



INIDEP

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION
Y DESARROLLO PESQUERO

INFORME DE ASESORAMIENTO Y TRANSFERENCIA

Número

180

Páginas

014

Fecha de aprobación

10 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).

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN ESPECTRAL DEL MATERIAL ORGÁNICO COLOREADO DISUELTO (CDOM)

El CDOM es el "material orgánico coloreado disuelto", uno de los cuatro componentes ópticamente activos que se encuentran en el agua de mar. El presente informe presenta un protocolo para la determinación del coeficiente de absorción espectral del material orgánico coloreado disuelto "CDOM" ajustado a las necesidades y equipamientos del INIDEP. Se distinguen tres etapas principales en el procedimiento: 1) preparación del material, 2) obtención de las muestras de agua de mar, 3) adquisición de los espectros de absorción y 4) cálculo del coeficiente de absorción espectral del CDOM. En cada una de ellas se describen los materiales, equipamientos y procedimientos necesarios, haciendo énfasis en la pulcritud y precaución que se debe tener en todo momento para no contaminar las muestras. En el ANEXO I se adjunta una rutina desarrollada en el lenguaje R para calcular el coeficiente de absorción del CDOM.

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

Institución

Cargo

SOLICITADO POR

PREPARADO POR

Firma:

RUIZ MARIA

Nombre: GUILLERMINA

Firma:

Nombre: LUTZ, VIVIAN ALICIA

APROBADO POR

Jefe de Programa / Gabinete

Dr. MARCELO PAJARO
A/C DIRECCION
Pesquerias de Invertebrados,
Peces Pelagicos y Ambiente Marino
Director de Programa

Director Nacional de Investigación

Dr. OTTO C. WÖHLER
DIRECTOR
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION
Y DESARROLLO PESQUERO
Director de INIDEP

COPIA ELECTRÓNICA



PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE ABSORCIÓN ESPECTRAL DEL MATERIAL ORGÁNICO COLOREADO DISUELTO “CDOM”

Dra. María Guillermina Ruiz y Dra. Vivian Lutz

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

INTRODUCCIÓN

¿Qué es el CDOM?

El CDOM es el “material orgánico coloreado disuelto”, uno de los cuatro componentes ópticamente activos que se encuentran en el agua de mar. El CDOM forma parte del reservorio de materia orgánica disuelta (DOM) y se define empíricamente como la fracción que se obtiene al filtrar el agua de mar por un filtro de policarbonato de tamaño de poro de 0.2 micrones (Nelson and Siegel 2002). El tipo de moléculas que componen al CDOM no son a menudo determinadas. En aguas costeras, proceden principalmente de los aportes terrestres y de los ríos, mientras que en aguas oceánicas provienen del fitoplancton y otros organismos en descomposición. No hay métodos de rutina para determinar la composición del CDOM, es por eso que al CDOM se lo caracteriza en base a sus propiedades ópticas.

El CDOM absorbe luz tanto en la región ultravioleta (UV) como en la visible (VIS) del espectro electromagnético, con predominancia en la región azul. El espectro de absorción del CDOM es la suma ponderada de la absorción de los diferentes materiales disueltos en el agua. Si bien el CDOM es una parte del DOM, existen muchos compuestos en el DOM que no tienen un espectro de absorción de luz detectable, por lo que el CDOM no es un buen indicador o *proxy* para estimar la abundancia del DOM, particularmente en el océano abierto. No obstante, hoy se sabe que el CDOM es un buen marcador de las masas de agua, así como un indicador de diferentes procesos biogeoquímicos (Mobley et al. 2011).

Los cuidados a tener en la preparación de la muestra de CDOM y la metodología empleada en la determinación de su coeficiente de absorción espectral no son triviales para obtener una medición correcta. Esto se debe a que la absorción del CDOM es cercana al límite de detección de los espectrofotómetros comunes (± 0.005 AU) en la región azul del VIS, región donde ocurre el máximo de absorción de la clorofila *a*.

Actualmente existen otros equipos que se valen de un camino óptico más largo para aumentar la relación señal-ruido, como el *liquid core optical waveguide* (D'Sa et al. 1999) o el *ac-s* (WetLabs, Inc.), los cuales permiten obtener espectros de absorción del CDOM con mayor exactitud (± 0.0001 AU). No obstante, estos instrumentos todavía no se utilizan rutinariamente y requieren medidas espectrofotométricas del CDOM para validación y comparación de datos. Por lo tanto, resulta necesario revisar y actualizar el método actual de determinación del $a_{cdom}(\lambda)$.

Fundamento del método

El método se basa en la capacidad del material coloreado disuelto de absorber luz, especialmente en la región ultravioleta del espectro. Este protocolo está orientado al uso de



espectrofotómetros de mesada equipados con celdas de 10 cm de camino óptico y se basa principalmente en el protocolo propuesto por Mitchell et al. (2003).

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO

En la tabla 1 se resumen los materiales necesarios para cada una de las etapas de obtención y análisis de las muestras. Los equipos más grandes requeridos son una mufla, una bomba de vacío, un sistema de purificación de agua, un espectrofotómetro (con su correspondiente PC y software de adquisición).

Tabla 1. Materiales necesarios para la determinación del coeficiente de absorción espectral del CDOM.

PREPARACIÓN MATERIAL	DEL OBTENCIÓN MUESTRAS	DE LAS ADQUISICIÓN DE LOS ESPECTOS DE ABSORCIÓN DEL CDOM	en el
<ul style="list-style-type: none"> • botellas de vidrio transparente con tapa de teflón (~ 100 ml). • solución de HCl 10% • sistema de purificación de agua (ej. MilliQ). • Mufla • filtros GF/F de 25 mm de diámetro • papel de aluminio • etiquetas rotuladas con lápiz o sin tinta • botella de vidrio o vaso de precipitado transparente para agua envejecida. 	<ul style="list-style-type: none"> • balde con cabo • botellas Niskin • contenedor limpio y hermético (tipo "Helatodo") • botellitas de vidrio limpias y rotuladas 	<ul style="list-style-type: none"> • bomba de vacío • mangueras de silicona • recipiente para descarte • agua ultrapura • kitasato (250 o 500 ml) de borosilicato, porta filtro, embudo de filtración y pinza para el sistema de filtración • filtros GF/F de 25 mm muflados • pinzas para filtros 	<ul style="list-style-type: none"> • espectrofotómetro UV-VIS • cubetas de cuarzo de camino óptico de 10 cm • etanol 100% • papel para óptica • papel absorbente • planilla en papel, lápiz

Aclaraciones pertinentes

Agua de alta calidad y agua de ósmosis envejecida (OSE): por "agua de alta calidad" o "ultra pura" se refiere a agua de altísima pureza obtenida mediante equipos purificadores de agua como MilliQ o similares. Es importante conocer y revisar periódicamente la calidad del agua ultra pura de la que se dispone. En el Laboratorio de Producción Primaria y Biotoxicidad del INIDEP se refiere a agua de ósmosis inversa directamente obtenida a la salida del equipo de purificación (es decir, sin su previa recolección en otro recipiente). Esta es un agua que ha pasado por distintas resinas orgánicas y por un filtro de 0.2 micrones. No obstante, según observaciones recientes en el laboratorio (Ruiz et al. 2017), es necesario dejar envejecer este agua al menos durante 2 días para permitir la oxidación de algunos compuestos orgánicos volátiles que no logran ser eliminados (o que son aportados) por el proceso de purificación para utilizar el agua de ósmosis inversa como agua de referencia o blanco en la determinación del coeficiente de absorción espectral del CDOM. A esta agua envejecida se la denomina de aquí en más OSE.

Orientación de las cubetas en el espectrofotómetro: a fin de mantener coherencia entre diferentes muestras y cancelar posibles errores sistemáticos, es importante orientar las celdas de cuarzo en el espectrofotómetro siempre de la misma manera. En nuestro caso, con las caras marcadas hacia el fotodetector. El carro portador de las cubetas también tiene una sola forma de colocación en el equipo: orientando las chapas metálicas hacia el fotodetector.



Contaminación de las muestras: evitar en todo momento cualquier tipo de contaminación de las muestras, el agua, los filtros, las cubetas, etc. Cualquier sustancia coloreada que contamine la muestra será interpretada por el equipo como "CDOM". Es imprescindible trabajar en superficies limpias, así como lavarse las manos. No usar guantes. Evitar en todo momento tocar con los dedos las caras pulidas de las cubetas.

Preservación de la muestra de CDOM: es importante leer las muestras con la menor ventana de tiempo posible luego de ser obtenidas, procurando su integridad mediante la no exposición a la luz directa y refrigerando a 5°C (pero no congelar) la muestra para inhibir reacciones de catálisis y otros efectos físicos. La temperatura afecta el espectro de absorción tanto del agua pura como de la muestra filtrada en la porción IR del espectro, por lo que se debe garantizar que tanto las muestras como el blanco real estén a la misma temperatura al momento de realizarse la lectura. También se recomienda encender el equipo con anticipación para que las lámparas se calienten y estabilicen.

Todos los espectros se leerán en referencia a aire. Por un lado, se busca evitar el recalentamiento de la muestra de agua de referencia que permanecería en el espectrofotómetro. Por otro, de esta forma podrían corregirse a posteriori los espectros de CDOM si hubiese contaminación en el agua que se usa como referencia.

Entre cada muestra (sobre todo cuando se trata de muestras diferentes que no son réplicas) enjuagar el embudo y el kitasato con el agua de la siguiente muestra a leer.

Asimismo, entre una muestra y la siguiente, enjuagar la cubeta con unos pocos mililitros del agua de muestra a leer.

Preparación del material

Todo el material que se usará en la recolección de la muestra así como el material que se utilizará en filtrado de la misma debe ser **cuidadosamente** lavado con anterioridad a la adquisición de la muestra (no más de 4 días). Una vez lavado, se debe evitar toda posibilidad de contaminación.

Lavado de las botellas con tapa de teflón

1. Enjuagar (2 veces) con agua de canilla
2. Enjuagar (2 veces) con agua destilada común
3. Sumergir completamente en HCl 10% durante al menos dos horas (botellitas y tapas).
4. Enjuagar 3 veces con agua destilada común de la siguiente manera:
 - 4.1. Llenar una botellita a ~ 1/3 con agua, cerrar con la tapa (aquí no hace falta que este muy ajustada), sacudir fuertemente y descartar el agua.
5. Enjuagar (5 veces) con agua destilada alta calidad:
 - 5.1. Llenar una botellita a ~ 1/3 con agua, cerrar con la tapa, sacudir fuertemente y descartar.
 - 5.2. Llenar cada botellita con agua de alta calidad directamente del cañito blanco (esta sólo se vaciará en el momento del muestreo).
6. Rotular las botellas con etiquetas preferentemente en lápiz, indicando campaña, estación, profundidad de muestreo y réplica. Identificar una de las botellas como "blanco real".
7. Colocar las botellas limpias en un contenedor "tipo helado" limpio (y si fuese necesario, éste en una bolsa grande para evitar que se ensucie en la heladera del barco y en cubierta). Guardar el contenedor a 4°C y oscuridad en la cámara fría del INIDEP y luego a bordo hasta el momento del muestreo.

Lavado del material de filtración



8. Enjuagar todo el material de vidrio (kitasato pequeño (~ 250 o 500 ml) con su porta filtro y embudo de filtración, así como un vaso de precipitado o botella de vidrio con tapa de teflón (~ 2 litros) siguiendo los pasos (1-5) detallados para el enjuague de las botellitas.
9. Cubrir la boca del kitasato, del embudo y el portafiltro con papel de aluminio limpio y guardar en lugar limpio hasta el momento de usarlos para el filtrado de las muestras. No es necesario llevar este material a bordo si la muestra se analiza en tierra.

Combustión de los filtros de fibra de vidrio

9. Calcular la cantidad de filtros de fibra de vidrio (GF/F de 25 mm de diámetro) a utilizar siempre agregando algunos filtros de más.
10. Armar con papel de aluminio grueso unas “canastitas” tipo *origami* abiertas y poner en ellas los filtros (no más de 20 por canastita). Colocar la canastita pequeña en otra canasta semejante más grande y robusta.
11. Combustionar los filtros colocando la canasta más grande en mufla a 450°C durante 3 horas.
 - 11.1. Utilizar la Mufla #2 del Laboratorio de Tecnología del INIDEP. Conocer la rampa de calentamiento de la misma: **se debe configurar la temperatura a 410°C**. Esto se debe a que la resistencia de la mufla posee una inercia tal no se enfría rápidamente, siendo la verdadera temperatura a la que se exponen los filtros entre 410 y 450°C.
12. Dejar enfriar y guardar la canastita con los filtros en un taper limpio en algún lugar limpio y seco.

Obtención de las muestras de agua de mar

13. Retirar el contenedor con las botellitas de la cámara fría del barco sólo en el momento del muestreo.
14. Tomar la muestra de agua de mar de superficie con un balde limpio, evitando que el balde toque el casco del barco.
15. Descartar el agua ultra pura, enjuagar la botellita 3 veces con un pequeño volumen de agua mar y luego llenar. Si no se ha hecho antes, rotular apropiadamente. Llenar la botellita con agua de mar y cerrar.
16. Tomar las muestras de las otras profundidades directamente de las botellas Niskin, sin usar mangueras de silicona. Proceder como en el punto anterior.
17. Tomar la muestra del “blanco real” de la siguiente manera:
 - 17.1. En cubierta, abrir la botella rotulada como “blanco real” y no descartar su contenido. Esta se guardará para ser usada como blanco en la lectura (“*real blank*”).
18. Guardar nuevamente todas las botellitas en el contenedor en la cámara fría del barco. Mantener refrigeradas (pero no congelar) y en oscuridad hasta el momento del análisis en el laboratorio.

Adquisición de los espectros de absorción

Encendido y configuración del espectrofotómetro

19. Retirar las muestras de la cámara fría y dejar estabilizarlas a temperatura ambiente. Este paso es muy importante. Para ello, se recomienda armar un recipiente en el que circule agua de la canilla en el que se colocan las botellitas, asegurándose de que estas estén bien cerradas y no se vuelquen (ej. se puede usar la tapa de la “Helatodo” dada vuelta), y evitar la exposición de la luz directa.
20. Asegurarse que el espectrofotómetro tenga el porta-muestras para celdas de 10 cm correctamente colocado (en nuestro caso, los porta-celdas deben tener las chapitas para ajustar la posición de las cubetas del lado del foto receptor).



21. Encender el instrumento, correr el programa de chequeo, y dejar que se calienten las lámparas por al menos 30 minutos.
22. Configurar el instrumento de la siguiente forma :
 - 22.1. *Scanning range:* 250 – 750 nm
 - 22.2. *Slit:* 2 nm
 - 22.3. *Speed:* medium
 - 22.4. *Interval:* every 1nm
 - 22.5. *UV lamp start at:* 360 nm
 - 22.6. *Mode:* absorbance
23. Crear en la PC del espectrofotómetro una carpeta con el nombre de la campaña.

Línea de base aire-aire

24. Realizar una línea de base del instrumento “aire vs. aire”, presionando la opción “Baseline”. El instrumento no muestra el espectro, sólo lo registra en la memoria. Este paso equivale a tarar el espectrofotómetro.
25. Realizar un espectro de la línea de base, simplemente presionar la tecla “Start”. Este espectro debe ser plano, oscilando alrededor del valor 0.000 ± 0.005 . Repetir si fuera necesario.
26. Guardar el espectro de la siguiente forma¹:
 - 26.1. Guardar ingresando el nombre “aireaire-fecha” en la carpeta creada.
 - 26.2. Presionar la opción “Guardar” en el menú de la barra de herramientas.
 - 26.3. Guardar el archivo con el mismo nombre pero en formato “.txt”.

Espectro OSE-aire

27. Lavar las cubetas de cuarzo de la siguiente forma:
 - 27.1. Descartar el agua que traen las celdas (estas se guardan con agua y tapadas).
 - 27.2. Enjuagar las celdas 3 veces con agua OSE. Enjuagar una vez con etanol pro-análisis
 - 27.3. Enjuagar 6 veces con agua OSE.
28. Realizar un espectro del agua OSE vs. aire. Para ello:
 - 28.1. Llenar la cubeta con un pequeño volumen de agua OSE sin filtrar, colocar los tapones, agitar suavemente y descartar. Repetir este procedimiento 2 veces más.
 - 28.2. Llenar la cubeta con el agua OSE.
 - 28.3. Limpiar con un papel de óptica limpio las caras de la cubeta por donde pasa la luz. No tocar nunca con los dedos las caras de la cubeta por donde pasa la luz. Limpiar las caras de la cubeta con etanol 100% y volver a secar con otro papel de óptica.
 - 28.4. Realizar la lectura del espectro y guardar el espectro con el nombre “OSE-aire-fecha-01”
 - 28.5. Comparar este espectro con otro espectro de referencia guardado en la PC para controlar que el espectro del agua OSE sea bueno.

Espectro OSE-GFF

29. Armar el sistema de filtración y manipulando los filtros con pinzas, colocar un filtro en el portafiltro (se usará un filtro para cada muestra).
30. Filtrar (siempre a baja presión, < 5 psi) un volumen de agua OSE de 200 ml y descartar el filtrado.

¹ Todos los espectros deberán guardarse mediante este procedimiento de 3 pasos. Revisar periódicamente durante la sesión de lectura que todos los espectros se hayan guardado correctamente. Para eso, utilizar la opción “File Properties”.



31. Sin cambiar el filtro, filtrar 20 ml de agua. Enjuagar agitando bien el kitasato y descartar.
32. Filtrar un volumen aproximado de 150 ml. Enjuagar la cubeta 2 veces con un pequeño volumen del agua OSE filtrada (~ 10 ml) vertiéndola directamente del kitasato y descartar.
33. Realizar la lectura como se indica en el paso 28 y guardar el espectro según el paso 26 con el nombre "OSE-GFF". Retirar la cubeta y descartar el contenido.
- 33.1. Comparar el espectro OSE-GFF con el espectro OSE-aire obtenido en el paso 28. Deberían ser idénticos, de lo contrario, continuar lavando el filtro con más agua envejecida.

Filtrado y lectura del blanco real y las muestras

Sin cambiar el filtro, filtrar la muestra de "blanco real" y realizar la lectura.

34. Sin cambiar el filtro, filtrar el agua de la primer muestras y realizar la lectura.
35. Para la siguiente muestra, se deberá colocar un nuevo filtro y enjuagarlo según el paso 30 antes de filtrar el agua de muestra.
36. Llenar la cubeta, secar las caras, leer el espectro y guardar con el nombre correspondiente. Los nombres de los archivos para la EPEA se generan previamente a partir de la "Planilla Abordo" (ver Anexo I).
37. Al finalizar la serie de lecturas, enjuagar las cubetas 6 veces con agua de alta calidad, secarlas y guardarlas llenas con agua alta calidad.
38. Limpiar todo el material de vidrio con abundante agua de la canilla y un enjuague con agua destilada para eliminar restos de sales. Dejar secar, cubrir con papel de aluminio y guardar.

NOTA: De acuerdo a la cantidad de material disuelto presente, un filtro puede servir para una muestra y su réplica. Cada filtro nuevo que se use debe ser enjuagado con no menos de 200 ml de agua. Prever el almacenamiento de suficiente agua OSE para el lavado de todos los filtros que se fueran a utilizar.

NOTA: cada 4 espectros (ya sean blancos o muestras) se corre otro espectro de agua de alta calidad versus aire; se guardan como 'aguaaire-011211-x' (es decir aguaaire seguido de la fecha y luego del guión el numero sucesivo de espectros de agua alta calidad).

Cálculo del coeficiente de absorción espectral del CDOM

De acuerdo al protocolo anterior, el espectro que se obtiene es la suma del espectro de absorción del agua pura y del CDOM. Restando el espectro de absorción del blanco (agua de alta calidad tratada igual que una muestra) se obtendrá el espectro de absorción del CDOM (figura 1).

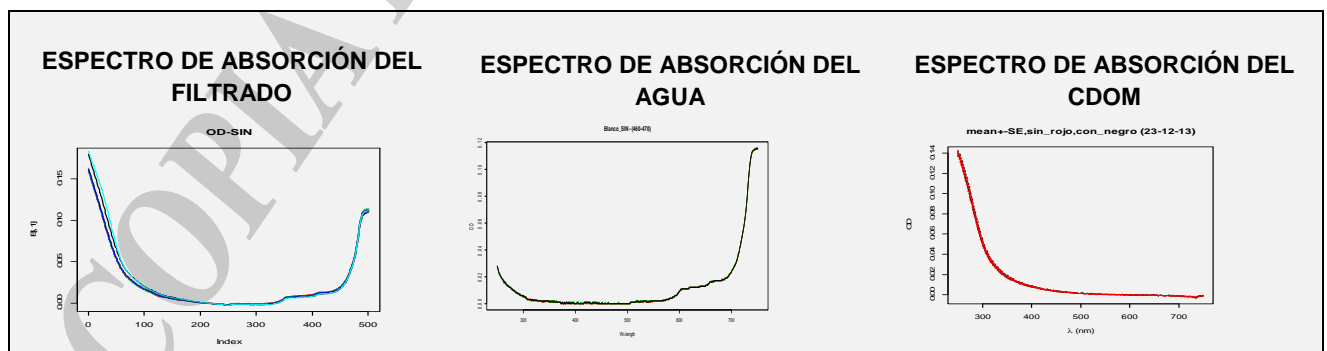


Figura 1. El espectro obtenido según este protocolo es la suma del espectro de absorción del agua y del CDOM. Por diferencia, se obtiene el espectro del CDOM como si se hubiera leído directamente en referencia a agua pura.



Debido a que la absorción del agua es muy baja en el visible, gran parte de la señal obtenida se debe a ruido. Por lo tanto se recomienda hacer varias réplicas del espectro del blanco. Asimismo, previamente a la obtención de este espectro promedio, se debe corregir cada espectro de absorción del agua por diferencias con la línea de base restando el valor promedio de absorción entre 460 y 470 nm, ya que la absorción del agua en entorno a $\lambda=470$ nm es mínima (“null”). Por lo tanto, se tiene que:

$$OD_{blanco\ promedio}(\lambda) = \sum_{i=1}^n \frac{OD_{blanco}(\lambda) - \overline{OD}_{blanco}(n.v. agua)}{n}$$

en donde n es el número de réplicas y $\overline{OD}_{blanco}(n.v. agua)$ es el promedio de la absorción de cada blanco en el rango de longitudes de onda entre 460 y 470 nm (se refiere a “null value del agua”).

El procesamiento de los espectros de CDOM así obtenidos para llegar al coeficiente de absorción consiste en los siguientes pasos:

Se resta el null value del agua a cada espectro de CDOM:

$$\widehat{OD}_{muestra}(\lambda) = OD_{muestra}(\lambda) - \overline{OD}_{muestra}(n.v. agua)$$

Se resta el blanco promedio cada espectro de CDOM:

$$\widehat{OD}_{cdom}(\lambda) = \widehat{OD}_{muestra}(\lambda) - OD_{blanco\ promedio}(\lambda)$$

Se resta el null value del CDOM:

$$OD_{cdom}(\lambda) = \widehat{OD}_{cdom}(\lambda) - \overline{OD}_{cdom}(n.v. cdom)$$

Se transforma a unidades m^{-1} :

$$a_{cdom}(\lambda) = \frac{2.303}{l [m]} \cdot OD_{cdom}(\lambda)$$

Los pasos anteriores se resumen en la siguiente ecuación:

$$a_{cdom}(\lambda) = \frac{2.303}{l [m]} \cdot \{[(OD_{muestra}(\lambda) - \overline{OD}_{muestra}(n.v. agua)) - OD_{blanco\ promedio}(\lambda)] - \overline{OD}(n.v. cdom)''\}$$

en la que 2.303 es el coeficiente para transformar log a ln, $l [m]$ es la longitud del camino óptico expresada en metros, $OD_{muestra}(\lambda)$ es la absorción de la muestra, $OD_{blanco\ promedio}$ es la absorción del blanco promedio y $\overline{OD}(n.v. cdom)$ es la densidad óptica promedio calculada en un tango de longitudes de onda cercana al IR en la que se asume que la absorción del CDOM es nula (se refiere a “null value del CDOM”).

En la bibliografía actualmente existe gran variabilidad en torno a qué rango de longitudes de onda considerar para calcular $\overline{OD}(n.v. cdom)$. De acuerdo a Mitchell (2003), el valor nulo para el CDOM puede ser el promedio de la absorción en el rango entre 590 y 600 nm (rango utilizado para las muestras de CDOM de la EPEA), aunque si la cantidad de material en la muestra es elevada (reflejado en una alta absorción del CDOM), la absorción entre 590 y 600 nm podría ser no nula, recomendando que cada investigador evalúe sus datos y determine cómo calcular el $\overline{OD}(n.v. cdom)$.



Debido a que los espectros de CDOM obtenidos con este protocolo se hacen en referencia a aire e incluyen el espectro del agua, es necesario restar el *null value* del agua antes de restar el blanco promedio. En cambio, la resta del $\overline{OD}(n.v.cdom)$ obedece a la necesidad de corregir los espectros por a causa de otros efectos ópticos que no se deban a la absorción del CDOM.

REFERENCIAS

- D'Sa, E. J., et al. (1999). "Determining optical absorption of colored dissolved organic matter in seawater with a liquid capillary waveguide." Limnol. Oceanogr. **44**(4): 1142-1148.
- Mitchell, B. G., M. Kahru, et al. (2003). Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Color Sensor Validation, Revision 4, . J. L. Mueller, G. S. Fargion and C. R. McClain. Greenbelt, Maryland 20771, NASA Goddard Space Flight Center, NASA/TM - 2003-. **IV**: 39-56.
- Mobley, C. D., E. Boss, et al. (2011). Ocean Optics Web Book.
- Nelson, N. B. and D. A. Siegel (2002). Chromophoric DOM in the open ocean. Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. C. A. Carlson, Academic Press: 547-578.
- Ruiz, M. G., V. Lutz, et al. (2017). "Spectral absorption by marine chromophoric dissolved organic matter: Laboratory determination and piecewise regression modeling." Marine Chemistry **194**: 10-21.