



INIDEP

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PESQUERO

INFORME DE INVESTIGACIÓN

Número

1 2 9

Páginas

1 11

Fecha de aprobación

0 4 DIC 2018

Dirección

DIRECCIÓN DE PESQUERIAS DE INVERTEBRADOS, PECES
PELAGICOS Y AMBIENTE MARINO

Programa / Gabinete

Medio Ambiente - Dinámica del Plancton Marino y Cambio Climático

Actividad

DPC 6.- Estudio de la variación anual de las características bio-ópticas del material particulado y disuelto (EPEA).

EFFECTO DEL TIPO DE FILTRO Y DEL TIPO DE AGUA DE REFERENCIA SOBRE LA DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN ESPECTRAL DEL MATERIAL ORGÁNICO CROMOFÓRICO DISUELTO (CDOM)

El material orgánico cromofórico disuelto (CDOM) es uno de los componentes ópticamente activos (COA) que absorbe luz en el agua de mar. El tipo de moléculas que componen al CDOM no son a menudo determinadas, por lo que al CDOM se lo caracteriza en base a sus propiedades ópticas, precisamente, por su coeficiente de absorción espectral. No obstante, en la bibliografía se observan grandes diferencias en el protocolo de determinación espectrofotométrica de la absorción de luz por el CDOM mediante el método de laboratorio tradicional. En vista de ello, se analizaron algunos de los factores empíricos que afectan a la medición del coeficiente de absorción espectral del CDOM ($a_{CDOM}(\lambda)$, $[m^{-1}]$) por espectrofotometría: tipo de agua de referencia, tipo de filtro y complejidad óptica de la muestra de agua. Se observaron leves diferencias en el espectro de absorción del agua pura utilizada como referencia proveniente de distintos equipos de purificación. No se encontraron diferencias en los espectros del CDOM obtenidos por filtración a través de filtros de membrana con tamaño de poro de 0,2 μm o filtros de fibra de vidrio (GFF) con tamaño de poro de 0,7 μm para aguas con alto (Caso II) o bajo (Caso I) contenido CDOM. Se discute cómo es posible obtener los mismos espectros de absorción a partir de muestras filtradas con distintos tamaños de poro y se propone un método para eliminar la potencial variabilidad introducida por el agua pura de referencia.

Citar Indicando la fuente. El contenido no debe ser reproducido total o parcialmente sin la expresa conformidad del INIDEP

SOLICITADO POR

Institución

Cargo

PREPARADO POR

Firma:

RUIZ, MARIA
Nombre: GUILLERMINA

Firma:

Nombre: LUTZ, VIVIAN ALICIA

APROBADO POR

Jefe de Programa / Gabinete

Dr. MARCELO BAJARO
A/C DIRECCION
Pesquerias de Invertebrados,
Peces Pelágicos y Ambiente Marino
Director de área

Director Nacional de Investigación

Dr. OTTO C. WOHLER
DIRECTOR
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION
Y DESARROLLO PESQUERO
INIDEP
Director del INIDEP

EFFECTO DEL TIPO DE FILTRO Y DEL TIPO DE AGUA DE REFERENCIA SOBRE LA DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN ESPECTRAL DEL MATERIAL ORGÁNICO CROMOFÓRICO DISUELTO (CDOM)

Ruiz, M. Guillermina y Lutz, Vivian

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP)

INTRODUCCIÓN

El material orgánico cromofórico disuelto (CDOM) es uno de los componentes ópticos del agua de mar que más absorbe luz solar, reduciendo la radiación fotosintéticamente disponible para el crecimiento del fitoplancton (Højerslev, 1980, Mei *et al.*, 2010). En las zonas costeras, la descarga de productos de degradación terrestre en aguas ribereñas y estuarinas aportan importantes cantidades de materia al *pool* del del CDOM (Hernes y Benner, 2003). Sin embargo, en el océano abierto, la fuente principal del CDOM es la producción microbiana *in situ* (Nelson *et al.*, 2010). En la capa superior del océano se produce principalmente a partir de materiales en descomposición de origen marino (por ejemplo, plancton muerto) (Nelson *et al.*, 1998), mientras que en el océano profundo, el procesamiento microbiano del material orgánico disuelto (DOM) desempeña un papel importante (Catalá *et al.*, 2015, Romera-Castillo *et al.*, 2010, Jørgensen *et al.*, 2014).

Actualmente se observa una amplia disparidad en los métodos de laboratorio utilizados para determinar el $a_{cdom}(\lambda)$ (Andrew *et al.*, 2013, Clark *et al.*, 2008, D'Sa *et al.*, 2006, Lutz *et al.*, 2006). Esta no es una cuestión trivial ya que la absorción del CDOM es definida operativamente por el filtrado que pasa a través de un filtro de tamaño de poro pequeño y absorbe luz en el visible y el ultravioleta (Blough y Del Vecchio, 2002). El método más comúnmente empleado para medir $a_{cdom}(\lambda)$ implica la lectura de espectros de absorción en un espectrofotómetro de doble haz con una celda de cuarzo de 10 cm de camino óptico contra una referencia de agua pura. En la literatura pueden observarse fácilmente disparidades sobre la prefiltración, el tipo de sistema de filtración, el tamaño del poro del filtro, el tipo de agua ultrapura, el uso de un "blanco real" (agua pura tratada como muestra) o el intervalo de tiempo entre la adquisición de la muestra, la filtración y el escaneo en el espectrofotómetro. Por ejemplo, varios sistemas que producen agua ultrapura están disponibles en el mercado, aunque no todos son de la misma calidad. Esto introduce variabilidad a escala global ya que cada laboratorio resta un espectro de agua "ultrapura" diferente. Además, algunos autores usan filtros de membrana de 0,2 μm mientras que otros usan filtros de fibra de vidrio de 0,7 μm en experimentos de cierre (*closure*) de las propiedades ópticas, reconociendo que la contribución a la absorción de la fracción del CDOM comprendida entre 0,2 y 0,7 μm podría perderse (Pope *et al.*, 2000).

La mayoría de los espectrofotómetros de doble haz configurados con una celda de 10 cm tienen un límite de detección a una densidad óptica de 0,005 (equivalente a

0,155 m⁻¹ de coeficiente de absorción). Por lo tanto, los valores por debajo de este umbral, que pueden ser usualmente encontrados en aguas oligotróficas con bajo CDOM, no pueden ser determinados con exactitud. De acuerdo con la ley de Lambert-Beer, la absorción aumenta con el aumento del camino óptico para una solución dada. Si bien se han desarrollado instrumentos más sensibles con caminos ópticos más largos como los sistemas "liquidwaveguide" (D'Sa *et al.*, 1999, Miller *et al.*, 2002) o el PSICAM (Röttgers y Doerffer, 2007), estos instrumentos todavía no se utilizan rutinariamente y requieren medidas espectrofotométricas del CDOM para validación y comparación de datos. Además, muchos de los conjuntos de datos de CDOM existentes se han adquirido utilizando espectrofotómetros de mesada, que probablemente estarán en uso durante algún tiempo. En base a lo aquí expuesto, resulta necesario revisar y actualizar el método actual de determinación del $a_{cdom}(\lambda)$.

OBJETIVOS

El objetivo consiste en probar y encontrar la mejor práctica para algunos aspectos de la determinación del $a_{cdom}(\lambda)$ por espectrofotometría por el método de laboratorio tradicional, es decir, la pureza del agua de referencia, la necesidad de un "blanco real" y el tipo de filtro usado (membrana de 0,2 μm o fibra de vidrio de 0,7 μm).

MATERIALES Y MÉTODOS

En primer lugar, se compararon tres tipos de agua ultra pura. El primer tipo, **OFw**, se obtuvo a partir de un sistema de purificación (Gota a Gota, S.R.L.) disponible en el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP produciendo agua ultra pura libre de materia orgánica procedente de una fuente de agua de ósmosis inversa. El segundo tipo, **AOF**, consistió en OFw envejecida durante dos días en botellas de vidrio lavadas con ácido. El tercer tipo fue una base de datos de espectros de absorción de **agua Milli-Q** obtenidos a bordo del R/V Melville durante la campaña MV1102 en la cual una de las autoras ha participado. En nuestro laboratorio se observó que los "blancos reales" históricos tenían valores de absorción más bajos en el ultravioleta (UV) que el agua OFw recién adquirida del purificador. Los blancos reales difieren del OFw fresca en que se tratan como una muestra (es decir, se filtran), con al menos dos días entre su recolección y la adquisición de sus espectros. Por lo tanto, se investigó el efecto del envejecimiento del agua OFw sobre sus espectros de absorción. Notar que en los posteriores experimentos sobre el tipo de filtro se utilizó agua AOF como fuente de agua ultra pura.

Para este experimento se utilizaron dos tipos de muestras que representan las aguas "Caso I" y "Caso II", siguiendo la caracterización óptica clásica de aguas por Gordon y Morel (1983) y Morel y Prieur (1977). Las aguas del "Caso I" se refieren a aquellas en las que el fitoplancton y otros materiales de generación autóctona son los principales agentes responsables de las variaciones de las propiedades ópticas del agua. La muestra del "Caso I" se recogió a bordo del BIP E. Holmberg durante la campaña EH-02/13 (mayo de 2013) cerca de las Islas Georgias del Sur (54°11'S, 37°30'W). Por el contrario, las aguas del "caso II" se refieren a aquellas que están

influenciadas por el fitoplancton y también por otras sustancias que varían independientemente del fitoplancton, en particular las partículas inorgánicas en suspensión y otros materiales alóctonos. La muestra "Caso II" se adquirió con un balde en el Muelle de Pescadores en Mar del Plata (38° 00'S, 57°33'W, entre abril y julio de 2014) y se transfirió a botellas de vidrio, limpiadas con ácido, con tapas de teflón y se mantuvieron a 4°C hasta el análisis (en un plazo de 3 horas desde su colección).

Se testearon dos tipos de filtros, los filtros de fibra de vidrio y los de membrana. Los filtros de fibra (Whatman, denominados de aquí en más "GFF") con un tamaño de poro nominal de 0,7 µm se combustionaron a 450°C durante 3,5 horas para oxidar cualquier materia orgánica y luego se lavaron con 200 ml de agua AOF para evitar que partículas de fibra de vidrio pasen al filtrado. Los filtros de membrana, con tamaño de poro de 0,2 µm (Poretics, denominados de aquí en adelante "NUC") se enjuagaron en HCl al 10% durante 15 minutos y después se remojaron en agua AOF hasta su uso de acuerdo a Mitchell et al. (2003). Se utilizó un filtro por muestra en todos los casos. Todo el material de vidrio se enjuagó en HCl al 10% durante al menos 2 horas, se lavó 6 veces con agua de ósmosis inversa y otras 3 veces con agua OFw. Las aberturas del material de vidrio se cubrieron con papel de aluminio hasta su uso para evitar contaminación. Este procedimiento se realizó siempre el día antes de los experimentos.

Los espectros de CDOM y del agua ultra pura se obtuvieron empleando un espectrofotómetro Shimadzu 2401 UV-VIS equipado con una celda de cuarzo de 10 cm de largo. Antes de leer un lote de muestras, la celda se lavó cuidadosamente dos veces con agua AOF, una vez con etanol de alto grado de pureza y otras 6 veces con agua AOF. Todas las lecturas se realizaron estableciendo un intervalo de muestreo de 1 nm, velocidad de escaneo media y una ranura (*slit*) de 2 nm de ancho en el rango de 250 -750 nm, después de dejar que las lámparas del instrumento se calentaran durante 30 minutos. Se dejó que todas las muestras alcanzaran la temperatura ambiente y se leyeron contra aire después de establecer una línea de base aire-aire (0,000 ± 0,001 unidades de absorbancia). El coeficiente de absorción del CDOM se calculó usando la ecuación:

$$a_{cdom}(\lambda) = 2.303 \frac{[A_{cdom}(\lambda) - A_{blanco\ real}(\lambda)]}{L} \quad (1)$$

donde L es el camino óptico en metros, $A_{blanco\ real}(\lambda)$ es el promedio de n repeticiones de los espectros de absorción de agua filtrada AOF (calculado de la siguiente manera: para cada repetición, se restó su propio valor promedio de absorción entre 460-470 nm, y luego el promedio de estas repeticiones se tomó como el espectro del blanco real), y $A_{cdom}(\lambda)$ es el espectro de absorción del CDOM promedio de n repeticiones, después de restar a cada réplica la absorción entre 460-470 nm y luego el valor media de absorción entre 590-600 nm para corregir el desplazamiento aparente del CDOM (Mitchell et al., 2003). Finalmente se aplicó un promedio móvil de suavizado (7 nm) a cada espectro $a_{cdom}(\lambda)$ para minimizar el ruido (Ruiz&Lutz, 2018). El número de repeticiones fue $n=10$.

El análisis de los datos se realizó con el *software* libre R (R CoreTeam, 2015), con códigos desarrollados *ad hoc*. La pendiente de regresión después de graficar el logaritmo en base 10 de los n espectros entre 255-300 nm se utilizó para comparar

espectros de diferentes grupos de tratamiento en los experimentos del tipo de agua pura y tipo de filtro (con AOF, AOFNUC y AOFGFF y Case II-NUC, Caso II-GFF, Caso I-NUC y Caso-GFF como grupos de tratamiento respectivamente). El error estándar residual (RSE) se utilizó como una medida de la variabilidad no explicada de cada grupo.

RESULTADOS

IMPACTO DEL AGUA PURA DE REFERENCIA Y DEL TIPO DE FILTRO

Se investigó el efecto del envejecimiento del agua ultra pura sobre su espectro de absorción. Este procedimiento disminuyó la absorción del agua en el UV (es decir, hizo que pareciera más cercano al espectro de agua Milli-Q comúnmente usada) (**Figura1**), probablemente debido a la oxidación y volatilización de trazas de compuestos orgánicos que permanecen en el agua purificada. Para todos los experimentos posteriores, se utilizó como fuente de agua ultrapura agua OFw envejecida durante dos días (AOF).

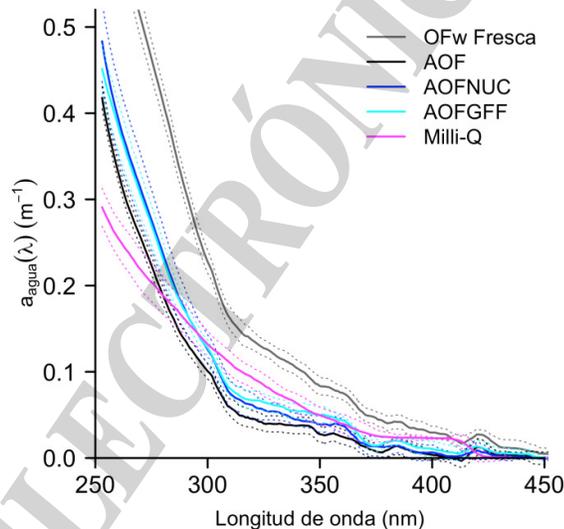


Figura1. Espectros de los coeficientes de absorción del agua ultra pura obtenida de diferentes sistemas de purificación. Agua de ósmosis fresca (OFw, línea gris), agua de ósmosis envejecida por dos días (AOF, línea negra), agua Milli-Q (línea magenta), agua AOF filtrada por filtros de membrana (AOFNUC, línea azul) y agua AOF filtrada por filtros de fibra de vidrio (AOFGFF, línea turquesa). Las líneas sólidas representan el espectro promedio de 10 réplicas (excepto para Milli-Q, n=145) y las líneas punteadas representan $\pm 1SD$.

Con el fin de determinar cuál es la mejor referencia de agua para la adquisición de espectros de CDOM, se evaluaron las diferencias espectrales entre el agua ultra pura filtrada y no filtrada, ya sea a través de filtros de fibra de vidrio (GFF) o filtros de membrana de $0,2 \mu m$ (NUC). Se observó que el enjuague de los filtros GFF combustionados con al menos 200 ml del agua más pura disponible minimiza la introducción de fibras de vidrio en el filtrado (resultado no mostrado). Por lo tanto, se

enjuagaron con 200 ml de agua AOF todos los filtros GFF combustionados para los experimentos subsiguientes. Los espectros de absorción media del agua AOF no filtrada presentaron una absorción ligeramente inferior en la región UV que los espectros de absorción media del agua AOF filtrada, ya sea a través de filtros NUC (AOFNUC) o GFF (AOFGFF). La inspección visual sugirió que el espectro promedio de AOFNUC era idéntico al de AOFGFF (Figura 1). Para comparar los espectros de los diferentes grupos de tratamiento, se estimó la pendiente después de graficar el logaritmo en base 10 de n espectros del coeficiente de absorción del agua (a_{agua}) entre 255-300 nm (Tabla 1). El error estándar de las pendientes del agua filtrada a través de filtros GFF rigurosamente enjuagados fue similar al del agua filtrada a través de filtros de membrana lavados y al del agua pura no filtrada.

También se abordó el efecto del tipo de filtro (GFF o NUC) sobre la adquisición de espectros de CDOM en muestras con un contenido de CDOM bajo ("Caso I") y alto ("Caso II") para evaluar la posible adsorción de materia orgánica sobre los filtros GFF. Los interceptos y las pendientes ajustadas por regresión lineal fueron idénticas para ambos grupos; no se observaron diferencias en el espectro medio obtenido utilizando filtros NUC o GFF, para los dos tipos de agua (Figura 2). La diferencia en la variabilidad no explicada indicada por el RSE de la regresión lineal entre Caso II-NUC y Caso II-GFF fue insignificante y entre Caso I-NUC y Caso I-GFF fue muy pequeña (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros de la regresión lineal y sus errores estándar obtenidos después de trazar el logaritmo decimal de $n = 10$ espectros de absorción entre 255-300 nm para los diferentes Grupos experimentales (ver a continuación). El error estándar residual (RSE).

	Intercepto	Pendiente	Error estándar del intercepto	Error estándar de la pendiente	Error Estándar Residual
Experimento: Tipo de agua pura					
AOF	-0.7882	-0.0278	0.0053	2e-04	0.0616
AOFNUC	-0.6235	-0.0284	0.0115	4e-04	0.1163
AOFGFF	-0.6652	-0.0274	0.0079	3e-04	0.0761
Experimento: Tipo de Filtro					
Caso II – NUC	-1.8561	-0.0198	0.0037	1e-04	0.0372
Caso II – GFF	-1.8404	-0.0197	0.0035	1e-04	0.0354
Caso I – NUC	-3.2679	-0.0220	0.0066	2e-04	0.0670
Caso I – GFF	-3.2612	-0.0224	0.0096	3e-04	0.0977

AOF: agua de ósmosis envejecida ; AOFNUC: agua AOF filtrada po filtro de membrana; AOFGFF: agua AOF filtrada por filtros de fibra de vidrio. Caso II - NUC: CDOM de una muestra de agua "Caso II" filtrada por filtros de membrana. Caso II - GFF: CDOM de una muestra de agua "Caso II" filtrada por filtros de fibra de vidrio. Caso I - NUC: CDOM de una muestra de agua del "Caso I" filtrada por filtros de membrana. Caso II - GFF: CDOM de una muestra de agua "Caso II" filtrada por filtros de fibra de vidrio.

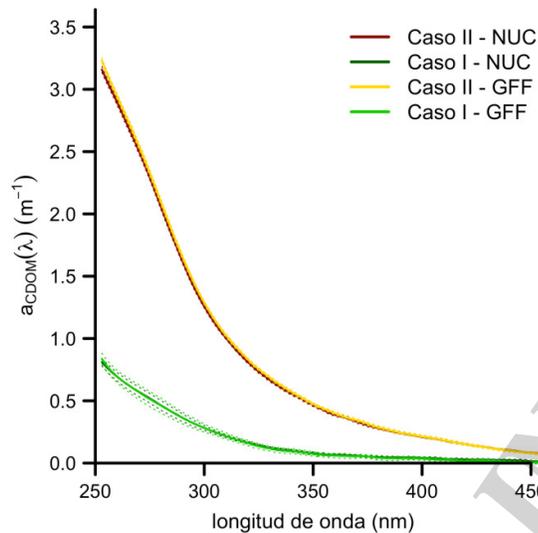


Figura 2. Coeficientes de absorción espectral del CDOM de muestras de agua Caso II y Caso I obtenidas después de filtración a través de filtros de membrana (NUC) y filtros de fibra de vidrio (GFF). Las líneas sólidas representan el espectro medio de 10 repeticiones y las líneas punteadas ± 1 SD.

DISCUSIÓN

Agua pura de referencia

Uno de los procedimientos más comunes para obtener un espectro de absorción de CDOM implica filtrar una muestra de agua de mar, transferirla a la cubeta de cuarzo y escanearla en comparación con una referencia de agua pura filtrada (es decir, un blanco real) (Mitchell, 2003). El uso de un blanco real como referencia proporciona la oportunidad de cancelar la absorción de cualquier lixiviado de los filtros. Sin embargo, la fuente de agua pura difiere de un laboratorio a otro, lo que significa que se está restando un espectro de agua pura diferente en cada institución. Además, los espectros de absorción de cualquiera de las aguas puras disponibles comercialmente difieren de los espectros descritos por Pope y Fry (1997) para el rango 380-700 nm y por Sogándares y Fry (1997) para el rango 350-380 nm. Este espectro combinado se ha considerado generalmente como el espectro de agua "ideal" para los estudios ópticos y procesamientos del color del océano. Desde que estos estudios se realizaron, espectros de absorción de agua "pura" fueron obtenidos a partir de mediciones ópticas del agua de mar "más clara" (Lee *et al.*, 2015, Morel *et al.*, 2007) que sugieren que los coeficientes de absorción del agua pura podrían ser aún más bajos que el espectro "ideal" antes mencionado. Recientemente, se han determinado coeficientes de absorción de agua pura en la región UV de 250-550 nm (Mason *et al.*, 2016), revelando valores aún más bajos en el intervalo de 350-400 nm. Sin embargo, en pos de la argumentación, y en ausencia de una absorción de UV recomendada por toda la comunidad para el agua pura, proponemos que sería posible referir teóricamente todos los espectros de CDOM a este espectro de agua "ideal", eliminando una fuente de variación entre laboratorios. Esto se podría hacer de la siguiente manera, es decir, añadiendo la diferencia entre el espectro del agua más

pura disponible (AP_{disp}) -utilizada como referencia en una instalación dada (por ejemplo Milli-Q, ósmosis, etc.) y el espectro "ideal" (AP_{ideal}):

$$SW = AP_{ideal} + sales + MD + MP \quad (2)$$

$$M_{cdom} = AP_{ideal} + MD + Fil \quad (3)$$

$$AP_{disp} = AP_{ideal} + Imp \quad (4)$$

$$B_{real} = AP_{disp} + Fil = AP_{ideal} + Imp + Fil \quad (5)$$

Suponemos que en el agua de mar (SW) las $sales$ no tienen absorción y MD y MP son materia disuelta y particulada respectivamente (Ec.(2)). Después de filtrar SW (Ec. (3)), el MP se retiene en el filtro pero la muestra de CDOM (M_{cdom}) puede ahora contener cualquier lixiviado del filtro (Fil). AP_{disp} es el agua más pura disponible e " Imp " es cualquier impureza del sistema de purificación (Ec. (4)). El blanco real (RB_{real}) también puede llevar el componente Fil (Ec. (5)). Si en el espectrofotómetro se escanea la muestra de CDOM contra el RB_{real} (Ec. (4)), entonces:

$$\begin{aligned} M_{cdom} - RB_{real} &= AP_{ideal} + MD + Fil - (AP_{ideal} + Imp + Fil) \\ &= AP_{ideal} + MD + Fil - AP_{ideal} - Imp - Fil = MD - Imp \end{aligned} \quad (6)$$

Por lo tanto, lo que normalmente consideramos el "espectro de absorción de la materia disuelta" es realmente la diferencia entre la materia disuelta y las impurezas del sistema de purificación. La ecuación (4) puede escribirse como sigue (Ec. (7)):

$$Imp = AP_{disp} - AP_{ideal} \quad (7)$$

El espectro de absorción de impurezas (Imp) es la diferencia entre el espectro del AP_{disp} y AP_{ideal} . Entonces para obtener realmente el espectro de MD es necesario añadir el espectro de Imp al espectro obtenido leyendo la M_{cdom} contra un B_{real} . Esto podría lograrse adquiriendo el espectro del AP_{disp} contra el aire y restando el espectro AP_{ideal} (que se deduce reemplazando la ecuación (7) en (8)):

$$MD = M_{cdom} - B_{real} + Imp = M_{cdom} - B_{real} + AP_{disp} - AP_{ideal} \quad (8)$$

De esta manera, la variabilidad introducida por los sistemas de purificación se anularía y todos los espectros de CDOM se referirían al mismo espectro de agua "ideal". Este procedimiento requiere la obtención de los espectros de absorción del AP_{disp} , que no es exactamente igual al espectro del B_{real} . Mientras esperamos un consenso en el espectro de absorción del agua "ideal" en el UV, es posible utilizar la corrección anterior para referir todos los espectros de CDOM a un mismo espectro de agua pura de referencia para mantener la coherencia entre los laboratorios. Esto es posible escaneando las muestras de CDOM y el espectro de agua pura contra aire.

Procedimientos de filtración

Se obtuvieron espectros CDOM casi idénticos utilizando ya sea una membrana de policarbonato con poros de 0,2 μm o filtros GFF con poros de 0,7 μm (**Figura 1**). A pesar de que el tamaño de poro nominal difiere, en promedio, estos dos tipos de filtros permiten el paso del mismo tipo de moléculas. Hay varias explicaciones para esta observación. Una explicación es que la fracción entre 0,2 y 0,7 μm tiene una contribución menor a la absorción de luz en el océano abierto (Nelson *et al.*, 1998). Sin embargo, la microscopía electrónica ha revelado que los filtros de membrana pueden tener poros de más de 0,2 μm de diámetro como consecuencia del proceso de perforación, lo que permite la superposición de los orificios, creando poros dos veces o incluso tres veces más grandes de lo previsto (Negri, comunicación personal). Nayar y Chou (2003) informaron que el tamaño promedio de poro de un filtro GFF se reduce en los filtros combustionados debido a la contracción de la matriz de fibras. Además, no es irrazonable esperar que después de filtrar algunos mililitros de filtros de agua de mar los filtros se obstruyan debido a la formación de una red apretada de moléculas solubles en la muestra. La importancia de enjuagar los filtros GFF combustionados antes de la recolección de muestras ya ha sido documentada (Mitchell *et al.*, 2003). Se encontró que el lavado de los filtros con 200 ml de agua pura era suficiente para eluir la mayoría de las fibras de vidrio sueltas que podrían afectar las lecturas de absorción. Nuestros resultados mostraron que los espectros del agua pura y de las muestras de CDOM filtradas a través de filtros GFF tratados de esta manera fueron comparables a los obtenidos utilizando filtros de membrana.

CONCLUSIONES

A partir de la evaluación de los factores que afectan al análisis de laboratorio de CDOM, el resultado principal fue que se obtuvieron espectros de CDOM idénticos a partir de réplicas de muestras usando filtros de membrana (0,2 μm) o GFF (0,7 μm nominal), lo que puede deberse a varios factores; por ejemplo, una absorción minoritaria de la fracción entre 0,2 y 0,7 μm (Nelson *et al.*, 1998) y la contracción de los poros de los filtros GFF después de la combustión (Nayar y Chou, 2003). El registrar los espectros de muestras de CDOM, blancos reales (agua pura filtrada) y el agua utilizada en un laboratorio dado contra aire es una práctica que proporciona la posibilidad de referenciar los espectros de absorción de CDOM al mismo espectro de agua "ideal", eliminando posibles fuentes de variaciones.

REFERENCIAS

- Andrew, A.A., Del Vecchio, R., Subramaniam, A. & Blough, N.V. (2013). Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Equatorial Atlantic Ocean: Optical properties and their relation to CDOM structure and source. *Marine Chemistry*, 148: 33-43.
- Blough, N.V. & Del Vecchio, R. (2002). Chromophoric DOM in the coastal environment. IN Hansell, D.A. & Carlson, C.A. (Eds.) *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. San Diego: Elsevier Science.

- Catalá, T.S., Reche, I., Álvarez, M., Khatiwala, S., Guallart, E.F., Benítez-Barrios, V.M., Fuentes-Lema, A., Romera-Castillo, C., Nieto-Cid, M., Pelejero, C., Fraile-Nuez, E., Ortega-Retuerta, E., Marrasé, C. & Álvarez-Salgado, X.A.C.G. (2015) . Water mass age and aging driving chromophoric dissolved organic matter in the dark global ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 29: 917-934.
- Clark, C.D., Litz, L.P. & Grant, S.B. (2008) . Salt marshes as a source of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) to Southern California coastal waters. *Limnology and Oceanography*, 53: 1923-1933.
- D'sa, E.J., Miller, R.L. & Del Castillo, C. (2006) . Bio-optical properties and ocean color algorithms for coastal waters influenced by the Mississippi River during a cold front. *Applied Optics*, 45: 7410-7428.
- D'sa, E.J., Steward, R.G., Vodacek, A., Blough, N.V. & Phinney, D. (1999) . Determining optical absorption of colored dissolved organic matter in seawater with a liquid capillary waveguide. *Limnology and Oceanography*, 44: 1142-1148.
- Gordon, H.R. & Morel, A. (1983) . Remote assessment of ocean color for interpretation of satellite visible imagery. A review. IN Barber, R.T., Mooers, N.K., Bowman, M.J. & Zeitzschel, B. (Eds) *Lecture notes on coastal and estuarine studies*. New York: Springer-Verlag.
- Hernes, P.J. & Benner, R.C. (2003) . Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: Implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 108: 3291.
- Højerslev, N.K. (1980) . On the origin of yellow substance in the marine environment. *Oceanogr Rep, University Copenhagen*, 42: 1:35.
- Iocccg (Ed.) (2000) . *Remote Sensing of Ocean Colour in Coastal, and Optically-Complex, Waters.*, Damouth, Canada.
- Jørgensen, L., Stedmon, C.A., Granskog, M.A. & Middelboe, M.C.G.L. (2014) . Tracing the long-term microbial production of recalcitrant fluorescent dissolved organic matter in seawater. *Geophysical Research Letters*, 41: 2481-2488.
- Lee, Z., Wei, J., Voss, K., Lewis, M., Bricaud, A. & Huot, Y. (2015) . Hyperspectral absorption coefficient of "pure" seawater in the range of 350-550 nm inverted from remote sensing reflectance. *Applied Optics*, 54: 546-558.
- Lutz, V.A., Subramaniam, A., Negri, R.M., Silva, R.I. & Carreto, J.I. (2006) . Annual variations in bio-optical properties at the 'Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)' coastal station, Argentina. *Continental Shelf Research*, 26: 1093-1112.
- Mannino, A., Novak, M.G., Hooker, S.B., Hyde, K. & Aurin, D. (2014) . Algorithm development and validation of CDOM properties for estuarine and continental shelf waters along the northeastern U.S. coast. *Remote Sensing of Environment*, 152: 576-602.
- Mason, J.D., Cone, M.T. & Fry, E.S. (2016) . Ultraviolet (250-550 nm) absorption spectrum of pure water. *Applied Optics*, 55: 7163-7172.
- Mei, Z.-P., Saucier, F.O.J., Le Fouest, V., Zakardjian, B., Sennville, S., Xie, H. & Starr, M. (2010) . Modeling the timing of spring phytoplankton bloom and biological production of the Gulf of St. Lawrence (Canada) : Effects of colored dissolved organic matter and temperature. *Continental Shelf Research*, 30: 2027-2042.
- Miller, R.L., Belz, M., Castillo, C.D. & Trzaska, R. (2002) . Determining CDOM absorption spectra in diverse coastal environments using a multiple pathlength, liquid core waveguide system. *Continental Shelf Research*, 22: 1301-1310.

- Mitchell, B.G., Kahru, M., Wieland, J. & Stramska, M. (2003) . Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. IN Mueller, J.L., Fargion, G.S. & McClain, C.R. (Eds.) *Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Color Sensor Validation, Revision 4*, . Greenbelt, Maryland 20771: NASA Goddard Space Flight Center, NASA/TM - 2003-.
- Morel, A., Gentili, B., Claustre, H., Babin, M., Bricaud, A., Ras, J. & Tièche, F. (2007) . Optical properties of the ₃ clearest₃ natural waters. *Limnology and Oceanography*, 52: 217-229.
- Morel, A. & Prieur, L. (1977) . Analysis of variations in ocean color. *Limnology and Oceanography*, 22: 709-722.
- Nayar, S. & Chou, L.M. (2003) . Relative efficiencies of different filters in retaining phytoplankton for pigment and productivity studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58: 241-248.
- Nelson, N., Siegel, D.A. & Michaels, A.F. (1998) . Seasonal dynamics of colored dissolved material in the Sargasso Sea. *Deep-sea Research II*, 45: 931-957.
- Nelson, N.B., Siegel, D.A., Carlson, C.A. & Swan, C.M.C.L. (2010) . Tracing global biogeochemical cycles and meridional overturning circulation using chromophoric dissolved organic matter. *Geophysical Research Letters*, 37: n/a-n/a.
- Pope, R.M. & Fry, E.S. (1997) . Absorption spectrum (380-700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Appl Opt*, 36: 8710-8723.
- Pope, R.M., Weidemann, A.D. & Fry, E.S. (2000) . Integrating Cavity Absorption Meter measurements of dissolved substances and suspended particles in ocean water. *Dynamics of Atmospheres and Oceans*, 31: 307-320.
- R Core Team (2015) . R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Romera-Castillo, C., Samento, H., Álvarez-Salgado, X.A., Gasol, J.M. & Marraséa, C. (2010) . Production of chromophoric dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 55: 446-454.
- Röttgers, R. & Doerffer, R. (2007) . Measurements of optical absorption by chromophoric dissolved organic matter using a point-source integrating-cavity absorption meter. *Limnology and Oceanography: Methods*, 5: 126-135.
- Ruiz, M. G. & Lutz, V. 2018. Protocolo para la determinación del coeficiente de absorción espectral del material orgánico coloreado disuelto (CDOM) . Inf. Invest. INIDEP s/n, 14 p.
- Siegel, D.A., Maritorea, S., Nelson, N.B., Behrenfeld, M.J. & McClain, C.R. (2005) . Colored dissolved organic matter and its influence on the satellite-based characterization of the ocean biosphere. *Geophysical Research Letters*, 30: L20605.
- Sogandares, F.M. & Fry, E.S. (1997) . Absorption spectrum (340-640 nm) of pure water. I. Photothermal measurements. *Applied Optics*, 36: 8699-8709.