de laboratorio oscuro, libre de sustancias orgánicas volátiles a temperatura ambiente, o en un refrigerador (4 °C) o cámara ambiental (< 20 °C). Nunca use tapas con septos perforados al recolectar muestras, ya que la muestra puede contaminarse durante el envío y el almacenamiento; si se utilizan septos, asegúrese siempre de que el revestimiento de PTFE mire hacia la muestra. Con estas precauciones, las pruebas muestran que las muestras acidificadas también se pueden almacenar en el orden de los años. Consulte el [Apéndice A complementario \(Figuras A5-A7\)](#) para obtener más detalles. el que el área del pico se integra con el software cromatográfico Shimadzu.

El envío de muestras acidificadas en viales de vidrio es una opción viable siempre que el contenedor de envío esté bien protegido para evitar roturas durante el envío. Las inserciones de espuma en cajas de campo de plástico corrugado o los planos de cartón con divisores de muestra colocados en un recipiente rígido o hielera funcionan bien. Consulte la información complementaria (SOP2 y [Apéndice B](#)) para las piezas. Lo que es más importante, las muestras en plástico o vidrio deben taparse herméticamente y permanecer en posición vertical para minimizar la contaminación durante el transporte.

### 3 Instrumentación

Hay varios sistemas HTC personalizados y comerciales que se han descrito anteriormente ([Peltzer y Brewer, 1993](#); [Benner y Strom, 1993](#); [Hansell, 1993](#); [Carlson et al., 1994](#); [Sharp et al., 2002a](#); [Hansell y Carlson, 1998](#)); sin embargo, encontramos que Shimadzu TOC-VCSH y la nueva serie TOC-LCSH son instrumentos HTC de alto rendimiento que brindan rangos, confiabilidad y sensibilidad adecuados para las mediciones de agua de mar.

Por lo tanto, mientras que otros instrumentos también pueden ser apropiados para el análisis HTC de agua de mar, limitamos nuestra discusión a los sistemas Shimadzu TOC-V y TOC-L en esta guía de mejores prácticas. Estos modelos están acoplados con muestreadores automáticos Shimadzu ASI-V/ASI-L, que admiten viales de vidrio de 40 ml para una mayor eficiencia de procesamiento. Se puede acoplar una unidad de analizador Shimadzu TNM-1/TNM-L al instrumento para proporcionar un análisis de TDN. Las unidades TNM comparten el tubo de combustión y el catalizador con la unidad TOC, de modo que se minimiza el mantenimiento para la operación adicional. En esta configuración del sistema, es posible ejecutar análisis DOC o TDN independientes, o ejecutar análisis acoplados (DOC y TDN) ya que cada detector funciona de forma independiente.

#### 3.1 Análisis DOC

El contenido de DOC del agua de mar se define como la concentración de carbono que queda en una muestra de agua de mar después de partículas y

el carbono inorgánico ha sido eliminado. Las concentraciones de DOC se determinan mediante un método HTC realizado en un TOC Shimadzu modificado como se describió previamente por [Carlson et al. \(2010\)](#).

Se extrae una muestra preacidificada (filtrada en el momento de la recolección para eliminar el COP) en una jeringa de inyección de 5 ml y se rocía (100 ml/min) durante un mínimo de 1,5 minutos con gas libre de CO<sub>2</sub>, lo que produce una muestra que contiene solo sustancias no contaminantes. carbón orgánico purgable. Se inyectan réplicas (100 µL) de la muestra burbujeada resultante en un tubo de combustión de cuarzo calentado a 680 – 720 °C, donde el carbono orgánico se quema/oxida a CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> resultante y el gas portador (velocidad de flujo de 168 ml/min) pasan a través del deshumidificador electrónico interno Shimadzu, una trampa de agua de perclorato de magnesio (cuando no se realiza el análisis de nitrógeno), una trampa de haluro de malla de cobre, un filtro de partículas de 0,45 µm, y luego en el analizador de gas infrarrojo no dispersivo (NDIR) de Shimadzu. La señal de CO<sub>2</sub> da como resultado un pico de muestra en

#### 3.2 Análisis de TDN

El contenido de TDN del agua de mar se define de manera similar como la concentración de nitrógeno combinado que queda en una muestra de agua de mar después de eliminar las partículas de nitrógeno. El TDN se determina de forma independiente mediante el método de combustión a alta temperatura ([Walsh, 1989](#)) en un TOC Shimadzu modificado con un analizador Shimadzu TNM adjunto. El gas portador se suministra a un caudal de 168 ml/min y la unidad TNM genera ozono (O<sub>3</sub>) a un caudal de 0,5 l/min. Se inyectan réplicas (100 µL) de la muestra filtrada en el tubo de combustión calentado a 720 °C, donde el TN de la muestra se convierte en óxido nítrico (NO). La corriente de gas resultante luego pasa a través del deshumidificador electrónico interno Shimadzu, una trampa de haluro de malla de cobre, un filtro de 0,45 µm y al analizador de quimioluminiscencia, donde el gas NO seco reacciona con O<sub>3</sub> para producir un óxido nitroso excitado. La señal de fluorescencia resultante es detectada por el detector de quimioluminiscencia Shimadzu TNM.

El área del pico resultante se integra con el software cromatográfico Shimadzu. Tenga en cuenta la ausencia de una trampa de agua de perclorato de magnesio en esta configuración, ya que esta trampa elimina el NO (ver más abajo, Sección 3.1).

#### 3.3 Análisis DOC/TDN acoplado

Es posible un método dual utilizando el software Shimadzu para proporcionar análisis DOC y TDN en una muestra simultáneamente. Se analiza una muestra filtrada para cada analito como se detalla anteriormente, con el horno TOC ajustado a 720 °C, la omisión de la trampa de agua de perclorato de magnesio en línea y cada detector informa por separado. Los análisis acoplados pueden afectar la calidad máxima del NDIR; por lo tanto, se recomienda que los analistas

Supervise de cerca la calidad de la forma máxima de la salida NDIR (DOC) en el modo de operación de análisis dual.

3.3.1 Sistema Shimadzu HTC modificado para optimizar la señal Los usuarios deben consultar

primero el instrumento del fabricante

manuales para las especificaciones de puesta en marcha, operación y mantenimiento. Para optimizar las muestras de agua de mar, las condiciones de funcionamiento de los analizadores de TOC de Shimadzu se modifican ligeramente con respecto al sistema modelo del fabricante.

Se retira el serpentín de enfriamiento y se reduce el espacio superior de la trampa de agua pura para minimizar el espacio muerto del sistema. La trampa de agua pura es un depósito de vidrio que acumula vapor de agua que se condensa al salir del tubo de combustión. Este depósito se puede utilizar para determinar el blanco del instrumento, si correctamente mantenido esto puede resultar en espacios en blanco equivalentes al análisis de inyecciones de agua ultrapura de laboratorio. Sin embargo, no recomendamos esta opción ya que hemos encontrado que la acumulación de sedimentos en esta trampa puede dañar la jeringa. Además, el muestreo frecuente del condensado de esta trampa puede alterar el espacio "muerto" dentro del sistema que puede afectar la forma del pico y la consistencia de los resultados a lo largo de una corrida analítica. Descubrimos que mantener un espacio de cabeza reducido en la trampa de agua pura y quitar el serpentín de enfriamiento da como resultado una mejor forma de pico. Consulte el [Apéndice C complementario](#) para obtener más detalles.

El agua de mar contiene en promedio ~ 2,3 mmol kg<sup>-1</sup> de carbono inorgánico disuelto (DIC) en forma de CO<sub>2</sub>, bicarbonato y carbonato. El DIC se elimina de la muestra antes de inyectar el agua en la columna de combustión acidificando a un pH de 2-3 (HCl 4 M, grado ACS) y rociando con gas portador libre de CO<sub>2</sub> durante varios minutos (es decir, 3 ml de muestra rociado durante 1,5 minutos a un caudal de 100 mL min<sup>-1</sup>). Después del rociado, se inyecta una alícuota de muestra (50 - 200 µL dependiendo de la concentración de DOC) en la columna de combustión. El carbono orgánico se quema a CO<sub>2</sub> y el gas portador mueve el vapor de agua resultante, los haluros y el CO<sub>2</sub> fuera de la columna a través de una serie de trampas y filtros para purificar la señal de CO<sub>2</sub>.

El vapor de agua interfiere con la detección NDIR y debe eliminarse. Después de pasar por la columna de combustión, el gas portador pasa al deshumidificador electrónico Shimadzu, un enfriador Peltier refrigerado ajustado a 1°C, donde una fracción significativa del vapor de agua se condensa y se elimina de la corriente de gas. Descubrimos que la adición de una trampa de agua en línea que contiene perclorato de magnesio Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> ([Apéndice B complementario](#)) ayuda a eliminar aún más el vapor de agua, agudiza la forma del pico y minimiza los picos de cola de la traza NDIR; mejorando así la reproducibilidad de las inyecciones. Para los análisis DOC, la trampa de Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> debe reemplazarse como mínimo cada dos días o tan pronto como el desecante parezca saturado (consulte el [Apéndice D complementario](#) para obtener instrucciones detalladas). Tenga en cuenta que la trampa de Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> no debe incluirse si TDN es

al medirse simultáneamente como Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> húmedo, se elimina el NO y, por lo tanto, interfiere con el análisis de TDN.

Los halógenos liberados con la combustión del agua de mar también pueden interferir con la detección NDIR de CO<sub>2</sub>; por lo tanto, es imperativo eliminar los halógenos de la corriente de gas de poscombustión. La trampa de halógeno patentada de Shimadzu (n.º de pieza 630-00992) o el burbujeador del gas a través de una solución de AgCl son medios eficaces para eliminar los halógenos. Una alternativa rentable es empaquetar una trampa de haluro con lana de cobre ([Apéndice B complementario](#)) y conectarla en línea justo después de la trampa de Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. La lana de Cu mostrará signos de decoloración después de la exposición a halógenos; debe cambiarse cuando la decoloración llegue a menos de 2 cm de la salida de la trampa. Se recomienda que las trampas de Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> y haluro se coloquen verticalmente para que el flujo de gas suba por la parte inferior de las trampas. Antes de ingresar al NDIR, el gas pasa a través de un filtro de membrana (0,45 µm, [Apéndice B complementario](#)) para eliminar las partículas del gas portador. Con un medidor de flujo digital, se debe tener cuidado de monitorear la tasa de flujo del gas portador antes y después de la trampa de partículas para garantizar que no haya una reducción en la tasa de flujo. Si hay una caída en la tasa de flujo de más de 3 ml min<sup>-1</sup> desde que ingresa a la columna, se debe reemplazar el filtro. Se recomienda que cada vez que se reemplace la columna se verifique el caudal en los puntos de entrada al puerto de inyección, en la base de la columna, antes y después de las trampas de Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> y halógenos y antes y después del filtro de partículas. Los detalles se pueden encontrar en el [Apéndice C complementario](#).

### 3.3.2 Gas portador

Hay varias opciones con respecto al gas portador libre de CO<sub>2</sub> necesario para operar el sistema HTC, pero se requiere alta calidad para obtener bajos niveles de fondo en el detector. Se pueden utilizar gases comprimidos como oxígeno o nitrógeno de ultra alta pureza (UHP 99,995 %). Si hay aire comprimido disponible, un costo

Una opción eficaz es integrar un generador de gas TOC de Parker Balston® en las tuberías de gas del sistema HTC. Este sistema utiliza tecnologías de absorción por oscilación de presión y oxidación catalítica para eliminar los hidrocarburos y generar gas libre de CO<sub>2</sub>. A largo plazo, la opción del generador de gas es una alternativa estable y económica a los cilindros de gas comprimido. El gas libre de CO<sub>2</sub> se utiliza tanto como gas portador como gas de rociado y debe suministrarse a una presión de 200-300 kPa.

### 3.3.3 Columna de combustión

Shimadzu ofrece dos tamaños de columnas, una columna de diámetro pequeño (18 mm DI x 20 mm DE, se adapta a TOC-V y TOC-L) y una columna de gran diámetro (27 mm DI x 30 mm DE, TOC-L solo con adaptador especial kit) que puede acomodar más carga de sal antes de cambiar o reacondicionar la columna. En nuestro

Por experiencia, un sistema analítico debidamente acondicionado puede procesar aproximadamente de 30 a 36 muestras de agua de mar por día de análisis (sin incluir blancos, estándares y referencias de agua de mar) con la columna de diámetro pequeño y de 42 a 48 muestras de agua de mar por día de análisis con la columna de gran diámetro. Las comparaciones directas muestran que cualquiera de las configuraciones es aceptable para las muestras de agua de mar ([Apéndices complementarios, Figura C1](#)). Después de 4 a 5 días (~ 400 a 900 inyecciones de agua salada), con cualquier tipo de columna, generalmente observamos una acumulación de sal en la columna que da como resultado una contrapresión del sistema que se manifiesta como una forma de pico deficiente de la traza del infrarrojo no dispersivo (NDIR) y la subsiguiente mala inyección y replicación de referencia. Por lo tanto, se recomienda que bajo un procesamiento de alto rendimiento de muestras de agua de mar, el tubo de combustión, el material de empaque y varias trampas se cambien o limpien semanalmente como se describe a continuación. En resumen, una columna individual normalmente se puede reacondicionar 4 veces, lo que equivale a aproximadamente 720 muestras por columna en total. Consulte el [Apéndice D complementario](#) para ver un programa de mantenimiento preventivo de ejemplo.

Los tubos de combustión se componen de vidrio de cuarzo que se puede comprar directamente a Shimadzu o, alternativamente, si el investigador tiene acceso a un taller de soplado de vidrio o a un proveedor preferido, el cuarzo se puede fabricar utilizando las dimensiones que se proporcionan en la información complementaria (Figura C2, y el [Apéndice B](#) para los números de pieza asociados).

El empaque de la columna de combustión también se ha modificado ligeramente de la guía del proveedor, y los detalles se pueden encontrar en el [Apéndice B complementario](#) y [Figura C2](#):

### 3.4 Configuración de columna pequeña

La columna pequeña se empaqueta de la siguiente manera: se coloca una sola capa de malla de platino (Pt) de 13 x 13 mm en la base de la columna para soportar el lecho de perlas de catalizador de Pt-alúmina. Se añaden perlas de alúmina Pt de 2 mm de diámetro hasta 120 mm de la parte superior de la columna. Una capa adicional de gasa de platino, enrollada sin apretar en esferas de 5 mm, se coloca en una sola capa encima de las perlas de alúmina platinizadas. Estas esferas de Pt cumplen tres propósitos: 1) proporcionan una masa térmica sólida que permite la combustión rápida de la muestra; 2) la superficie sólida protege la integridad de las perlas de alúmina subyacentes; por lo tanto, preservando la geometría de la matriz y previniendo la pulverización y los "agujeros de gusano" que se desarrollan si la muestra se inyecta directamente en las perlas de alúmina Pt; y 3) las esferas de Pt más grandes permiten que la sal penetre más profundamente en el material de la matriz de la columna, lo que ralentiza el desarrollo de tapones de sal y mantiene un buen flujo de gas durante un período de tiempo más prolongado. Nuestra experiencia es que agregar almohadillas de Pt mejora la forma del pico de la traza NDIR y la replicación de las inyecciones, y extiende la duración de la vida útil de la columna cuando se analiza el agua de mar. Nota: no recomendamos usar lana de cuarzo para

separar las capas de material de relleno a medida que se desvitrifica a medida que se carga la sal en la columna, creando espacios vacíos; por lo tanto, cambiando la geometría del material de relleno de la columna a lo largo de su vida útil.

### 3.5 Configuración de columna grande

La columna grande se empaqueta de la siguiente manera: se coloca un disco de malla cerámica en la base de la columna grande para soportar el lecho de perlas de catalizador de alúmina Pt. Las perlas de alúmina de platino de 5 mm de diámetro se agregan dentro de los 200 mm de la parte superior de la columna, y las perlas de alúmina platinizada de 2 mm de diámetro se agregan encima de las perlas de catalizador más grandes a un nivel de 120 mm de la parte superior de la columna. Luego, el catalizador más pequeño se cubre con esferas de 6-10 Pt como se describe anteriormente.

Las columnas deben retirarse y reacondicionarse semanalmente o en cualquier momento en que surja una mala calidad de los datos. La columna se desvitrificará a medida que la sal se infunde en la matriz de cuarzo, y se volverá "tiza" y frágil después de una serie de ciclos de calentamiento y enfriamiento; por lo tanto, se debe tener cuidado de inspeccionar las columnas en busca de signos de debilidad o grietas durante el reacondicionamiento. El reacondicionamiento de las columnas incluye la eliminación de las esferas de Pt, el catalizador y la malla de la columna, el lavado de la columna de cuarzo y todo el contenido de Pt con agua ultrapura para eliminar la sal, luego la combustión de la columna de cuarzo y el contenido de Pt a 450 °C para que se sequen y luego el reempaque con contenido vaciado. La malla de Pt y las esferas se pueden reutilizar durante 4 a 6 semanas si se limpian adecuadamente; es decir, sumerja en agua y agite para eliminar la acumulación de sal. El catalizador de alúmina Pt debe durar aproximadamente 12-16 días de análisis. Deje siempre que la columna y su contenido se enfríen antes de reacondicionar o volver a empaquetar las columnas. El [Apéndice D complementario](#) proporciona una descripción paso a paso del reacondicionamiento de columnas.

#### 3.5.1 Detectores

Según el manual del usuario de Shimadzu, la celda NDIR de las series TOC-V y L alcanza un límite de detección de 4 mgCL-1 (0,3 μmol C L-1), el nivel más alto para el método de oxidación catalítica por combustión. El sistema Shimadzu TNM utiliza un detector de quimioluminiscencia para medir la señal excitada de NO<sub>2</sub> creada al combinar el gas NO, generado a través de HTC a 720 °C, con O<sub>3</sub> dentro del detector. Según el fabricante, el límite de detección de quimioluminiscencia para TN es ≤ 0.05 mg L-1 (3.57 μmol N L-1).

#### 3.5.2 Software EI

analizador de TOC incluye el software cromatográfico Shimadzu diseñado para permitir el control por PC de todo el sistema; incluye la programación del muestreador automático, la generación de curvas de calibración, la adquisición y visualización de resultados en tiempo real, la integración del área de pico y las banderas de control de calidad para los datos sin procesar. Área sin procesar

las integraciones se pueden exportar como un archivo de texto delimitado por tabuladores para su posterior procesamiento y cálculo de la concentración de carbono y/o nitrógeno.

## 4 Procedimientos operativos

Los procedimientos descritos a continuación son recomendaciones basadas en el método HTC realizado con un sistema Shimadzu TOC- VCSH o TOC-LCSH . Las operaciones con otros instrumentos comerciales o caseros variarán.

Operación y procedimientos diarios:

- 1) Preparación y mantenimiento de instrumentos; espacios en blanco del sistema
- 2) Preparación de la curva estándar
- 3) Materiales de referencia
- 4) Ejemplos de incógnitas
- 5) Exportar datos sin procesar/calcular la concentración de la muestra

### 4.1 Preparación del instrumento y mantenimiento diario; espacios en blanco del sistema

La preparación del sistema se evalúa todos los días antes de analizar las muestras. La línea base del instrumento debe estar en 0 mV antes de comenzar, lo que indica que el ruido eléctrico es mínimo y que no hay problemas inmediatos evidentes con el NDIR o el generador de gas.

El software Shimadzu proporciona un "monitor de fondo" general para indicar la preparación del instrumento (posición y estabilidad de la línea de base, temperaturas del horno y del deshumidificador). Si la posición de la línea de base o las fluctuaciones superan los valores preestablecidos, el instrumento indica automáticamente que no está listo.

El blanco del sistema se evalúa inyectando un volumen de agua baja en carbono (LCW) idéntico al volumen utilizado durante el análisis de la muestra (100 µL) y midiendo el área del pico. Este blanco representa la señal de CO<sub>2</sub> de fondo del sistema (catalizador y tubo de combustión) y debe restarse de cada muestra analizada. El agua en blanco verdadera debe tener DOC por debajo del límite de detección. Shimadzu recomienda que los espacios en blanco sean

Se tomaron muestras de la trampa de agua pura interna para lograr esto, pero según nuestra experiencia, esta operación cambia el "volumen del espacio muerto" dentro del sistema analítico, alterando la forma del pico y afectando el blanco de la máquina en el transcurso de la ejecución. Se recomienda que el agua en blanco se genere utilizando un sistema de agua ultrapura comercial junto con un kit de oxidación UV (es decir, sistemas Nanopure™ de resistencia de 18,2 MW con cartucho de materia orgánica ultrabaja, esterilización UV y filtro de 0,2 µm o sistemas MilliQ®) . El laboratorio Hansell de la Universidad de Miami proporciona LCW (0-1 µmol C L<sup>-1</sup>) como parte de su programa de material de referencia de consenso (CRM), y las concentraciones internas de LCW se pueden comparar con esto. El intercepto en Y de la curva estándar (realizado en el mismo LCW) proporciona una

evaluación del contenido de C o TDN en el agua en blanco más el "blanco de la máquina".

El agua en blanco oxidada con UV se genera diariamente y se coloca en botellas de Pyrex® precombustidas (500 - 1000 ml). En los sistemas TOC-V y L de Shimadzu, conectar un tubo de Teflon™ desde el reservorio en blanco al puerto n.º 1 en la válvula de 8 puertos del conjunto de jeringa/injector permitirá extraer muestras ilimitadas del reservorio, lo cual es necesario para el acondicionamiento de la columna y numerosos análisis en blanco a lo largo de cualquier ejecución dada. Para extraer una muestra del depósito en blanco, asigne una muestra al vial cero en la tabla de muestras de Shimadzu; esta botella se puede muestrear numerosas veces a lo largo de una serie analítica. Los valores en blanco del sistema variarán entre los sistemas de TOC debido a las configuraciones internas y al uso de la columna. El [Apéndice C complementario](#) proporciona un ejemplo de valores en blanco típicos generados en múltiples sistemas TOC. Si el acondicionamiento de una nueva columna es suficiente, los picos en blanco disminuirán y las áreas de los picos de agua de mar se estabilizarán y serán altamente repetibles ([Figuras C6 y C7](#)). Por lo general, pasamos la mayor parte de la jornada laboral diagnosticando la preparación del sistema. Después de completar las tareas de mantenimiento diarias, se ejecuta una serie de 15 muestras en blanco desde el puerto n.º 1, seguidas de otras 15 muestras en las que las muestras en blanco se alternan con agua de mar (llene varios viales con la misma agua de mar y colóquelos en el muestreador automático, extraiga varias veces de cada vial ). Una vez que los blancos y las muestras de agua de mar cumplen con estos criterios, la columna y el sistema están listos para funcionar y se prepara un conjunto de muestras junto con estándares, blancos y aguas de referencia para una corrida analítica durante la noche.

### 4.2 Curva estándar

DOC: los sistemas se estandarizan diariamente con una curva de calibración de cuatro puntos de glucosa o ftalato de hidrógeno y potasio (KHP) fabricados en LCW. Las concentraciones estándar de trabajo se distribuyen uniformemente para abarcar el rango dinámico de las concentraciones de DOC oceánico (típicamente 25, 50, 75, 100 µM C).

TDN: se utiliza una curva de calibración de cinco puntos de nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) disuelto en LCW (normalmente 3, 8, 16, 24 y 48 µM N) para delimitar los rangos de concentración oceánica.

Los estándares se analizan al comienzo de la ejecución de cada día, antes de las muestras, para monitorear la respuesta del sistema. Los estándares de trabajo se preparan gravimétricamente cada semana. Son diluciones independientes preparadas a partir de un stock primario concentrado, que se realiza mensualmente en LCW. La curva estándar resultante se utiliza para calcular las concentraciones de DOC y TDN en los pasos posteriores al procesamiento. Este factor de respuesta diaria se debe rastrear para cada sistema en uso y rara vez cambia durante la vida útil de una columna. También se controlan las alteraciones en el flujo a través de las columnas y en el NDIR, ya que cambiarán el factor de respuesta. Consulte la Sección 5 para obtener pautas detalladas de preparación estándar.

### 4.3 Material de referencia

Un componente crítico para mantener la precisión y la intercomparabilidad entre laboratorios y dentro de los laboratorios a lo largo del tiempo es el uso rutinario de referencias de agua de mar. Todas las muestras deben compararse sistemáticamente con un conjunto de referencias que incluyen o han sido calibradas con material de referencia de consenso (CRM) como el proporcionado por el programa CRM de la Universidad de Miami (Hansell, 2005). Estos CRM incluyen agua de mar profunda, media y superficial, así como referencias LCW que están calibradas por analistas DOM internacionales independientes. A efectos prácticos, se recomienda que los laboratorios individuales generen un conjunto de materiales de referencia "internos" en grandes volúmenes que se calibran con los CRM. Un ejemplo de preparación de referencia "interna" podría incluir la recolección de 10 a 20 L de cada filtrado (GF/F) de un gradiente de DOM vertical, es decir, agua de mar superficial, mesopelágica y batipelágica, acidificación a pH 2-3 y partición en varios cientos de viales de vidrio (35 mL) para cada profundidad. Alternativamente, si no se puede acceder a grandes volúmenes de agua de mar, se puede preparar un lote de agua de mar artificial, añadir y acidificar un compuesto de carbono orgánico, que puede servir como una referencia "interna". Cualquier agua de referencia "interna" debe calibrarse con los MRC regularmente para garantizar que la concentración de carbono permanezca estable (dentro de  $\pm 3$  s del valor calibrado). Almacenadas correctamente, estas referencias permanecen estables durante al menos un año. Se recomienda que el conjunto de referencias "internas", que abarcan el rango dinámico del conjunto de muestras, se analice varias veces a lo largo de una ejecución analítica determinada (es decir, cada 8 a 10 muestras) como diagnóstico de la estabilidad y calidad del sistema. aseguramiento de los datos. Esta práctica de usar referencias calibradas "internas" durante largos períodos de tiempo resulta especialmente útil para garantizar la comparabilidad de ejecución a ejecución.

### 4.4 Análisis de muestras (método NPOC)

El agua de mar recolectada en viales de vidrio de 40 ml, acidificada en el momento de la recolección y almacenada en forma líquida se puede cargar directamente en el muestreador automático. Es habitual en nuestros laboratorios cambiar solo los septos antes del análisis, cambiando los septos no perforados utilizados en la recolección por septos perforados que se usan (limpian y reutilizan) solo durante el análisis en el instrumento TOC. Cuando se completa la ejecución de TOC, los septos sin perforar se devuelven a los mismos viales para volver a almacenar las muestras. Esta secuencia permite conservar tabiques no perforados para recolecciones repetidas después de la limpieza. Algunos laboratorios también eligen usar septa de un solo uso o papel de aluminio amortiguado como septa para eliminar la posibilidad de contaminación. Las muestras congeladas deben: primero descongelarse completamente a temperatura ambiente (no debe quedar hielo antes de proceder), mezclarse completamente mediante vórtice y transferirse a un vial de vidrio si es necesario. Si se requiere transferir la muestra, se recomienda usar alícuotas de 1-2 ml de agua de muestra para enjuagar un vial quemado 3 veces antes de llenarlo hasta un mínimo de 15 ml por vial. A

el volumen de muestra de 15 mL permite múltiples ejecuciones en una muestra si es necesario.

Las muestras de agua de mar "desconocidas" deben analizarse utilizando el método de carbono orgánico no purgable (NPOC) en el sistema TOC de Shimadzu. Consulte el manual del usuario de TOC de Shimadzu para conocer los "Principios del análisis de NPOC" y la "Información técnica relacionada con el análisis" (área del pico y forma). Los usuarios pueden definir configuraciones para establecer su propio método; consulte el manual de usuario de Shimadzu TOC para obtener detalles paso a paso sobre la configuración del método de software. Para las muestras de agua de mar, se suele utilizar la opción "los mejores 3 de 5" del software. Para este método, se extraen 3 ml de muestra preacidificada en la jeringa de inyección de 5 ml y se rocía durante 1,5 minutos a una velocidad de flujo de 100 ml min<sup>-1</sup> con gas libre de CO<sub>2</sub> (el tiempo de rociado debe probarse empíricamente). Se inyectan alícuotas de 100 ml de muestra en el tubo de combustión hasta que al menos tres inyecciones repetidas cumplan con la desviación estándar (SD) del área del pico especificada por Shimadzu de 0,1 o un coeficiente de variación (CV)  $\leq 2\%$ , o hasta que se alcancen las cinco inyecciones (replicación). criterios se aplica por separado a DOC y TDN). El área del pico DOC o TDN resultante se integra con el software cromatográfico Shimadzu. Se recomienda que se organice una corrida analítica de modo que cada 8-10 muestras desconocidas estén entre paréntesis por un conjunto de referencias (o MRC) "internas" y blancos, y que el número total de muestras desconocidas se limite a un máximo de 30-36 por corrida (42-48 para columnas grandes) para evitar la obstrucción de la columna de cuarzo durante la corrida. Esta configuración también permite un amplio espacio para estándares, referencias y espacios en blanco en el muestreador automático de 68 posiciones. El Apéndice E complementario proporciona un ejemplo de hoja de registro de ejecución.

### 4.5 Exportación y procesamiento de datos

Un ejemplo de post procesamiento: correcciones y cálculo de concentraciones

Es una buena práctica revisar los picos en blanco, de referencia y de muestra después de cada ejecución para buscar anomalías. Si la serie analítica se ha llevado a cabo sin interrupciones ni errores, los datos de picos sin procesar se exportan para el procesamiento final y QA/QC. Si se observa un error o una interrupción, se cancela la ejecución y se vuelven a analizar las muestras.

Los archivos se guardan como texto delimitado por tabulaciones y se exportan desde el software Shimadzu para su posterior procesamiento sin conexión. Los datos de pico sin procesar (área) se clasifican por ID de muestra y todas las inyecciones se agrupan y promedian para muestras en blanco, estándar, de referencia y "desconocidas". Las inyecciones marcadas por el software de Shimadzu como valores atípicos se excluyen de los promedios del área, manteniendo 3 inyecciones para cualquier muestra dada. Se determina un blanco de máquina promedio para todos los blancos a lo largo de la corrida analítica de un día (típicamente esto es un promedio de al menos 10-20 blancos) y se resta de todas las muestras, estándares y referencias. Se realiza un análisis de regresión lineal en los estándares de calibración corregidos en blanco (glucosa de 4 puntos o KHP para DOC o estándares de KNO<sub>3</sub> de 5 puntos para TDN). Las curvas de calibración no se fuerzan hasta el cero y deben tener un coeficiente de correlación  $\geq 0,995$ . La pendiente se usa para

calcule las concentraciones de la muestra a partir de las áreas de los picos de la siguiente manera:

$$\frac{\text{mmol C o N}}{L} = \frac{\text{área de muestra promedio} - \text{área en blanco promedio de la máquina}}{\text{pendiente de la curva estándar}} \quad (1)$$

Se recomienda que los espacios en blanco se analicen con frecuencia a lo largo de una ejecución como un diagnóstico del rendimiento del sistema (consulte el [Apéndice E complementario](#) para conocer el espaciado de 10 a 20 espacios en blanco en una ejecución típica). Los espacios en blanco para cada sistema deben evaluarse diariamente y los valores deben permanecer dentro de ( $\pm 3$  s) durante el transcurso de una ejecución. La deriva sistemática o un cambio rápido en los valores en blanco fuera de este rango dentro de una corrida dada o entre corridas durante la vida útil del tubo de combustión son indicativos de un problema dentro del tubo de combustión, su material de empaque, las trampas o una obstrucción en el flujo de gas. Si se detectan desviaciones o cambios en los valores en blanco dentro de una ejecución, la ejecución debe marcarse como cuestionable y volver a ejecutarse según sea necesario. Se debe comprobar el caudal para determinar si se ha producido una obstrucción o una contrapresión en el sistema. Si el problema persiste, se debe reemplazar el tubo de combustión, el material de empaque y las trampas.

Las referencias de CRM y/o "internas" también se utilizan para evaluar el rendimiento del sistema analítico. Se recomienda ejecutar un conjunto de referencias "internas", calibradas con CRM, de 3 a 5 veces a lo largo de una ejecución analítica y promediarlas. Si las referencias no cumplen con los valores calibrados o las especificaciones de estabilidad (dentro de  $\pm 3$  s del valor calibrado, y el CV diario para cada referencia debe ser  $\sim 2\%$ ), entonces se debe realizar una revisión de mantenimiento en el sistema analítico, el tubo de combustión y las trampas deben cambiarse o reacondicionarse, según sea necesario, y se repite la carrera. Todas las referencias deben permanecer estables a lo largo del tiempo y entre sistemas. Se recomienda que las referencias "internas" se calibren con CRM aproximadamente cada 6 semanas. También se recomienda que se preparen y almacenen varios conjuntos de referencias "internas" para mantener conjuntos superpuestos de material calibrado.

## 5 estándares

### 5.1 Suministros

Es fundamental tener concentraciones precisas de estándar soluciones, y para DOC y TDN también se debe tener cuidado para evitar la contaminación durante la preparación de las reservas. Por esta razón, se utilizan botellas de vidrio (calentadas a 450 °C durante  $\geq 4$  h) para preparar la solución madre primaria. Tenga en cuenta que la cristalería volumétrica no debe usarse para preparar estándares, ya que la temperatura alta afectará la precisión de la graduación volumétrica. Los compuestos estándar secos deben mantenerse en un desecador al vacío para garantizar la calidad. Las soluciones se preparan gravimétricamente a temperatura ambiente utilizando balanzas analíticas con resolución de 0,0001 g. Los stocks de trabajo de mayor volumen se pueden preparar diluyendo el stock primario en botellas de vidrio quemadas usando agua ultrapura.

Las pipetas utilizadas para cualquier preparación estándar deben estar limpias con DOC (el uso debe limitarse únicamente a DOC; nunca use una pipeta que haya sido utilizada con fijadores o volátiles). Además, se sugiere el uso de puntas de pipeta no esterilizadas en autoclave, ya que el proceso de esterilización puede provocar la lixiviación de sustancias orgánicas del material plástico. Todas las puntas de pipeta deben enjuagarse con HCl 4 M antes de la preparación estándar.

### 5.2 Estándares primarios

#### 5.2.1 DOC EI

hidrógeno ftalato de potasio (KHP) o la glucosa de alto grado ( $\geq 99,8\%$  de pureza) son los compuestos que normalmente se utilizan como patrón de carbono. Se prepara un stock primario de 10 mmol L<sup>-1</sup> C en agua ultrapura.

#### 5.2.2 TDN

Se recomienda nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>) de alto grado ( $\geq 99,8\%$  de pureza) como estándar de nitrógeno. Se prepara un stock primario de 10 mmol L<sup>-1</sup> N en agua ultrapura.

### 5.3 Normas de trabajo

Los estándares de trabajo se preparan diluyendo el stock primario a las concentraciones deseadas usando LCW a temperatura ambiente. Al menos cuatro concentraciones diferentes de estándares de trabajo son apropiadas (entre paréntesis del rango de concentración de muestra esperado) y deben analizarse diariamente al comienzo de cada análisis de muestra.

Consulte los Procedimientos operativos estándar complementarios (SOP3 y SOP4) para obtener una guía paso a paso para preparar soluciones estándar usando glucosa y nitrato de potasio como ejemplos.

## 6 Control de calidad

Para proporcionar a la comunidad medidas estándar para la calidad analítica del método DOC y TDN HTC en agua de mar, aquí presentamos pautas para el control de calidad (QC).

Esto consiste en (1) una demostración inicial de la capacidad del laboratorio (validación del método) y (2) pautas para evaluar el desempeño del laboratorio mediante el análisis continuo de los instrumentos en blanco, los estándares de calibración y el material de referencia analizado como muestras.

### 6.1 Validación del método

Todos los parámetros se definen y calculan de acuerdo con las recomendaciones de la Unión Internacional de Productos Puros y Aplicados.

Química (IUPAC) en el establecimiento de un enfoque uniforme para las características de rendimiento del proceso de medición química (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, 1995).

### 6.1.1 Valor crítico (Lc)

Determinado usando blancos (para este método, los blancos son agua ultrapura procedente de sistemas Nanopure™ con cartucho de TOC bajo, luz ultravioleta y filtro final de 0,2 µm) según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (1995):

$$Lc = t_{1-\alpha, \nu} s_0 \quad (2)$$

donde  $t$  representa la prueba  $t$  de Student,  $\alpha$  indica la probabilidad del error tipo I,  $\nu$  indica los grados de libertad y, por lo tanto,  $s_0$  indica la desviación estándar. Los espacios en blanco se analizaron por duplicado en fechas separadas (un mínimo de 30 espacios en blanco por día durante 7 ciclos para DOC y > 20 espacios en blanco por día durante 4 ciclos para TDN).

### 6.1.2 Límite de detección (LD)

El límite de detección del método se establece usando una muestra de agua enriquecida a baja concentración como en la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (1995):

$$LD \approx 2t_{1-\alpha, \nu} s_0 \quad (3)$$

donde  $t$  representa la prueba  $t$  de Student,  $\alpha$  indica la probabilidad del error tipo I,  $\nu$  indica los grados de libertad y, por lo tanto,  $s_0$  indica la desviación estándar. Para este método 25 µmol C L<sup>-1</sup> para DOC y 3 µmol N L<sup>-1</sup> para TDN en fechas separadas (5 lotes individuales en 7 corridas para DOC y 4 lotes en 4 corridas para TDN). El límite de detección debe determinarse anualmente o siempre que haya un cambio significativo en la configuración o respuesta del instrumento.

### 6.1.3 Límite de cuantificación (LQ)

Expresado usando la desviación estándar relativa por defecto de la IUPAC (RSD) del 10 % y usando el estándar de calibración más bajo (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, 1995):

$$LQ = 10s_0 \quad (4)$$

Donde  $s_0$  indica la desviación estándar. Para este método, se calculó utilizando los estándares de calibración más bajos (25 µmol C L<sup>-1</sup> para DOC y 3 µmol N L<sup>-1</sup> para TDN).

Los resultados de la validación del método para el análisis de DOC y TDN en agua de mar utilizando el método HTC se resumen en la Tabla 1. Consulte el Apéndice F complementario para obtener detalles adicionales.

## 6.2 Límites de calidad analítica

### 6.2.1 Exactitud Evaluada

mediante el uso de material de referencia de consenso como control (no existe un estándar nacional o internacional para el DOC del agua de mar). La comunidad ha aceptado el CRM distribuido por la Hansell

TABLA 1 Resultados de la validación del método para el análisis de DOC y TDN en agua de mar utilizando el método HTC.

Característica	DOC (µmol C L <sup>-1</sup> )	TDN (µmol N L <sup>-1</sup> )
Valor crítico (Lc)	2.5	0.5
Límite de detección (LD)	4.3	0.9
Límite de cuantificación (LQ)	11.6	2.0
Gama de muestras típicas de agua de mar	32 – 86	3 – 50

Los rangos típicos de concentración de DOC y TDN en agua de mar están muy por encima de Lc, LD y LQ, lo que indica que el método HTC es apropiado para los análisis de DOC y TDN en concentraciones típicas de agua de mar.

Laboratorio, Escuela Rosenstiel de Ciencias Marinas y Atmosféricas (RSMAS), Universidad de Miami. Las concentraciones deben permanecer dentro del rango de los valores de consenso (según lo informado por Hansell Lab: <https://hansell-lab.rsmas.miami.edu/consensus-reference-material/index.html>) dentro de ± 2% (para DOC) y ± 2-6% para TDN (dependiendo del rango de concentración).

### 6.2.2 Precisión: repetibilidad y reproducibilidad 6.2.2.1

#### Repetibilidad

La mejor precisión interna alcanzable se puede evaluar mediante observaciones repetidas de viales de muestra duplicados durante un período corto de tiempo. Condiciones como el tipo de instrumento y el operador deben permanecer constantes.

#### 6.2.2.2 Reproducibilidad EI

complemento externo de la repetibilidad, evaluado mediante el análisis de lotes idénticos de muestras con el mismo método entre diferentes laboratorios para evaluar qué tan reproducibles son los resultados. Este método utilizó intercomparaciones realizadas en lotes de aguas de referencia entre Carlson y Hansell Laboratorios DOM de 2018-2019.

En la Tabla 2 se puede encontrar un resumen de los límites de calidad analítica para el análisis de DOC y TDN en agua de mar utilizando el método HTC. Consulte el Apéndice G complementario para obtener detalles adicionales.

## 6.3 Evaluación del desempeño del laboratorio

Como se describe en las secciones 4 y 5, el uso de blancos, estándares de calibración y materiales de referencia proporciona controles continuos del rendimiento del instrumento. Una vez que se han realizado los ejercicios de validación y se ha establecido el método en un laboratorio, la evaluación continua de la calidad de los datos debe realizarse con frecuencia para mantener un estricto control de calidad. La Tabla 3 presenta un resumen de las recomendaciones para evaluar las corridas de datos DOC y TDN usando el método HTC como se presenta aquí.

## 6.4 Garantía de calidad

Si una serie supera las especificaciones de control de calidad descritas anteriormente para el rendimiento analítico, los datos se aceptan y se examinan más a fondo en el contexto de la recopilación y los metadatos adicionales. disponible. Si la ejecución no superó estos requisitos iniciales, se verifica el sistema y se repite toda la ejecución.

## 6.5 Recopilación y evaluación de datos GO-SHIP

Para GO-SHIP, los datos DOM se compilan utilizando registros a bordo y se fusionan con archivos de datos de botellas que contienen cualquier otro dato químico y físico disponible y luego se trazan en Ocean Data View (Schlitzer, R., [Ocean Data View](https://odv.awi.Delaware), <https://odv.awi.Delaware>, 2021). Los gráficos iniciales de perfiles verticales y/o gráficos de contorno son útiles para identificar posibles valores atípicos.

Cualquier muestra fuera de un rango razonable para los valores DOC/TDN oceánicos se marca como potencialmente contaminada o sospechosa de error de manipulación (valores < 30 o > 90  $\mu\text{mol C kg}^{-1}$ , < 3 o > 50  $\mu\text{mol N kg}^{-1}$ ).

Las muestras marcadas se comparan con réplicas o se vuelven a analizar para confirmar. Si se sospechan errores analíticos, se vuelven a analizar perfiles completos o subconjuntos de muestras (incluido el valor problemático y las muestras circundantes). Tras volver a analizar la muestra, si se cumplen las especificaciones analíticas y los datos siguen siendo anómalamente altos o bajos, los datos se informan pero se marcan como cuestionables o malos de acuerdo con los códigos de marca de calidad del Experimento Mundial de Circulación Oceánica (WOCE) (consulte la Tabla 4).

TABLA 2 Resumen de los límites de calidad analítica para el análisis de DOC y TDN en agua de mar utilizando el método HTC.

	DOC	TDN
Precisión [rango]	$\pm 2\%$ [40-75 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ ]	$\pm 2\%$ [8-32 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ ] $\pm 6\%$ [4-6 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ ] $\pm 0,7$
Precisión - repetibilidad	$\pm 0,6 \mu\text{mol C L}^{-1} \pm$	$\mu\text{mol N L}^{-1} \pm 0,2$
Precisión - reproducibilidad [rango bajo/medio/alto]	0,6 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ @[39 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ ] $\pm 0,6 \mu\text{mol C L}^{-1}$ @[62 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ ] $\pm 1,6 \mu\text{mol C L}^{-1}$ @[72 $\mu\text{mol CL}^{-1}$ ]	$\mu\text{mol N L}^{-1}$ @[5-10 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ ] $\pm 0,3 \mu\text{mol N L}^{-1}$ @[20-30 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ ] $\pm 1,6 \mu\text{mol N L}^{-1}$ @[40 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ ]

TABLA 3 Criterios y pautas de control de calidad sugeridos.

Indicador de control de calidad	Aceptación/Acción Límites	Acción	Frecuencia (por ejecución)
Material de referencia de consenso (CRM)	El valor debe estar dentro del rango de consenso informado	Si el CRM cae fuera del rango informado, volver a ejecutar	5 ampollas o viales de CRM por corrida de calibración de referencia. Debe superponerse con nuevos lotes de material de referencia interno.
Material de referencia interno (calibrado contra CRM)	Dentro de $\pm 3$ s del valor calibrado	Si está fuera de $\pm 3$ s, vuelva a ejecutar	Mínimo 2 viales de cada referencia profunda y superficial por ejecución, con 2-3 observaciones por vial.
Curva de Calibración -Correlación Coeficiente (R)	0.995	Si <0.995, vuelva a ejecutar	Curva de 4-5 puntos en todo el rango analítico (~25-100 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ para DOC y ~3-50 $\mu\text{mol N L}^{-1}$ para TDN), analizada al comienzo de cada día de análisis antes de las muestras

## 6.6 Comparaciones de datos entre laboratorios

Se recomienda que las muestras y las referencias se compartan periódicamente entre los grupos analíticos para garantizar la comparabilidad entre laboratorios. La Figura 1 es un ejemplo de intercomparaciones entre los laboratorios DOM de la Universidad de Miami y UCSB.

## 7 Documentación

### 7.1 Informes de análisis DOM

Los siguientes son ejemplos de metadatos que se pueden incluir en los informes de cruceros DOM:

- Designación del crucero e investigador(es) principal(es) • Nombres y afiliaciones de los técnicos que recolectaron
  - Muestras de DOM en el mar
- Número de estaciones ocupadas y muestras recolectadas (frecuencia de muestreo) • Procedimientos de muestreo y almacenamiento • Nombres y afiliaciones de los técnicos que analizaron
  - Muestras DOM en tierra •
  - Número de muestras analizadas • Métodos de análisis (equipos y metodología) • Procedimientos de procesamiento de datos y control de calidad (cálculos, exactitud, precisión y límites de detección, información CRM)
- Cualquier detalle de problemas o resolución de problemas que ocurrieron con el muestreo o análisis • Referencias científicas

TABLA 4 Códigos de calidad de datos de parámetros de botellas del Programa hidrográfico de Woce (WHP) ([https://www.nodc.noaa.gov/woce/woce\\_v3/woceedata\\_1/whp/exchange/exchange\\_format\\_desc.htm](https://www.nodc.noaa.gov/woce/woce_v3/woceedata_1/whp/exchange/exchange_format_desc.htm)).

Códigos de calidad de datos de parámetros de botellas de WHP	Descripción
1	La muestra para esta medición se extrajo de una botella de agua, pero no se recibió el análisis. Tenga en cuenta que si se extrae agua para cualquier medición de una botella de agua, el indicador de calidad para ese parámetro debe establecerse en 1 inicialmente para garantizar que se tengan en cuenta todas las muestras de agua.
2	Medida aceptable.
3	Medida cuestionable.
4	Mala medición.
5	No reportado.
9	Muestra no extraída para esta medición de esta botella.

## 7.2 Archivos de datos de botellas

Los datos del análisis DOM (DOC y TDN) se fusionan con los archivos de intercambio de botellas de CLIVAR y la Oficina de datos hidrográficos de carbono (CCHDO) en función de los identificadores de muestra (estación/molde/profundidad/ID de botella).

Una vez que los datos se combinan con otros parámetros químicos en el archivo de la botella, el nitrógeno orgánico disuelto (DON) se calcula como la diferencia entre TDN y DIN  $\frac{1}{2}\text{NH}_4 + + \text{NO}^- + \text{NO}_2^-$ . Como 3 DON es una variable derivada, no se informa (es decir, no se incluye en el archivo de la botella).

Los resultados finales se informan en unidades de  $\text{mmol kg}^{-1}$ . Siempre que sea posible, se utilizan medidas directas de la salinidad de la muestra y la temperatura analítica para calcular la densidad media del agua de mar. En la práctica hemos encontrado que aplicando una densidad de agua de mar promedio

de  $1,027 \text{ kg m}^{-3}$  a muestras de DOM de columna de agua de mar abierto, en comparación con la medición directa de la densidad de la muestra da como resultado una diferencia de menos de  $0,01 \mu\text{mol kg}^{-1}$  (es decir, menos que la resolución analítica). Sin embargo, cuando la salinidad y una temperatura de laboratorio analítico promedio están disponibles o en regiones donde la salinidad varía mucho, se determina y aplica una corrección de densidad más precisa para cada muestra. Cada parámetro incluye un campo para indicadores de control de calidad.

## 8 Conclusión

La metodología presentada aquí tiene como objetivo proporcionar a la comunidad de ciencias marinas los detalles necesarios para producir datos de alta calidad consistentemente para el análisis de materia orgánica disuelta.

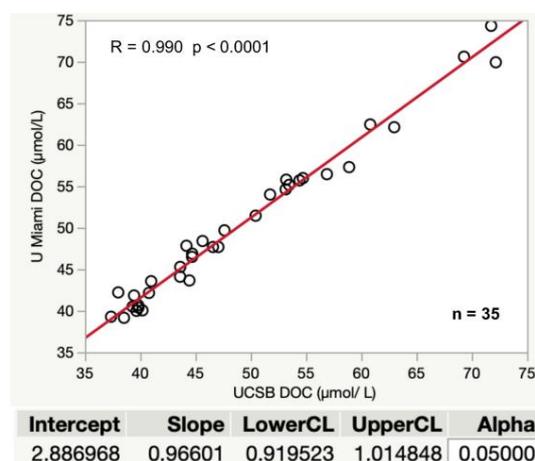


FIGURA 1

Resultados de las comparaciones entre laboratorios realizadas entre la UCSB y la Universidad de Miami entre 2017 y 2018. Las muestras incluyen comparaciones de CRM, referencias internas y perfiles de campo recopilados en varios lugares de los océanos Pacífico y Atlántico. Las muestras se repartieron por igual entre los grupos para el análisis. El coeficiente de correlación muestra una fuerte relación entre los datos de UCSB y UMIAMI ( $R = 0.990$ ,  $p < 0.001$ ). La regresión ortogonal (varianzas univariadas, comp. de impresión) usando el software JMP (JMP®, Version <15>. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989–2021) da un intervalo de confianza de 0.919–1.015 para la pendiente, que incluye 1.0 y muestra fuerte concordancia entre los valores informados por cada laboratorio en un amplio rango dinámico, brindando confianza en resultados exactos y precisos para los datos GO-SHIP recopilados y analizados como se describe en esta guía de mejores prácticas.

carbono y nitrógeno total disueltos en muestras de agua de mar. Estas mejores prácticas se escribieron para la Colección de Prácticas de Hidrografía Repetidas de GO-SHIP (Halwood et al., 2022), pero son aplicables a una amplia variedad de programas, que van desde sitios de estudio enfocados y series temporales hasta redes de observación global y levantamientos hidrográficos basados en barcos.

## Declaración de disponibilidad de datos

Los datos sin procesar que respaldan las conclusiones de este artículo serán ser puesto a disposición por los autores, sin reservas indebidas.

## Contribuciones de autor

EH coordinó y llevó a cabo la revisión final y finalización del manuscrito. Todos los autores contribuyeron a la redacción del manuscrito inicial y EH, KO, LC, DH y CC proporcionaron revisiones y contribuciones a las versiones revisadas y comparten la primera autoría. Todos los autores contribuyeron al artículo y aprobaron la versión enviada.

## Fondos

El apoyo para este trabajo fue proporcionado por la Fundación Nacional de Ciencias de EE. UU. (NSF OCE 1436748 para DAH, OCE 2023500 para CAC) y el programa BIOS-SCOPE de Simons Foundation International para CAC. Premio de EXPORTACIONES de la NASA 80NSSC18K0437 a CAC.

## Expresiones de gratitud

Este manual fue escrito por equipos técnicos de la Universidad de California Santa Bárbara (Craig Carlson Microbial

## Referencias

- Aluwihare, LI y Meador, T. (2008). "Composición química del nitrógeno orgánico disuelto marino," en *Nitrógeno en el medio marino*. Eds. director general Capone, DA Bronk, MR Mulholland y EJ Carpenter (Burlington, MA: Academic Press), 95–140.
- Baetge, N., Behrenfeld, MJ, Fox, J., Halsey, KH, Mojica, KDA, Novoa, A., et al. (2021). El flujo estacional y el destino del carbono orgánico disuelto a través del bacterioplancton en el Atlántico norte occidental. *Frente. Microbiol.* 12, 669883. doi: 10.3389/fmicb.2021.669883
- Benner, R. y Strom, M. (1993). Una evaluación crítica del blanco analítico asociado con las mediciones de DOC por oxidación catalítica a alta temperatura. *Mar. química* 41, 153–160. doi: 10.1016/0304-4203(93)90113-3
- Bronk, DA (2002). "Dynamics of DON," en *Biogeoquímica de la materia orgánica disuelta marina*, 1ra ed. Eds. DA Hansell y CA Carlson (San Diego, CA: Academic Press), 153–247.

Laboratorio de Oceanografía) y la Universidad de Miami (Laboratorio de Biogeoquímica Orgánica Dennis Hansell). Los autores agradecen al personal técnico, los estudiantes y los equipos de campo de los laboratorios Carlson y Hansell a lo largo de los años que contribuyeron al desarrollo de estos métodos. Gracias también a Juliet Hermes del Sistema Mundial de Observación de los Océanos (líder del Equipo de Trabajo sobre Mejores Prácticas del GOOS) y al Sistema de Mejores Prácticas Oceánicas (OBPS) por su orientación sobre el desarrollo y el intercambio de mejores prácticas para la comunidad oceánica. Los autores también desean reconocer y agradecer a los siguientes colegas científicos por la extensa revisión del manuscrito y los comentarios constructivos y sugerencias para mejorar: Boris Koch, Rik Wanninkhof, Youhei Yamashita

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en el ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pueda interpretarse como un potencial conflicto de interés.

## nota del editor

Todas las afirmaciones expresadas en este artículo pertenecen únicamente a los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, o las del editor, los editores y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo, o afirmación que pueda hacer su fabricante, no está garantizada ni respaldada por el editor.

## Material suplementario

El material [complementario](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2022.1061646/full#supplementary-material) de este artículo se puede encontrar en línea en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2022.1061646/full#supplementary-material>

- Carlson, CA, Ducklow, HW, Hansell, DA y Smith, WO (1998). Partición del carbono orgánico durante las floraciones primaverales de fitoplancton en la polinia del Mar de Ross y el Mar de los Sargazos. *Limnol. Oceanogr.* 43, 375–386. doi: 10.4319/lo.1998.43.3.0375
- Carlson, CA, Ducklow, HW y Michaels, AF (1994). Flujo anual de carbono orgánico disuelto de la zona eufótica en el noroeste del Mar de los Sargazos. *Naturaleza* 371, 405–408. doi: 10.1038/371405a0
- Carlson, CA, Hansell, DA, Nelson, NB, Siegel, DA, Smethie, WM, Khatiwala, S., et al. (2010). Exportación de carbono orgánico disuelto y posterior remineralización en los reinos mesopelágico y batipelágico de la cuenca del Atlántico norte. *Mar profundo. Res. II.* 57, 1433–1445. doi: 10.1016/j.dsr2.2010.02.013
- Cauwet, G. (1978). Química orgánica de partículas de agua de mar. conceptos y desarrollos. *Oceanol. Acta* 1 (1), 99–105.

Eppley, RW, Stewart, E., Abbott, MR y Owen, RW (1987). Estimación de la producción oceánica a partir de clorofila obtenida por satélite: conocimientos del conjunto de datos de eastropac. *Oceanol. Acta SP*, 109–113.

Fasham, MJR, Balino, BM, Bowles, MC, Anderson, R., Archer, D., Bathmann, U., et al. (2001). Una nueva visión de la biogeoquímica oceánica después de una década del estudio conjunto del flujo oceánico global (JGOFS). *Ambio* 30 (SPEC. ISS. 10), 4–31.

Halewood, E., Opalk, K., Custals, L., Carey, M., Hansell, DA y Carlson, CA (2022) Hidrografía repetida GO-SHIP: Determinación de carbono orgánico disuelto (DOC) y nitrógeno total disuelto (TDN) en agua de mar mediante análisis de combustión a alta temperatura. Disponible en: <https://repository.oceanbestpractices.org/handle/11329/1921>.

Hansell, DA (1993). Resultados y observaciones de la medición de DOC y DON utilizando técnicas de combustión catalítica a alta temperatura. *Mar. Chem.* 41, 195–202. doi: 10.1016/0304-4203(93)90119-9

Hansell, DA (2005). Programa de material de referencia de carbono orgánico disuelto. *Eos. Actas. Soy. Geofísico. Unión.* 86 (35), 318. doi: 10.1029/2005EO350003

Hansell, DA y Carlson, CA (1998). Gradientes oceánicos profundos en disolución concentraciones de carbono orgánico. *Naturaleza* 395, 263–266. doi: 10.1038/26200

Hansell, DA, Carlson, CA, Amon, RMW, Alvarez-Salgado, XA, Yamashita, Y., Romera-Castillo, C., et al. (2021). Recopilación de datos de materia orgánica disuelta (DOM) obtenidos de los estudios oceánicos globales de 1994 a 2020 (acceso NCEI 0227166) (Centros Nacionales de Información Ambiental de la NOAA) (MD, EE. UU.: Silver Spring). doi: 10.25921/s4f4-ye35

Hansell, DA, Carlson, CA, Repeta, DJ y Schlitzer, R. (2009). Materia orgánica disuelta en el océano: una controversia estimula nuevos conocimientos. *Oceanografía* 22, 202–211. doi: 10.5670/oceanog.2009.109 Hansell, DA, Carlson,

CA y Schlitzer, R. (2012). Eliminación neta de las principales fracciones de carbono orgánico disuelto marino en el océano subterráneo. *Biogeoquímica Global. Ciclos.* 26 (1), [GB1016]. doi: 10.1029/2011GB004069

Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (1995). Nomenclatura en la evaluación de métodos analíticos, incluidas las capacidades de detección y cuantificación (recomendaciones IUPAC 1995). *Puro. aplicación química* 67 (10), 1699–1723. doi: 10.1351/pac199567101699

Knap, A., Michaels, A., Close, A., Ducklow, H. y Dickson, A. (1996). "Protocolos para las mediciones básicas del estudio conjunto global de flujo oceánico (JGOFS)", en JGOFS, reimpression de los manuales y guías de la COI no. 29 (UNESCO) (Paris, Francia).

Letscher, RT, Hansell, DA, Carlson, CA, Lumpkin, R. y Knapp, A. N. (2013). Nitrógeno orgánico disuelto en la superficie del océano global: distribución y destino. *Biogeoquímica Global. Ciclos.* 27, 141–153. doi: 10.1029/2012GB004449

Liu, S., Longnecker, K., Kujawinski, EB, Vergin, K., Bolaños, LM, Giovanonni, SJ, et al. (2022). Vínculos entre la exportación de materia orgánica disuelta, los metabolitos disueltos y la respuesta de la estructura de la comunidad microbiana asociada en el noroeste del Mar de los Sargazos a escala estacional. *Frente. Microbiol.* 13, 833252. doi: 10.3389/fmicb.2022.833252

MacKenzie, FT (1981). "Ciclo global del carbono: algunos sumideros menores de CO<sub>2</sub>". en *Filjo de carbono orgánico de los ríos al océano*. Eds. GE Likens, FT MacKenzie, J.

E. Richey, JR Sedell y KK Turekian (Washington, DC: Departamento de Energía de EE. UU.), 360–384.

Mopper, K. y Qian, J. (2006). "Análisis del agua: determinaciones de carbono orgánico", en *Enciclopedia de química analítica*, en línea © 2006 (John Wiley & Sons, Ltd) (Hoboken, NJ).

Novak, MG, Cetinić, I., Chaves, JE y Mannino, A. (2018). La adsorción de carbono orgánico disuelto en filtros de fibra de vidrio y su efecto en la medición de partículas de carbono orgánico: un ejercicio de laboratorio y modelado. *Limnol. Oceanogr.: Métodos* 16, 356–366. doi: 10.1002/lom3.10248

Peltzer, ET y Brewer, PG (1993). Algunos aspectos prácticos de la medición de DOC: artefactos de muestreo y problemas analíticos con muestras marinas. *Mar. química* 41 (1-3), 243–252. doi: 10.1016/0304-4203(93)90126-9

Ridgwell, A. y Arndt, S. (2014). "Por qué importan los orgánicos disueltos: DOC en los océanos antiguos y el cambio climático pasado", en *Biogeoquímica de la materia orgánica disuelta marina*, 1.ª ed. Eds. DA Hansell y CA Carlson (San Diego, CA: Academic Press), 1–19.

Schlitzer, R. (2021) Vista de datos oceánicos. Disponible en: <https://odv.awi.de>.

Sharp, JH (1993). La controversia del carbono orgánico disuelto: una actualización. *Oceanografía* 6, 45–50. doi: 10.5670/oceanog.1993.13

Sharp, JH, Benner, R., Bennett, L., Carlson, CA, Fitzwater, SE, Peltzer, E. T, et al. (1995). Análisis de carbono orgánico disuelto en agua de mar: la comparación de métodos JGOFS EqPac. *Mar. Chem.* 48, 91–108. doi: 10.1016/0304-4203(94)00040-K Sharp,

JH, Carlson, CA, Peltzer, ET, Castle-Ward, DM, Savidge, KB y Rinker, KR (2002a). Intercalibración final de la comunidad amplia de carbono orgánico disuelto y uso preliminar de materiales de referencia DOC. *Mar. Chem.* 77 (4), 239–253. doi: 10.1016/S0304-4203(02)00002-6

Sharp, JH, Rinker, KR, Savidge, KB, Abell, J., Benaim, JY, Bronk, D., et al. (2002b). Una comparación de métodos preliminares para la medición de nitrógeno orgánico disuelto en agua de mar. *Mar. Chem.* 78 (4), 171–184. doi: 10.1016/S0304-4203(02)00020-8

Tappin, AD y Nimmo, M. (2019). "Análisis de agua | agua de mar: Disuelto P. Worsfold, , carbón orgánico." en *Enciclopedia de la ciencia analítica*, 3ª ed. Eds. C. Poole, , A. Townshend y , M. Miró, 345–352. (Cambridge, MA: Elsevier)

Turnewitsch, R., Springer, BM, Kiriakoulakis, K., Vilas, JC, Aristegui, J., Wolff, G., et al. (2007). Determinación de partículas de carbono orgánico (POC) en agua de mar: la importancia metodológica relativa de las ganancias y pérdidas artificiales en dos técnicas basadas en filtros de fibra de vidrio. *Mar. Chem.* 105, 208–228. doi: 10.1016/j.marchem.2007.01.017 Walsh, TW (1989). Nitrógeno disuelto

total en agua de mar: un nuevo método de combustión a alta temperatura y una comparación con la fotooxidación. *Mar. química* 26, 295–311. doi: 10.1016/0304-4203(89)90036-4

Williams, PM y Druffel, ERM (1987). Radiocarbono en materia orgánica disuelta en el océano pacífico norte central. *Naturaleza* 330, 246–248. doi: 10.1038/330246a0

Williams, PM y Druffel, ERM (1988). Materia orgánica disuelta en el océano: Comentarios sobre una controversia. *Oceanografía* 1 (1), 14–17. doi: 10.5670/oceanog.1988.33