

Análisis de nutrientes en aguas estuáricas. Efecto de la salinidad

Nutrient analysis in estuarine water. Effect of salinity

M. Arjonilla*
J. Blasco

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC)
Campus Río San Pedro
11510 Puerto Real, Cádiz, España
*E-mail: manuel.arjonilla@icman.csic.es

Recibido en noviembre de 2001; aceptado en diciembre de 2002

Resumen

Los equipos automatizados de flujo continuo son instrumentos frecuentes en el análisis de nutrientes en laboratorios costeros y en buques oceanográficos. La determinación de la concentración de los micronutrientes (amonio, nitritos, nitratos, silicatos y fosfatos) requiere la evaluación precisa de aquellas variables que pueden que afectar a su medida. En este sentido, la salinidad es un parámetro que es necesario considerar, habida cuenta del amplio intervalo de variación que puede presentar en ecosistemas estuáricos, entre 0 y 36. En este trabajo se analiza el efecto de este parámetro en la determinación de los nutrientes: amonio, nitritos, fosfatos y silicatos. Los resultados analizados ponen de manifiesto que este parámetro no afecta a la medida de nitritos y fosfatos, mientras que sí lo hace para el amonio y silicato. Se señalan también aplicaciones prácticas a la medida de nutrientes en muestras en un amplio intervalo de salinidad.

Palabras clave: amonio, nitritos, fosfatos, silicatos, salinidad, autoanalizador.

Abstract

The continuous flow autoanalyzer is an instrument commonly used for nutrient analysis in coastal laboratories and oceanographic vessels. The determination of micronutrient concentrations (ammonium, nitrites, nitrates, silicates and phosphates) makes it necessary to evaluate precisely how variables can affect this measure. In this sense, salinity is a parameter which must be considered, due to its wide range of variation (0–36) in estuarine ecosystems. In this work, the effect of salinity on nutrient (ammonium, nitrites, silicates and phosphates) determination is analyzed. The results show that salinity does not affect the measure of nitrites and phosphates, whereas ammonium and silicates are affected. Practical considerations of nutrient measurement with samples of different salinities are pointed out.

Key words: ammonium, nitrites, phosphates, silicates, salinity, autoanalyzer.

Introducción

La introducción, en la década de los sesenta de equipos automatizados de flujo continuo para el análisis de nutrientes en muestras de aguas naturales (Brewer y Riley, 1965, 1966, 1967; Chan y Riley, 1966; Armstrong *et al.*, 1967) significó una auténtica revolución en el procesamiento de muestras dado lo tedioso que resultaba la utilización de la metodología manual tradicional cuando el número de éstas era muy elevado. Estos autoanalizadores proporcionaron un considerable ahorro en los volúmenes de las muestras y los reactivos necesarios para la realización de los análisis, y permitieron aumentar considerablemente la velocidad de las determinaciones y, por consiguiente, también su número. La robustez con que fueron diseñados estos equipos les permitió incluso poder embarcarlos para la realización de campañas oceanográficas (Brewer y Riley, 1967). Muchos de estos modelos primitivos están aún en

Introduction

The introduction in the 1960s of continuous flow autoanalyzers for the analysis of nutrients in natural waters (Brewer and Riley, 1965, 1966, 1967; Chan and Riley, 1966; Armstrong *et al.*, 1967) brought about a real change in the processing of samples, given the tedious nature of traditional manual methods when many samples were involved. Analyses using these autoanalyzers required fewer samples and reagents, and the speed with which the determinations were made increased considerably, as did their number. These hardy instruments could be taken on board ship and used during the oceanographic campaigns (Brewer and Riley, 1967). Many of the first models are still being used with only minor modifications and they are still very valuable tools.

In the late 1980s, the segmented flow autoanalyzers appeared (known as third generation autoanalyzers). They are

operación con muy pocas modificaciones y siguen siendo herramientas muy valiosas.

A finales de la década de los ochenta aparecieron los autoanalizadores de flujo continuo segmentado, denominados de tercera generación. Estos equipos no representan una gran innovación desde el punto de vista analítico, aunque incluyen algunas mejoras tecnológicas como es el empleo de tubos de diámetro más pequeño y el empleo de un sistema que no necesita eliminar las burbujas de la muestra antes de su entrada en la celda de medida. Ambas modificaciones consiguen mejorar sensiblemente la velocidad de análisis; e incorporan también una célula de medida que elimina las superficies curvas de los equipos anteriores (Froelich y Pilson, 1978), hecho que minimiza las pérdidas de radiación. La inclusión de la gestión del sistema por *software*, que permite la corrección de la deriva de línea base y el almacenamiento de los datos para su posterior procesamiento junto con el empleo de sensores de fibra óptica contribuyen a la mejora de los equipos empleados hasta el momento. No obstante, pese a los avances que este tipo de equipos ha supuesto, deben tenerse en cuenta algunas precauciones cuando se analizan muestras de diferente naturaleza. En este sentido, la salinidad es un parámetro a considerar de manera específica.

La salinidad es un parámetro cuyo intervalo de variación no es amplio en el agua de mar, siendo usuales en los ecosistemas costeros valores entre 34 y 36. No obstante, esta situación es radicalmente distinta en los estuarios, donde las mezclas de agua de río con agua de mar proporcionan intervalos de variación muy amplios (0–36). Para este tipo de muestras es necesario, por tanto, realizar un análisis cuidadoso del efecto de la salinidad sobre la determinación de la concentración de nutrientes con estos nuevos equipos. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto que la salinidad tiene sobre la determinación de los micronutrientes amonio, nitritos, fosfatos y silicatos en estos sistemas automatizados y su importancia en el análisis de muestras estuáricas.

Materiales y métodos

Los métodos analíticos empleados para la determinación de los nutrientes amonio, nitritos, fosfatos y silicatos han sido descritos previamente (Arjonilla *et al.*, 1991) y básicamente son una adaptación de la metodología descrita por Grasso *et al.* (1983) para el autoanalizador Technicon AAI. Los nitritos se determinan mediante una reacción de diazotación con sulfanilamida y N-1-naftiletildiamina (Shinn, 1941); la determinación del silicato se basa en la reacción con molibdato amónico y ácido ascórbico (Mullin y Riley, 1955), minimizando la interferencia del fosfato con el ácido oxálico; la del amonio se basa en la reacción del indofenol, usando nitroprusiato como catalizador (Harwood y Huyser, 1970) y en ella algunos autores sustituyen el hipoclorito por dicloroisocianurato sódico con idénticos resultados (Krom, 1980). La

not particularly innovative from an analytical point of view, but they do include technological improvements, such as the use of tubes that are smaller in diameter and a system that does not require the sample to be debubbled before it is introduced into the measuring cell. Both these modifications have helped to increase the speed of the analyses. These autoanalyzers also have a measuring cell that eliminates the curved surfaces of the previous instruments (Froelich and Pilson, 1978), which has reduced losses due to radiation. The introduction of software, which allows the correction of the shift of the base line and storage of data, as well as the use of fiber optic sensors have helped to improve the instruments used to date. Nevertheless, despite these advances, some precautions are necessary when different types of samples are analyzed. In this sense, salinity is a parameter that requires specific consideration.

Salinity does not present a wide range of variation in seawater; in coastal ecosystems values typically range from 34 to 36. However, this situation is very different in estuaries, where the mixing of river water and seawater results in a wide range of variation (0–36). For the latter type of samples, therefore, it is necessary to carry out careful analyses of the effect of salinity on the measurement of nutrient concentrations with these new instruments. This study aims to analyze the effect of salinity on the determination of ammonium, nitrites, phosphates and silicates with these automated systems and its importance in the analysis of estuarine samples.

Materials and methods

The analytical methods used to determine ammonium, nitrites, phosphates and silicates can be found in Arjonilla *et al.* (1991), and they are basically an adaptation of the methods described by Grasso *et al.* (1983) for the Technicon AAI autoanalyzer. The determination of nitrites is based on a reaction of diazotation with sulfanilamide and N-1-naphthylethylenediamine (Shinn, 1941). Silicate is determined based on the reaction with ammonium molybdate and ascorbic acid (Mullin and Riley, 1955), minimizing the interference of phosphate with oxalic acid. Ammonium is based on the reaction of indophenol, using nitroprusiate as catalyzer (Harwood and Huyser, 1970); some authors substitute hypochlorate with sodium dichloroisocyanurate and obtain identical results (Krom, 1980). Phosphate is determined based on the reaction with ammonium molybdate and antimony potassium tartrate (Stephens, 1963). The salinity of the samples was determined using a RS10 Beckman induction salinometer.

To evaluate the effect of salt on the nutrient determinations with these automated systems, two tests were made. In the first, standards of different preestablished concentrations of nitrite, silicate, ammonium and phosphate were measured, to which increasing amounts of NaCl were added to simulate salinities between 0 and 36. The reference standards were prepared with Milli-Q water. In the second, and in order to generalize the results obtained to real samples, a stock

determinación del fosfato se basa en la reacción con molibdato amónico y tartrato antimónico potásico (Stephens, 1963). La salinidad de las muestras se determinó mediante el empleo de un salinómetro de inducción Beckman mod. RS10.

Con el fin de evaluar el efecto que tiene la sal sobre las determinaciones de los nutrientes en este tipo de sistemas automatizados se han llevado a cabo dos tipos de ensayos. En el primero se midieron patrones de distintas concentraciones pre-establecidas de nitrito, silicato, amonio y fosfato, a los cuales se añadieron cantidades crecientes de NaCl para simular salinidades entre 0–36. Los patrones de referencia se prepararon con agua Milli-Q. En un segundo ensayo, y con el fin de generalizar los resultados obtenidos a muestras reales, se preparó una solución stock conteniendo los cuatro nutrientes (amonio, nitritos, fosfatos y silicatos), con agua de mar natural procedente de la Bahía de Cádiz ($S = 37.341$), de bajo contenido en nutrientes. A partir de esta disolución se prepararon distintas soluciones por dilución sucesiva con agua Milli-Q. Los patrones de referencia se prepararon con la misma agua litoral.

Resultados y discusión

En la figura 1a y b se representa la variación en la concentración de nitritos y fosfatos, en función de la concentración de NaCl. Para el intervalo de concentración ensayado, no se observó ningún efecto sobre la medida de la concentración. En el caso del amonio (fig. 1c) sí se aprecia una influencia de la

solution was prepared. This solution contained the four nutrients (ammonium, nitrites, phosphates and silicates) and natural seawater from the Bay of Cádiz ($S = 37.341$), low in nutrients. From this solution, several solutions were prepared by consecutive dilution with Milli-Q water. The reference standards were prepared with the same seawater.

Results and discussion

The variation in the concentration of nitrites and phosphates in terms of the concentration of NaCl is presented in figure 1a and b; it can be observed that, for the concentration range used, there was no effect on the measure of concentration. In the case of ammonium (fig. 1c), the amount of NaCl was found to have an effect. All the samples that contained NaCl, even if in different amounts, presented the same signal, which was greater than that shown by the reference standards (that did not contain NaCl). In order to verify the results, in the case of the $50 \mu\text{M}$ NH_4^+ concentration, several samples were prepared with decreasing amounts of NaCl until a concentration of 0.5 g L^{-1} , and no variations in the intensity of the signal were observed. It seems that NaCl acts as a catalyzer in the reaction, since it increases the speed of the colour's development and it is independent of the concentration in which it is found. An important practical aspect in the determination of ammonium is the memory effect in the sequence of saline and non-saline samples, which can lead to important

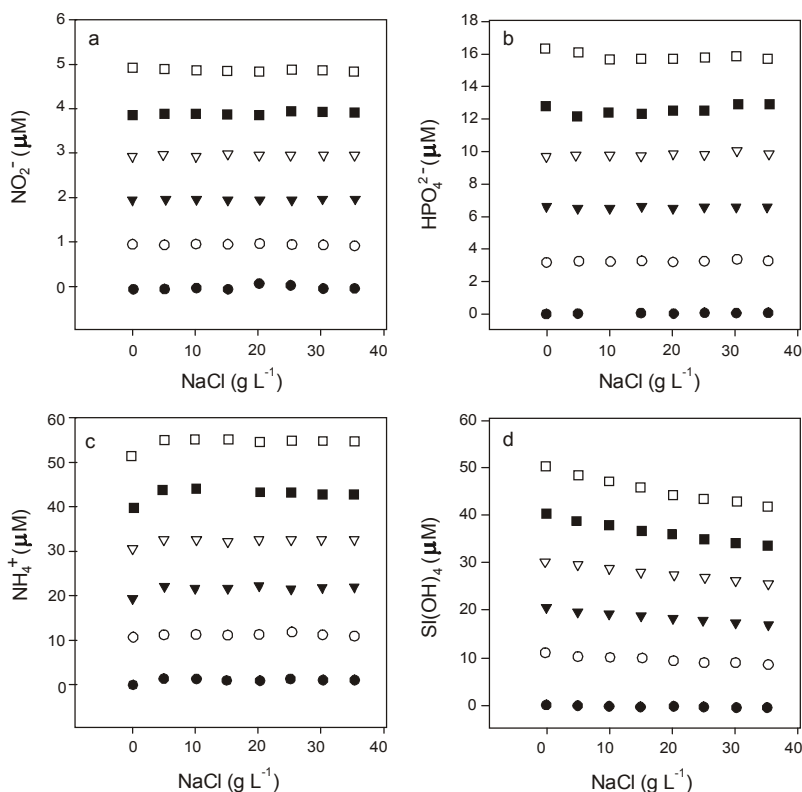


Figura 1. Efecto de la concentración de NaCl sobre la determinación de nitritos (a), fosfatos (b), amonio (c) y silicatos (d).
Figure 1. Effect of NaCl concentration on the determination of nitrites (a), phosphates (b), ammonium (c) and silicates (d).

cantidad de NaCl. Así, se observó que todas las muestras que tenían NaCl, aunque éste estuviera en diferente proporción, mostraban la misma señal que era mayor que la que mostraban los patrones de referencia (que no contenían NaCl). Con el fin de verificar de manera más precisa los resultados, en el caso de la concentración de $50 \mu\text{M NH}_4^+$, se prepararon varias muestras con contenidos decrecientes de NaCl hasta una concentración de 0.5 g L^{-1} , no observándose variaciones en la intensidad de la señal. El NaCl parece actuar como un catalizador en la reacción, ya que aumenta la velocidad del desarrollo del color y es independiente de la concentración en que se encuentre. Un aspecto de importancia práctica considerable en la determinación de amonio es el efecto memoria en la secuenciación de muestras salinas y no salinas, el cual puede provocar la aparición de errores importantes. Las muestras no salinas introducidas inmediatamente después de muestras salinas presentan una disminución en la señal y, por lo contrario, las muestras salinas que suceden a muestras no salinas muestran un incremento en la señal obtenida. Este efecto es similar en el caso de alternar muestras reales de agua de mar y muestras de agua no salina.

La determinación de silicatos también se afecta por la presencia de NaCl, aunque su comportamiento es diferente. En la figura 1d se observa que, para una determinada concentración, la intensidad de la señal disminuye a medida que aumenta la cantidad de NaCl. Así, una concentración de 35 g L^{-1} provoca un descenso en la señal de un 17% con relación a los patrones de igual concentración.

En el ensayo efectuado con muestras de agua de mar real se observó que la salinidad no ejerce ningún efecto sobre la determinación, en el caso de nitritos y fosfatos. La ausencia del efecto de la sal para la determinación de fosfatos, cuando se emplea el método del ácido fosfomolibdico, y para la determinación de nitritos cuando se emplea el método del azo-compuesto había sido ya puesta de manifiesto por Loder y Gilbert (1977) y Friedreich y Withledge (1972), respectivamente. En cambio, en el caso de silicatos y amonio sí se aprecian variaciones en la concentración medida en función de la salinidad (fig. 2). El efecto salino (SEF) se calculó como concentración observada/concentración real. La variación con la salinidad para ambos nutrientes se muestra en la figura 2a y b. Para el amonio, en el intervalo de salinidad de 10–37.5, la regresión lineal SEF vs salinidad mostró un coeficiente de correlación $r^2 = 0.976$, ajustándose a la ecuación (1):

$$SEF = 1.597 - 0.0163S \quad (1)$$

En consecuencia, la concentración de amonio real se puede calcular a partir de la concentración de amonio medida y de la salinidad mediante la expresión:

$$[NH_4^+]_{\text{real}} = \left(\frac{[NH_4^+]_{\text{medido}}}{1.597 - 0.0163S} \right) \quad (2)$$

errors. The non-saline samples introduced immediately after the saline samples present a decrease in the signal, whereas the saline samples that follow the non-saline samples show an increase in the signal obtained. This effect is similar when non-saline water and real seawater samples are alternated.

The determination of silicates is also affected by the presence of NaCl, even though the behaviour presented is different. Figure 1d shows that for a given concentration, the intensity of the signal decreases as the amount of NaCl increases. Thus, a concentration of 35 g L^{-1} causes the signal to decrease by 17% relative to the standards with the same concentration.

In the test conducted with real seawater samples, salinity did not have any effect on the concentration of nitrites and phosphates. The absence of the salt effect in the determination of phosphates, when the phosphomolibdic acid method is used, and in the determination of nitrites, when the azo-compound method is used, has been shown by Loder and Gilbert (1977) and Friedreich and Withledge (1972), respectively. However, in the case of silicates and ammonium, variations were found in the concentration measured in terms of salinity (fig. 1a, b). The salt effect factor (SEF) was calculated as concentration observed/real concentration. The variation with salinity for both nutrients is shown in figure 2c and d. For ammonium, in the 10–37.5 salinity range, the SEF linear regression vs salinity presented a correlation coefficient of $r^2 = 0.976$, following equation (1):

$$SEF = 1.597 - 0.0163S \quad (1)$$

Therefore, the real ammonium concentration can be calculated using the concentration of ammonium measured and of salinity with the following equation:

$$[NH_4^+]_{\text{real}} = \left(\frac{[NH_4^+]_{\text{medido}}}{1.597 - 0.0163S} \right) \quad (2)$$

In the 0–10 salinity range, the relation between SEF and salinity does not fit a linear regression, as can be seen in figure 2. Hence, these data were not taken into account when the fit was done.

The estimation of the real concentration of ammonium in estuarine samples should consider the salinity in order to be able to calculate the actual concentrations according to equation (2). The difference between the theoretical and measured concentrations is less at higher salinities and has been associated with the presence of MgCl_2 (Searle, 1984).

In the case of silicates, equation (3) shows the relation between SEF and salinity:

$$SEF = 1.300 - (8.253 \times 10^{-3})S \quad (3)$$

En el intervalo de salinidad $S = 0-10$, la relación entre SEF y salinidad no se ajusta a una regresión lineal, como se puede observar en la figura 2. Por tanto, no se han tenido en cuenta estos datos a la hora de efectuar el ajuste.

El cálculo de la concentración real de amonio en muestras estuáricas, necesita tener en cuenta la medida de la salinidad a fin de poder calcular las concentraciones reales de acuerdo con la ecuación (2). La diferencia entre la concentración teórica y la medida es menor a salinidades elevadas, y ha sido asociada a la presencia de $MgCl_2$ (Searle, 1984).

En el caso de los silicatos, la ecuación (3) muestra la relación entre SEF vs salinidad

$$SEF = 1.300 - 8.253 \times 10^{-3} S \quad (3)$$

La concentración real de $Si(OH)_4$ en muestras estuáricas se puede calcular a partir de la expresión (4)

$$[Si(OH)_4]_{real} = \frac{[Si(OH)_4]_{medido}}{(SEF = 1.300 - 8.253 \times 10^{-3} S)} \quad (4)$$

Aunque, esta expresión es aplicable al intervalo de salinidad completo, puede observarse también en este caso, aunque de manera menos acusada, que en el intervalo de salinidad de 0 a 5 hay un cambio en la pendiente de la función entre SEF vs salinidad.

Los resultados obtenidos en este trabajo difieren de los encontrados por otros autores para la determinación de silicatos (Stewart y Elliot, 1996), no observando efecto salino en la determinación de este nutriente. En el caso del amonio, también estos autores indican que no se precisa corrección en el intervalo de salinidad 0-8.75, mientras que en los resultados obtenidos en este trabajo sí se observa que en el intervalo 0-10 hay un comportamiento errático en la relación entre SEF vs salinidad (ver fig. 2).

Otro de los aspectos relacionados en el análisis de muestras estuáricas y marinas como posible fuente de error es el cambio en el índice de refracción que se da en el agua debido a la presencia de sales. Con el fin de corregir este efecto, se ha propuesto la utilización de isopropanol al 10% como línea de base (Technicon, 1986a, 1986b), ya que posee un índice de refracción similar a un agua de mar de 35 de salinidad. Si bien en las determinaciones efectuadas no se ha observado ningún cambio de señal al introducir esta solución como línea de base en nitritos, silicatos y fosfatos. Esto puede ser debido a que la muestra va diluyéndose progresivamente en los distintos canales con los sucesivos reactivos añadidos, de tal forma que cuando llega a la célula de medida los cambios del índice de refracción no son apreciables. No se ha ensayado con amonio, dada la facilidad de contaminación que posee el análisis de este nutriente. La inexistencia de efectos ópticos debido a la presencia de sales ya había sido puesto de manifiesto por otros autores en la medida de nutrientes con autoanalizadores de flujo continuo (Stewart y Elliot, 1996).

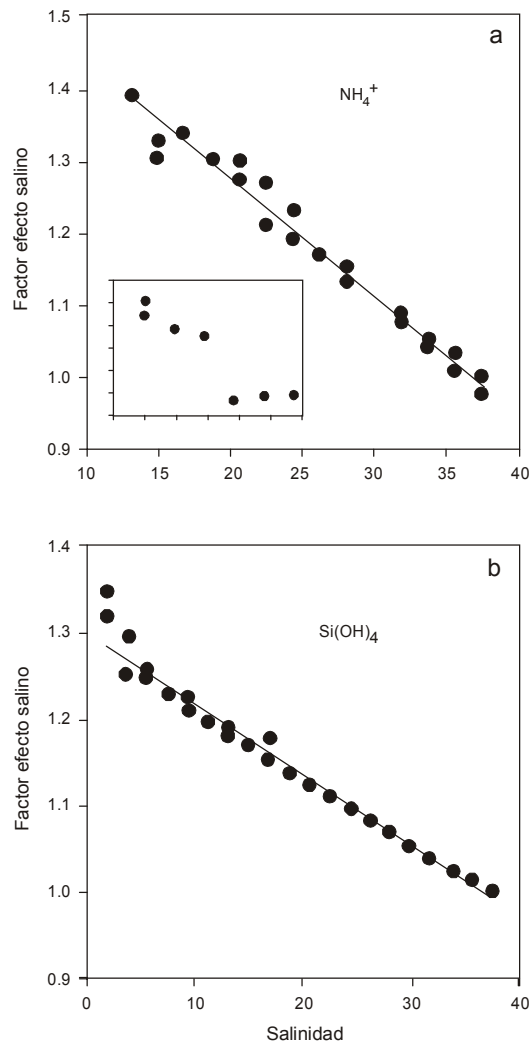


Figura 2. Variación en el “factor efecto salino” con la salinidad para la determinación de amonio (a) y silicatos (b).

Figure 2. Variation in the salt effect factor with salinity for the determination of ammonium (a) and silicates (b).

The real concentration of $Si(OH)_4$ in estuarine samples can be calculated using equation (4):

$$[Si(OH)_4]_{real} = \frac{[Si(OH)_4]_{measured}}{(SEF = 1.300 - 8.253 \times 10^{-3} S)} \quad (4)$$

Even though this equation can be applied to the entire salinity range, in this case it can also be observed, though less pronounced, that in the 0-5 salinity range there is a change in the slope of the SEF vs salinity function.

The results obtained in this study differ from those found by other authors for the determination of silicates (Stewart and Elliot, 1996), as no salt effect was found in the determination of this nutrient. In the case of ammonium, these authors also indicate that correction is not required in the 0-8.75 salinity

Conclusiones

Los resultados evidencian que en el análisis de nitritos y fosfatos mediante un autoanalizador de flujo segmentado (TRAACS 800) y con las metodologías propuestas, es indiferente la alternancia en un mismo análisis de muestras salinas y no salinas, así como que los patrones sean preparados con agua Milli-Q, con agua de mar artificial o con un agua de mar natural con bajo contenido en nutrientes. Podrían analizarse estos dos nutrientes en todo el intervalo de salinidades presente en un estuario sin cometer errores apreciables. Por el contrario, la determinación tanto de silicato como de amonio sí se afectó por los cambios de salinidad. Esto hace inviable el análisis conjunto de muestras de agua de mar y de agua dulce frente a unos mismos patrones, ya que el error cometido sería considerable sobretodo en la determinación de amonio (en torno a un 37% para una salinidad de 36). Por otra parte aparecería el indeseable efecto memoria que daría lugar a errores aún mayores. En resumen, para el análisis de silicato y amonio, los patrones deben ser preparados con agua de mar con bajo contenido en nutrientes, diluyendo si es necesario hasta obtener una salinidad similar a las muestras analizadas y, en el caso del amonio, es especialmente recomendable el análisis independiente de las muestras no salinas del resto para evitar el efecto memoria. No obstante, los efectos derivados de la diferencias de salinidad y patrones pueden ser corregidas para amonio y silicatos mediante el empleo de las ecuaciones (2) y (4), respectivamente, en los intervalos de salinidad señalados. Por último, los resultados obtenidos muestran que la adición de isopropanol al 10% en la preparación de la línea base es innecesaria.

Referencias

- Arjonilla, M., Forja, J.M. y Gómez-Parra, A. (1991). Efecto de la materia en suspensión en el análisis de nutrientes con un analizador de flujo continuo de tercera generación. *Sem. Quim. Mar.*, 5: 112–120.
- Armstrong, F.A.J., Stearns, C.R. and Strickland, D.H. (1967). The measurement of upwelling and subsequent biological processes by means of the Technicon Autoanalyzer and associated equipment. *Deep-Sea Res.*, 14: 381–389.
- Brewer, P.G. and Riley, J.P. (1965). The automatic determination of nitrate in sea water. *Deep-Sea Res.*, 12: 765–772.
- Brewer, P.G. and Riley, J.P. (1966). The automatic determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Analytica. Chim. Acta.*, 35: 514–519.
- Brewer, P.G. and Riley, J.P. (1967). A study of some manual and automatic procedures for the determination of nitrate and silicate in ocean water. *Deep-Sea Res.*, 14: 475–477.
- Chan, K.M. and Riley, J.P. (1966). The automatic determination of phosphate in sea water. *Deep-Sea Res.*, 13: 467–471.
- Friedreich, G.E. and Whitledge, T.E. (1972). AutoAnalyser procedures for nutrients. In: S.P. Pavolov (ed.), *Phytoplankton Growth Dynamics. Technical Series I: Chemostat Methodology Chemical Analyses. Special Rep. No. 52*, Univ. of Washington, Seattle, p. 38.

range, whereas in the results obtained herein, an erratic behaviour can be observed in the relation between SEF and salinity (see fig. 2).

Another aspect related to the analysis of estuarine and marine samples that can be a possible source of error is the change in the refraction index that occurs in the water due to the presence of salts. To correct this effect, the use of 10% isopropanol as base line has been proposed (Technicon, 1986a, 1986b), as its refraction index is similar to seawater that has a salinity of 35. In the analyses conducted, there was no change in the signal when this solution was introduced as base line for nitrites, silicates and phosphates; this can be due to the progressive dilution of the sample in the different channels as the reagents are added, so that when it reaches the measuring cell the changes in the refraction index are not notable. Tests have not been carried out with ammonium, given the ease of contamination that exists in the analysis of this nutrient. The absence of optical effects due to the presence of salts has already been reported by other authors in the determination of nutrients with continuous flow autoanalyzers (Stewart and Elliot, 1996).

Conclusions

In the determination of nitrites and phosphates with a segmented flow autoanalyzer (TRAACS 800) and the methods presented, the results were not affected by the alternate measurement of saline and non-saline samples in the same analysis or by the preparation of standards with either Milli-Q water, artificial seawater or natural seawater with low nutrient content. Both these nutrients may be analyzed in the entire salinity range found in an estuary without introducing serious errors. On the other hand, the determination of silicates and ammonium was affected by changes in salinity. It is therefore not feasible to analyze both seawater and freshwater samples against the same standards, since the error introduced would be considerable, especially in the determination of ammonium (around 37% for a salinity of 36). Furthermore, the undesired memory effect would appear, leading to even greater errors. In summary, for the analysis of silicates and ammonium, the standards should be prepared with seawater that is low in nutrients, if necessary diluting until a salinity is obtained that is similar to the samples analyzed, and in the case of ammonium, it is especially advisable to analyze the non-saline samples independently from the others in order to avoid the memory effect. The effects derived from the difference in salinity and standards can be corrected for ammonium and silicates by using equations (2) and (4), respectively, in the salinity ranges indicated. Finally, the results obtained show that the addition of 10% isopropanol in the preparation of the base line is unnecessary.

English translation by Christine Harris.

- Froelich, P.N. and Pilson, M.E.Q. (1978). Systematic absorbance errors with Technicon Autoanalyzer II colorimeters. *Water Res.*, 12: 599–603.
- Grassoff, K., Ehrhardt, M. and Kremling, K. (1983). *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, 419 pp.
- Harwood, J.E. and Huyser, D.J. (1970). Some aspects of the phenol-hypochlorite reaction as applied to ammonia analysis. *Water Res.*, 4: 501–515.
- Krom, M.D. (1980). Spectrophotometric determination of ammonia: A study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. *Analyst*, 105: 305–316.
- Loder, T.C. and Gilbert, P.M. (1977). Blank and salinity corrections for automated nutrient analysis of estuarine and seawaters. UHN Sea Grant No. UNH-5G-JR-101 and WHOI No. 3897.
- Mullin, J.B. and Riley, J.P. (1955). The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Analytica Chim. Acta*, 12: 162–170.
- Searle, P.L. (1984). The Berthelot or Indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. A Review. *Analyst*, 109: 549–568.
- Shinn, M.B. (1941). Colorimetric method for determination of nitrite. *Indust. Eng. Chem.*, 13 (1): 33–35.
- Stephens, K. (1963). Determination of low phosphate concentrations in lake and marine waters. *Limnol. Oceanogr.*, 8: 361–362.
- Stewart, B.M. and Elliot, P.A. (1996). Systematic salt effects in the automated determination of nutrients in seawater. *Wat. Res.*, 30(4): 869–874.
- Technicon Instrument Corporation (1986a). *Silicates in water and seawater*. New York. Method 811–86T, 7 pp.
- Technicon Instrument Corporation (1986b). *Orthophosphate in water and seawater*. New York. Industrial Method 812–86T, 10 pp.