

SISTEMA FOTOELECTRONICO PARA TITULACIONES DE OXIGENO DISUELTO CON ALTA PRECISION Y SU APLICACION EN OCEANOGRAFIA BIOLOGICA

Cajal Medrano, R.

Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, MEXICO.

Mitrani Abenchuchan, E. y Castro Delgado, M.

Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, MEXICO.

RESUMEN

Se describe la construcción y empleo de un sistema portátil y de bajo consumo de energía para la medición de oxígeno disuelto en agua. Basado en la técnica de detección de la absorción de energía lumínica de 355 nm por el trioduro, este aparato permite la determinación del punto final de la titulación Winkler con gran precisión: 0.1% en muestras de agua y 0.09 a 0.04% en estándares, misma que se sitúa en el orden de la reportada en la literatura por autores y usuarios de instrumentos similares. La resolución y sensibilidad del aparato fueron probadas mediante un experimento de fotosíntesis con ^{14}C y oxígeno, encontrando buena concordancia entre ambas técnicas cuando se utiliza un valor adecuado del cociente fotosintético (PQ).

Este aparato de fácil construcción y adecuado para trabajos en el campo es muy útil en estudios de producción planctónica y metabolismo en la columna de agua.

ABSTRACT

The present paper describes the assemblage and employment of a portable and energetically low-demanding apparatus, designed to measure dissolved oxygen concentrations in the water. Its underlying technique is based in the absorption of light (wavelength = 355 nm) by the triiodate fraction of a Winkler titrating solution. The proposed design has allowed for an acceptable precision in water sample and standard solution titrations (0.1 % and 0.09 to 0.04 %, respectively). These results equal those reported by other workers using similar instruments. Resolution and sensibility were assessed by means of a ^{14}C and O_2 photosynthesis experiment; good accordance was found in between both sets of data, given the usage of a suitable photosynthetic quotient (PQ). Simplicity and sturdiness make this instrument very suitable for outdoor data gathering, as is often the case in the course of planctonic productivity and water column metabolism routines.

PALABRAS CLAVE/KEY WORDS: OXIGENO, OCEANOGRAFIA, HIDROLOGIA/ OXIGEN, OCEANOGRAPHY, HIDROLOGY.

INTRODUCCION

A pesar de que la determinación de oxígeno disuelto en el agua de mar ha sido siempre de gran utilidad en estudios oceanográficos, la precisión con la que se puede medir esta variable, ha limitado su uso como indicador de procesos metabólicos que producen y consumen el oxígeno en la columna de agua.

El método de titulación Winkler, usado por primera vez en el agua de mar en 1892, que desde entonces ha experimentado modificaciones menores y ha sido estudiado sistemáticamente, sigue siendo aún el método más preciso y exacto (Riley, 1975). Recientemente esta técnica ha sido modificada de tal manera que es posible la determinación rutinaria de oxígeno disuelto con

una precisión que puede ir desde 0.1 a 0.3% (Bryan *et al.* 1976; Hartwig y Michael 1978; Tijsen 1979; Williams y Jenkinson 1982; Friederich *et al.* 1984; Oudot *et al.* 1988).

Estas modificaciones significan un incremento notable en la precisión si se considera que la titulación Winkler normal y la llamada micro-Winkler en manos de expertos, ofrecen una precisión de 0.5-5% y 0.4-0.2% respectivamente sin considerar que en determinaciones rutinarias de un gran número de muestras, la precisión disminuye (Friederich *et al.* 1984).

El aumento en la precisión de la técnica ha probado ser de gran utilidad en estudios de respiración planctónica (Packard y Williams, 1981; Williams 1981; Holligan *et al.* 1984; Smith *et al.*

1986), y en estudios de fotosíntesis y productividad primaria. En estos últimos estudios, esta mejora en la precisión ha explicado parcialmente la aparente discrepancia entre las técnicas de oxígeno y ^{14}C (Williams *et al.* 1979; Williams *et al.* 1983; Davies y Williams 1984, Fuhrman *et al.* 1985; Smith *et al.* 1987; Bender *et al.* 1987)

Tomando en cuenta estos resultados se construyó un sistema portátil de titulación Winkler de gran precisión, para la realización de estudios de fotosíntesis y respiración en la columna de agua.

La precisión del sistema fue probada durante su operación rutinaria de estandarización de reactivos y titulación de muestras de agua en el campo y en embarcaciones. Adicionalmente se diseñó un experimento de fotosíntesis para comparar el desempeño del aparato con técnicas más precisas como la del ^{14}C . Se calcula el cociente fotosintético y se comparan ambas técnicas.

En este trabajo se describe el sistema de titulación construido (basado en Bryan *et al.* 1976), se analizan todas las modificaciones realizadas y se incluye la información necesaria para que puedan construirse sistemas iguales o similares.

MATERIALES Y METODOS

De manera similar a Bryan *et al.* (1976), el funcionamiento del aparato está basado en la detección fotoelectrónica de la absorción de energía lumínica de 355 nm por el triyoduro. Con ayuda de un graficador (LINEAR mod. 142) se traza una curva de cantidad de luz transmitida contra volumen de tiosulfato agregado. El punto final de la titulación corresponde al punto de inflexión de esta curva.

La titulación se realiza en la misma botella donde se colecta la muestra o que se utiliza como cámara de incubación, reduciendo así la volatilización del yodo (Green y Carritt 1966).

El sistema fue diseñado para titular botellas de borosilicato de 150 ml de volumen nominal, o botellas del tipo DBO de un volumen aproximado de 350 ml.

La fuente luminosa del sistema es un foco de 5.5 V@1A del tipo utilizado en las lámparas sordas, en lugar del foco para microscopio utilizado por Bryan *et al.* (1976) y Williams y Jenkinson (1982) y el de luz UV usado por Hartwig y Mi-

chael (1978) y Friederich *et al.* (1984), con lo que se disminuye notablemente el consumo de potencia. La intensidad luminosa de esta fuente se mantiene constante mediante un lazo de regulación

El haz luminoso es proyectado directamente sobre la botella con la muestra o en su caso un estándar de yodato de potasio. De ahí se proyecta a un filtro óptico pasabanda (ANDOVER 350 FS10-25 DE 350 nm de frecuencia central y 10 nm de ancho de banda) y finalmente, al fotodetector (foto diodo Siemens SFH 100).

Como puede observarse en la Figura 1 el sistema no cuenta con lentes o concentradores de ningún tipo debido a que la irregularidad de las botellas utilizadas dificultaría mucho la obtención de un punto focal más o menos estable.

El empleo de un filtro óptico permite la utilización de un detector de banda ancha de tipo semiconductor, mismo que no requiere de los altos voltajes necesarios por las celdas fotovoltaicas empleadas en otros dispositivos (Bryan *et al.* 1976 Williams y Jenkinson 1982; Friederich *et al.* 1984), dando por resultado una nueva disminución en el consumo eléctrico y en la complejidad del instrumento.

La adición del tiosulfato se hace mediante una microbureta Gilmont de 2.5 ml de capacidad con una exactitud de $\pm 0.04\%$ y con divisiones de 1 μl . Debido a la reacción química entre el tiosulfato agregado y el triyoduro presente en la botella, este último es consumido gradualmente dejando pasar cada vez más luz de 355 nm de longitud de onda. Para acelerar esta reacción y mantener una solución uniforme, el dispositivo cuenta con un agitador magnético cuya velocidad es controlada mediante un potenciómetro.

La energía eléctrica es suministrada al sistema mediante un acumulador recargable de 12 volts y 80 AH; con el que dispone de una autonomía de funcionamiento superior a 60 horas.

Las titulaciones de oxígeno disuelto fueron realizadas con el aparato descrito anteriormente y los reactivos, el orden de adición y su concentración es la misma que la descrita en Carritt y Carpenter (1966), excepto que la normalidad del tiosulfato en este caso es de 0.5 N y no es necesario el uso de almidón como indicador.

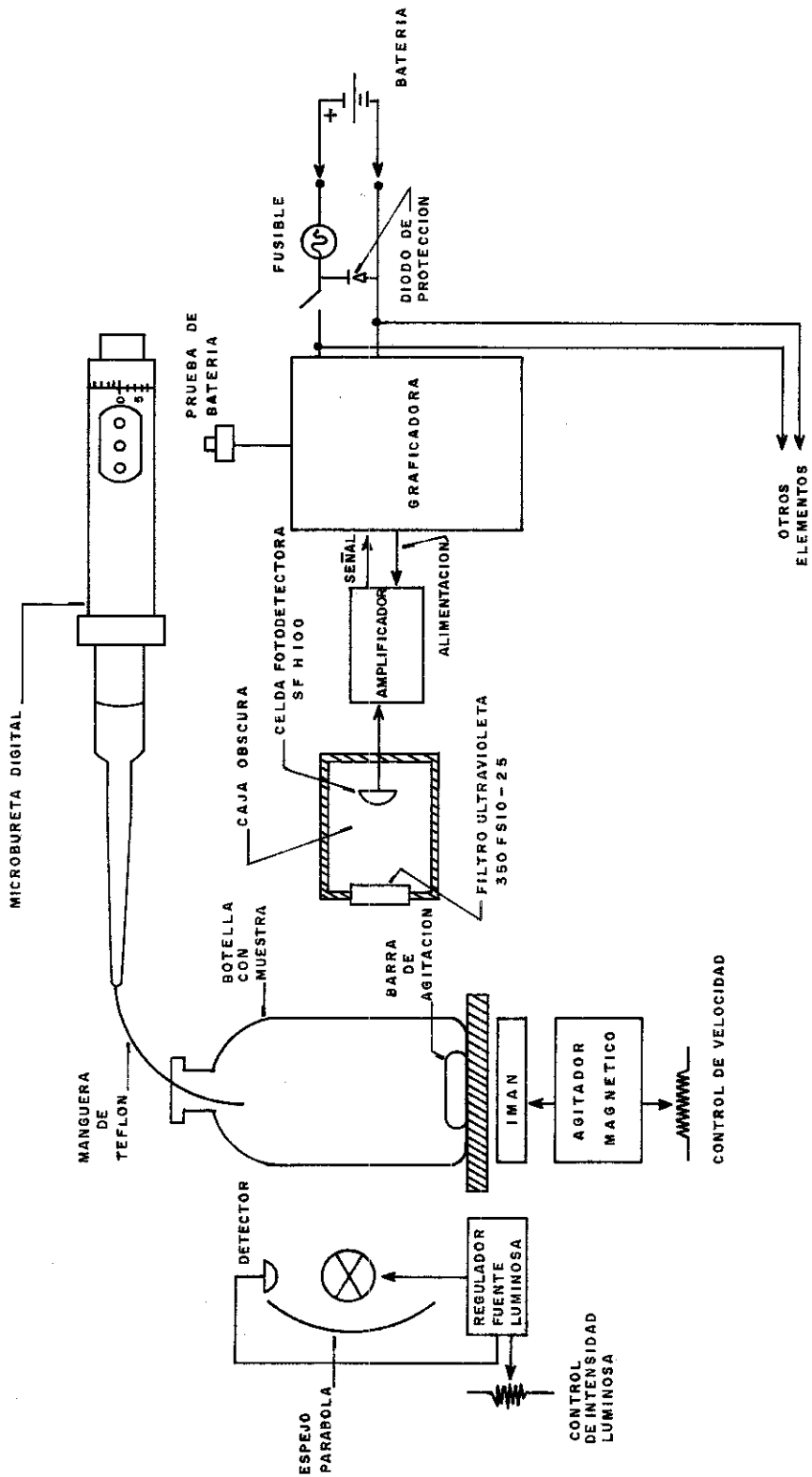


FIGURA 1. Sistema fotoelectrónico para titulaciones de oxígeno disuelto.

La estandarización de la solución de tiosulfato se hace de acuerdo a Carritt y Carpenter (1966) titulando con tiosulfato 0.5 N una solución estándar de yodato de potasio 0.01 N de la manera siguiente. A una botella de 150 ml de borosilicato se le agregan 10 ml de la solución estándar y un volumen de agua necesario para incrementar el volumen y poder titular (comunmente se llena la botella hasta 0.5 cm por debajo del cuello). Se agrega 1 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de la solución alcalina de yoduro de sodio e hidróxido de sodio y se titula.

La determinación del testigo o blanco es necesaria para calcular el efecto de reacciones productoras o consumidoras de yodo y se hace pipeteando 1 ml de yodato de potasio 0.01N en una botella limpia. Se le agrega agua destilada y 1 ml de ácido sulfúrico, 1 ml de la solución alcalina y se mezcla. Se agrega la solución de cloruro manganoso y se titula con tiosulfato. Sin sacar la botella del sistema se agrega otro mililitro de yodato de potasio 0.01N y se titula. La diferencia entre la primera y segunda titulación es el testigo.

Todas las titulaciones son realizadas en las botellas de colecta de la muestra o las de incubación que pueden ser botellas del tipo DBO o botellas para reactivo de borosilicato de 150 ml de volumen nominal, mismas que son usadas en el método del ^{14}C .

Todas las botellas fueron marcadas y su volumen fue determinado gravimétricamente con una precisión de ± 0.09 ml. El conocimiento del volumen exacto de las botellas es estrictamente necesario pues la precisión de la técnica depende directamente de la reducción de los errores volumétricos (Williams y Jenkinson 1982).

Para el experimento de fotosíntesis fueron utilizadas células de un cultivo de *Phaeodactylum tricoratum*, creciendo en un medio cuya única fuente de nitrógeno fue el NO_3^- a una concentración de 5.3×10^{-3} ug at N/l.

Se tomó 1 ml. del cultivo cuya densidad celular fue de 12.6×10^6 cel. /ml y se inocularon 15 botellas de 150 ml para las determinaciones de oxígeno, y otras 9 botellas adicionales para la determinación con ^{14}C . La densidad celular resultante es en el mismo orden de magnitud de la encontrada en aguas superficiales costeras (Azam y Ammerman 1984).

Las botellas de oxígeno y ^{14}C fueron incubadas a 100, 44 y 17.6% de intensidad luminosa ($62.56, 27.56$ y $10.67 \text{ uE/m}^2/\text{seg}$ respectivamente), y el tiempo de incubación fue de 3.1-3.23 horas para el oxígeno y 3.1-3.67 para el ^{14}C .

Las titulaciones Winkler fueron realizadas con el aparato descrito anteriormente, tomando los valores de las botellas claras y oscuras. La incorporación del bicarbonato radiactivo fue determinado de acuerdo a Strickland y Parsons (1972).

RESULTADOS Y DISCUSION

La precisión lograda con el presente aparato durante la titulación de estándares está en el intervalo de 0.04-0.09% (Tabla 1). La reducción de la precisión en la titulación de muestras de agua es del orden de 2.5 a 7.5 veces (Tabla 2). Este mismo problema ha sido discutido por Friederich *et al.* (1984), quienes encuentran una reducción en la precisión hasta de 6 veces durante la titulación de muestras de agua. Las muestras de agua tituladas normalmente, son muestras no homogéneas y de allí su mayor variabilidad (Friederich *et al.* 1984). Sin embargo, el procedimiento empleado para la titulación de las muestras estándares difiere también en que la adición de reactivos en la estandarización involucra la adición de un reactivo menos que en la titulación de muestras y por lo tanto el error volumétrico se reduce.

Williams y Jenkinson (1982) concluyen a este respecto que son los errores volumétricos y no los de la detección del punto final de la titulación lo que limitan a sistemas similares al descrito en este trabajo. Friederich *et al.* (1984), también concluyen lo mismo en relación a los errores volumétricos. No obstante lo anterior, los errores volumétricos y la variabilidad natural de las muestras no son los únicos factores que afectan a la precisión de la técnica. Carritt y Carpenter (1966), dieron una descripción completa de los problemas analíticos que se presentan al utilizar la técnica Winkler y que adicionalmente reducen su precisión.

De acuerdo a Carritt y Carpenter (1966), un pH inferior a 2 en la muestra después de agregar el ácido favorece la oxidación del yoduro a yodo y por lo tanto su volatilización. Durante un experimento de estandarización se detectó que una vez agregado el ácido, el pH de la solución era de 1.8

TABLA 1. Precisión de la titulación durante la estandarización del sistema.

TIOSULFATO CONSUMIDO (ml)	TIOSULFATO CONSUMIDO (mg)	EQUIVALENTES DE OXIGENO (gr)	COEFICIENTES DE VARIACION (%)
0.1716	24.882	0.6864	0.04
0.1714	24.853	0.6856	
0.1715	24.868	0.6860	
0.1715	24.868	0.6860	
0.1715	24.868	0.6860	
0.1688	24.476	0.6752	0.09
0.1685	24.433	0.6740	
0.1688	24.476	0.6752	
0.1689	24.491	0.6756	
0.1686	24.447	0.6744	
0.1684	24.418	0.6736	0.08
0.1683	24.404	0.6732	
0.1682	24.389	0.6728	
0.1680	24.360	0.6720	
0.1681	24.375	0.6724	

TABLA 2. Precisión de la titulación durante las determinaciones de oxígeno disuelto en agua de mar.

CONCENTRACION DE OXIGENO (mg/l)	COEFICIENTE DE VARIACION (%)	DESVIACION ESTANDAR Π_n	CONCENTRACION PROMEDIO (mg/l)
7.440	0.1	0.011	7.447
7.450			
7.469			
7.437			
7.453			
7.440			
7.440	0.3	0.025	7.067
7.063			
7.061			
7.071			
7.070			
7.110			
7.026			

TABLA 3. Disminución de la precisión con el decremento en la concentración de oxígeno disuelto.

PROFUNDIDAD DE LA MUESTRA (m)	CONCENTRACION DE OXIGENO (mg/l)	COEFICIENTE DE VARIACION (%)	DESVIACION ESTANDARD σ_n
100	3.300	0.7	0.024
	3.357		
	3.329		
	3.357		
1000	1.600	2.5	0.041
	1.557		
	1.614		
	1.671		
1.650	1.017	3.1	0.030
	0.934		
	0.963		
	0.984		

y la precisión de esa titulación de 0.4%. Se procedió a ajustar la normalidad de la solución de ácido y con la nueva solución se repitió la experiencia encontrando un pH de 2.2 y una precisión de 0.08%.

Por lo tanto el volumen y normalidad del ácido empleados deben ser cuidados y todas las recomendaciones hechas por Carritt y Carpenter (1966) deben ser seguidas si se desea obtener la máxima precisión posible.

En el trabajo de campo están presentes factores adicionales como son muestras no homogéneas y el intervalo de temperatura ambiental tan amplio que influyen en los resultados obtenidos con el método Winkler. La temperatura afecta a la constante de disociación del ion triyoduro siendo ésta más grande conforme aumenta la temperatura.

De acuerdo a Carritt y Carpenter (1966) esta variación es lo suficientemente grande para producir variación significativa en las pérdidas por volatilización y también conduce a errores volumétricos (Williams y Jenkinson 1982).

Aunque este pudiera ser un problema menor en el trabajo a bordo de un barco, es un problema serio en el trabajo de campo en lagunas costeras,

donde no siempre se tiene control sobre la temperatura de las soluciones.

A diferencia de los errores volumétricos, impurezas o contaminación en los reactivos y control del pH, para los cuales existe solución, el control de la temperatura es un problema más difícil de resolver. Hasta el momento no se ha evaluado este efecto en la precisión del sistema descrito, pero el sistema más preciso reportado (Williams y Jenkinson 1982), tiene control sobre la temperatura del tiosulfato y recomiendan realizar correcciones de diferencias de volumen por temperatura si la temperatura a la que se fija la muestra difiere en más de un grado centígrado de la otra.

La precisión del aparato fue probada a diferentes concentraciones de oxígeno en muestras de agua obtenidas desde los 100 metros hasta profundidades de 1650 metros en la Cuenca de Guaymas en el Golfo de California (Tabla 3).

Cabe esperar que el coeficiente de variación de cualquier técnica Winkler disminuya con la disminución de la concentración del oxígeno disuelto. Sin embargo, aún en concentraciones bajas como las encontradas a 1650 metros de profundidad, la precisión obtenida de 3% es mejor que la que se obtiene con el método Winkler convencional, pues sólo en condiciones óptimas se obtiene

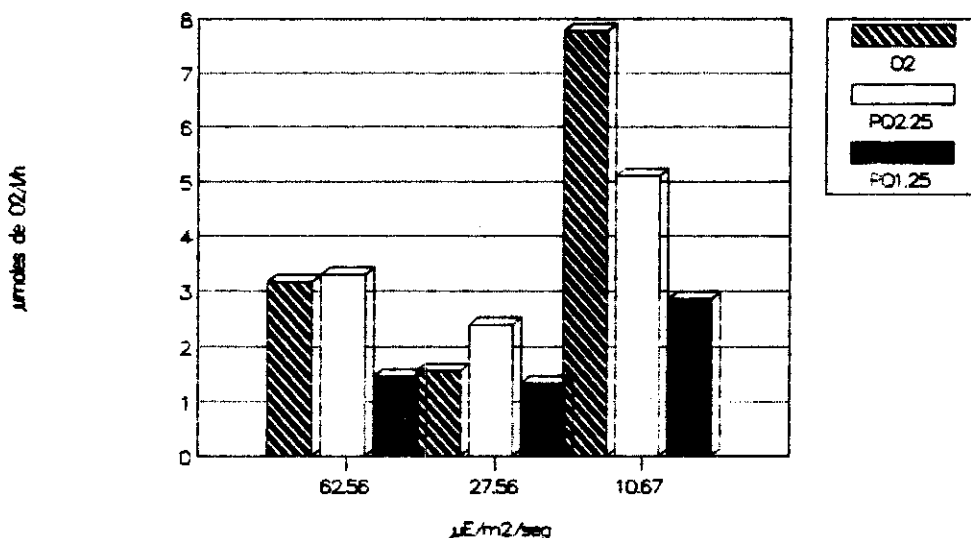


FIGURA 2. Fotosíntesis contra intensidad de luz con ambos métodos, carbono catorce y oxígeno usando diferentes valores para el PQ. Los valores de ¹⁴C convertidos a valores de oxígeno usando 2.25 y 1.25 como valores del PQ.

el intervalo de máxima precisión de 0.5-5% (Carpenter 1965).

Adicionalmente, la precisión del aparato fue probada con un experimento de fotosíntesis como se describió anteriormente, mediante la comparación de la información obtenida con el método de oxígeno y de ¹⁴C.

Para que las comparaciones entre ambos métodos tengan algún significado es necesario considerar el efecto que tiene el estado de oxidación de la fuente de nitrógeno sobre el cociente fotosintético (PQ). Ha sido demostrado por Williams *et al.* (1979), Williams *et al.* (1983), Raine (1983), Davies y Williams (1984) y Laws (1990), que la discrepancia entre ambos métodos, se debe parcialmente, a que el valor del cociente fotosintético de 1.25 (originalmente propuesto por Ryther y Vaccaro 1954) corresponde a la asimilación de una fuente de nitrógeno reducida como el amonio. De acuerdo a Davies y Williams (1984), aunque existen otros factores que pueden hacer la concordancia entre ambos métodos difícil, la selección del PQ es, quizás, el más importante.

Para el experimento de fotosíntesis se seleccionó al NO₃ como única fuente de nitrógeno. De

acuerdo a esto la asimilación del nitrógeno en nuestro experimento debe de obedecer la relación estequiométrica:



por lo que cabría esperar un cociente fotosintético cercano a 2 (Williams *et al.* 1979).

El cociente fotosintético en nuestro experimento fue calculado mediante una regresión lineal, de manera análoga al procedimiento empleado por Megard *et al.* (1985) para calcular cocientes de asimilación.

La regresión fue realizada con los valores de las tres réplicas de los experimentos simultáneos de ¹⁴C y O₂ (Tabla 4). La ecuación de la recta obtenida es $y = 2.25(x) - 0.07692$ donde el valor de la pendiente es de 2.25 ± 0.62 , es significativa al 5% y corresponde a la razón molar $+d\text{O}_2 / -d\text{C}^{14}\text{O}_2$ ó cociente fotosintético.

Usando los valores del PQ calculado (2.25) y el usado convencionalmente (1.25) se convirtieron los valores de ¹⁴C a valores de oxígeno y se compararon con los de fotosíntesis bruta (Fig. 2). Claramente se observa una mayor concordancia

TABLA 4. Evolución de oxígeno y fijación de bióxido de carbono en un cultivo de *Phaeodactylum tricornutum* a diferentes intensidades de luz.

LO %	EVOLUCION DE OXIGENO ($\mu\text{mol/l/h}$)	FIJACION DE $^{14}\text{CO}_2$ ($\mu\text{mol/l/h}$)
100	1.75	0.638
	1.063	0.392
	0.230	0.381
	(1.014+0.62)	(0.470+0.119)
44	0.691	0.394
	0.647	0.340
	0.169	0.295
	(0.502+0.236)	(0.343+0.0640)
16	0.250	0.054
	0.469	0.141
	0.028	0.025
	(0.249+0.180)	(0.073+0.049)

(los valores entre paréntesis corresponden al valor promedio y su desviación estándar)

entre la técnica del ^{14}C y de la evolución de O_2 cuando el valor del PQ seleccionado corresponde al esperado por la influencia de la fuente de nitrógeno. Esto mismo ha sido demostrado ampliamente por otros investigadores (Williams *et al.* 1979, Williams *et al.* 1983; Raine 1983, Davies y Williams 1984), quienes también encuentran una mejor concordancia entre las técnicas de oxígeno y ^{14}C cuando la exudación de carbón orgánico y otros factores se toman en cuenta (Davies y Williams 1984)

Estos resultados indican que los sistemas como el descrito en este trabajo pueden resultar particularmente útiles en las investigaciones sobre el PQ. Recientemente se ha demostrado que los diferentes valores del PQ encontrados, lejos de ser un problema para la comparación de los métodos de ^{14}C y oxígeno, resulta una variable que provee información fisiológica y ecológica importante en estudios del ciclo del carbón orgánico en los primeros niveles tróficos. (Holligan *et al.* 1984; Smith *et al.* 1986 y Megard *et al.* 1985).

CONCLUSIONES

El sistema descrito ofrece una precisión que está dentro del intervalo obtenido por sistemas si-

milares y reportado en la literatura y aunque no es automático -su diseño le permitiría serlo en el futuro-, su costo es inferior al de versiones automáticas como las de Frederich *et al.* (1984), Williams y Jenkinson (1982) y Oudot *et al.* (1988) (Tabla 5).

Las modificaciones que se le hicieron al sistema original descrito por Bryan *et al.* (1976) como son: la eliminación de lente para concentrar la luz en la botella, el empleo de un fotodetector de estado sólido y la sustitución del foco de microscopio, disminuyen su complejidad y hacen a este sistema más barato y fácil de construir. Adicionalmente su bajo consumo de energía le permite ser usado por períodos de tiempo más prolongado.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaría de Educación Pública el apoyo económico otorgado para el desarrollo del presente proyecto mediante Convenios No. 085-02-0338 y 086-01-119, sin el cual la construcción del aparato no hubiera sido posible.

Al Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la U.A.B.C. por haber facilitado su laboratorio de electrónica.

TABLA 5. Comparación de la precisión obtenida con el presente aparato y otras similares.

Sistema	Autor	Precisión (coeficiente de variación *)
Titulación manual "microwinkler"	Carpenter 1966	0.2%
Detección fotoelectrónica titulación manual	Bryan <i>et al.</i> 1976	0.03 - 0.1%
Detección fotoelectrónica titulación manual	Hartwig y Jeffery 1976	0.06 - 0.4%
Titulación colorimétrica	Tijssen 1979	0.03 - 0.1%
Detección fotoelectrónica titulación automática controlada con microprocesador	William y Jenkinson 1962	0-03 - 0.1%
Detección fotoelectrónica titulación automática, controlada con microcomputadora	Friederich <i>et al.</i> 1984	0.18% (con muestras) 0.03% (con muestras)
Titulación potenciométrica	Oudot <i>et al.</i> 1988	0.04 (con estándares) 0.1% (con muestras)
Detección fotoelectrónica titulación manual	Presente trabajo	0.1-0.3% (con muestras) 0.04-0.09% (con estándares)

(*) Precisión reportada en manos de analistas muy experimentados, (Friederich *et al.* 1984).

Las críticas y comentarios de dos revisores anónimos contribuyeron con la mejor presentación de este trabajo.

LITERATURA CITADA

AZAM, F., y J.W. AMMERMAN. 1984. Cycling of organic matter by bacterioplankton in pelagic marine ecosystems: Microenvironmental Considerations. Ed: Fasham M.J.R. (ed). *Flows of Energy and Materials in Marine Ecosystems*. Plenum Press, New York.

BENDER, M., K. GRANDE, K. JOHNSON, J. MARRA, P.J. LE B. WILLIAMS, J. SIEBURTH, H. PILSON, C. LANGDON, C. HITCHCOCK, J. ORCHARD, C. HUNT, P. DONAGHY y K. HEINEMANN. 1987. A comparison of four methods for determining planktonic community production. *Limnology and Oceanography*, 32 (5): 1085-1098.

BRYAN, J. R., J.P. RILEY, y P.J. LE B. WILLIAMS, 1976. A winkler procedure for making precise measurements of oxygen concentration for productivity and related studies. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 21: 191-197.

- CARPENTER, J.H. 1965. The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis. *Limnology and Oceanography* 10: 135-140.
- CARRITT, D.E. y J.H.CARPENTER. 1966. Comparison and an evaluation of currently employed modifications of the Winkler method for determining dissolved oxygen in seawater: A NASCO report. *Journal of Marine Research* 24: 286-318.
- DAYJES, J.M. y P.J. LE B. WILLIAMS, 1984. Verification of ^{14}C and O_2 derived primary production measurements using an enclosed ecosystem. *Journal of Plankton Research* 6: 457-474.
- FRIEDERICH, G. E., P. SHERMAN. y L.A. CODISPOTI. 1984. A high precision automated Winkler titration system based on an Hp-85 com85 computer, a simple colorimeter, and an inexpensive electromechanical buret. *Bigelow Laboratory for Ocean Sciences Technical Report* 42,1-24
- FUHRMFUHRMAN, J.A., W.R. EPPLEY, A. HAGSTROM y F. AZAM. 1985. Diel variations in bacterioplankton, phytoplankton and related parameters in the Southern California Bight. *Marine Ecology Progress Series*. 27:9-20.
- HARTWIG E. O., y J. MICHAEL. 1978. A sensitive photoelectric Winkler titrator for respiration measurements. *Environmental Science and Technology*. 12 (6): 712-715.
- HOLLIGAN, P.M., P.J. LE B. WILLIAMS, D. PURDIE y R.P. HARRIS. 1984. Photosynthesis, respiration and nitrogen supply of plankton populations in stratified, frontal and tidally mixed shelf waters. *Marine Ecology Progress Series*. 17: 201-213.
- LAWS, A.E. 1990. Photosynthetic quotients, new production and net community production in the open ocean. *Deep Sea Research*. 143-167.
- MEGARD, R. O., T. BERMAN, P.J. CURTIS y P.W. VAUGHMAN. 1985. Dependence of phytoplankton assimilation quotients of light and nitrogen source: implications for oceanic primary productivity. *Journal of Plankton Research*. 7 (5): 691-702.
- OUDOT, C., R. GERARD, P. MORIN y I. GNINGUE. 1988. Precise shipboard determination of dissolved oxygen (Winkler procedure) for productivity studies with commercial system. *Limnology and Oceanography*. 33: 146-150.
- PACKARD, T.T. y P. J. LE B. WILLIAMS. 1981. Rates of respiratory oxygen consumption and electron transport in surface seawater from the northwest Atlantic. *Oceanologica Acta* 4 (3): 351-358.
- RAINE, R. C. T. 1983. The effects of nitrogen supply on the photosynthetic quotient of natural phytoplankton assemblages. *Botanica Marina*. 26:417-423.
- RILEY, J.P. 1975. Analytical chemistry of sea water. En J.P. Riley y G.Skirrow (Eds.). *Chemical Oceanography*. Edición. 193-477 pp.
- RYTHER, J.H. y R. F. VACCARO 1954. A comparison of the oxygen and ^{14}C methods of measuring photosynthesis. *J. Cons. Explor. Mar.* 20: 25-37.
- SMITH R. E. H., W. G. HARRISON, B. IRWIN y T. PLATT 1986. Metabolism and carbon exchange in microplankton of the Grand Banks (Newfoundland). *Marine Ecology Progress Series*. 34: 171-183.
- STRICKLAND, J.H.D. y T.R. PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Board Can. Bull.*, 167:310 pp.
- TJUSSEN, S. B. 1979. Diurnal oxygen rhythm and primary production in the mixed layer of the Atlantic Ocean. at 20 degrees N. Netherlands. *Journal of Sea Research*. 13: 79-84.
- WILLIAMS, P.J. LE B., R.C.T. RAINE, y J. R. BRYAN. 1979. Agreement between the ^{14}C and oxygen methods of measuring phytoplankton production: reassessment of the photosynthetic quotient. *Oceanologica. Acta* 2 (4): 411-416.
- WILLIAMS, P.J. LE B. 1981. Microbial contribution to overall marine plankton metabolism: direct measurements of respiration. *Oceanologica. Acta* 4(3): 359-364.
- WILLIAMS, P.J. LE B., y N.W. JENKINSON. 1982. A transportable microprocessor-controlled precise Winkler titration suitable for field station and shipboard use. *Limnology and Oceanography*. 27(3): 576-584.
- WILLIAMS, P.J. LE B., K.R. HEINEMANN, J. MARRA, y D. PURDIE. 1983. Comparison of ^{14}C and O_2 measurements of phytoplankton production in oligotrophic waters. *Nature* 305: 49-50.

Recibido: Septiembre, 1991

Aceptado: Enero, 1992