

INSTITUTO DEL MAR DEL PERU

Proyecto Multinacional de Ciencias del Mar OEA-IMARPE
"Productividad de las Aguas Costeras frente al Perú "

ANALISIS QUIMICOS Y DE PRODUCTIVIDAD EN EL AGUA DE MAR

Primera Parte

Por

Oscar Guillén y Raquel I. de Rondán

La Punta, 1973

Lima - Perú

ANALISIS QUIMICOS Y DE PRODUCTIVIDAD EN EL AGUA DE MAR

Primera Parte

Por

Oscar Guillén y Raquel I. de Rondán

(Instituto del Mar y Proyecto Multinacional de Ciencias del Mar OEA)

INTRODUCCION

Los autores del texto presentan la descripción de los métodos usados en el Instituto del Mar, así como también sus comentarios, los cuales están basados en las experiencias de trabajo.

Esta recopilación ha sido preparada a pedido de los becarios del Proyecto Multinacional de la OEA de "Productividad de las Aguas Costeras frente al Perú" y de los estudiantes universitarios, para que sirva de guía práctica en los estudios de Oceanografía Química y Productividad.

DETERMINACION DE LA SALINIDAD

En los estudios oceanográficos es de gran importancia la determinación de la clorinidad. El conocimiento de salinidad es imprescindible para la determinación de las corrientes submarinas, transporte é identificación de masas de agua y para la transmisión del sonido debajo del agua. La concentración del cloro es casi siempre constante, en relación con las concentraciones de los mayores constituyentes del agua de mar.

CLORINIDAD

La clorinidad del agua de mar ($\text{Cl}^\circ/\text{‰}$), ha sido definida como 0.3285234 veces el peso de la plata precipitado como haluro de plata desde 1 kilogramo de agua de mar. (Todas las pesadas han sido hechas en el vacío):

$$\text{Cl } \text{‰} = 0.3285234$$

Esta es la moderna definición de la clorinidad, hecha por Jacobsen y Knudsen en 1940. La diferencia con las anteriores definiciones se debe a que los pesos atómicos adoptados del cloro y de la plata han venido sufriendo variaciones.

SALINIDAD

Usualmente se expresa el contenido de sal del agua de mar como salinidad $S \text{ ‰}$; esta es una convención la cual aproxima al peso en gramos, en vacío, de los sólidos obtenidos de 1 kilogramo de agua de mar cuando los sólidos han sido secados a peso constante a 480°C , la materia orgánica completamente oxidada, el bromo y yodo reemplazados por una equivalente cantidad de cloro y todos los carbonatos convertidos en óxidos. Las aguas oceánicas contienen otras sales (halógenos, carbonatos y bicarbonatos), las cuales son expresadas por su valor de salinidad.

En la práctica, la salinidad es definida en términos de clorinidad por la ecuación de Knudsen:

$$S^{\circ}/\text{‰} = 0.030 + 1.8050 \text{ Cl } ^{\circ}/\text{‰} \quad (1)$$

CLOROSIDAD

Este valor $\text{Cl}/L_{(t)}$ es la cantidad determinada por métodos volumétricos y es definida en la misma forma que la clorinidad, excepto que la unidad de muestra es 1000 ml. de agua de mar a una determinada temperatura.

Estudios relacionados con la determinación de la salinidad han sido realizados en 1959 por los doctores : F. Hermann; K. Kalló, F. Koczy, W. Manioco y P. Tchernia, quienes recomendaron lo siguiente:

El método de rutina para la determinación de la salinidad debe ser simple, rápido y exacto. Desde el punto de vista de simplicidad y rapidez, el método de Mohr-Knudsen es el más conveniente y da una exactitud de ± 0.02 $^{\circ}/\text{‰}$ S.

El indicador de cromato del método Mohr-Knudsen puede ser reemplazado por el fluoroscianato de sodio con un ligero incremento en la exactitud.

El método de Mohr-Knudsen puede ser modificado para incrementar la velocidad, sin pérdida de exactitud, usando un agitador magnético.

En algunos laboratorios están usando métodos potenciométricos para facilitar la detección del punto final, los cuales tienen la ventaja de incrementar la precisión. El método potenciométrico es usado en trabajos no rutinarios.

La señorita Saruhashi (1953) en Japón ha desarrollado un micro método empleando como indicador el fluoroscianato de sodio, el cual solamente requiere 1/10 de la cantidad de muestra y reactivo del método de Mohr-Knudsen. Este método es rápido y exacto. La desventaja de este micro método es que origina mayores errores volumétricos.

Han sido desarrollados diversos métodos para la determinación de la salinidad por medio de la densidad, por medio de la conductividad eléctrica y por medio del índice de refracción; Thomas, Thompson y Utterback (1934) estimaron la salinidad usando la relación conductividad - clorinidad, usando un puente de Wheastone.

Una modificación en el puente de Wenner ha sido introducida en 1956 por Schleicher y Bradshaw en el Instituto de Oceanografía de Woods Hole, habiéndose obtenido una exactitud del 0.003‰ S y una velocidad de 20 determinaciones por hora.

Brown y Hanon (1961) diseñaron un salinómetro inductivo para medir la salinidad del agua de mar, el cual tiene una exactitud de 0.003‰, aproximadamente. Es un instrumento portable y no requiere de un control de temperatura para las muestras.

Un grupo de científicos comandados por Cox del N.I.O. reexaminaron las relaciones entre clorinidad-densidad y densidad-conductividad. Cox, Gulkin, Greenhalgh y Riley (1962) mostraron una muy uniforme relación entre la densidad a 0° y la conductividad y mucho mas incierto en la relación entre la densidad-clorinidad.

En 1966 fueron publicadas por N.I.O. y UNESCO las tablas oceanográficas, las cuales contienen la nueva definición de la salinidad como:

$$S \text{ ‰} = 1.80655 Cl \text{ ‰} \quad (2)$$

La relación salinidad-conductividad fué hallada empleando una gran precisión en la determinación de la clorinidad y de la razón de conductividad a 15°C, usando además agua normal de Copenhague.

Después de convertir los valores de clorinidad en salinidad usando la ecuación (2) se estableció la relación entre la salinidad y la conductividad a 15°C :

$$S \text{ ‰} = 0.08996 + 28,29720R_{15} + 12,80832R_{15}^2 - 10,67869R_{15}^3 + 5,98624R_{15}^4 - 1,32311R_{15}^5 \quad (3)$$

La ecuación (3) es la última definición de la salinidad, basada en la medida de la conductividad con respecto al agua normal de Copenhague. El método conductométrico está libre de errores volumétricos y parece ser relativamente rápido y de fácil manejo en el mar y en el laboratorio.

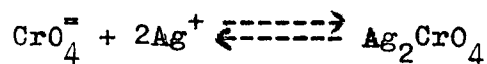
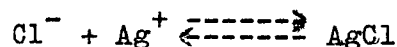
Un salinómetro puede ser definido como un instrumento que determina la salinidad del agua de mar, mediante la medición de alguna propiedad del agua, la que tiene relación constante con la clorinidad. Comúnmente la propiedad medida es la conductividad eléctrica. Recientes avances en la estimación de la salinidad han sido tratados en forma amplia y detallada por Johnston (1964).

Para la determinación de la salinidad en el agua de mar se describe a continuación dos métodos: A) Volumétrico de Mohr-Knudsen, modificado y B) Usando salinómetro.

A) METODO VOLUMETRICO DE MOHR-KNUDSEN

1.- FUNDAMENTO

Los halógenos en el agua de mar son determinados por titulación con nitrato de plata, usando como indicador el cromato de potasio:



La solución de nitrato de plata debe ser standarizada con agua de mar normal, de conocida clorinidad y obtenida del laboratorio Hidrográfico de Copenhague.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1) Botellas de vidrio de 500 ml.
- 2) Pipetas y buretas automáticas tipo Knudsen
- 3) Agitador magnético con sus respectivos imanes recubiertos de material plástico.
- 4) Vasos de vidrio de 100 ml.

2.1. Buretas y pipetas automáticas Knudsen

Se requiere para hacer la determinación de la salinidad una pipeta y una bureta automática Knudsen. La pipeta automática es de un volumen de 15 ml. y debe ser calibrada antes de usarse. Además la misma pipeta debe usarse para toda una serie de determinaciones.

La bureta Knudsen es un instrumento muy delicado y de construcción complicada. Está calibrada en dobles mililitros, es decir que un valor de 19.00 ml. corresponde a una entrega de 38 ml. de solución. Estas buretas no son absolutamente exactas y sus fabricantes dan los correspondientes certificados de corrección.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Se toma la muestra en una botella de 500 ml., lavándola previamente por lo menos 3 veces. Nunca deben llenarse totalmente las botellas porque en verano pueden reventar. Las botellas deben ser bien tapadas y guardadas en sus respectivas cajas.

Quando estas botellas o las de agua normal sean usadas para la determinación de la salinidad, debe tenerse en cuenta que dichos análisis deben realizarse en un tiempo no mayor de 1 hora; igualmente deben ser tapadas entre titulación y titulación.

4.- REACTIVOS

Son los siguientes:

4.1. Solución de Cromato de Potasio

Se pesa 8.0 gramos de K_2CrO_4 químicamente puro luego se disuelve en 100 ml. de agua destilada.

4.2. Solución de Nitrato de Plata

Se pesa 37.11 gramos de $AgNO_3$ y se disuelve en un litro de agua destilada, se recomienda para lograr más exactos resultados preparar la solución de Nitrato de Plata en cantidades de 10 litros. La solución debe ser bien mezclada y guardada en botella oscura.

4.3. Agua de Mar Normal

La clorinidad del agua de Mar Normal ha sido determinada con gran exactitud y es producida únicamente por la asociación de Oceanografía Física, Depósito de Agua Normal de Charlottenlund, Dinamarca. Cada ampolla de agua normal contiene aproximadamente 200 ml. y están rotuladas indicando su clorinidad con 3 decimales.

Puede usarse el agua de mar subnormal en lugar del agua de mar normal por su costo elevado de ésta.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se toma 15.0 ml. de la muestra con la pipeta automática, previamente enjuagada dos veces con la misma muestra y se vacía a un vaso de 100 ml. en cuyo interior se ha colocado previamente un imán recubierto de material plástico.
- 2.- Se agrega 6 gotas del indicador de cromato de potasio.
- 3.- Se coloca sobre el agitador magnético el vaso conteniendo el imán revestido de material plástico, los 15.0 ml. de muestra de agua y el indicador de cromato de potasio.

- 4.- Se pone en marcha el agitador magnético, a baja velocidad.
- 5.- Se titula con la solución de nitrato de plata. A medida que se va agregando la solución de nitrato de plata, el líquido cambia de color pasando de amarillo limón a amarillo, mostrando rápidos aumentos de tintes de color rojo tomate. Conforme aumenta el tinte rojizo debe disminuirse la velocidad de salida de la solución, reduciéndola a una gota por vez hasta que toda la muestra tome un color durazno.
En ese momento, llamado del primer gran cambio de color , debe cerrarse la llave de la bureta, manteniéndose siempre en marcha el agitador y se observa el color durante 20 segundos.
El color debe volver a un amarillo pálido. Luego se continúa agregando nitrato de plata gota a gota, hasta que el líquido comience otra vez a tomar color rojo tomate con cada gota que se le agregó; en seguida se reduce la adición de nitrato de plata a medias gotas hasta que el líquido mantenga durante 30 segundos un color durazno o naranja sucio, sin llegar a ser anaranjado o rojo puro. Este es el punto final. Si se examina la solución por transparencia se verá clara y no opaca.
Conforme se va agregando la cantidad de nitrato de plata a la muestra, la velocidad del agitador magnético se debe ir aumentando en forma gradual, cuidando de no producir salpicaduras debido al exceso de velocidad.
- 6.- Inmediatamente se anota la lectura de los ml. de nitrato de plata gastados y se detiene el agitador magnético.
- 7.- Las titulaciones de cada muestra deben hacerse por duplicado. La lectura de las buretas no debe diferir en

más de 0.02 ml. Si esto no se logra será necesario realizar una tercera titulación o las que fuere necesario hasta que se obtenga dos lecturas dentro de los límites indicados.

6.- CALIBRACION

6.1. Standardización del Nitrato de Plata

Antes de comenzar las titulaciones de las muestras de agua de mar para determinar su clorinidad debe standardizarse la solución de Nitrato de Plata, para conocer su concentración exacta en partes por mil.

Esta concentración debe oscilar entre 0.150‰ y 0.145‰ de la clorinidad del agua de Mar Normal (alrededor de 19.380‰) para efectuar los cálculos necesarios a fin de determinar la clorinidad.

Es muy importante mantener la concentración de la solución de Nitrato de Plata dentro de los límites de las tablas Hidrográficas comúnmente conocidos por tablas de Knudsen, para encontrar el factor de corrección k necesario para efectuar los cálculos que se indican a continuación:

Standardización es el proceso que permite establecer la diferencia entre la concentración de la solución de Nitrato de Plata (A) y la clorinidad del Agua de Mar Normal (N) que es exactamente conocida. Esta diferencia es llamada alfa (α). La standardización se expresa por la siguiente fórmula:

$$(N) - (A) = \alpha$$

Por ejemplo:

Clorinidad del agua de mar normal (N)	=	19.380
Lectura de bureta de titulación.. (A)	=	<u>19.370</u>
Alfa.....(α)	=	+0.010

Se obtiene un valor promedio de alfa de las tres mejores titulaciones del Agua de Mar Normal. Este valor es el usado para obtener el factor de corrección k de las tablas de Knudsen, cuyo factor es aplicado a la lectura de las buretas de muestras de agua de mar, para obtener la clorinidad.

Por ejemplo:

(N)	-	(A)	=	α
19.380		19.37		+0.010
19.380		19.42		-0.040 (mala titulación, desechada)
19.380		19.37		+0.010
19.380		19.37		<u>+0.010</u>
Promedio.....				+0.010

Si la standarización diera valores para alfa (α) que no están dentro de los límites que le corresponden según la tabla Knudsen, será necesario ajustar la solución.

Por ejemplo:

Es necesario usar 38.78 ml. de solución de Nitrato de Plata (lectura de la bureta 19.39) para titular 15 ml. de Agua de Mar Normal de clorinidad 19.39. El contenido de cloro en el Agua de Mar Normal será igual a:

$$19.39 \times 1.00045 \times 1.0248 = 19.88 \text{ gr/L}$$

La normalidad en cloro de esta agua de mar es igual a:

$$19.88 / 35.46 = 0.561 \text{ N.}$$

Luego la deseada concentración de la solución de Nitrato de Plata es igual a:

$$15(0.561) / 38.78 = 0.217 \text{ N en ión plata}$$

Si en lugar de usar 38.78 ml. se usa 38.40 ml de solución de Nitrato de Plata (lectura de bureta 19.20) para titular 15.0 ml. de Agua de Mar Normal, la concentración de la solución sería:

$$15(0.561) / 38.40 = 0.219 \text{ N}$$

Para ajustar la solución a su exacta normalidad, el volúmen final tendría que ser:

$$0.219 (36.91) / 0.217 = 37.25 \text{ litros}$$

Luego si se han preparado 36.91 litros de la solución de Nitrato de Plata, será necesario agregar 340 ml. de agua destilada:

$$37.25 - 36.91 = 340 \text{ ml.}$$

6.2. Preparación del agua Sub-Normal

Algunos Laboratorios emplean agua de mar Sub-Normal en lugar de Agua Normal, debido a consideraciones económicas y a las dificultades para su obtención. Mediante este sustituto puede prepararse grandes cantidades de agua de mar Sub-Normal con clorinidad conocida, comparándola con Agua de Mar Normal y luego usarla en lugar de esta última en los análisis de rutina del Agua de Mar.

La manera más simple de preparar agua de mar Sub-Normal es obteniendo una cierta cantidad de agua de mar clara y

limpia de una clorinidad mayor que la del agua normal , luego se filtra dos veces por lo menos y se diluye hasta aproximar su clorinidad tanto como sea posible a la del agua normal (19.39 ‰).

Por ejemplo:

Se toman 20 litros de agua de mar, se hacen las dos filtraciones y se halla su clorinidad. El contenido de cloruro (20°C) se calcula multiplicando la clorinidad por 1.00045 y por la densidad del agua de mar de esta clorinidad. Por consiguiente si la clorinidad hallada es 18.52, el contenido de cloruro será : $18.52 \times 1.00045 \times 1.02361 = 18.97$ gramos de cloruro por litro.

Como el deseado contenido de cloruro es de 19.88 gramos por litro será necesario agregar : $19.88 - 18.97 = 0.91$ gramos de cloruro por litro,

$$\text{ó } \frac{58.45}{35.46} \times 0.91 = 1.50 \text{ gramos de NaCl por litro.}$$

Una vez obtenida el agua Sub-Normal, deberá ser bien mezclada y guardada en botellas de vidrio color marrón, hermeticamente cerradas. Cada botella debe ser rotulada con la fecha y el valor de la clorinidad. Semanalmente debe verificarse su clorinidad en relación con el agua de Mar Normal, anotándose las verificaciones en el rótulo.

7.- CALCULOS

- 1.- Se determina el valor de alfa (α) promedio.
- 2.- Con el valor hallado de alfa (α) promedio y con la ayuda de las tablas de Knudsen se halla el factor de corrección k.
- 3.- Se suma algebraicamente el factor de corrección k al pro

medio de lectura de bureta, obteniéndose la clorinidad de la muestra.

Por ejemplo:

$$\begin{aligned} \alpha &= + 0.010 \\ k &= + 0.01 \\ \text{Promedio de lectura de bureta} &= 19.40 \\ \text{Corrección de } k &= + \underline{0.01} \\ \text{Clorinidad } \text{‰} &= 19.41 \end{aligned}$$

Calculada la clorinidad, la salinidad en partes por mil puede ser hallada por medio de la siguiente fórmula:

$$S \text{ ‰} = 0.030 + 1.8050 \text{ Cl } \text{‰}$$

Sin embargo es más sencillo y rápido usar las tablas de conversión de clorinidad a salinidad de Knudsen.

NOTAS

Debe tenerse en cuenta antes de hacer una determinación los siguientes puntos:

- El equipo debe ser mantenido siempre limpio.
- Antes de comenzar los análisis, hay que agitar el frasco que contiene la solución de nitrato de plata durante cinco minutos por lo menos.
- Debe verificarse que todas las soluciones, muestras y aparatos estén a la misma temperatura.
- Todas las muestras de Agua de Mar Normal y agua de mar deben ser titulados de idéntica manera.
- Contrólese que todas las titulaciones duren el mismo tiempo.
- El color del punto final de todas las muestras debe ser el mismo.

3) SALINOMETRO

1.- FUNDAMENTO

Salinómetro es un instrumento que determina la salinidad del agua de mar, mediante la medición de alguna propiedad del agua, la que tiene relación constante con la clorinidad. En este caso la propiedad medida es la conductividad eléctrica.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1) Botellas de vidrio de 500 ml.
- 2) Salinómetro

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Se toma la muestra en una botella de 500 ml., lavándola previamente por lo menos 3 veces. Nunca deben llenarse totalmente las botellas porque en verano pueden reventar. Las botellas deben ser bien tapadas y guardadas en sus respectivas cajas.

Cuando estas botellas o las de agua normal sean usadas para la determinación de la salinidad, debe tenerse en cuenta que dichos análisis deben realizarse en un tiempo no mayor de 1 hora; igualmente deben ser tapadas entre titulación y titulación.

4.- REACTIVOS

Son los siguientes:

4.1. Agua de Mar Normal

La clorinidad del agua de Mar Normal ha sido determinada con gran exactitud y es producida únicamente por la asociación de Oceanografía Física, Depósito de Agua Normal de Charlottenlund, Dinamarca. Cada ampolla de agua

normal contiene aproximadamente 200 ml. y están rotuladas indicando su clorinidad con 3 decimales.

Puede usarse el agua de mar subnormal en lugar del agua de mar normal por su costo elevado de ésta.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se agita la muestra por analizar.
- 2.- Se coloca "Heater y Aspiración" en posición "on".
- 3.- Se absorbe el agua de mar por analizar, desechando la primera porción de agua.
- 4.- Se coloca "Aspiración" en posición "off" y luego se coloca "Stirrer y Detection" en "on".
- 5.- Se coloca "Stirrer and Detection" en posición "off" y se devuelve la muestra de agua de mar a su respectiva botella.
- 6.- Se repite 2, 3, 4 por lo menos 2 veces.
- 7.- Se coloca en 0 la aguja del amperimetro, usando sólamente los botones de Conductivity ratio, y anotando su valor en la planilla respectiva.
- 8.- Se devuelve la muestra de agua de mar a su respectiva botella y se repite los pasos del 2 al 7 hasta que por lo menos 2 lecturas sean iguales.
- 9.- Finalizado los análisis de las muestras se desconecta la corriente.

6.- CALIBRACION

6.1. Procedimiento

Antes de comenzar las mediciones de las muestras de agua de mar para determinar su salinidad, se debe calibrar el salinómetro, usando agua de mar normal, de la siguiente manera:

- 1.- Se conecta a la corriente y se deja por lo menos me dia hora.
- 2.- Se coloca "Conductivity ratio" en 100,000 (equiva - lente a una salinidad de 35.000 ‰, y el "Standarise" en 5000).
- 3.- Se agita la muestra de agua de mar normal.
- 4.- Se coloca "Heater" y "Aspiración" en posición "on".
- 5.- Se absorbe la muestra de agua de mar normal, dese- chando la primera porción de agua.
- 6.- Se coloca "Aspiración" en posición "off" y luego se coloca "Stirrer y Detection" en "on".
- 7.- Se coloca "Stirrer y Detection" en posición "off" y se devuelve la muestra de agua de mar normal a su respectiva botella.
- 8.- Se repite 4, 5 y 6 por lo menos 2 veces.
- 9.- Se gira (1) en posición de "Temperature".
- 10.- Se coloca en 0 la aguja del amperímetro, con la ayu da del disco de Temperature.

- 11.- Se lee la temperatura del dial y se anota; luego usando la tabla de conversión se obtiene la temperatura de compensación, la cual también se anota.
- 12.- Mediante los botones de la Temperature de compensación se coloca la temperatura corregida de compensación.
- 13.- Se gira (1) en posición "Salinity".
- 14.- Se giran los botones del Standarise hasta que la aguja marque cero y se anota su valor.
- 15.- Se devuelve el agua normal a su respectiva botella.
- 16.- Se absorbe nuevamente el agua de mar normal y se repite las operaciones 14 y 15 hasta que por lo menos 2 lecturas sean iguales.

7.- CALCULOS

1.- Lectura de la muestra (Conductivity ratio)	=	100.060
2.- Salinidad nominal (usando tabla de conversión)	=	35.024
3.- Corrección por deriva	=	- 0.002
4.- Corrección por temperatura (de la tabla)	=	- 0.001
5.- Salinidad corregida (‰)	=	35.021

NOTAS

Debe tenerse en cuenta antes de hacer una medición los siguientes puntos:

- Debe procurarse que el agua de mar normal y las muestras de agua de mar esten a la misma temperatura.
- Antes de su medición las botellas que contienen las muestras de agua de mar deben agitarse.
- Todas las muestras de agua de mar normal y agua de mar deben ser medidas de identica manera.
- Cada 10 muestras deberá chequearse la conductivity ratio del agua de mar normal, para sus respectivas correcciones (Deriva), anotandose en la planilla respectiva.
- Finalizado los análisis de las muestras deberá lavarse por lo menos dos veces con agua destilada el sistema al igual que una muestra, dejando al final el recipiente lleno de agua.

DETERMINACION DEL OXIGENO DISUELTO

La determinación del oxígeno disuelto en el agua de mar es importante en los estudios de la oxidación de la descomposición de la materia orgánica, para establecer la relación entre el contenido de nutrientes y la depleción del oxígeno; en la estimación de la productividad del océano desde la medida de oxígeno consumido (en respiración) o producido (en fotosíntesis); en los procesos de circulación y mezcla de los océanos, etc.

La cantidad de oxígeno disuelto en un litro de agua de mar varía desde cero a 0.90 mg-átomos de oxígeno aproximadamente, (10 ml. de oxígeno medido a N.T.P.).

En zonas relativamente cercanas de la superficie del mar, de elevada actividad fotosintética del fitoplancton puede levantar los valores del oxígeno.

En el pasado la determinación del oxígeno disuelto fue hecha por métodos titrimétricos y gasométricos. Recientemente WHEATLAND y SMITH (1955) usando técnicas gasométricas muy modernas y exactas han logrado resultados similares a los obtenidos por el método titrimétrico.

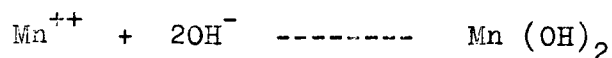
El método más común para la determinación del oxígeno disuelto es el de Winkler, el cual ha sido revisado recientemente por CARRITT y CARPENTER (1966).

El método de Winkler no da buenos resultados cuando el agua de mar contiene grandes cantidades de materia orgánica. SHOLANDER, VAN DAM, CLAFF y KANWISHER (1955) han descrito métodos micro gasométricos para la determinación del oxígeno disuelto y del nitrógeno, los cuales no son afectados por grandes cantidades de materia orgánica; además tiene la ventaja de requerir solamente un mililitro de muestra. El método parece tener una exactitud de ± 1 al 2 % .

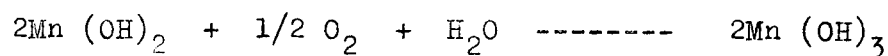
El método descrito a continuación es el de CARRITT y CARPENTER (1966) , con ligeras modificaciones.

1.- FUNDAMENTO

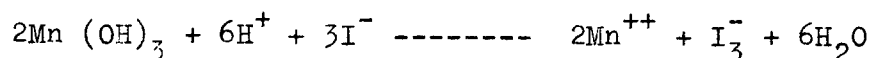
Requiere que la muestra sea tratada con una solución alcalina de sal manganosa, al mismo tiempo que se la protege del aire para evitar la oxigenación. Al principio se forma un precipitado blanco de hidróxido manganoso.



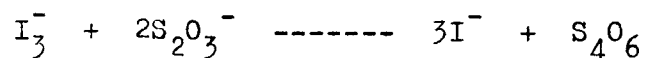
Este precipitado en presencia del oxígeno disuelto toma un color marrón y reacciona con el hidróxido manganoso, transformándose en hidróxido mangánico.



Cuando esta solución es acidulada en exceso en presencia de un yoduro, el yodo es liberado en una cantidad de oxígeno disuelto en la muestra:



El yodo liberado es titulado con una solución valorada de tiosulfato de sodio:



2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Botellas de 50 ml. de capacidad.
- 2.- Frascos Erlenmeyer de 125 ml.
- 3.- Micro-bureta automática de 10.0 ml., graduada en unidades de 0.01 ml.
- 4.- Pipeta volumétrica de 10.0 ml.
- 5.- Pipetas automáticas de 1.0 ml.
- 6.- Agitador magnético con sus respectivos imanes recubiertos de material plástico.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

3.1. Botellas para colección de muestras

Cuando el contenido entero de la botella se usa para la titulación, la calibración se hace con una exactitud de 0.1 % del volumen de la botella. En este caso la calibración deberá ser hecha por peso.

3.2. Colección y tratamiento de la muestra

La muestra debe ser tomada antes que otras muestras de la botella Nansen, usando tubo de jebes, evitando las burbujas de aire. Las botellas deben ser bien enjuagadas por lo menos con un volumen igual a la botella.

Tan rápido como sea posible los reactivos deben ser agregados en el siguiente orden :

- 1.- 1 ml. de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (I)
- 2.- 1 ml. NaOH - NaI (II)

La pipeta automática que contiene cada reactivo debe tocar la superficie de la solución en el cuello de la botella. El reactivo se hundirá rápidamente.

- 3.- La botella se agita fuertemente dejándose que el precipitado se asiente. Luego se agita nuevamente.
- 4.- Cuando ha precipitado totalmente se agrega 1 ml. de H_2SO_4 (III) con pipeta automática y se agita fuertemente, hasta que el precipitado se disuelva.

4.- REACTIVOS

Son los siguientes:

4.1. Cloruro manganoso (I)

Se pesa 600 grs. de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y se disuelve en agua destilada y se diluye a un litro. Siempre debe probarse si hay presencia de sales férricas; si las hay, será necesario una puri-

ficación por cristalización.

4.2. Solución de hidróxido de Sodio-yoduro de Sodio (II)

Se pesa 320 grs. de NaOH y 600 grs. de INa se disuelve en agua destilada por separado, luego se mezcla y se diluye a 1 litro. Para el guardado se usará botella oscura y con tapón de jebe . Las tapas de vidrio no son recomendables debido a la formación de un sello de carbonato del caústico con el CO₂ ambiental.

4.3. Acido sulfúrico (III)

Se prepara H₂SO₄ 10 N (280 ml. de H₂SO₄ concentrado/L) libre de compuestos de nitrógeno. La mayoría del H₂SO₄ usado ordinariamente en los laboratorios contiene trazas de óxidos de nitrógeno. Estas sustancias pueden estar presentes como impurezas y causar concentraciones demasiado altas para el oxígeno debido a la liberación del yodo por los óxidos del nitrógeno.

4.4. Solución indicador de almidón

Se pesa 3.0 grs. de almidón soluble y se disuelven en 100 ml. de glicerina. Luego se calienta a 190°C hasta que la solución llegue a ser transparente. Después se enfría a la temperatura del laboratorio. Si se desarrollara turbidez no debe ser tomada en cuenta, porque no interfiere en la eficiencia del indicador. Si la solución mostrara gel con el tiempo, puede ser diluida con una pequeña cantidad de glicerina y recalentada a 190°C.

Este nuevo indicador ha sido propuesto por Van Landingham J.W. (1960) y ha demostrado ser más estable que el indicador común de almidón. El color desarrollado con una gota del indicadores azul intenso con un exacto punto final.

4.5. Solución de tiosulfato de sodio

Se disuelve 5.0 grs. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 0.1 gr. de Na_2CO_3 en agua destilada, previamente hervida para expeler el CO_2 y se completa a 1 litro. Se agrega una gota de CS_2 como preservativo. Esta solución puede ser estable por muchos meses, cuidándose de guardarla en botella oscura y fuera del contacto con el CO_2 del aire y a temperaturas inferiores a 25°C . El factor decrece lentamente.

5.- PROCEDIMIENTO

Cuando se usa el total del volumen de la botella como muestra se procede de la siguiente manera:

- 1.- El contenido de la botella de muestra previamente calibrada se pasa a un erlemeyer de 125 ml.
- 2.- Se titula con la solución standard de tiosulfato de sodio hasta que toma un color amarillo pálido.
- 3.- Se agrega dos gotas del indicador.
- 4.- Se continúa la titulación con la solución de tiosulfato de sodio.
- 5.- Cuando el punto final ha sido logrado, una porción de esta solución se devuelve dentro de la botella de muestra y nuevamente al erlemeyer. La solución se titula otra vez hasta que el color desaparezca.
- 6.- Se anota el volumen gastado de tiosulfato, y
- 7.- Se corrige el volumen de ml. de solución de tiosulfato de normalidad N gastados en la titulación por substracción del reactivo en blanco (a).

6.- DETERMINACION DEL BLANCO

En un erlemeyer que contiene 50 ml. de agua destilada se agrega 1.0 ml. de H_2SO_4 y 1 ml. de la solución NaOH-NaI, se agita y después se agrega 1 ml. de la solución Cl_2Mn . Si no aparece coloración azul los reactivos están libres de oxidantes. Si aparece este color se titula. Si se gasta más de 0.05 ml. de la solución de tiosulfato de sodio deberá verificarse cual de los elementos contiene sustancias oxidantes.

Si en algunos de los reactivos existen sustancias oxidantes en mínima cantidad deberá hacerse una corrección en blanco.

7.- CALIBRACION

7.1. Solución standard

Preparación de la solución standard :

Se disuelve en agua destilada 0.3567 gr. de KIO_3 recristalizado y se completa a 1 litro en una fiola graduada y se mezcla fuertemente. La normalidad es exactamente 0.01000 N. La solución es estable indefinidamente.

7.2. Standardización de la solución de tiosulfato de sodio

Con una pipeta volumétrica 10 ml. de KIO_3 0.01 N se vacía a un erlemeyer, luego se añade 50 ml. de agua destilada. Enseguida se le agrega 1.0 ml. de reactivo H_2SO_4 y 1 ml. de solución NaOH-NaI. El yodo liberado es titulado con la solución de tiosulfato de sodio.

El factor (F) es calculado de la siguiente manera:

$$F = \frac{5}{V} \quad \text{donde :}$$

V = Consumo de tiosulfato para 10 ml. de yodato de potasio.

El factor no varía por muchos días, pero debe ser determinado, usando el promedio de por lo menos 5 titulaciones.

La solución standard y las muestras de agua de mar deben estar a una temperatura aproximadamente iguales durante las titulaciones.

8.- CALCULOS

El contenido de oxígeno de la muestra es calculada en la siguiente forma :

$$\begin{aligned} 1 \text{ equivalente tiosulfato} &= 8 \text{ g oxígeno} \\ 1 \text{ ml. } 0.02 \text{ N} &= 0.16 \text{ g oxígeno} \\ &= 0.112 \text{ ml. oxígeno} \\ a \text{ (ml)} &= \text{Consumo de tiosulfato en la titulación de la muestra.} \\ b \text{ (ml)} &= \text{Volumen de la botella} \\ f &= \text{Factor del tiosulfato} = \frac{5}{V} \\ & \text{(V = Consumo del tiosulfato para} \\ & \text{10 ml. de la solución stan} \\ & \text{dard } \text{KIO}_3 \text{ } 0.01\text{N}) \end{aligned}$$

Una botella contiene:

$$\frac{a \cdot f \cdot 8 \text{ mg oxígeno}}{50}$$

En un litro contendrá:

$$\begin{aligned} & \frac{a \cdot f \cdot 8 \times 1000}{50 (b-2)} \\ \text{ml/L oxígeno} &= \frac{112 \cdot a \cdot f}{(B-2)} \end{aligned}$$

NOTAS

- La solución de yodo acidificado es estable por muchas horas y

días, pero si la muestra contiene mucha materia orgánica, esta puede ser oxidada lentamente por el yodo. Es recomendable no demorar la titulación.

- La titulación de las muestras no deben demorar mucho. La solución debe permanecer incolora por lo menos 20 segundos en el punto final. Una variación del punto final es debido a la oxidación atmosférica de yoduro a yodo el cual llega a incrementar rápidamente cuando decrece el pH. El método descrito no presenta dificultades por muchos minutos. Otro error es la volatilización del elemento yodo, que depende principalmente de la temperatura y que no es serio en el presente método a temperaturas, menores de 25°C, recomendándose que las titulaciones sean rápidas y comiencen inmediatamente después de vaciar al erlemeyer.
- El yodato de potasio es el más conveniente y seguro para standarizar el tiosulfato de sodio.
- Además de el yodato de potasio KIO_3 se han usado otras sustancias para standarizar el tiosulfato de sodio con el siguiente resultado:
 - a.- El yodo no es recomendable como un standard primario debido a la dificultad en su pesada y transferencia a la fiola con pérdida, debido a que es muy volátil (I_2).
 - b.- El trióxido de arsénico (As_2O_3) puede ser purificado fácilmente por sublimación y ser un standard excelente.
 - c.- El dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) puede ser purificado muy fácilmente.
Es muy estable. Sin embargo tiene la desventaja de reaccionar lentamente con el yoduro de potasio.

DETERMINACION DEL FOSFORO REACTIVO

Los compuestos del fósforo pueden hallarse en variadas formas, ya sea en solución como materia orgánica, como partículas de materia o en solución como iones inorgánicos (ortofosfatos), siendo estos últimos valiosos como nutrientes para el crecimiento de las plantas y animales.

La utilización de los nutrientes tiene lugar principalmente en las capas superficiales del mar, en las cuales la cantidad y calidad de luz es adecuada para la actividad fotosintética.

La concentración de los fosfatos en el agua de mar varía entre 0.00-3.50 $\mu\text{g-atoms PO}_4\text{-P/l}$. Ocasionalmente puede hallarse valores $> 3.50 \mu\text{g-atoms PO}_4\text{-P/L}$ en algunas profundidades del mar.

El clásico método para la determinación de fósforo inorgánico es el de azul de fosfomolibdato de DENIGES (1920). Otros métodos han sido descritos por: ATKINS (1923), SEIWELL (1935), WATENBERG (1937), ROBINSON y THOMPSON (1948a), WOOSTER y RAKESTRAW (1951), FUKAI (1954), GRENFIELD y KALDER (1954), HARVEY (1955), BARNES (1959), MURPHY y RILEY (1958 y 1962), STRICKLAND y PARSONS (1965), GRASSHOFF (1968) y otros.

Todos los métodos para la determinación de fosfatos en el agua de mar dependen de la formación del complejo de fosfomolibdato y de la subsiguiente reducción a un compuesto altamente coloreado de azul.

Los métodos que usan el cloruro estannoso como reductor tienen la ventaja de ser más sensibles y de dar una menor interferencia que los compuestos orgánicos hidrolizables usados en otras técnicas.

PROCTOR y HOOD (1954) han recomendado para la determinación de fósforo inorgánico en el agua de mar, un método por extracción del complejo fosfomolibdato dentro de iso-butanol y por reducción en la fase orgánica con Cl_2Sn . No decolora en 75 minutos.

JONES y SPENCER (1963) mostrarón pruebas comparativas de varios métodos para la determinación de fosfatos en el agua de mar.

El método descrito a continuación difiere principalmente en el volumen de muestra, del método de MURPHY y RILEY (1962) descrito por STRICKLAND y PARSONS (1968).

1.- FUNDAMENTO

El fundamento de este método consiste en hacer reaccionar la muestra del agua de mar con un reactivo que contiene ácido molibídico, ácido ascórbico y un antimonio trivalente. El complejo resultante ácido heteropolar es reducido in situ para dar una coloración azul, el cual es medido a 8850Å° .

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Botellas de polietileno de 100 ml.
- 2.- Pipetas automáticas de 5 ml.
- 3.- Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU PROCESAMIENTO

Se usan botellas de polietileno de 100 ml. de capacidad para tomar las muestras, pero antes deberán ser enjuagadas dos veces con el agua de mar que va a ser analizada. Las muestras deberán ser guardadas en un lugar frío y en la oscuridad y solamente ser calentadas a la temperatura del ambiente cuando las muestras van a ser analizadas. Deberán las muestras ser refrigeradas a 0°C ó menos, si los análisis van a realizarse después de 1-2 horas.

4.- REACTIVOS

Son los siguientes:

4.1. Solución de Molibdato de Amonio

Se disuelve en 500 ml. de agua destilada 15 gr. de paramolibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6 \cdot \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Q.P. Debe guardarse en botellas de polietileno protegidas de la luz. La solución es estable indefinidamente.

4.2. Solución de Acido Sulfúrico

Se agrega 140 ml. de ácido sulfúrico concentrado Q.P. (s. g. 1.82) a 900 ml. de agua destilada, luego se deja enfriar y se guarda en una botella de vidrio.

4.3. Solución de Acido Ascórbico

Se disuelve 27 gr. de ácido ascórbico, Q.P. en 500 ml. de agua destilada. Se guarda en botella de polietileno en el congelador y recongelarse nuevamente. La solución es estable por muchos meses, pero no deberá guardarse a temperatura de laboratorio por más de una semana.

4.4. Solución de tartrato antimonil potásico

Se disuelve 0.34 gr. de tartrato antimonil potásico, Q.P. en 250 ml. de agua destilada (calentar si es necesario). Se guarda en botella de polietileno o de vidrio. La solución es estable por muchos meses.

4.5. Mezcla de Reactivos

Se mezclan 100 ml. de la solución de molibdato de amonio, 250 ml. de la solución ácido sulfúrico, 100 ml. de la solución de ácido ascórbico y 30 ml. de la solución tartrato antimonil potásico. Este reactivo debe ser preparado para cada grupo de análisis y el exceso debe descartarse. No deberá guardarse por más de 6 horas.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se lleva a una misma temperatura todas las muestras (15° á 30°C).
- 2.- Se toman 50 ml. de muestra por duplicado.
- 3.- Se agrega 5 ml. de la mezcla de reactivos a cada muestra y se agita.
- 4.- Después de 5 minutos y dentro de 2-3 horas, se mide la extinción de las muestras a 8850Å° empleando un espectrofotómetro y usando celda de 10 cm.
- 5.- Se corrige la extinción medida por substracción de la turbidez y el reactivo en blanco.

6.- DETERMINACION DEL BLANCO

6.1. Celda a celda en blanco

Cuando ambas celdas de la muestra y celda de agua destilada son llenadas con agua destilada, la extinción de las dos celdas debe ser 0.000, pero debido a ligeros defectos ópticos se puede hallar valores ligeramente positivo ó negativo. Esto es permitido cuando la turbidez en blanco es sustraída, pero el valor deberá ser hallado cuando se determina el reactivo en blanco. En la celda en blanco el agua destilada deberá ser cambiada todos los días, ya que puede resultar una marcada turbidez si el agua destilada permanece en la celda por un largo tiempo.

6.2. Reactivo en blanco

Se toma 100 ml. de agua destilada, por duplicado, en lugar de agua de mar y se procede como se ha descrito anteriormente. Luego se corrige el resultado de extinción por la celda en blan

co. El reactivo en blanco no deberá exceder 0.02 ug-at/L . Si esto ocurre deberá usarse agua redestilada. Cada nueva preparación del reactivo molibdato deberá hacerse reactivo en blanco y chequearse semanalmente.

6.3. Turbidez en blanco del agua de mar

La turbidez en blanco puede ser una fracción apreciable del total de extinción en aguas superficiales, y por lo tanto deberá ser determinada en muestras de superficie y a 10 m. de profundidad en cada lanzamiento. También se medirá a más grandes profundidades hasta que los valores sean aproximadamente constantes. Este valor (generalmente menor que 0.01 debajo de 25 m. en aguas lejos de la costa) es casi igual a la celda en blanco y puede a menudo ser ligeramente negativo.

La turbidez deberá ser medida después que todas las muestras hayan obtenido la temperatura del ambiente, antes de adicionar la mezcla de reactivos.

7.- CALIBRACION

7.1. Preparación de soluciones standards:

7.1.1. Standard de fosfatos I

Se pesa 0.816 gr. de KH_2PO_4 anhidro, el cual ha sido previamente secado durante 3 horas a 120°C y se disuelve en 1000 ml. de agua destilada en una fiola graduada. Se agrega 1.0 ml. de cloroformo (como preservativo) y se guarda en una botella oscura. La solución es estable por muchos meses. Esta solución contiene:

$$1 \text{ ml.} = 6.0 \text{ ug-at } \text{PO}_4\text{-P}$$

7.1.2. Solución standard de fosfatos II

10 ml. de la solución standard de fosfatos I son dilui

dos a 1 litro con agua destilada. Se agrega 1.0 ml. de cloroformo, y se guarda en una botella oscura. Es estable por muchas semanas.

$$1 \text{ ml.} = 6.0 \times 10^{-2} \text{ } \mu\text{g-at PO}_4\text{-P}$$

$$1 \text{ ml.} = 0.60 \text{ } \mu\text{g-at P/L en 100 ml. de muestra de agua de mar.}$$

7.2. Procedimiento:

Se prepara 4 soluciones standards, cuya concentración sea equivalente a 3.0 $\mu\text{g-at P/L}$ (5.0 ml. de solución standard de fosfatos II), y se completa exactamente a 100 ml. con agua destilada y dos muestras de 100 ml. de agua destilada que acentúan como blancos. Luego se procede como se ha indicado anteriormente recomendándose que tanto las soluciones standards, como los blancos de agua de mar sintética, sean colocadas en medio de cada grupo de muestra y trabajadas exactamente como las otras.

El factor F es calculado de la expresión :

$$F = \frac{3.00}{E_s - E_b}$$

donde E_s = La extinción media de los 4 standards y

E_b = La extinción media de los 2 blancos (no corregido por celda a celda en blanco).

8.- CALCULOS

La concentración de los fosfatos en las muestras es calculada como sigue:

$$\mu\text{g-at PO}_4\text{-P/L} = E_c \times F$$

donde F = es el factor obtenido en 7.2

E_c = extinción corregida, obtenida en 5.

NOTAS

- El método descrito no presenta cambios significativos de temperatura (menor de 0.2 % por °C) entre 15° a 30°C.
- La extinción logra su máximo a los 5 minutos y permanece constante por muchas horas. Pero para trabajos más precisos se recomienda que la lectura de la extinción se haga dentro de 2 a 3 horas, porque puede haber ligeros cambios en la primera mitad del día.

DETERMINACION DEL SILICATO REACTIVO

La sílice está considerada como un nutriente porque es un constituyente de las diatomeas y de otros organismos fitoplanctónicos.

El rango normal de silicatos en el agua de mar es de 0.00 a cerca de 200 ug-at de silicato-sílice por litro.

Los compuestos de la sílice se hallan en el agua de mar, ya sea en verdadera solución, en estado coloidal o en partículas en suspensión.

Las formas en las cuales son determinados colorimétricamente han sido investigados por ARMSTRONG (1951), COOPER (1952) y CHOW y ROBINSON (1953a).

Algunos estudios sobre la química de la formación del silicomolibdato han sido realizados por STRICKLAND (1952). Y además MULLIN y RILEY (1955b) han investigado los cambios en el contenido de sílice durante el guardado en diferentes tipos de botellas.

Todos los métodos para la determinación de silicatos en el agua de mar dependen de la producción del complejo silicomolibdato.

El método más antiguo para la determinación de los silicatos es el de DIENERT y WANDENBULCKE (1923) quién hace uso del color amarillo del ácido silicomolíbico, el cual se forma cuando el molibdato de amonio y el ácido sulfurico son agregados al agua de mar. Este método ha sido criticado por FUKAI (1954b) y mejorado por ARMSTRONG (1951) y MULLIN y RILEY (1955) quienes han utilizado métodos análogos para la estimación de los silicatos, en los cuales el ácido silico molíbico formado es reducido a azul de molibdeno. El primero usó como agente reductor el cloruro estannoso, el cual da una gran sensibilidad, pero la muestra decolora rápidamente; el segundo empleó el metol, el cual es económico, estable y el color resultante es también estable.

El método descrito a continuación es de MULLIN y RILEY (1955) modificado por STRICKLAND y PARSONS (1968).

1.- FUNDAMENTO

La muestra de agua de mar se hace reaccionar con molibdato bajo ciertas condiciones que permitan la formación de los complejos de silicomolibdatos, fosfomolibdato y arsenomolibdato. Luego se le añade la solución reductora que contiene metol y ácido oxálico el cual reduce el complejo silicomolibdato a un compuesto azul y simultáneamente descompone el fosfomolibdato ó arsenomolibdato, es decir, que la interferencia de los fosfatos y arsenatos son eliminados. Luego se mide la extinción a una longitud de onda de 8100Å , usando un espectrofotómetro y celda de 1.0 ó 10.0 cm.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Botellas de polietileno de 100 ml.
- 2.- Probetas graduadas con tapa de vidrio de 50 ml.
- 3.- Pipetas automáticas de 10 ml.
- 4.- Pipeta volumétrica de 25.0 ml.
- 5.- Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Las muestras de agua de mar deberán ser tomadas inmediatamente que las botellas Nansen estén a bordo, en botellas de polietileno de 100 ml. y guardadas en la oscuridad, para prevenir la multiplicación de las diatomeas, las cuales pueden consumir silicatos.

Si las muestras no van a ser analizadas a bordo deberán ser guardadas en una congeladora a -20°C .

4.- REACTIVOS

Son los siguientes:

4.1. Reactivo de Molibdato

Se pesa 4.0 gr. de paramolibdato de amonio Q.P. ($(\text{NH}_4)_6 \cdot \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) y se disuelve en 300 ml. de agua destilada, en seguida se le añade 12.0 ml. de ácido clorhídrico concentrado (12N.s.g. 1.18), se mezcla bien y se completa a 500 ml. con agua destilada, en una fiola graduada. Se guarda en una botella de polietileno y protegida de la luz. La solución será estable por muchos meses.

4.2. Solución Metol-Sulfito

Se disuelve 6.0 gr. de sulfito de sodio anhidro (Na_2SO_3), Q.P. en 500 ml. de agua destilada y luego se le añade 10.0 gr. de metol (p-metilamino fenol sulfato). Cuando el metol ha sido disuelto se filtra a través de papel whatman N° 1 y se guarda en una botella de vidrio, bien tapada. La solución puede deteriorarse fácilmente y por eso debe prepararse cada mes.

4.3. Solución de ácido oxálico

Se pesa 50 gr. de ácido oxálico deshidratado Q.P. ($(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y se disuelve en 500 ml. de agua destilada, se deja decantar y luego la solución se guarda en una botella de vidrio. La solución es estable indefinidamente.

4.4. Solución ácido sulfúrico 50% V.V.

Se añade 250 ml. de ácido sulfúrico concentrado (s.g. 1.82) en 250 ml. de agua destilada. Se deja enfriar a la temperatura del laboratorio y se completa a 500 ml. con un poco de agua destilada.

4.5. Reactivo Reductor

Se mezcla 100 ml. de la solución metolsulfito con 60 ml. de la solución de ácido oxálico. En seguida se añade lentamente 60 ml. de la solución de ácido sulfúrico al 50 %, agitando cons -

tantemente y se completa a 300 ml. con agua destilada. Esta solución deberá ser preparada para cada grupo de muestras.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Las muestras deberán ser llevadas a temperaturas entre 18° y 25°C.
- 2.- Se toma 10 ml. de la solución de molibdato y se vacía a una probeta graduada con tapa de 50 ml. de capacidad.
- 3.- Se agrega 25 ml. de la muestra de agua de mar dentro de la probeta graduada que contiene la solución de molibdato y se tapa. Luego se mezcla bien y se deja por espacio de 10 minutos.
- 4.- Se añade el agente reductor dentro de la probeta graduada que contiene la solución de molibdato y la muestra de agua de mar hasta completar exactamente 50.0 ml. Enseguida se agita bien.
- 5.- Después de 2 a 3 horas se lee la Extinción de la solución con un espectrofotómetro, usando una longitud de onda de 8100 Å° y celda de 1.0 cm. Para concentraciones menores de 12 µg-at/L se usa celda de 10 cm. cuando se desea obtener valores precisos.
- 6.- Se corrige la Extinción medida por substracción del reactivo en blanco.

6.- DETERMINACION DEL BLANCO

Reactivo en blanco

Se toma 25 ml. de agua destilada en lugar de agua de mar y se procede como se ha descrito anteriormente. La extinción del blanco no deberá exceder de 0.01 µg-at/L cuando se emplea celda de 1.0 cm.

y de 0.1- $\mu\text{g-at/L}$ cuando se usa celda de 10-cm. y deberá ser medido para cada grupo de reactivos y chequeado semanalmente durante el orou cero.

7.- CALIBRACION

7.1. Agua de Mar Sintética

Se disuelve 310 gramos de ClNa y 100 gramos de $\text{SO}_4\text{Mg} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 0.50 gramos de $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en agua destilada libre de silicato, se completa a 10 litros y se guarda en botella de polietileno. La Salinidad de esta agua es aproximadamente 33.7‰. El contenido de sílice de esta solución no deberá exceder de 1 a 2 $\mu\text{g-at/L}$.

7.2. Preparación de solución standards

7.2.1. Solución standard de silicatos I.

Se disuelve 0.960 gramos de fino polvo seco de fluorsilicato de sodio, Na_2SiF_6 en agua destilada y se completa a 1 litro en una fiola graduada. Luego la solución deberá ser guardada inmediatamente en una botella de polietileno y permanecerá estable indefinidamente. Esta solución contiene:

$$1 \text{ ml.} = 5 \mu\text{g-at Si}$$

7.2.2. Solución Standard de Silicato II.

Se diluye 10 ml. de la solución standard de silicatos I y se completa a 500 ml. con agua de mar sintética en una fiola graduada. Esta solución deberá usarse inmediatamente para la calibración porque el contenido de silicatos comienza a decrecer a las pocas horas debido a la polimerización.

$$1 \text{ ml.} = 0.1 \mu\text{g-at Si}$$

$$1 \text{ ml.} = 4 \mu\text{g-at Si/L en 25 ml. de muestra de agua de mar}$$

7.3. Procedimiento

Se prepara 4 soluciones standards usando 25.0 ml. de solución standard de silicatos II en lugar de la muestra de agua de mar y 2 muestras de agua de mar sintética que actúan como blancos. Luego se procede como se ha indicado anteriormente.

El factor F es calculado de la expresión:

$$F (\text{lcm.}) = \frac{100}{E_s - E_b}$$

donde E_s = La extinción media de los 4 standards.

E_b = La extinción media de los 2 blancos.

El valor del factor no cambia con el tiempo, pero requiere que sea chequeado de vez en cuando. Su valor aproximado es 100. Si se usan celdas de 4.0 ó 10.0 cm. el factor puede asumirse 0.4 ó 0.1, respectivamente.

8.- CALCULOS

La concentración de los silicatos en las muestras es calculada como sigue:

$$\mu\text{g-at Si/L} = E_c \times F$$

donde F = es el factor obtenido en 7.3

E_c = Extinción corregida, obtenida en 5

NOTAS

- No hay un pronunciado efecto de la temperatura sobre las muestras a temperaturas mayores de 18°C, pero debe evitarse temperaturas que exceden de 25° - 30°C, porque esa temperatura descompone el complejo silicomolibdato.
- El silicato y el molibdato deben combinarse antes que el agente reductor es agregado. Es suficiente 10 minutos para esta reacción. La adición de la solución reductora debe hacerse antes de los 30

minutos, para evitar cambios en las formas isómericas del complejo silicomolibdato formado.

- La muestra es agregada al reactivo ácido molibdato para mantener la mezcla agua de mar-molibdato con cierta acidez. Esto previene la posible formación de formas isómericas del complejo silicomolibdato.
- El ácido oxálico agregado al agente reductor es para descomponer al fosfomolibdato. Arsenomolibdato formado con el complejo silicomolibdato.
- El tiempo requerido para la formación del color azul varía con la concentración de los silicatos. Para concentraciones menores de 50 $\mu\text{g-at Si/L}$ una hora es suficiente en cambio para contenidos de 75-100 $\mu\text{g-at/L}$ se requiere 3 horas.
- El agua destilada deberá ser guardada en botella de polietileno.
- El uso del metol como reductor hace que el método sea menos sensible que cuando se usa el cloruro estannoso. Sin embargo, la sensibilidad no es de primera importancia en la determinación de los silicatos, porque estos se encuentran en grandes cantidades en el agua de mar. Sin embargo, el metol tiene la ventaja de ser más estable que el cloruro estannoso, y la estabilidad del color azul que se produce con el silicomolibdato es mucho mayor.

DETERMINACION DEL NITRATO REACTIVO

Un continuo balance de intercambio de nitrógeno entre los organismos residentes y su ambiente es esencial para la continuidad de la vida en el mar.

La mayor parte del nitrógeno combinado presente en el mar se halla en forma de nitratos.

Los principales métodos para la determinación de Nitratos en el agua de mar estan basados: 1) En la reducción a nitrito; 2) En la producción de color por la adición de reactivos en solución concentrada de ácido sulfúrico, como un resultado de las propiedades oxidantes del ácido nítrico; 3) Polarograficamente.

La determinación de los nitratos en el agua de mar usando la estriquina reducida y la difenil bencidina en presencia de ácido sulfúrico han sido descritas por HARVEY (1926-1930) y ATKINS (1932-1954), respectivamente. El método de HARVEY posteriormente fue mejorado por ZWICKER y ROBINSON (1944), quienes demostraron que el reactivo de HARVEY era una mezcla de productos de reducción de la estriquina y que el uso de la estriquina pura era un reactivo más satisfactorio.

ROCHFORD (1947), MATIDA (1951), MARVIN (1955) y FUKAI (1955) eliminaron la mayoría de las dificultades encontradas en la preparación del Reactivo de HARVEY, mejorando la precisión del método.

La determinación de los nitratos polarograficamente han sido descritas por KOLTHOFF, HARRIS y MATSUYAMA (1944), KEILIN y OTVOS (1946) y por CHOW y ROBINSON (1953), basados en la reducción polarográfica de los nitratos en presencia de iones uranil.

Una reducción heterogénea de nitratos a nitritos por el metal Zinc ha sido descrita por NELSON y KURTZ y BRAY (1954). MULLIN y RILEY (1955) redujeron el nitrato a nitrito empleando hidracina en una solución bufferada a pH 9.6 en presencia de iones de cobre, los cuales actuan como catalizador. CHOW y JOHNSON (1962) describieron un método basado en la reducción con polvo de Zinc.

Otros métodos han sido descritos por MONTGOMERY (1962), PROCHAZKOVA (1959) ARMSTRONG (1963). Una comparación de los métodos usando hidracina y estri^cnina es dada por DAL PONT et al (1962).

El efecto del H₂S en la determinación de los nitratos ha sido tratado por WILLIAMS y COOTEL (1962).

El rango de nitratos en el agua de mar es generalmente de 0.00 - 60 µg-at/L. El método descrito por STRICKLAND y PARSON (1968) esta basado en el método de MORRIS y RILEY (1963), incluyendo el uso de cloruro de amonio (GRASSHOFF, 1964) y columnas de cadmio-cobre (WOOD, ARMSTRONG y RICHARDS, 1967).

El método descrito a continuación es el modificado por STRICKLAND y PARSONS (1968), con ligeras modificaciones.

1.- FUNDAMENTO

El nitrato de agua de mar es reducido cuantitativamente a Nitrito, cuando la muestra pasa a través de una columna que contiene amalgama de cadmio cubierto con cobre metalico. El nitrito así producido es determinado por diazotación con sulfanilamida y copulación con N-(1 naftil) etilendiamina para dar un tinte azo altamente coloreado, cuya extinción es medida.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Columnas de reducción.
- 2.- Erlenmeyer de 125 ml.
- 3.- Pipetas automáticas de 2.0 y 1.0 ml.
- 4.- Probetas de 100 ml.
- 5.- Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Se toma 100 ml. de muestra, aproximadamente, en una probeta graduada y se vacía a un erlenmeyer de 125 ml. Las muestras son estables por muchas horas, si son guardadas frías y en la oscuridad, pero los análisis no deberán demorar más de 12 horas. Si se piensa guardarla por mayor tiempo las muestras deberán ser congeladas a -20°C .

4.- REACTIVOS

4.1. Solución concentrada de cloruro de amonio:

Se disuelve 175 gr. de cloruro de amonio, Q.P. en 500 ml. de agua destilada y se guarda en una botella de vidrio ó de polietileno.

4.2. Solución diluida de cloruro de amonio:

Se diluye 50 ml. de la solución concentrada de cloruro de amonio a 2000 ml. con agua destilada y se guarda en una botella de vidrio ó de polietileno.

4.3. Sulfanilamida

Se pesa 5 gr. de sulfanilamida y se disuelve en una mezcla de 50 ml. de HCl concentrado y 300 ml. aproximadamente de agua destilada. Luego se completa a 500 ml. con agua destilada. La solución es estable por muchos meses.

4.4. N-(1-naftil) etilendiamina

Se pesa 0.5 gr. del compuesto $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ y se disuelve en 500 ml. de agua destilada libre de nitritos. La solución será guardada en una botella ámbar y renovada cuando aparezca un color pardo fuerte.

4.5. Preparación de las columnas de cadmio:

Son preparados de la siguiente manera:

1.- Se lima finamente el metal cadmio y se selecciona la frag

ción que pasa la malla de 2 mm, la que es retenida en otra malla de 0.5 mm.

- 2.- Se toma aproximadamente 300 gr. del metal cadmio (esta cantidad es suficiente para 6 columnas) y se lava brevemente con una solución de HCl al 1 %, luego se trata con una solución de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{Cu.SO}_4.5\text{H}_2\text{O}$) al 2% w/v hasta que empiece a formarse partículas de cobre semicoloidales en el líquido supernadante.
- 3.- Se lava con abundante agua destilada (por lo menos 10 veces), hasta que esté libre del cobre coloidal.
- 4.- El fondo de la columna reductora se llena con cobre muy fino y se agrega solución diluida de cloruro de amonio.
- 5.- Se llena la columna con los granulos de cadmio coperizado y se lava la columna con solución diluida de cloruro de amonio.
- 6.- Se regula el flujo de la muestra. El flujo de una muestra de 100 ml. a través de la columna debe demorar de 10 - 12 minutos. Si el flujo demora menos de 8 minutos, sera necesario agregar más cobre a la base ó disminuir la salida del líquido. Si el flujo demora más de 12 minutos, debera quitarse cobre en la base de la columna.
- 7.- Se agrega algodón de cobre al extremo superior de la columna.
- 8.- Antes de la calibración y reducción de las muestras, las columnas deberán activarse pasando a través de élla 1 litro de agua que contiene aproximadamente una concentración de 20 $\mu\text{g-at/L}$ de nitritos.
- 9.- Cuando no se usan las columnas ellas deberán dejarse en solución diluida de cloruro de amonio en cantidades suficientes que cubra el metal.
- 10.- Las columnas deberán ser regeneradas cuando su eficiencia es reducida, en la siguiente forma: Se vaca el contenido de

las columnas en un vaso y se lava con una solución diluida de ácido nítrico 1 % v/v , luego con una solución de HCl al 1 %, y finalmente se lava con abundante agua destilada. Enseguida se seca a 60°C aproximadamente. Luego se procede en la forma descrita anteriormente para la preparación de las columnas.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se toma 100 ml. de agua de mar y se vaca a un erlenmeyer, luego se agrega 2.0 ml. de la solución concentrada de cloruro de amonio.
- 2.- Se vaca la muestra en la columna reductora.
- 3.- En el erlenmeyer se reciben los primeros 40 ml. de la muestra los cuales son desechados dejando tan seco como sea posible el erlenmeyer.
- 4.- En el mismo erlenmeyer se colectan los subsiguientes 50 ml. de muestra.
- 5.- Tan pronto como sea posible se le añade 1.0 ml. del reactivo sulfanilamida y se mezcla bien. Luego se deja por espacio de 2 a 8 minutos.
- 6.- Se añade 1.0 ml. de N-(1-Naftil) etilendiamina y se agita.
- 7.- Se espera 10 minutos para que la solución logre su máxima intensidad de color, el cual es estable por lo menos 2 horas.
- 8.- Se mide la extinción de la muestra a una longitud de onda de 543 μ , usando un espectrofotómetro y celda de 1.0 cm. Si la extinción es más grande que 1.25 (ca. 30 μ g-at N/L), se mide en celda de 0.5 cm. ó se toma 25.0 ml. de la solución con una pipeta volu

métrica y se vacía a un erlenmeyer y luego se le añade 25.0 ml. de agua destilada. Se mezcla bien y se mide su extinción, doblando este valor en la fórmula que ha de emplearse más abajo. Si la extinción es menor que 0.1 con celda de 1.0 cm. se debe repetir la lectura usando celda de 10.0 cm. Para extinción de 0.1 a 0.2 con celda de 1.0 cm. es conveniente usar celda de 5.0 cm.

9.- Se corrige la extinción medida por sustracción del reactivo en blanco (usando celda de 1.0, 5.0 ó 10.0 cm, respectivamente).

5.- DETERMINACION DEL BLANCO

6.1. Celda a celda en blanco

Cuando ambas celdas de la muestra y celda de agua destilada son llenadas con agua destilada, la extinción de las dos celdas debe ser 0.000 debido a ligeros defectos ópticos se puede hallar valores pero ligeramente positivo ó negativo. Esto es permitido cuando la turbidez en blanco es sustraída, pero el valor deberá ser hallado cuando se determina el reactivo en blanco. El agua en la celda de agua destilada deberá ser cambiada todos los días, ya que puede resultar una marcada turbidez si el agua destilada permanece en la celda por un largo tiempo.

6.2. Reactivo en blanco

El reactivo en blanco cuando se usa celda de 1.0 cm. Es casi insignificante pero deberá ser chequeado ocasionalmente, en cambio cuando se usa celda de 10.0 cm. es muy importante.

Se lleva a cabo como en el método descrito, usando 100 ml. de agua destilada libre de nitratos (Si el agua destilada contiene nitratos será necesario redestilarla, agregándole un poquito de permanganato alcalino) en lugar de agua de mar. Se corrige la extinción resultante por la celda a celda en blanco

y no deberá exceder de 0.1, usando celda de 10.0 cm.

6.3. Turbidez en blanco

Si la concentración de nitratos es baja y se usa celda de 10.0 cm. la turbidez en blanco será determinada y si su extinción es apreciable, las muestras deberán ser filtradas antes del análisis.

7.- CALIBRACION

7.1. Agua de Mar Sintética

Se disuelve 310 gr. de cloruro de sodio (ClNa), 100 gr. de sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) y 0.50 gr. de bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) en 10 litros de agua destilada. Todos los reactivos deberán ser químicamente puros.

7.2. Solución Standard I

Se disuelve 1.02 gr. de Nitrato de Potasio, Q.P. en 1000 ml. de agua destilada, usando una fiola graduada. La solución es estable indefinidamente en la ausencia de la evaporación.

1 ml. = 10.0 μ g-at Nitrógeno

7.3. Solución Standard II

Se diluye 2.0 ml. de la solución de Nitrato Standard I a 1,000 ml. con agua de Mar Sintética. Esta solución deberá ser guardada en botella oscura y será preparada inmediatamente antes de su uso.

concentración = 20 μ g-at N/L

7.4. Procedimiento

Se toma 100 ml. de la solución standard II de Nitrato y se vacía a un erlenmeyer de 125 ml. y se procede como se ha indica-

do, anteriormente. Luego se mide la extinción de la muestra usando celda de 10 cm.

El factor para cada columna inicialmente debe ser determinado del promedio de la extinción de 3 standard y corregida por la extinción del reactivo en blanco. Subsiguientemente cada columna será chequeada diariamente con un standard.

El factor F es calculado de la expresión:

$$F = \frac{20.0}{E_s - E_b}$$

donde E_s = La extinción media de los 3 standards para cada columna y

E_b = La extinción media de los 2 blancos.

8.- CALCULOS

La concentración de los nitratos en las muestras es calculada como sigue:

$$\mu\text{g-at N/L} = E_c \times \frac{F}{L} - C$$

donde F = es el factor obtenido en 7.4

L = longitud de celda

E_c = Extinción corregida, obtenida en 5

C = concentración de nitritos en la muestra.

NOTAS

- El uso continuo de las limaduras de amalgama de cadmio puede ocasionar una progresiva desactivación del reductor, debido posiblemente a la formación de una capa de hidróxido de cadmio o carbonato.

La presencia de un poquito de cloruro de amonio bafera el agua de mar haciéndola algo ácida, el cual no desactiva las columnas.

- El volumen del flujo a través de la columna para su lavado no de

be ser menor de 40 ml.

- Por el método descrito alrededor del 93 % del Nitrato es reducido a Nitrito. Los cambios de temperatura no tienen efecto entre 10° y 35°C.
- No es necesario lavar las columnas entre muestras, pero si permanece sin uso por varias horas será necesario lavarlas con 50 ml. de solución diluída de cloruro de amonio antes de su rehuso.
- Cantidades superiores a 2mg S²/L se ha dicho que no interfiere en el método descrito, sin embargo repetidos análisis pueden deactivar las columnas debido a la formación de sulfuro de cadmio.

DETERMINACION DEL NITRITO REACTIVO

En el ciclo de nitrógeno en el agua de mar, el estudio de los nitritos es muy útil porque ocupa una posición intermedia entre el amoníaco y nitrato. Como los estados de oxidación del nitrógeno se encuentran en equilibrio, la concentración de los nitritos puede servir como un indicador de la inestabilidad del sistema.

La concentración de los nitritos en el agua de mar varía generalmente desde 0.00 - 4.0 $\mu\text{g-at/L}$ como nitrito-nitrógeno.

En áreas biológicamente productivas han sido observadas concentraciones de nitritos mayores que 9.0 $\mu\text{g-at/L}$.

Los métodos para la determinación de los nitritos en el agua de mar dependen de la diazotación de un compuesto amino, seguido por una reacción de copulación para dar un tinte azo. Los más usados son el ácido sulfanílico y el alfa-naftilamina; para sensibilidades extremas puede usarse el sulfanilamida y N-(1-Naftil) etilendiamina biclorhidrato. La discrepancia en los resultados de los métodos se debe a las variaciones en los reactivos y en el procedimiento.

ROBINSON y THOMPSON (1948), describen un método el cual se basa en la diazotación del ácido sulfanílico y copulación con alfa-naftilamina para dar un color rosado, cuya intensidad es proporcional a la concentración de los nitritos. Este método ha mostrado ser algo lento y aspecto fotométricamente los resultados no son tan consistentes como sería deseado. MATIDA (1948), prefirió usar un reactivo sólido, el cual es considerado más simple, más conveniente y más estable (se muele 1 gr. alfa-naftilamina, 10 gr. ácido sulfanílico y 89 gr. ácido tartárico juntos en un mortero. Para 50 ml., de muestra de agua de mar se agrega 0.3 gr. del reactivo).

Varias técnicas han sido comparadas por BARNES y FOLKARD (1951) y el mé

todo más usado es el de BENDSCHNEIDER y ROBINSON (1952) quienes aplicaron el método de SHIN (1941) al agua de mar.

El método descrito a continuación es el de BENDSCHNEIDER y ROBINSON (1952):

1.- FUNDAMENTO

Por este método el nitrito del agua de mar se hace reaccionar con un amina aromática, sulfanilamida en solución ácida. El compuesto diazo resultante se hace reaccionar con N-(1-Naftil) etilendiamina y forma un tinte azo altamente coloreado, cuya intensidad es proporcional a la concentración de nitritos presente. Luego se mide la extinción de la muestra a una longitud de onda de 543 μ , usando un espectrofotómetro y celda de 10 cm.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Botellas de 100 ml.
- 2.- Erlenmeyer de 125 ml.
- 3.- Probetas de 50 ml.
- 4.- Pipetas automáticas de 1.0 ml.
- 5.- Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

La probeta de 50 ml. y el erlenmeyer de 125 ml. usados para la determinación deben ser lavados dos veces con la muestra y luego se toman 50 ml. de muestra en el erlenmeyer. Las muestras son estables en luz tenue por muchas horas a temperatura del laboratorio, pero los análisis no deberán ser demorados más de 5 a 10 horas. Las muestras deberán ser congeladas si se piensa guardarlas por un tiempo, pero no es recomendable un guardado prolongado. Para trabajos de alta precisión en áreas cercanas a la costa se separa una muestra de 30ml.

de muestra para la medida de la turbidez.

4.- REACTIVOS

4.1. Sulfanilamida

Se pesa 5 gr. de sulfanilamida y se disuelve en una mezcla de 50 ml. de HCl concentrado y 300 ml. aproximadamente de agua destilada. Luego se completa a 500 ml. con agua destilada. La solución es estable por muchos meses.

4.2. N-(1-Naftil) etilendiamina

Se pesa 0.5 gr. del compuesto $C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$ y se disuelve en 500 ml. de agua destilada libre de nitritos. La solución será guardada en una botella ambar y renovada cuando apa - rezca un color pardo fuerte.

5.- PROCEDIMIENTO

Las muestras deberán ser tratadas con los reactivos tan pronto como sea posible.

- 1.- Se toma 50 ml. de muestra de agua de mar y se vacía a un erlenme yer de 125 ml.
- 2.- Se agrega 1.0 ml. del reactivo sulfanilamida y se mezcla bien. Luego se deja por espacio de 2 a 8 minutos.
- 3.- Se añade 1.0 ml. de N-(1-Naftil) etilendiamina y se agita.
- 4.- Se espera 10 minutos para que la solución logre su máxima inten - sidad de color, el cual es estable por lo menos 2 horas.
- 5.- Se mide la extinción de la muestra a una longitud de onda de 543 mu, usando un espectrofotómetro y celda de 10 cm.

6.- Se corrige la extinción medida por substracción de la turbidez y el reactivo en blanco.

6.- DETERMINACION DEL BLANCO

6.1. Celda a celda en blanco

Cuando ambas celdas de la muestra y celda de agua destilada son llenadas con agua destilada, la extinción de las dos celdas debe ser 0.000 debido a ligeros defectos ópticos se puede hallar valores pero ligeramente positivo o negativo. Esto es permitido cuando la turbidez en blanco es sustraída, pero el valor deberá ser hallado cuando se determina el reactivo en blanco. El agua en la celda de agua destilada deberá ser cambiada todos los días, ya que puede resultar una marcada turbidez si el agua destilada permanece en la celda por un largo tiempo.

6.2. Reactivo en blanco

Se lleva a cabo como en el método descrito, usando agua destilada libre de nitritos en lugar de agua de mar. Se corrige la extinción resultante por la de celda a celda en blanco. El reactivo en blanco no deberá exceder de 0.03. El origen de este blanco es oscuro y parece producirse cuando ambos reactivos son mezclados, cambiando algo de día a día. Deberá ser determinado para cada grupo de muestras, por duplicado.

6.3. Turbidez en blanco

La turbidez de las aguas cercanas a la costa puede llegar a tener una apreciable fracción de la extinción total, la cual raramente excede de 0.3 en determinaciones de nitritos. La turbidez en blanco será determinada en muestras de superficie y a 10 m. de profundidad en cada lanzamiento. Luego se mide progresivamente a más grandes profundidades hasta que el valor llegue a ser apreciablemente constante. Este valor (generalmente menor que 0.01 debajo de 25 m. en aguas lejos de la costa) es aproxi-

madamente igual al de celda a celda en blanco y puede ser ligeramente negativo.

La turbidez en blanco será medida, tomando 30 ml. de muestra de agua de mar, a la cual se le agrega 1.0 ml. del reactivo de sulfanilamida.

7.- CALIBRACION

7.1. Preparación de soluciones standards

7.1.1. Solución standard I

Se pesa 0.345 gr. de nitrito de sodio, secado previamente a 110°C, se disuelve en agua destilada libre de nitritos y se completa a 1 litro en una fiola graduada. Se agrega 1 ml. de cloroformo como preservativo, el cual asegura una estabilidad de por lo menos de uno a dos meses.

La solución deberá ser guardada en una botella oscura

Esta solución contiene:

$$1 \text{ ml.} = 5 \text{ ug-at N}$$

7.1.2. Solución standard II

Se mide 10.0 ml. de la solución standard I y se disuelve en agua destilada libre de nitritos y luego se completa a 1,000 ml. en una fiola graduada.

$$1.0 \text{ ml.} = 5 \times 10^{-2} \text{ ug-at N}$$

$$1.0 \text{ ml.} = 1.0 \text{ ug-at N/L en 50 ml. de muestra de agua de mar.}$$

7.2. Procedimiento

Se prepara 4 standards, midiendo 2.0 ml. de la solución standard de nitrito II y completando su volumen a 50 ml. con agua

destilada; haciéndose además 2 blancos, con 50 ml. de agua des
tilada cada uno. Luego se procede como se ha indicado anterior
mente.

El factor F es calculado de la expresión:

$$F = \frac{2.00}{E_s - E_b}$$

donde E_s = La extinción media de los 4 standards.
 E_b = La extinción media de los 2 blancos
(no corregido por celda a celda en
blanco).

8.- CALCULOS

La concentración de los nitritos en las muestras es calculada como
sigue:

$$\mu\text{g-at NO}_2\text{-N/L} = E_c \times F$$

donde F = Es el factor obtenido en 7.2

E_c = Extinción corregida, obtenida en 5.

NOTAS

- Este método no es afectado apreciablemente por la salinidad, ni por pequeños cambios en la concentración de los reactivos, en el volumen y por la temperatura. Sin embargo se recomienda mantener la temperatura en el rango de 15° a 25°C. No es necesario medir exactamente 50 ml. de muestra, pero si debe estar entre 45 ml. y 55 ml.
- La reacción de diazotación requiere 2 minutos. No debe dejarse por más de 8 minutos.
- Para el desarrollo completo del color es necesario 10 minutos. El color permanece constante por lo menos dos horas.

DETERMINACION DE AMONIACO

El amonio es la primera fase de la mineralización de una sustancia orgánica y se halla en el agua de mar como producto de la actividad vital de los organismos y de la descomposición de los organismos muertos.

Los primeros métodos fueron desarrollados por WIRTH y ROBINSON (1933) y WATTEMBERG (1929), los cuales fueron criticados y mejorados por KRUSE y MELLON (1953). Posteriormente este método fue aplicado al agua de mar por STRICKLAND y AUSTIN (1959).

Existen muchos métodos para la determinación de amonio en el agua de mar, tales como los descritos por: RILEY (1953), STRICKLAND y AUSTIN (1959), KOROLEFF (1960), GILLBRICHT (1961), NEWELL y DAL PONT (1964); ROSKAM y de LANZEN (1964), SAGI (1966), STRICKLAND y PARSONS (1968).

El método de PROCHAZKOVA (1964) para la determinación de amonio como ácido rubazoico ha sido modificado por JOHNSTON (1966).

La técnica descrita a continuación es la desarrollada STRICKLAND y PARSON (1968) quienes han hecho una modificación más sensitiva del método hipoclorito-fenol usado por muchos investigadores.

1.- FUNDAMENTO

La muestra de agua de mar se hace reaccionar en un medio de citrato alcalino con hipoclorito de sodio y fenol, en presencia del nitroprusiato de sodio, el cual actúa como catalizador. El color desarrollado de azul indo-fenol con amonio es medido a 6400Å°, usando celda de 10 cm.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

- 1.- Frascos erlenmeyer de 125 ml.
- 2.- Probeta de 50 ml.
- 3.- Pipetas automáticas de 2.0 y 5.0 ml.
- 4.- Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Las muestras de agua de mar pueden guardarse temporalmente antes del análisis en botellas de vidrio o de polietileno, por un período no mayor de 1 a 2 horas. Si las muestras van a ser analizadas posteriormente estas deberán ser congeladas a -20°C . No es recomendable guardar las muestras.

4.- REACTIVOS

4.1. Agua deionizada

Debe usarse agua deionizada para hacer las soluciones, blancos y standards.

El amonio es removido del agua destilada haciéndola pasar esta a través de una pequeña columna de intercambiadores de resina de cationes en la forma de hidrógeno, justamente antes de ser usado, y deberá guardarse el agua en un frasco de vidrio bien tapado.

4.2. Solución de fenol

Se pesa 20 gr. de fenol Q.P. y se disuelve en 200 ml. de alcohol etílico al 95 % v/v.

4.3. Solución de Nitroprusiato de Sodio

Se pesa 1.0 gr. de nitroprusiato de sodio $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5 \cdot \text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y se disuelve en 200 ml. de agua deionizada, luego se guarda en una botella ambar. La solución es estable por lo menos un mes.

4.4. Reactivo alcalino

Se pesan 100 gr. de citrato de sodio y 5.0 gr. de hidróxido de sodio y se disuelven en 500 ml. de agua deionizada. Esta solución es estable indefinidamente.

4.5. Solución de hipoclorito de sodio

Se usa una solución de hipoclorito comercial (Chlorox) el cual es aproximadamente 1.5 N. Esta solución deberá ser chequeada periódicamente, debido a que se descompone lentamente. Para ello se pesa 12.5 gr. de tiosulfato de sodio Q.P. ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y se disuelve en 500 ml. de agua. Se agrega unos cuantos cristales (aproximadamente 2 gr.) de yoduro de potasio (IK) a 50 ml. de agua, aproximadamente y se vacía a un frasco pequeño, enseguida se le agrega 1.0 ml. de la solución de hipoclorito.

Se agrega 5-10 gotas de HCL concentrado y se titula el yodo liberado con una solución de tiosulfato. Debiéndose descartar el hipoclorito cuando se consuma menos de 12 ml. de tiosulfato.

4.6. Solución oxidante

Se mezcla 100 ml. de reactivo alcalino y 25 ml. de la solución hipoclorito de sodio. Esta solución debe prepararse cada día y debe guardarse bien tapada.

4.7. Solución de Bromuro de Potasio

Se pesa 1.5 gr. de bromuro de potasio Q.P. y se disuelve en 250 ml. de agua deionizada.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se toma con una probeta 50 ml. de muestra y se vacía a un erlenmeyer de 125 ml.
- 2.- Se agrega 2 ml. de la solución fenol y se agita.

- 3.- Se añade 2 ml. de la solución de nitroprusiato de sodio y se agita.
- 4.- Se agrega 5 ml. de la solución oxidante, se agita y se deja por espacio de 1 hora a temperaturas entre 20° y 27°C, tapandose los erlenmeyer con papel de aluminio, para evitar la contaminación del amonio contenido en la atmósfera.
- 5.- Se mide la extinción de la muestra a 6400 Å usando espectrofotómetro y celda de 10 cm., contra agua destilada.
- 6.- Se corrige la extinción medida por el reactivo en blanco.

6.- DETERMINACION DEL BLANCO

Reactivo en blanco

Se lleva a cabo en la misma forma como se ha descrito anteriormente usando agua deionizada fresca en lugar de agua de mar.

Las extinciones del blanco, usando celda de 10 cm. no deben exceder de 0.075.

7.- CALIBRACION

7.1. Solución standard de amonio I

Se pesa 0.100 gr. de sulfato de amonio Q.P. y se disuelve en agua destilada, completando luego su volumen a 1000 ml., enseguida se le agrega 1 ml. de cloroformo y se guarda la solución bien tapada y protegida de la luz. La solución es estable por muchos meses.

Esta solución contiene:

1 ml. = 1.5 µg-at N

7.2. Solución standard de amonio II

Se toma 1.0 ml. de la solución standard de amonio I y se vacía a una fiola de 500 ml., luego se agrega 10.0 ml. de solución de bromuro de potasio y se completa a 500 ml. con agua deionizada. La concentración del amonio es equivalente a 3.0 µg-at N/L.

7.3. Procedimiento

Se preparan 4 standards, midiendo 50 ml. de la solución standard de amonio II y 2 blancos usando agua deionizada en lugar de solución de amonio. Luego se procede como se ha descrito anteriormente y se calcula el factor F de la expresión:

$$F = \frac{3.00}{E_s - E_b}$$

donde E_s = Extinción media de los 4 standards y
 E_b = Extinción media de los 2 blancos.

8.- CALCULOS

La concentración de amonio en las muestras es calculada como sigue:

$$\mu\text{g-at N/L} = E_c \times F$$

donde E_c = Extinción corregida, obtenida en 5 y
F = Factor obtenido en 7.3

NOTAS

- El nitroprusiato de sodio en concentraciones de 0.5 % es suficiente para catalizar la reacción y producir un blanco estable y bajo.
- La fuerza y la cantidad del hipoclorito de sodio tiene un marcado efecto en la reacción en el agua de mar.
- Para su reacción completa se requiere de 60 minutos, luego el color producido es estable por lo menos 24 horas.
- Los aminoácidos y la úrea en concentraciones de 3.0 µg-at N/L en agua de mar filtrada.
- El pH usado en la presente técnica es de 9.8 para el agua de mar y

10.4 para el agua destilada, donde el color azul formado es igual tanto en la muestra como en los blancos.

TECNICA DE FIJACION DE ^{14}C

La técnica del ^{14}C es un método muy sensitivo y exacto. Una descripción de esta técnica ha sido dada por: NIELSEN (1952), DOTY (1955); DOTY y OGURI (1958); KING et al (1957); JITTS (1957); NIELSEN y JENSEN (1957) y otros investigadores. STRICKLAND (1960) ha discutido en detalle esta técnica.

Varios comentarios al método de NIELSEN (1952) han sido hechos por : NIELSEN (1955a); NIELSEN y ALKHOLY (1956); RILEY (1953); RYTHER (1954, 1956a y b); RYTHER y VACCARO (1954); VACCARO y RYTHER (1954); GUILLARD et al (1955); MIYAKE (1954); YENTSCH y RYTHER (1957); SOROKIN (1956 y 1959). Una modificación al método fue introducida por BERGE (1958).

Este método mide la cantidad de carbono formado nuevamente por el fitoplancton en 1 m^3 ó debajo de 1 m^2 de superficie por unidad de tiempo.

1.- FUNDAMENTO

Una conocida cantidad de carbonato radioactivo ($^{14}\text{CO}_3$) es agregado a la muestra de agua de mar cuyo contenido de carbonato total es conocido. Después de un período de tiempo en la cual se ha realizado la fotosíntesis, durante la cual la población fitoplanctónica ha incrementado, se filtra la muestra en un filtro de membrana, se lava, se seca y luego se mide su radioactividad con un contador Geiger adecuado. Esta fijación del carbonato radioactivo se asume como una medida de la fijación del carbonato total como una fracción del todo y de aquí la tasa de fotosíntesis quede calculada.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

1. Botellas claras de 250 ml.
2. Botellas oscuras de 250 ml.
3. Equipo de filtración.
4. Filtro de membrana Millipore HA.
5. Pinza
6. Desecador.
7. Hipodermica plástica de 2 ml.
8. Incubador.
9. Contador Geiger.
10. Cajas de cartón cilíndricas con una o dos perforaciones en la tapa para guardar los filtros y las planchetas de cobre.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

La colección de muestras debe hacerse con botellas plásticas o de vidrio. Se recomienda las botellas Van Dorn. Las muestras deberán ser transferidas a botellas de polietileno y podrán ser guardadas a la temperatura del mar por un período no mayor de 2 horas. Se toma para cada nivel de muestreo 3 muestras: dos en botellas claras y una en botella negra.

4.- REACTIVOS

4.1. Agua de mar filtrada:

El agua de mar es filtrada usando filtro Millipore HA.

4.2. Solución de lavado ácido nítrico:

Se prepara aproximadamente una solución al 30 % $\frac{V}{V}$ de ácido nítrico concentrado y se agrega 1 g de urea a cada litro.

4.3. Solución neutral de formaldeido:

Se toma una solución de formaldeido al 40 % de buena calidad, se decanta y se guarda la solución en una botella oscura de vidrio bien tapada a la cual se le ha agregado unas cuantas bolitas de carbonato de calcio.

4.4. Ampollas de 14C:

Se usan ampollas que contienen un ml. de solución con una concentración de 4 uc. Estas ampollas son obtenidas de Dinamarca.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se toman para cada nivel de muestreo 3 muestras: 2 en botellas claras y 1 en botella oscura, dejando un espacio de 2 a 3 ml. en cada una.
- 2.- Se agrega lentamente el contenido de una ampolla de 14C de 1 ml. con la ayuda de una jeringa hipodérmica en el fondo de cada botella, luego se enjuaga la jeringa con un ml. de la muestra tomada cerca del cuello de la botella y se regresa a la ampolla y nuevamente se vierte a la botella de muestra. Si es necesario se completa su volumen con agua de mar filtrada, se tapa fuertemente y se agita suavemente. Luego se guarda protegida de la luz.
- 3.- Cuando todas las muestras han sido inoculadas con 14C, estas se colocan en el incubador, en sus respectivos lugares correspondientes al porcentaje de penetración de luz, por período de 6 horas aproximadamente.
- 4.- Al final del experimento, se agrega a cada botella 1 ml. de solución neutral de formaldeido con la ayuda de una jeringa

hipodérmica.

- 5.- Se filtra el contenido de las muestras, usando filtro de membrana Millipore HA 25 mm. blanco plano. Se enjuaga la botella 2 veces con porciones de 10 ml. aproximadamente de agua de mar filtrada y finalmente se lava el embudo y filtro de membrana con dos o tres porciones de 5 ml. aproximadamente de agua de mar filtrada.
- 6.- Se seca el filtro mediante succión y se transfiere luego con la ayuda de una pinza a las cajas de cartón y se numera. En seguida se guarda en un desecador.
- 7.- Se mide la radioactividad de la muestra colocando el filtro correspondiente y la plancheta en un contador Geiger.

6.- CALCULOS

La fotosíntesis en las muestras es calculada de la siguiente expresión:

$$\text{mg C/m}^3/\text{H} = \frac{\text{CPM} \times \text{W} \times 1.05}{\text{CPM}_i \times \text{N}}$$

donde :

- CPM = Recuento neto del filtro
- CPM_i = Total del recuento del elemento introducido dentro de la muestra.
- W = Contenido de carbon-carbonato presente en el agua en mg C/m³.
- 1.05 = Factor de corrección por discriminación y respiración.
- N = Número de horas durante la cual las muestras han sido expuestas a la luz.

DETERMINACION DE CLOROFILA "A" Y FEO-PIGMENTOS

La determinación de la materia viva de las plantas en una partícula de materia orgánica de agua de mar, puede ser hecha mediante los análisis de clorofilas, carotenos y xantofilas.

Los productos de degradación de la clorofila pueden algunas veces constituir una fracción significativa del total de pigmentos verdes. En las determinaciones espectrofotométricas de las clorofilas interfiere la clorofila inactiva, debido a su absorción de la luz en la misma región del espectro.

En las muestras de áreas que contienen gran concentración de zooplankton, sedimentos, etc., generalmente contiene feo-pigmentos.

Métodos para la determinación de las clorofilas han sido desarrollados por RICHARD y THOMPSON (1952) y mejorados por GREITZ y RICHARDS (1955). Posteriormente PARSON y STRICKLAND (1963) y el grupo de trabajo sobre pigmentos fotosintéticos de la SCOR/UNESCO (1966) han revisado los métodos sobre clorofilas y han introducido modificaciones. YENTSCH y MENZEL (1963) han introducido mejoras en el método incluyendo el uso del pulverizador.

Métodos para la determinación de los feo-pigmentos han sido descritos por MOSS (1967) y LORENZEN (1967).

Determinaciones fluorométricas de la clorofila "a" han sido descritos por YENTSCH y MENZEL (1963) y HOLM-HANSEN et al (1965). La determinación de los feo-pigmentos usando fluorómetro han sido desarrollados por HOLM-HANSEN et al (1965).

El método descrito a continuación es el de LORENZEN (1967) el cual mide la cantidad total de clorofila "a" y feo-pigmentos.

1.- FUNDAMENTO

La muestra de agua de mar es filtrada usando filtros de papel de vidrio, luego los pigmentos son extraídos con acetona al 90 % y medida su extinción a 6650Å antes y después de la adición del ácido diluido.

2.- EQUIPO Y APARATOS ESPECIALES

Son necesarios:

1. Frascos de 500 ml. de polietileno.
2. Equipo de filtración.
3. Filtro de papel de vidrio.
4. Centrífuga.
5. Tubos graduados para centrífuga de 15 ml.
6. Pinza.
7. Pipeta automática de 1.0 ml.
8. Equipo de agitación.
9. Tubo homogenizador de vidrio.
10. Espectrofotómetro.

3.- TOMA DE MUESTRA Y SU ALMACENAMIENTO

Las muestras de agua de mar son tomadas en frascos de polietileno y filtrados lo más pronto posible. Los filtros deberán ser guardados en la oscuridad sobre sílica gel a 1°C ó menos por un período de 2 meses, pero se recomienda que su determinación se haga a la brevedad posible.

4.- REACTIVOS

4.1. Acetona al 90 %

Deberá usarse acetona redestilada para la preparación de acetona al 90 % y guardada en una pisceta de polietileno, la cual

se mantendrá casi llena. Si se tiene acetona de muy buena ca lidad podrá usarse, agregándole unos cuantos gránulos de carbonato de sodio anhidro, agitarlo fuertemente y luego decan - tándolo directamente para su uso.

4.2. Carbonato de Magnesio en suspensión:

Se pesa 1 g de carbonato de magnesia en polvo y se disuelve en 100 ml. de agua destilada. Esta solución deberá agitarse fuertemente antes de usarse.

4.3. Acido clorhídrico:

Se toma 50 ml. de ácido clorhídrico concentrado y se diluye a 100 ml. con agua destilada.

5.- PROCEDIMIENTO

- 1.- Se filtra 500 ml. de muestra de agua de mar usando filtro de papel de vidrio Whatman G F/C, agregándole 1 ml. de carbonato de magnesia en suspensión a los últimos cien mililitros de muestra.
- 2.- Se seca el filtro, mediante succión, luego con la ayuda de una pinza se dobla el filtro y se coloca en un tubo de vidrio, tipo homogenizador y se agrega 3 ml. de acetona al 90 %.
- 3.- Se desintegra el papel de filtro mediante el agitador por espacio de 1 minuto a 500 rpm., luego se transfiere su contenido a un tubo de centrifuga, se lava 3 veces con acetona y se continúa agregando su contenido al tubo de la centrifuga hasta completar su volumen a 10 ml.
- 4.- Se guarda en la oscuridad a la temperatura del ambiente por es

pacio de 10 minutos.

- 5.- Se centrifuga la muestra por espacio de 10 minutos a 4000 - 5000 rpm.
- 6.- Se decanta el líquido claro supernadante en celda de 10.0 ó 5.0 cm. Si la concentración es baja, y en celda de 1.0 cm. si la concentración es alta.
- 7.- Se mide la extinción de la muestra a 6650 y 7500A°; se agrega 2 gotas del ácido clorhídrico diluido a la cubeta y se mezcla, y se mide nuevamente la extinción a 6650 y 7500A°.

6.- CALCULOS

La concentración de clorófila "a" en las muestras es calculada de la siguiente expresión:

$$\begin{array}{l} \text{Clorófila "a"} \\ (\text{mg/m}^3) \end{array} = \frac{26.7 (665_0 - 665_a) \times v}{V \times l}$$

$$\begin{array}{l} \text{Feo-pigmentos} \\ (\text{mg/m}^3) \end{array} = \frac{26.7 (1.7 [665_a] - 665_0) \times v}{V \times l}$$