

## On the variation of alkalinity during phytoplankton photosynthesis

## Variación de la alcalinidad durante la fotosíntesis del fitoplancton marino

F. Fraga  
X.A. Álvarez-Salgado\*

CSIC, Instituto de Investigaciones Marinas  
Eduardo Cabello 6  
36208 Vigo, Spain

\* E-mail: xsalgado@iim.csic.es

Recibido en noviembre de 2004; aceptado en mayo de 2005

**Abstract**

The alkalinity of the organic constituents of marine phytoplankton and their participation in the total alkalinity (TA) change of seawater during photosynthesis are carefully assessed. Quantification of the contribution of phytoplankton chlorophyll, proteins and phosphorus compounds to the hydrogen ion balance of seawater in terms of total inorganic nitrogen ( $\Delta[N_T] = \Delta[NH_4^+] + \Delta[N_2] + \Delta[NO_2^-] + \Delta[NO_3^-]$ ) and total inorganic phosphorus ( $\Delta[P_T]$ ) changes during photosynthesis yielded that the organic components of marine phytoplankton are alkaline by  $-0.06 \times \Delta[N_T] - 0.49 \times \Delta[P_T]$ , and that the potential total alkalinity ( $TA_p$ ) during photosynthesis is  $TA_p = TA - [NH_4^-] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.08 \times [N_T] + 0.23 \times [P_T]$  for unfiltered seawater samples and  $TA_p = TA - [NH_4^-] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.02 \times [N_T] + 0.26 \times [P_T]$  for filtered seawater samples. These equations correct the traditionally used expression  $TA_p = TA + [NO_3^-]$ . The  $TA_p$  anomalies are produced, in order of increasing importance, by  $N_2$  fixation, DMSP production and  $CaCO_3$  fixation.

*Key words:* total alkalinity, carbon cycling, phytoplankton, primary production, mineralization.

**Resumen**

En este artículo se estima la alcalinidad de los compuestos orgánicos producidos por el fitoplancton marino y su contribución al cambio de alcalinidad total (TA) del agua de mar durante la fotosíntesis. Tras cuantificar la contribución de los pigmentos fotosintéticos, las proteínas y los compuestos de fósforo al balance de  $H^+$  del agua de mar referida a las variaciones de nitrógeno inorgánico ( $\Delta[N_T] = \Delta[NH_4^+] + \Delta[N_2] + \Delta[NO_2^-] + \Delta[NO_3^-]$ ) y fósforo inorgánico ( $\Delta[P_T]$ ) totales durante la fotosíntesis, se obtiene que los constituyentes orgánicos del fitoplancton marino tienen una alcalinidad de  $-0.06 \times \Delta[N_T] - 0.49 \times \Delta[P_T]$ , y que la alcalinidad potencial ( $TA_p$ ) durante la fotosíntesis es  $TA_p = TA - [NH_4^-] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.08 \times [N_T] + 0.23 \times [P_T]$  para muestras no filtradas y  $TA_p = TA - [NH_4^-] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.02 \times [N_T] + 0.26 \times [P_T]$  para muestras filtradas. Estas expresiones corrigen la ecuación tradicional de  $TA_p = TA + [NO_3^-]$ . Procesos tales como la fijación de  $N_2$ , la producción de DMSP y, sobre todo, la síntesis de  $CaCO_3$ , producen desviaciones crecientes en el comportamiento conservativo de la  $TA_p$ .

*Palabras clave:* alcalinidad total, ciclo del carbono, fitoplancton, producción primaria, mineralización.

**Introduction**

The theoretical definition of the total alkalinity (TA) of any natural sample is given by the well-known expression (Dickson, 1981; Millero, 1995):

$$TA = [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] + [B(OH)_4^-] + [OH^-] + \text{'Bases'} - [H^+] \quad (1)$$

The determination of TA requires titration with hydrochloric acid. According to the theoretical definition of Eq. (1), the endpoint of the TA titration should be the pH at which:

$$[H^+] = [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] + [B(OH)_4^-] + [OH^-] + \text{'Bases'} \quad (2)$$

**Introducción**

La definición teórica de alcalinidad total (TA) de una muestra de agua viene dada por la expresión (Dickson, 1981; Millero, 1995):

La TA se determina por volumetría con ácido clorhídrico. Según la definición teórica, el punto final de dicha valoración debiera ser el pH al cual:

In the pH seawater scale ( $pH_{SWS}$ ), the  $[OH^-]$  term includes the concentration of  $Mg(OH)^+$  and the  $[H^+]$  term includes those of  $HSO_4^{2-}$  and HF (Millero, 1995). Aside from the major  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$  and  $B(OH)_4^-$  species, a seawater sample has significant concentrations of other bases that can accept hydrogen ions during the TA determination. This paper will focus on the bases that play a part in the synthesis of the organic (carbohydrates, lipids, proteins, photosynthesis pigments, phosphorus compounds, DMSP) and inorganic ( $CaCO_3$ ,  $(Si_2O_5H_2)_n$ ) products of marine phytoplankton photosynthesis. In this sense, although the inorganic carbon, phosphorus and silicon species have been traditionally considered in TA studies (Brewer *et al.*, 1975; Dickson, 1981; Johansson and Wedborg, 1982; Millero, 1995), the contribution of the products of phytoplankton photosynthesis has still not been comprehensively examined.

Since the endpoint of the TA determination depends upon a group of poorly defined bases, the theoretical definition of TA is not operational, because the composition of bases in the sample should be known to either calculate the endpoint of the TA titration before the measurement is performed or to correct it after the determination. In addition, a strict application of the theoretical definition of TA would imply that the endpoint of the TA determination would be different for each sample. To overcome this issue, Dickson (1981) gave his own operational definition of TA: "The total (or titration) alkalinity of a natural water sample can be regarded as a measure of the proton deficit of the solution relative to an arbitrarily defined zero level of protons". Since the carbonic and boric acid systems are the main contributors to the TA of a natural sample, Dickson (1981) reasonably established that the operational endpoint of the TA titration should be the pH at which:

$$[H^+] = [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] + [B(OH)_4^-] + [OH^-] \quad (3)$$

This equation can be simplified to:

$$[H^+] \sim [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] \quad (4)$$

This endpoint is at a pH  $\sim 4.4$ . Hence, Dickson (1981) arbitrarily defined that any acid with a  $pK_A < 4.5$  is a proton donor; consequently, it does not accept protons during the TA determination. Based on Dickson's (1981) definition, Millero (1995) provides the following operational definition of alkalinity: "The total (or titration) alkalinity (TA) of a natural water sample is arbitrarily (or operationally) defined as the concentration (in eq  $kg^{-1}$ ) of all bases able to accept a hydrogen ion at the equivalence point of the carbonic acid system species". In this work we have strictly applied this definition, without considering the arbitrarily established zero level of protons imposed by Dickson (1981). For a standard seawater sample of salinity 35.0 and temperature 25°C, the equivalence point of a TA determination occurs at a  $pH_{SWS}$  of  $\sim 4.25$  (hydrogen ion activity,  $a_H = \sim 10^{-4.4}$ ).

En la escala de pH para agua de mar ( $pH_{SWS}$ ),  $[OH^-]$  incluye la concentración de  $Mg(OH)^+$  y  $[H^+]$  las de  $HSO_4^{2-}$  y HF (Millero, 1995). Aparte de  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$  y  $B(OH)_4^-$ , en el agua de mar hay concentraciones significativas de otras bases con capacidad de aceptar  $H^+$  durante la valoración de la TA. Este artículo se centra precisamente en aquellas bases que juegan un papel relevante en la producción de sustancias orgánicas (carbohidratos, lípidos, proteínas, pigmentos fotosintéticos, compuestos de fósforo, DMSP) e inorgánicas ( $CaCO_3$ ,  $(Si_2O_5H_2)_n$ ) durante la fotosíntesis del fitoplancton marino. Así, mientras que el carbono, nitrógeno y fósforo inorgánicos se han tenido en cuenta en estudios previos de la TA (Brewer *et al.*, 1975; Dickson, 1981; Johansson y Wedborg, 1982; Millero, 1995), la contribución de los productos de la fotosíntesis del fitoplancton nunca ha sido evaluada previamente.

Si el punto final de una valoración de TA depende de la concentración de ciertas bases no muy bien caracterizadas, la definición teórica no es operativa puesto que dichas bases debieran conocerse previamente para bien calcular el punto final de la valoración antes de realizar la medida o bien corregirla después de la determinación. Además, si la definición teórica de TA se aplica estrictamente, cada muestra tendría un punto final diferente. Para solventar este inconveniente, Dickson (1981) propuso la siguiente definición operativa de TA: "La alcalinidad total de una muestra de agua es una medida del déficit de  $H^+$  referido a un nivel cero establecido de forma arbitraria". Puesto que los ácidos carbónico y bórico son los que contribuyen principalmente a la TA de una muestra natural, Dickson (1981) decidió fijar el punto final de la valoración de la TA en el pH al cual:

$$[H^+] = [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] + [B(OH)_4^-] + [OH^-] \quad (3)$$

Esta ecuación puede simplificarse como sigue:

$$[H^+] \sim [HCO_3^-] + 2 \times [CO_3^{2-}] \quad (4)$$

Dicho punto final está a un pH de  $\sim 4.4$ . Sobre esta base Dickson (1981) decidió arbitrariamente que cualquier ácido con un  $pK_A < 4.5$  es donante de  $H^+$  y, por tanto, no aceptará  $H^+$  durante una valoración de la TA. Basándose en la de Dickson (1981), Millero (1995) propuso la siguiente definición operacional: "La alcalinidad total de una muestra de agua natural se define arbitrariamente (u operativamente) como la concentración (en eq  $kg^{-1}$ ) de todas las bases capaces de aceptar  $H^+$  en el punto de equivalencia del sistema del ácido carbónico". En este manuscrito hemos aplicado de forma estricta esta última definición, sin considerar el nivel de referencia impuesto de forma arbitraria por Dickson (1981). Para una muestra de agua de mar de salinidad 35.0 y temperatura 25°C, el punto de equivalencia de la valoración de TA ocurre a un  $pH_{SWS}$  de  $\sim 4.25$  (actividad de  $H^+$ ,  $a_H = \sim 10^{-4.4}$ ).

## Results and discussion

### Total alkalinity changes during the synthesis of the organic components of marine phytoplankton

The stoichiometric equation for the photosynthesis of the major organic components of marine phytoplankton, with an average composition of  $C_{106}H_{264}O_{110}N_{16}P$ , was first established by Richards (1965), based on the classical work by Redfield *et al.* (1963). Subsequently, Anderson (1995) and Fraga *et al.* (1998) proposed new formulas,  $C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P$  and  $C_{106}H_{171}O_{42}N_{16}P$  respectively, which basically correct the over-estimated H and O proportions of the original formula. The new formulas are more consistent with the biochemical composition of marine phytoplankton and with the variations of dissolved oxygen ( $O_2$ ) and inorganic carbon ( $C_T$ ), nitrogen ( $N_T$ ) and phosphorus ( $P_T$ ) observed in the water column during photosynthesis/mineralization processes in the oceans. The revised stoichiometric equation is (Fraga *et al.*, 1998):



The inorganic carbon, nitrogen and phosphorus species in Eq. (5) have been written in their most abundant forms at the  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of a standard seawater sample. Considering the acidity constants of carbonic and phosphoric acids in seawater of salinity 35.0 and temperature 25°C (table 1),  $\text{HCO}_3^-$  represents 84–94% of  $C_T$  and  $\text{HPO}_4^{2-}$  represents 77–91% of  $P_T$  depending on the  $\text{pH}_{\text{SWS}}$ , which ranges from 8.2 ( $a_{\text{H}} = 10^{-8.4}$ ) to 7.6 ( $a_{\text{H}} = 10^{-7.8}$ ), respectively. Regarding the  $N_T$  species, phytoplankton is able to use  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_2^-$  as inorganic nitrogen sources (Wada and Hattori 1991). Only  $\text{NO}_3^-$  will be considered in this section.

Although Eq. (5) can be used for common mass balance purposes, it is not suitable to study the TA change of seawater during the photosynthesis of marine phytoplankton ( $\Delta\text{TA}$ ). The accurate quantification of  $\Delta\text{TA}$  requires consideration of the contribution of the other  $C_T$  and  $P_T$  species able to accept a hydrogen ion during the TA determination. In this case,  $\Delta\text{TA}$  could be more easily calculated considering the complementary balance of strong cations minus strong anions. In the context of the operational definition of TA, a strong cation is any cation that is not able to donate a hydrogen ion at the equivalence point of the carbonic acid system species (e.g.,  $\text{Na}^+$  and  $\text{NH}_4^+$ ). Accordingly, a strong anion is any anion that is not able to accept a hydrogen ion in the same conditions (e.g.,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{NO}_3^-$ ). Based on this definition, Brewer *et al.* (1975) established that TA increases (decreases) 1 eq per mol of  $\text{NO}_3^-$  and  $P_T$  consumed (produced) during the synthesis (early degradation) of the organic tissues of marine phytoplankton, i.e.  $\Delta\text{TA}/(\Delta P_T + \text{NO}_3^-) = -1$ , and defined the conservative chemical parameter “potential alkalinity” ( $\text{TA}_p$ ) as the sum of  $\text{TA} + [\text{NO}_3^-] + [P_T]$ . Note that considering the  $\text{pK}'_A$ s of the phosphoric acid system,  $P_T$  is not able to accept

## Resultados y discusión

### Variación de la TA durante la síntesis de los compuestos orgánicos del fitoplancton marino

Basándose en el trabajo de Redfield *et al.* (1963), Richards (1965) propuso que la composición media de los compuestos orgánicos del fitoplancton marino debiera ser  $C_{106}H_{264}O_{110}N_{16}P$ . Posteriormente, Anderson (1995) y Fraga *et al.* (1998) propusieron nuevas formulas químicas,  $C_{106}H_{175}O_{42}N_{16}P$  y  $C_{106}H_{171}O_{42}N_{16}P$  respectivamente, que corregían el exceso de H y O de la fórmula original. Estas nuevas fórmulas eran más coherentes con la composición bioquímica del fitoplancton marino y con las variaciones de oxígeno disuelto ( $O_2$ ) y carbono ( $C_T$ ), nitrógeno ( $N_T$ ) y fósforo ( $P_T$ ) inorgánicos observados en la columna de agua durante los procesos de fotosíntesis y mineralización en los océanos. La ecuación estequiométrica correspondiente a la síntesis de un material de composición  $C_{106}H_{171}O_{42}N_{16}P$  es (Fraga *et al.*, 1998):

El carbono, nitrógeno y fósforo inorgánicos aparecen en la ecuación (5) en su forma más abundante al  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  estándar del agua de mar. Considerando las constantes de acidez de los ácidos carbónico y fosfórico en agua de mar de salinidad 35.0 y temperatura 25°C (tabla 1), el  $\text{HCO}_3^-$  representa de 84% a 94% del  $C_T$  y el  $\text{HPO}_4^{2-}$  representa de 77% a 91% del  $P_T$  dependiendo del  $\text{pH}_{\text{SWS}}$ , que se varió entre 8.2 ( $a_{\text{H}} = 10^{-8.4}$ ) y 7.6 ( $a_{\text{H}} = 10^{-7.8}$ ), respectivamente. Respecto del  $N_T$ , el fitoplancton puede usar  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  como sustrato (Wada y Hattori, 1991). En esta sección únicamente se considerará la asimilación de  $\text{NO}_3^-$ .

Aunque la ecuación (5) puede usarse en balances de masa, no es adecuada para estudiar la variación de la TA durante la fotosíntesis del fitoplancton marino ( $\Delta\text{TA}$ ). Cuantificar la  $\Delta\text{TA}$  con precisión exige tener en cuenta la contribución de las otras formas iónicas de  $C_T$  y  $P_T$  que puedan aceptar  $\text{H}^+$  durante la valoración de la TA.  $\Delta\text{TA}$  podría calcularse fácilmente realizando un balance de cationes menos aniones fuertes. En el contexto de la definición operativa de TA, un catión fuerte es aquel que no pueda donar  $\text{H}^+$  en el punto de equivalencia del ácido carbónico (ej.  $\text{Na}^+$  y  $\text{NH}_4^+$ ) y un anión fuerte aquel que no pueda aceptar  $\text{H}^+$  en las mismas condiciones (ej.  $\text{Cl}^-$  y  $\text{NO}_3^-$ ). Basándose en esta definición, Brewer *et al.* (1975) establecieron que la TA aumenta (disminuye) 1 eq por mol de  $\text{NO}_3^-$  y  $P_T$  consumido (producido) durante la síntesis (degradación) de los constituyentes orgánicos del fitoplancton marino,  $\Delta\text{TA}/(\Delta P_T + \text{NO}_3^-) = -1$ , y definieron la variable conservativa alcalinidad potencial ( $\text{TA}_p$ ) como la suma de  $\text{TA} + [\text{NO}_3^-] + [P_T]$ . Nótese que considerando las constantes de acidez ( $\text{pK}'_A$ ) del ácido fosfórico, el  $P_T$  no puede aceptar 1.016 eq de  $\text{H}^+$  por mol de P a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 (véase el balance de cargas  $\epsilon_{4.25}$  en la tabla 1).

**Table 1.** Acid constants for the species considered in the text (hydrogen ion activity  $a_H$  scale, salinity 35.0, temperature 25°C).  $\epsilon = \sum_i z_i \times A_i / \sum_i A_i$ , balance of charges of the  $i$  species of charge  $z_i$  that constitute the system of a given acid A.  $\epsilon_{4.25}$  and  $\epsilon_{8.0}$ , balances at  $pH_{SWS}$  4.25 and 8.0.

**Tabla 1.** Constantes de acidez de las especies consideradas en el texto (en la escala  $a_H$ , salinidad 35.0, temperatura 25°C).  $\epsilon = \sum_i z_i \times A_i / \sum_i A_i$ , balance de cargas de las  $i$  especies con carga  $z_i$  que constituyen el sistema de un ácido A.  $\epsilon_{4.25}$  y  $\epsilon_{8.0}$ , balances a  $pH_{SWS}$  4.25 y 8.0.

	$pK'_1$	$pK'_2$	$pK'_3$	$\epsilon_{4.25}$	$\epsilon_{8.0}$	$\epsilon_{8.0} - \epsilon_{4.25}$	Reference
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	6.00	9.11	—	-0.025	-1.102	-1.078	Millero (1995)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1.77	6.12	8.95	-1.016	-2.149	-1.133	Millero (1995)
H <sub>2</sub> PO <sub>3</sub> -O-R <sup>(1)</sup>	1.77	6.12	—	-1.016	-1.992	-0.976	
HPO <sub>2</sub> -(-O-R) <sub>2</sub> <sup>(1)</sup>	1.77	—	—	-0.998	-1.000	-0.002	
H <sub>4</sub> SiO <sub>4</sub>	9.53	—	—	0.000	-0.045	-0.045	Millero (1995)
HNO <sub>2</sub>	3.25	—	—	-0.066	-1.000	-0.934	Goldman and Brewer (1980)
Histidine <sup>(2, 3)</sup>	6.0	—	—	+0.976	+0.006	-0.969	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Lysine <sup>(2, 3)</sup>	10.53	—	—	+1.000	+0.995	-0.005	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Arginine <sup>(2, 3)</sup>	12.48	—	—	+1.000	+1.000	-0.000	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Aspartic acid <sup>(2, 3)</sup>	3.86	—	—	-0.776	-1.000	-0.224	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Glutamic acid <sup>(2, 3)</sup>	4.25	—	—	-0.586	-1.000	-0.414	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Adenosine <sup>(3)</sup>	3.30	12.50	—	+1.075	+1.000	-0.074	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Guanosine <sup>(3)</sup>	1.6	9.16	12.3	+1.002	+0.901	-0.100	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Cytosine <sup>(3)</sup>	4.60	12.16	—	+0.613	+0.000	-0.613	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Thymidine <sup>(3)</sup>	9.8	13.1	—	0.000	-0.025	-0.025	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Uridine <sup>(3)</sup>	9.2	12.3	—	0.000	-0.091	-0.091	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Ethanolamine <sup>(3)</sup>	8.86	—	—	+1.000	+0.821	-0.180	Dawson <i>et al.</i> (1986)
Propionic acid <sup>(3)</sup>	4.87	—	—	-0.193	-0.999	-0.806	Dawson <i>et al.</i> (1986)

(1) The same  $pK'_A$ s than for H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> is considered.

(2) Only the  $pK'_A$  of the side-chain functional groups is considered, since the terminal R-CH(NH<sub>2</sub>)-COOH groups are neural amides.

(3)  $pK'_AS$  at salinity 0.0 and temperature 25°C.

1.016 eq of H<sup>+</sup> per mol of P at  $pH_{SWS}$  4.25 (see the balance of charges  $\epsilon_{4.25}$  in table 1). Culture experiments conducted by Brewer and Goldman (1976) and revisited by Goldman and Brewer (1980) confirmed the experimental validity of TA<sub>p</sub>. On the basis of those experiments, Broecker and Peng (1982) presented the following simplified version of Brewer *et al.*'s (1975) equation:  $\Delta TA / \Delta NO_3^- = -1$ , which frequently appears in the literature. In any case, these relationships between TA and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> or TA, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and P<sub>T</sub> assume that the organic constituents of marine phytoplankton are neutral; that is, they do not play any part in the hydrogen ion balance of seawater. But, how accurate is this assumption?

Fraga and Pérez (1990) and Laws (1991) have reviewed in great detail the average composition of the phytoplankton carbohydrates, lipids, proteins, photosynthetic pigments and phosphorus compounds. Table 2 summarizes the average composition of these groups of biomolecules and shows the relative contribution of each group to the average composition of

Brewer y Goldman (1976) y Goldman y Brewer (1980) confirmaron la validez experimental de TA<sub>p</sub> en cultivos de fitoplancton marino. Basándose en estos experimentos, Broecker y Peng (1982) propusieron una versión simplificada de la ecuación de Brewer *et al.* (1975),  $\Delta TA / \Delta NO_3^- = -1$ , que se ha usado frecuentemente en la bibliografía. En cualquier caso, estas razones entre TA y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> o TA, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y P<sub>T</sub> suponen que los compuestos orgánicos del fitoplancton marino son neutros, es decir, no aceptan ni donan H<sup>+</sup> en el punto de equivalencia del ácido carbónico. ¿Es correcta esta suposición?

Fraga y Pérez (1990) y Laws (1991) revisaron en detalle la composición media de los carbohidratos, lípidos, proteínas, pigmentos fotosintéticos y compuestos de fósforo que constituyen el fitoplancton marino. En la tabla 2 se resume la composición media de estos cinco grupos de compuestos. En la tabla 2 también se indica la contribución relativa de cada grupo a la composición media del fitoplancton marino presentada en la ecuación (5). La suposición de que estos grupos de

**Table 2.** Composition (chemical formula) of the carbohydrates, lipids, proteins, chlorophylls and phosphorus compounds that constitute the organic components of marine phytoplankton. The contribution of each group of compounds to the average composition of marine phytoplankton is also presented. Data taken from Fraga and Pérez (1990). The balances of charges at pH<sub>SWs</sub> 4.25 and 8.0 are referred to 1 mol of chemical formula.

**Tabla 2.** Composición (fórmula química) de los carbohidratos, lípidos, proteínas, pigmentos fotosintéticos y compuestos de fósforo del fitoplancton. Se indica la contribución de cada grupo de compuestos a la composición media del fitoplancton marino. Datos tomados de Fraga y Pérez (1990). Los balances de cargas a pH<sub>SWs</sub> 4.25 y 8.0 se refieren a 1 mol de fórmula química.

	Formula	% (w/w)	$\epsilon_{4.25}$	$\epsilon_{8.0}$	$\epsilon_{8.0} - \epsilon_{4.25}$
Carbohydrates	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	24.4	0.000	0.000	0.000
Lipids	C <sub>53</sub> H <sub>89</sub> O <sub>6</sub>	16.5	0.000	0.000	0.000
Chlorophylls <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> <sub>1</sub> and <i>c</i> <sub>2</sub>	C <sub>46</sub> H <sub>52</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> Mg	2.0	0.000	0.000	0.000
Proteins	C <sub>139</sub> H <sub>217</sub> O <sub>45</sub> N <sub>39</sub> S	45.1	1.288	-1.029	-2.317
Phosphorus compounds	C <sub>45</sub> H <sub>76</sub> O <sub>31</sub> N <sub>12</sub> P <sub>5</sub>	12.0	-3.018	-6.164	-3.145
Average composition	C <sub>106</sub> H <sub>171</sub> O <sub>42</sub> N <sub>16</sub> PS <sub>0.3</sub>	100.0	-0.162	-1.586	-1.424

marine phytoplankton presented in Eq. (5). The assumption that the different groups of biomolecules are neutral is truthful for the carbohydrates, lipids and photosynthetic pigments. The alcohol (R-OH), aldehyde (R-HCO) and keton (R-CO-R') groups of the carbohydrates and the ester groups of the lipids (R-CO-O-R') are not alkaline and do not alter the alkalinity of seawater during photosynthesis. In regard to the photosynthetic pigments (chlorophylls *a*, *b*, *c*<sub>1</sub> and *c*<sub>2</sub>), although the porphyrin of the chlorophylls does not contribute to the hydrogen ion balance, it alters the TA of seawater during photosynthesis:

$$\Delta TA = -\Delta[\text{NO}_3^-] + 2 \times \Delta[\text{Mg}^{2+}] = -(-4) + 2 \times (-1) = 2.000, \quad (6)$$

that is, 0.500 eq of H<sup>+</sup> per mol of chlorophyll N (Nchl), as is inferred from the balance of strong cations minus strong anions derived from the stoichiometric equation of phytoplankton chlorophyll photosynthesis:



Regarding the proteins, the amide groups (R-CO-NH-R') of the peptide bonds do not participate in the hydrogen ion balance of seawater. The amine groups (R-NH<sub>2</sub>) of the terminal amino acids should have to be considered, but their proportion is so low (an average protein consists of >25 amino acids) that they do not noticeably affect the hydrogen ion balance of seawater. In addition, the contribution of the side-chain functional groups of the basic (lysine, arginine and histidine) and acid (aspartic and glutamic) amino acids should also be taken into account. Considering the acid constants of the side-chain amine group of lysine ( $pK'_A = 10.53$ ), the guanidine group of arginine ( $pK'_A = 12.48$ ), the imidazole group of histidine ( $pK'_A = 6.0$ ) and the carboxylic acid groups of aspartic ( $pK'_A = 3.86$ ) and glutamic ( $pK'_A = 4.25$ ) acids, they are able to accept 0.000 eq of H<sup>+</sup> per mol (eq mol<sup>-1</sup>) of lysine and arginine, 0.969 eq mol<sup>-1</sup> of histidine, 0.224 eq mol<sup>-1</sup> of aspartic acid and 0.414 eq mol<sup>-1</sup> of glutamic acid during the

compuestos son neutros es válida para los carbohidratos, lípidos y pigmentos fotosintéticos. Los grupos funcionales alcohol (R-OH), aldehído (R-HCO) y cetona (R-CO-R') de los carbohidratos y el grupo éster de los lípidos (R-CO-O-R') ni son alcalinos ni cambian la TA del agua de mar durante la fotosíntesis. Respecto de los pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a*, *b*, *c*<sub>1</sub> y *c*<sub>2</sub>), si bien los anillos de porfirina no contribuyen al balance de H<sup>+</sup>, sí que hacen variar la TA del agua de mar durante la fotosíntesis:

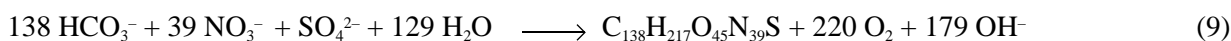
esto es, 0.500 eq de H<sup>+</sup> por mol de N de pigmentos fotosintéticos (Nchl), tal y como se deduce del balance de cationes menos aniones fuertes obtenido a partir de la ecuación estequiométrica de síntesis de pigmentos de fitoplancton:

Respecto de las proteínas, el grupo amida (R-CO-NH-R') de los enlaces peptídicos no contribuye al balance de H<sup>+</sup> del agua de mar y la contribución de los grupos amina (R-NH<sub>2</sub>) de los amino ácidos terminales es tan pequeña (una proteína de tamaño medio consta de >25 amino ácidos) que no afectan significativamente al balance de H<sup>+</sup>. Sin embargo, la contribución de los grupos laterales de los amino ácidos básicos (lisina, arginina e histidina) y ácidos (aspártico y glutámico) sí es significativa. Considerando las constantes de acidez de los grupos laterales amino de la lisina ( $pK'_A = 10.53$ ), guanidina de la arginina ( $pK'_A = 12.48$ ), imidazol de la histidina ( $pK'_A = 6.0$ ) y carboxilo de los ácidos aspártico ( $pK'_A = 3.86$ ) y glutámico ( $pK'_A = 4.25$ ), éstos pueden aceptar 0.000 eq de H<sup>+</sup> por mol (eq mol<sup>-1</sup>) de lisina y arginina, 0.969 eq mol<sup>-1</sup> de histidina, 0.224 eq mol<sup>-1</sup> de ácido aspártico y 0.414 eq mol<sup>-1</sup> de ácido glutámico durante la valoración de la TA desde un pH<sub>SWs</sub> estándar de 8.0 ( $a_H = 10^{-8.2}$ ) hasta el pH<sub>SWs</sub> del punto de

alkalinity titration from a standard  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of 8.0 ( $a_{\text{H}} = 10^{-8.2}$ ) to the equivalence point  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of 4.25. These numbers have been obtained by subtracting the balance of charges at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25}$ ) from the balance of charges at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  8.0 ( $\epsilon_{8.0}$ ; table 1). In addition, lysine, arginine and histidine are not able to donate 1.000, 1.000 and 0.976 eq of  $\text{H}^+$  per mol at the equivalence point  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of 4.25 ( $\epsilon_{4.25}$ ). On the contrary, aspartic and glutamic acids are not able to accept 0.776 and 0.586 eq of  $\text{H}^+$  per mol in the same conditions. Lysine, arginine and histidine represent 7.8%, 14.5% and 7.9% of the total N content of phytoplankton proteins (Fraga and Pérez, 1990), with the average composition presented in table 2. Part of the carboxylic acid groups of aspartic and glutamic acids are really in the form of neutral amide groups in proteins, such as asparagine and glutamine, respectively. Therefore, although aspartic and glutamic acids represent 7.0% and 8.9% of the total N content of phytoplankton proteins, only 4.5% and 5.7% are in the carboxylic acid form, respectively (Fraga and Pérez, 1990). Considering these proportions and the corresponding balances of charges in table 1, the total charges of phytoplankton proteins are +0.033 eq per mol of protein N (Nprot) at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 and -0.027 eq per mol of Nprot at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  8.0. Consequently, phytoplankton proteins are alkaline by 0.059 eq of  $\text{H}^+$  per mol of Nprot (table 2). They also alter the TA of seawater during photosynthesis:

$$\begin{aligned} \Delta\text{TA} &= -\Delta[\text{NO}_3^-] - 2\times\Delta[\text{SO}_4^{2-}] + 0.033\times\Delta[\text{Nprot}] = -1.033\times\Delta[\text{NO}_3^-] - 2\times\Delta[\text{SO}_4^{2-}] \\ &= -1.033\times(-39) - 2\times(-1) = 42.288, \end{aligned} \quad (8)$$

that is, 1.084 eq of  $\text{H}^+$  per mol of Nprot, as indicated by the balance of strong cations minus strong anions derived from the stoichiometric equation of phytoplankton protein photosynthesis:



The phosphorus compounds are constituted by RNA, DNA, nucleotides, phospholipids, phosphoproteins, phosphosugars, phosphate and polyphosphates, which represent 30.0%, 9.5%, 2.6%, 7.4%, 4.8%, 4.1%, 38.5% and 3.1% of P, respectively (Miyata and Hattori, 1986). Phosphorus in RNA, DNA, phospholipids and phosphoproteins is in the form of phosphate diester ( $\text{R-O-HPO}_2\text{-O-R}'$ ). It does not accept a hydrogen ion during the alkalinity titration from a standard  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of 8.0 to the equivalence point  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  of 4.25 ( $\epsilon_{8.0}-\epsilon_{4.25} = -0.002$ ; table 1), and it is not able to accept 0.998 eq of  $\text{H}^+$  per mol of P at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25} = -0.998$ ; table 1). These numbers are also applicable to the phosphate diesters of the nucleotids (essentially ATP) and the polyphosphates. Phosphorus in the phosphosugars ( $\text{H}_2\text{PO}_3\text{-O-R}$ ) is able to accept 0.976 eq of  $\text{H}^+$  per mol of P during the TA determination and it is not able to accept 1.016 eq of  $\text{H}^+$  per mol of P at  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25. Again, these numbers are also applicable to the terminal phosphorus of the nucleotids and polyphosphates, although the contribution of the latter can be negligible.

equivalencia de 4.25. Estos valores se obtienen substrayendo el balance de cargas a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25}$ ) del balance de cargas a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  8.0 ( $\epsilon_{8.0}$ ; tabla 1). Además, la lisina, arginina e histidina no pueden donar 1.000, 1.000 y 0.976 eq  $\text{H}^+$  por mol al  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  del punto de equivalencia ( $\epsilon_{4.25}$ ). Por el contrario, los ácidos aspártico y glutámico no pueden aceptar 0.776 y 0.586 eq de  $\text{H}^+$  por mol en las mismas condiciones. La lisina, arginina e histidina representan 7.8%, 14.5% y 7.9% del N de las proteínas de fitoplancton (Fraga y Pérez, 1990), que tienen la composición media de la tabla 2. Parte de los grupos laterales carboxilo de los ácidos aspártico y glutámico forman grupos amida, que son neutros, para dar la asparagina y glutamina, respectivamente. Por tanto, aunque los ácidos aspártico y glutámico representan 7.0% y 8.9% del N de las proteínas del fitoplancton, solamente 4.5% y 5.7% de los grupos laterales carboxilo están en forma de ácido, respectivamente (Fraga y Pérez, 1990). Considerando estas proporciones, y el balance de cargas de la tabla 1, resulta que la carga total de las proteínas del fitoplancton es +0.033 eq por mol de N de proteínas (Nprot) a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 y -0.027 eq por mol de Nprot a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  8.0. En consecuencia, las proteínas del fitoplancton tienen una alcalinidad de 0.059 eq de  $\text{H}^+$  por mol de Nprot (tabla 2). Además, las proteínas hacen variar la TA del agua de mar durante la fotosíntesis:

es decir, 1.084 eq de  $\text{H}^+$  por mol de Nprot, tal y como se deduce del balance de cationes menos aniones fuertes derivado de la ecuación estequiométrica de síntesis de proteínas de fitoplancton marino:

Respecto de los compuestos de fósforo, éstos son ARN, ADN, nucleótidos, fosfolípidos, fosfoproteínas, fosfoazúcares, fosfato y polifosfatos, que representan 30.0%, 9.5%, 2.6%, 7.4%, 4.8%, 4.1%, 38.5% y 3.1% del P del fitoplancton, respectivamente (Miyata y Hattori, 1986). El fósforo del ARN, ADN, fosfolípidos y fosfoproteínas está en forma de enlaces fosfo-di-éster ( $\text{R-O-HPO}_2\text{-O-R}'$ ), que no aceptan  $\text{H}^+$  durante la valoración de la TA desde un  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  estándar de 8.0 hasta el  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  del punto de equivalencia de 4.25 ( $\epsilon_{8.0}-\epsilon_{4.25} = -0.002$ ; tabla 1) y no pueden aceptar 0.998 eq de  $\text{H}^+$  por mol de P a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25} = -0.998$ ; tabla 1). Estos valores también son aplicables a los enlaces fosfo-di-éster de los nucleótidos (esencialmente ATP) y los polifosfatos. El fósforo de los fosfoazúcares ( $\text{H}_2\text{PO}_3\text{-O-R}$ ) puede aceptar 0.976 eq de  $\text{H}^+$  por mol de P durante la valoración de la TA y no puede aceptar 1.016 eq de  $\text{H}^+$  por mol de P a  $\text{pH}_{\text{SWS}}$  4.25. De nuevo, estos valores son también aplicables al fósforo terminal de los nucleótidos y polifosfatos, aunque la contribución de los polifosfatos pueda considerarse despreciable.

Aside from the phosphate esters, the possible contribution of the nucleosides of the purine (adenosine and guanosine) and pyrimidine (uridine, cytidine and thymidine) bases of the nucleotids and nucleic acids should be considered. Thus, during the TA determination, 1 mol of adenosine is able to accept 0.074 eq of  $H^+$ ; 1 mol of guanosine, 0.100 eq; 1 mol of uridine, 0.091 eq; 1 mol of cytidine, 0.613 eq; and 1 mol of thymidine, 0.025 eq (see  $\varepsilon_{8.0}-\varepsilon_{4.25}$  in table 1). While  $\varepsilon_{4.25}$  is nil for uridine and thymidine, it is +1.074 eq of  $H^+$  per mol (eq mol<sup>-1</sup>) for adenosine, +1.002 eq mol<sup>-1</sup> for guanosine and +0.613 eq mol<sup>-1</sup> for cytidine. Therefore, the possible pairs adenosine/thymidine, adenosine/uridine and guanosine/cytidine would contribute with 0.049, 0.082 and 0.357 eq mol<sup>-1</sup> of P to the TA determination. Assuming that the adenosine/thymidine and guanosine/cytidine pairs occur in the same proportions in RNA, they would be able to accept 0.203 eq mol<sup>-1</sup> of P. Accordingly, the bases of RNA are not able to donate 0.672 eq mol<sup>-1</sup> of P at  $pH_{SWS}$  4.25. In the case of DNA, if the adenosine/uridine and guanosine/cytidine pairs occur in the same proportions, they would be able to accept 0.219 eq mol<sup>-1</sup> of P during the TA determination and are not able to donate 0.672 eq mol<sup>-1</sup> of P at  $pH_{SWS}$  4.25. Considering the phosphate diester and the purine and pyrimidine bases, the nucleic acids as a whole can accept 0.205 (RNA) and 0.222 (DNA) eq mol<sup>-1</sup> of P during the TA determination and they are not able to accept 0.326 eq mol<sup>-1</sup> of P at  $pH_{SWS}$  4.25. Accordingly, taking into account the adenosine, the phosphate diesters and the terminal phosphate ester of the ATP, the nucleotids accept 0.351 eq mol<sup>-1</sup> of P during the TA determination, but they are not able to accept 0.646 eq mol<sup>-1</sup> of P at  $pH_{SWS}$  4.25.

It is also necessary to consider the contribution of the N bases of the phosphoproteins. In this sense, 78.3% of the phosphoprotein N is in the form of a protein and the remaining 21.7% is in the form of RNA (Fraga and Pérez, 1990). Therefore, considering the phosphate diester and the N bases, the phosphoproteins overall accept 0.992 eq of  $H^+$  per mol of P during the TA determination and they are not able to donate 0.112 eq of  $H^+$  per mol of P at  $pH_{SWS}$  4.25. Finally, it is also necessary to account for the contribution of the side-chain basic functional groups of the phospholipids (ethanolamine, coline, etc.). Assuming that it is essentially ethanolamine, this basic group can accept 0.180 eq of  $H^+$  per mol of P during the TA determination and it is not able to donate 1.000 eq of  $H^+$  per mol of P at  $pH_{SWS}$  4.25. Consequently, considering the phosphate diester and the ethanolamine, the phospholipids in sum accept 0.182 eq of  $H^+$  per mol of P during the TA determination and they are not able to donate 0.002 eq of  $H^+$  per mol of P at  $pH_{SWS}$  4.25.

Considering all these numbers together, the total charge of phytoplankton phosphorus compounds is -0.604 eq per mol of P at  $pH_{SWS}$  4.25 and -1.233 eq per mol of P at  $pH_{SWS}$  8.0. Consequently, phosphorus compounds are alkaline by 0.629 eq of

Aparte de los ésteres fosfóricos, debe tenerse en cuenta la posible contribución de los nucleósidos de las bases púricas (adenosina y guanosina) y pirimídicas (uridina, citidina y timidina) de los nucleótidos y ácidos nucleicos. Así, durante la valoración de la TA, 1 mol de adenosina puede aceptar 0.074 eq de  $H^+$ , 1 mol de guanosina 0.100 eq, 1 mol de uridina 0.091 eq, 1 mol de citidina 0.613 eq y 1 mol de timidina 0.025 eq (véase  $\varepsilon_{8.0}-\varepsilon_{4.25}$  en la tabla 1). Mientras que  $\varepsilon_{4.25}$  es nulo para la uridina y timidina, éste resulta ser +1.074 eq de  $H^+$  por mol (eq mol<sup>-1</sup>) de adenosina, +1.002 eq mol<sup>-1</sup> de guanosina y +0.613 eq mol<sup>-1</sup> de citidina. Por tanto, los posibles pares adenosina-timidina, adenosina-uridina y guanosina-citidina contribuirán con 0.049, 0.082 y 0.357 eq mol<sup>-1</sup> de P a la valoración de la TA. suponiendo que los pares adenosina-timidina y guanosina-citidina están presentes en las mismas proporciones en el ARN, podrían aceptar 0.203 eq mol<sup>-1</sup> de P. De acuerdo con esto, las bases del RNA no pueden donar 0.672 eq mol<sup>-1</sup> de P a  $pH_{SWS}$  4.25. En el caso del ADN si los pares adenosina-uridina y guanosina-citidina están en las mismas proporciones, podrían aceptar 0.219 eq mol<sup>-1</sup> de P durante la valoración de la TA y no podrían donar 0.672 eq mol<sup>-1</sup> de P a  $pH_{SWS}$  4.25. Considerando los enlaces fosfo-di-éster y las bases púricas y pirimídicas, los ácidos nucleicos en conjunto podrían aceptar 0.205 (ARN) y 0.222 (ADN) eq mol<sup>-1</sup> de P durante la valoración de la TA y no podrían aceptar 0.326 eq mol<sup>-1</sup> de P a  $pH_{SWS}$  4.25. En definitiva, considerando la adenosina, los enlaces fosfo-di-éster y el éster fosfórico terminal del ATP, los nucleótidos podrían aceptar 0.351 eq mol<sup>-1</sup> de P durante la valoración de la TA pero no podrían aceptar 0.646 eq mol<sup>-1</sup> de P a  $pH_{SWS}$  4.25.

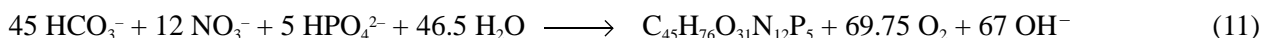
También es necesario considerar la contribución de las bases nitrogenadas de las fosfoproteínas. En este sentido, el 78.3% del N de las fosfoproteínas está en forma de proteínas y el restante 21.7% en forma de ARN (Fraga y Pérez, 1990). Por tanto, considerando el enlace fosfo-di-éster y las bases nitrogenadas, las fosfoproteínas pueden aceptar 0.992 eq de  $H^+$  por mol de P durante la valoración de la TA y no pueden donar 0.112 eq de  $H^+$  por mol de P a  $pH_{SWS}$  4.25. Finalmente, también ha de tenerse en cuenta la contribución de los grupos laterales básicos de los fosfolípidos (etanolamina, colina, etc.). Suponiendo que se trata esencialmente de etanolamina, este grupo puede aceptar 0.180 eq de  $H^+$  por mol de P durante la valoración de la TA y no puede donar 1.000 eq de  $H^+$  por mol de P a  $pH_{SWS}$  4.25. Consecuentemente, considerando el enlace fosfo-di-éster y la etanolamina, los fosfolípidos pueden aceptar 0.182 eq de  $H^+$  por mol de P durante la valoración de la TA y no pueden donar 0.002 eq de  $H^+$  por mol de P a  $pH_{SWS}$  4.25.

Poniendo todos estos números en común, resulta que la carga total de los compuestos de fósforo del fitoplancton es -0.604 eq por mol de P a  $pH_{SWS}$  4.25 y -1.233 eq por mol de P a  $pH_{SWS}$  8.0. Consecuentemente, los compuestos de fósforo tienen una alcalinidad de 0.629 eq de  $H^+$  por mol de P del

H<sup>+</sup> per mol of phytoplankton P (Pphy) (table 2) and they are able to alter the TA of seawater during photosynthesis:

$$\Delta TA = -\Delta[\text{NO}_3^-] - 1.016 \times \Delta[\text{P}_T] - 0.604 \times \Delta[\text{Pphy}] = -\Delta[\text{NO}_3^-] - 0.412 \times \Delta[\text{P}_T] = -(-12) - 0.412 \times (-5) = 14.062, \quad (10)$$

that is, 2.812 eq of H<sup>+</sup> per mol of Pphy, as inferred from the balance of strong cations minus strong anions derived from the stoichiometric equation of synthesis of phytoplankton phosphorus compounds:



Finally, the  $\Delta TA$  during the synthesis of marine phytoplankton pigments, proteins and phosphorus compounds will be:

$$\Delta TA = 0.500 \times \Delta[\text{Nchl}] + 1.084 \times \Delta[\text{Nprot}] + 2.812 \times \Delta[\text{Pphy}] \quad (12)$$

According to the relative contribution of chlorophylls, proteins and phosphorus compounds to the average composition of marine phytoplankton (table 2),  $\Delta TA = -17.427$  eq of H<sup>+</sup> per mol of P<sub>T</sub> or  $-1.090$  eq of H<sup>+</sup> per mol of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. In addition, phytoplankton proteins and phosphorus compounds are alkaline by  $0.059 \times \Delta[\text{Nprot}] + 0.629 \times \Delta[\text{Pphy}] = 1.424$  eq of H<sup>+</sup> per mol of Pphy. Consequently, the traditionally neglected alkalinity of these organic constituents of marine phytoplankton (1.424 eq of H<sup>+</sup> per mol of P; table 2) is as important as the regularly accounted alkalinity of P<sub>T</sub> (1.133 eq of H<sup>+</sup> per mol of P; table 1).

Eq. (12) can be expressed in terms of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and P<sub>T</sub>, the chemical variables usually measured in hydrographic studies, as follows:

$$\Delta TA = -1.08 \times \Delta[\text{NO}_3^-] - 0.23 \times \Delta[\text{P}_T] \quad (13)$$

Considering that  $\Delta[\text{NO}_3^-] = -\Delta[\text{Nchl}] - \Delta[\text{Nprot}] - \Delta[\text{Pphy}] \times 12/5$  and that  $\Delta[\text{Nchl}]/\Delta[\text{Nprot}] = 1.61 \times 10^{-2}$  is the constant ratio usually found in marine phytoplankton (Fraga and Pérez, 1990), the alkalinity of phytoplankton proteins and phosphorus compounds in terms of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and P<sub>T</sub> changes is  $-0.60 \times \Delta[\text{NO}_3^-] - 0.49 \times \Delta[\text{P}_T]$ .

#### *Total alkalinity changes due to ammonium, nitrite and molecular nitrogen utilization*

Aside from NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, phytoplankton can use NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> and N<sub>2</sub> as nitrogen sources during photosynthesis, affecting  $\Delta TA$  in different ways. In the case that the nitrogen source is NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, then Eq. (13) should be corrected considering that a strong anion (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) is substituted by a strong cation (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) in Eqs. (6), (8) and (10), producing a  $\Delta TA$  change of  $-2.000$  eq of H<sup>+</sup> per mol of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> substituted by NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Goldman and Brewer, 1980). Therefore:

$$\Delta TA = -(1.08 - 2.00) \times \Delta[\text{NH}_4^+] - 0.23 \times \Delta[\text{P}_T] = 0.92 \times \Delta[\text{NH}_4^+] - 0.23 \times \Delta[\text{P}_T] \quad (14)$$

fitoplancton (Pphy) (tabla 2) y son capaces de cambiar la TA del agua de mar durante la fotosíntesis:

es decir, 2.812 eq de H<sup>+</sup> por mol de Pphy, como se deduce del balance de cationes menos aniones fuertes derivado de la ecuación estequiométrica de síntesis de compuestos de fósforo del fitoplancton marino:

Finalmente, la  $\Delta TA$  durante la síntesis de pigmentos, proteínas y compuestos de fósforo será:

Considerando la contribución relativa de pigmentos fotosintéticos, proteínas y compuestos de fósforo a la composición media del fitoplancton marino (tabla 2), resulta que  $\Delta TA = -17.427$  eq de H<sup>+</sup> por mol de P<sub>T</sub> ó  $-1.090$  eq de H<sup>+</sup> por mol de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Además, las proteínas y compuestos de fósforo del fitoplancton marino tienen una alcalinidad de  $0.059 \times \Delta[\text{Nprot}] + 0.629 \times \Delta[\text{Pphy}] = 1.424$  eq de H<sup>+</sup> por mol de Pphy. En consecuencia, la alcalinidad de estos compuestos (1.424 eq de H<sup>+</sup> por mol de P; tabla 2), que tradicionalmente no ha sido tomada en cuenta, es al menos tan importante como la alcalinidad debida al P<sub>T</sub> (1.133 eq de H<sup>+</sup> por mol de P; tabla 1).

La ecuación (12) puede expresarse en función de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y P<sub>T</sub>, las variables químicas habitualmente medidas en estudios hidrográficos:

$$\Delta TA = -1.08 \times \Delta[\text{NO}_3^-] - 0.23 \times \Delta[\text{P}_T] \quad (13)$$

Considerando que  $\Delta[\text{NO}_3^-] = -\Delta[\text{Nchl}] - \Delta[\text{Nprot}] - \Delta[\text{Pphy}] \times 12/5$  y que  $\Delta[\text{Nchl}]/\Delta[\text{Nprot}] = 1.61 \times 10^{-2}$  es la razón entre clorofilas y proteínas normalmente encontrada en el fitoplancton marino (Fraga y Pérez, 1990), la alcalinidad de las proteínas y compuestos de fósforo del fitoplancton marino en función de los cambios de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y P<sub>T</sub> sería  $-0.60 \times \Delta[\text{NO}_3^-] - 0.49 \times \Delta[\text{P}_T]$ .

#### *Variación de la TA a causa de la utilización de amonio, nitrito y nitrógeno molecular*

Además de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, el fitoplancton puede usar NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y N<sub>2</sub> como fuentes de nitrógeno durante la fotosíntesis. Cada una de estas formas de nitrógeno produce una variación de la TA diferente. Si la fuente de nitrógeno es el NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, entonces la ecuación (13) debe corregirse considerando la sustitución de un anión fuerte (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) por un catión fuerte (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en las ecuaciones (6), (8) y (10), lo cual produce una  $\Delta TA$  de  $-2.000$  eq de H<sup>+</sup> por mol de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> que se substituya por NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Goldman y Brewer 1980). Por tanto:



Concerning  $\text{NO}_2^-$ , there is great disagreement in the literature about the  $pK'_A$  value of the nitrous acid, which ranges from  $\sim 2.80$  (Santaballa, 1985) to  $4.36$  (Spencer, 1975), so  $\varepsilon_{4.25}$  could range from  $-0.975$  to  $-0.532$ , respectively. Therefore, the substitution of  $\text{NO}_3^-$  by  $\text{NO}_2^-$  could produce a  $\Delta\text{TA}$  of only  $-0.025$  to as much as  $-0.477$  eq of  $\text{H}^+$  per mol of  $\text{NO}_3^-$  substituted by  $\text{NO}_2^-$ . The experimental work conducted by Goldman and Brewer (1980) in seawater of salinity 32 and temperature  $19^\circ\text{C}$  supports the behaviour of  $\text{HNO}_2$  as a strong acid ( $pK'_A = 3.25$ ). For the purpose of this work, we will assume the latter value as the  $pK'_A$  of  $\text{HNO}_2$ . Consequently,  $\varepsilon_{4.25}$  is  $-0.934$  and the substitution of  $\text{NO}_3^-$  by  $\text{NO}_2^-$  produces a  $\Delta\text{TA}$  of  $-0.066$  eq of  $\text{H}^+$  per mol of  $\text{NO}_3^-$  substituted by  $\text{NO}_2^-$ . In any case, a rigorous assessment of this  $pK'_A$  in natural seawater is necessary.

$$\Delta\text{TA} = -(1.08-0.07)\times\Delta[\text{NO}_2^-] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] = -1.01\times\Delta[\text{NO}_2^-] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] \quad (15)$$

Finally, in the case that  $\text{N}_2$  is the nitrogen source, then Eq. (13) should be corrected considering that a strong anion ( $\text{NO}_3^-$ ) is substituted by a neutral form ( $\text{N}_2$ ), producing a  $\Delta\text{TA}$  change of  $-1.000$  eq of  $\text{H}^+$  per mol of  $\text{NO}_3^-$  substituted by  $\text{N}_2$ :

$$\Delta\text{TA} = -(1.08-1.00)\times\Delta[\text{N}_2] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] = -0.08\times\Delta[\text{N}_2] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] \quad (16)$$

Therefore, combining Eqs. (13), (14), (15) and (16) the TA change due to the synthesis of phytoplankton pigments, proteins and phosphorus compounds should be:

$$\Delta\text{TA} = -0.92\times\Delta[\text{NH}_4^+] - 0.08\times\Delta[\text{N}_2] - 1.01\times\Delta[\text{NO}_2^-] - 1.08\times\Delta[\text{NO}_3^-] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] \quad (17)$$

or:

$$\Delta\text{TA} = \Delta[\text{NH}_4^+] - 0.93\times\Delta[\text{NO}_2^-] - \Delta[\text{NO}_3^-] - 0.08\times\Delta[\text{N}_2] - 1.08\times\Delta[\text{N}_T] - 0.23\times\Delta[\text{P}_T] \quad (18)$$

where  $\Delta[\text{N}_T] = \Delta[\text{NH}_4^+] + \Delta[\text{N}_2] + \Delta[\text{NO}_2^-] + \Delta[\text{NO}_3^-]$ .

#### *Total alkalinity changes during the synthesis of dimethylsulfoniumpropionate (DMSP)*

Certain groups of phytoplankton, mainly Dinophyceae and Prymnesiophyceae, are able to produce and release large amounts of DMSP,  $(\text{CH}_3)_2\text{S}^+ (\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$ , a major form of reduced sulfur in marine particulate matter (Simó *et al.*, 2000). It may constitute up to 10–20% of cellular organic carbon (Matrai and Keller, 1994), becoming a major organic constituent in phytoplankton known to produce large amounts of DMSP.

Although the sulfonium group of DMSP does not participate in the hydrogen ion balance of seawater, the carboxylic acid group ( $pK'_A = 4.87$ ) should be considered. It does accept  $0.806$  eq of  $\text{H}^+$  per mol of S ( $S_{\text{DMSP}}$ ) during the

Con respecto al  $\text{NO}_2^-$ , existe una gran discrepancia en la bibliografía acerca del valor del  $pK'_A$  del ácido nitroso. Este varía desde  $\sim 2.80$  (Santaballa, 1985) hasta  $4.36$  (Spencer 1975), con lo que  $\varepsilon_{4.25}$  podría oscilar entre  $-0.975$  y  $-0.532$ , respectivamente. En consecuencia, la sustitución de  $\text{NO}_3^-$  por  $\text{NO}_2^-$  produciría una  $\Delta\text{TA}$  desde tan sólo  $-0.025$  hasta tanto como  $-0.477$  eq de  $\text{H}^+$  por mol de  $\text{NO}_3^-$  sustituido por  $\text{NO}_2^-$ . El trabajo experimental llevado a cabo por Goldman y Brewer (1980) en agua de mar de salinidad 32 y  $19^\circ\text{C}$  de temperatura apoya el comportamiento del  $\text{HNO}_2$  como ácido fuerte en agua de mar ( $pK'_A = 3.25$ ). En este trabajo usaremos este último valor del  $pK'_A$  del  $\text{HNO}_2$ . Por lo tanto,  $\varepsilon_{4.25}$  es  $-0.934$  y la sustitución de  $\text{NO}_3^-$  por  $\text{NO}_2^-$  produciría una  $\Delta\text{TA}$  de  $-0.066$  eq de  $\text{H}^+$  por mol de  $\text{NO}_3^-$  sustituido por  $\text{NO}_2^-$ . En cualquier caso, en el futuro será necesario determinar rigurosamente el  $pK'_A$  del  $\text{HNO}_2$  en agua de mar.

Finalmente, si el  $\text{N}_2$  fuese la fuente de nitrógeno, entonces la ecuación (13) debe corregirse considerando que se sustituye un anión fuerte ( $\text{NO}_3^-$ ) por una forma neutra ( $\text{N}_2$ ), lo cual produciría una  $\Delta\text{TA}$  de  $-1.000$  eq de  $\text{H}^+$  por mol de  $\text{NO}_3^-$  sustituido por  $\text{N}_2$ :

Por lo tanto, combinando las ecuaciones (13), (14), (15) y (16), la variación de la TA debida a la síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas y compuestos de fósforo resultaría ser:

o lo que es lo mismo:

donde  $\Delta[\text{N}_T] = \Delta[\text{NH}_4^+] + \Delta[\text{N}_2] + \Delta[\text{NO}_2^-] + \Delta[\text{NO}_3^-]$ .

#### *Variación de la TA durante la síntesis propionato de dimetil sulfonio (DMSP)*

Algunos grupos de fitoplancton, principalmente de las clases Dinophyceae y Prymnesiophyceae, pueden producir y liberar al medio grandes cantidades de DMSP,  $(\text{CH}_3)_2\text{S}^+ (\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$ , una de las principales formas de azufre reducido en el medio marino (Simó *et al.*, 2000). El DMSP puede representar hasta 10–20% del carbono orgánico celular (Matrai y Keller, 1994), llegando a ser un compuesto mayoritario en especies de fitoplancton capaces de producir grandes cantidades de este compuesto.

Aunque el sulfonio del DMSP no participa en el balance de  $\text{H}^+$  del agua de mar, el grupo carboxilo ( $pK'_A = 4.87$ ) sí lo hace. Este último puede aceptar  $0.806$  eq de  $\text{H}^+$  por mol de S ( $S_{\text{DMSP}}$ )

alkalinity titration from a standard  $pH_{SWS}$  of 8.0 to the equivalence point  $pH_{SWS}$  of 4.25 ( $\epsilon_{8.0} - \epsilon_{4.25} = -0.806$ ; table 1) and it is not able to accept 0.193 eq of  $H^+$  per mol of  $S_{DMSP}$  at  $pH_{SWS}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25} = -0.193$ ; table 1). In addition, DMSP is able to alter the TA of seawater during the photosynthesis of phytoplankton:

$$\Delta TA = -2 \times \Delta[SO_4^{2-}] + (1 - 0.193) \times \Delta[S_{DMSP}] = -2.807 \times \Delta[SO_4^{2-}] = -2.807 \times (-1) = 2.807, \quad (19)$$

that is, 2.807 eq of  $H^+$  per mol of  $S_{DMSP}$ , as indicated by the balance of strong cations minus strong anions derived from the stoichiometric equation of phytoplankton DMSP photosynthesis:



Therefore, for the case of phytoplankton that produces DMSP and uses  $NO_3^-$  as nitrogen source, Eq. (9) should be corrected to:

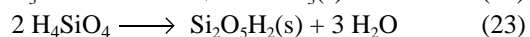
$$\Delta TA = 0.500 \times \Delta[Nchl] + 1.084 \times \Delta[Nprot] + 2.812 \times \Delta[Pphy] + 2.807 \times \Delta[S_{DMSP}] \quad (21)$$

In addition, the organic constituents of marine phytoplankton that produce DMSP are alkaline by  $0.059 \times \Delta[Nprot] + 0.629 \times \Delta[Pphy] + 0.806 \times \Delta[S_{DMSP}]$ .

Since intracellular DMSP concentration varies widely among species, it is unlikely to give an average  $\Delta TA$  change during the photosynthesis of phytoplankton able to produce DMSP. Therefore, we have considered the cases that 5%, 10% and 20% of cellular organic carbon are DMSP, representing 1.12, 2.36 and 5.30 mol of  $S_{DMSP}$  per mol of cellular carbon, respectively. So,  $\Delta TA$  would be  $-20.571$ ,  $-24.052$  and  $-32.304$  eq of  $H^+$  for 5%, 10% and 20% of cellular organic carbon as DMSP, which can be compared with the value of  $-17.427$  eq of  $H^+$  that we obtained for phytoplankton that does not produce DMSP. The corresponding alkalinity of the organic constituents of this phytoplankton would be 2.327, 3.326 and 5.696 eq of  $H^+$  per mol of  $P_T$ , comparable to the value of 1.424 eq of  $H^+$  obtained for phytoplankton that does not produce DMSP. Therefore, the synthesis of DMSP has a dramatic impact on the TA change of seawater during photosynthesis.

#### *Total alkalinity changes during the synthesis of the inorganic components of marine phytoplankton*

The TA calculations presented in the previous sections are incomplete when coccolithophores or diatoms play a part in photosynthesis. In these cases, the synthesis of calcareous (Eq. 22) and siliceous (Eq. 23) structures should also be considered:



As noted by Broecker and Peng (1982), the synthesis of calcareous structures severely affects the  $\Delta TA$  of the water

durante la valoración de la TA desde un  $pH_{SWS}$  estándar de 8.0 hasta el  $pH_{SWS}$  del punto de equivalencia de 4.25 ( $\epsilon_{8.0} - \epsilon_{4.25} = -0.806$ ; tabla 1) y no puede aceptar 0.193 eq de  $H^+$  por mol de  $S_{DMSP}$  a  $pH_{SWS}$  4.25 ( $\epsilon_{4.25} = -0.193$ ; tabla 1). Además, el DMSP hace variar la TA del agua de mar durante la fotosíntesis del fitoplancton marino:

es decir, 2.807 eq de  $H^+$  por mol de  $S_{DMSP}$ , tal y como indica el balance de cationes menos aniones fuertes que se deriva de la ecuación estequiométrica de síntesis de DMSP:

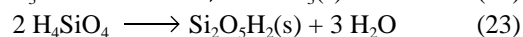
Por lo tanto, para el caso de fitoplancton marino productor de DMSP que use  $NO_3^-$  como fuente de nitrógeno, la ecuación (9) quedaría como:

Además, la alcalinidad de los compuestos orgánicos de dicho fitoplancton productor de DMSP sería  $0.059 \times \Delta[Nprot] + 0.629 \times \Delta[Pphy] + 0.806 \times \Delta[S_{DMSP}]$ .

Puesto que la concentración intracelular de DMSP varía mucho entre especies, no es factible proporcionar una fórmula para el cálculo de la variación de la TA durante la fotosíntesis del fitoplancton productor de DMSP. En este trabajo se han considerado los casos de que 5%, 10% y 20% del carbono orgánico celular fuese DMSP, lo cual representa 1.12, 2.36 y 5.30 moles de  $S_{DMSP}$  por mol de carbono celular, respectivamente.  $\Delta TA$  sería  $-20.571$ ,  $-24.052$  y  $-32.304$  eq de  $H^+$  para el caso de que 5%, 10% y 20% del carbono orgánico celular fuese DMSP, que ha de compararse con el valor de  $-17.427$  eq de  $H^+$  que se obtuvo para fitoplancton que no produzca DMSP. La alcalinidad de los compuestos orgánicos del fitoplancton productor de DMSP sería 2.327, 3.326 y 5.696 eq de  $H^+$  por mol de  $P_T$ , que ha de compararse a su vez con el valor de 1.424 eq de  $H^+$  obtenido para fitoplancton que no produzca DMSP. Por lo tanto, la síntesis de DMSP tiene un gran impacto en la variación de la TA del agua de mar durante la fotosíntesis.

#### *Variación de la TA durante la síntesis de constituyentes inorgánicos del fitoplancton marino*

Los cálculos presentados en las secciones anteriores son insuficientes cuando la fotosíntesis la realizan cocolitoforales y diatomeas. En estos casos debe además tenerse en cuenta la síntesis de estructuras calcáreas (ecuación 22) y silíceas (ecuación 23):



Según Broecker y Peng (1982), la síntesis de estructuras calcáreas hace variar notablemente la TA de la columna de

column:  $\Delta TA$  is as much as  $-2.000$  eq of  $H^+$  per mol of  $CaCO_3$  (Eq. 22). Accordingly, the synthesized  $CaCO_3(s)$  is alkaline by  $2.000$  eq of  $H^+$  per mol of  $C$  and would accept hydrogen ions during the TA determination because the coccoliths collected in the sample dissolve completely at  $pH_{SWS} < 5.5$  in less than  $30$  s (Balch *et al.*, 1996). Therefore, in order to determine the  $\Delta TA$  provoked by the synthesis of  $CaCO_3(s)$  in the water column, it is mandatory to filter the sample before the TA titration (Robertson *et al.*, 1994). Of course, the filter will also retain the alkaline organic tissues of marine coccolithophores, which are species that produce large amounts of DMSP (Matrai and Keller, 1994). Considering that DMSP represents 10% of cellular organic carbon of marine coccolithophores, then the  $\Delta TA$  provoked by the organic constituents of this phytoplankton in a sample filtered before the TA determination would not be  $-24.049$ , but  $-20.723$  eq of  $H^+$ . Therefore, for coccolithophores with an average Corg:CaCO<sub>3</sub> molar ratio of 1:1 (Buitenhuis *et al.*, 1999) and 10% of cellular organic carbon as DMSP,  $\Delta TA = -0.113$  eq of  $H^+$  per mol of  $C_T$  for an unfiltered seawater sample and  $\Delta TA = +0.902$  eq of  $H^+$  per mol of  $C_T$  for a filtered seawater sample.

Finally, the synthesis of diatom frustules slightly affects the hydrogen ion balance of seawater, because the  $pK'_A$  of the silicic acid at salinity 35 and temperature  $25^\circ C$  is 9.54 (table 1). Accordingly,  $\epsilon_{8,0} = -0.045$  and  $\epsilon_{4,25} = 0.000$  eq per mol of Si. Contrary to the case of the synthesis of calcareous structures, the opal of the diatom frustules ( $Si_2O_5H_2$ ) does not dissolve under the acid conditions of a TA determination. Consequently, filtration of the sample is not necessary to observe the  $\Delta TA$  provoked by synthesis of  $Si_2O_5H_2(s)$  in the water column.

### Concluding remarks

The contribution of the organic components of marine phytoplankton to the hydrogen ion balance of seawater has been carefully assessed for the first time. Inclusion of chlorophyll, proteins and phosphorus compounds in the balance of strong cations minus strong anions during photosynthesis of marine phytoplankton of average composition  $C_{106}H_{171}O_{42}N_{16}PS_{0.3}$  using  $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$  or  $NO_3^-$  as nitrogen source, produces the following revised expression for  $TA_p$  of seawater:

$$TA_p = TA - [NH_4^+] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.08 \times [N_T] + 0.23 \times [P_T] \quad (24)$$

The alkaline nature of the phytoplankton calcareous structures requires filtration of the sample before the TA determination in order to assess the TA changes in the water column during the photosynthesis of coccolithophores. In any case, even when coccolithophores do not contribute to photosynthesis, since phytoplankton proteins and phosphorus compounds are alkaline, the TA change of seawater would be overestimated if the sample were not filtered. In this sense, the most

agua:  $\Delta TA$  es  $-2.000$  eq de  $H^+$  por mol de  $CaCO_3$  (ecuación 22). De igual forma, la alcalinidad del  $CaCO_3(s)$  producido es  $2.000$  eq de  $H^+$  por mol de  $C$  y podría aceptar  $H^+$  durante la valoración de la TA porque los cocolitos presentes en la muestra se disolverían completamente a  $pH_{SWS} < 5.5$  en menos de  $30$  s (Balch *et al.*, 1996). Por lo tanto, para determinar la  $\Delta TA$  debida a la síntesis de  $CaCO_3(s)$  en la columna de agua es obligatorio filtrar las muestras antes de la valoración (Robertson *et al.*, 1994). Por supuesto, en el filtro también quedan retenidos los constituyentes orgánicos de los cocolitoforales, que son alcalinos. Ha de tenerse en cuenta que los cocolitoforales son además especies que producen grandes cantidades de DMSP (Matrai y Keller, 1994). Suponiendo que el DMSP representa el 10% del carbono orgánico celular de los cocolitoforales, la  $\Delta TA$  debida a los constituyentes orgánicos en una muestra filtrada antes de la valoración de TA no sería  $-24.049$  sino  $-20.723$  eq de  $H^+$ . Así, para una proliferación de cocolitoforales con una relación molar Corg:CaCO<sub>3</sub> en promedio de 1:1 (Buitenhuis *et al.*, 1999) y 10% de carbono orgánico celular en forma de DMSP,  $\Delta TA = -0.113$  eq de  $H^+$  por mol de  $C_T$  para una muestra no filtrada y  $\Delta TA = +0.902$  eq de  $H^+$  por mol de  $C_T$  para una muestra filtrada.

Finalmente, la síntesis de frústulos de diatomeas afecta ligeramente al balance del  $H^+$  del agua de mar porque el  $pK'_A$  del ácido silícico a salinidad 35 y temperatura  $25^\circ C$  es 9.54 (tabla 1). Por lo tanto,  $\epsilon_{8,0} = -0.045$  y  $\epsilon_{4,25} = 0.000$  eq por mol de Si. Al contrario de lo que ocurre con las estructuras calcáreas, el ópalo de los frústulos de diatomeas ( $Si_2O_5H_2$ ) no se disuelve durante la valoración de TA. En consecuencia, no es necesario filtrar las muestra para observar el  $\Delta TA$  producido por la síntesis de  $Si_2O_5H_2(s)$  en la columna de agua.

### Conclusiones

En este trabajo se ha estimado por primera vez la contribución de los componentes orgánicos del fitoplancton marino al balance de  $H^+$  del agua de mar. La inclusión de los pigmentos fotosintéticos, las proteínas y los compuestos de fósforo en el balance de cationes menos aniones fuertes durante la fotosíntesis del fitoplancton marino de composición media  $C_{106}H_{171}O_{42}N_{16}PS_{0.3}$  usando  $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$  o  $NO_3^-$  como fuente de nitrógeno produce la siguiente expresión revisada para la  $TA_p$  del agua de mar:

El carácter alcalino de las estructuras calcáreas requiere que la muestra se filtre antes de la valoración para poder evaluar los cambios de TA en la columna de agua durante la fotosíntesis de los cocolitoforales. En todo caso, aunque los cocolitoforales no contribuyesen a la fotosíntesis, puesto que las proteínas y compuestos de fósforo del fitoplancton son alcalinos, la variación de la TA del agua de mar se sobrestimaría si la muestra no se filtrase. En este sentido, la expresión

correct expression for the potential alkalinity of filtered seawater would be:

$$TA_p = TA - [NH_4^+] + 0.93 \times [NO_2^-] + [NO_3^-] + 0.02 \times [N_T] - 0.26 \times [P_T] \quad (25)$$

Since  $N_2$  is not a universal nitrogen source, and DMSP and  $CaCO_3$  are not universal products of phytoplankton photosynthesis, they are determined only in process orientated studies. For this reason, we have not included them in the revised definition of  $TA_p$ . Consequently,  $TA_p$  anomalies should be observed during  $N_2$  and  $CaCO_3$  fixation and DMSP production. Whereas  $N_2$  fixation has a limited effect on the TA change of seawater, only  $-0.08 \times \Delta[N_2]$  for unfiltered samples and  $-0.02 \times \Delta[N_2]$  for filtered samples, the synthesis of DMSP and, in particular,  $CaCO_3$  produces more substantial changes. In this sense,  $TA_p$  anomalies have been traditionally used to estimate  $CaCO_3$  synthesis ( $\Delta CaCO_3 = \Delta C_T - 0.5 \times \Delta TA_p$ ). Calculation of  $TA_p$  with eq. (25) would underestimate  $CaCO_3$  synthesis during a coccolithophore bloom with a Corg: $CaCO_3$  ratio of 1:1 only by 1.1%, 2.2% and 5.0% for 5%, 10% and 20% of cellular organic carbon as DMSP, respectively.

### Acknowledgements

This study received financial support from the Spanish Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT), through grants MAR99-1039-C02-01 and REN2000-0880-C02-01.

### References

- Anderson, L.A. (1995). On the hydrogen and oxygen content of marine phytoplankton. *Deep-Sea Res., Part I*, 42: 1675–1680.
- Balch, W.M., Fritz, J. and Fernández, E. (1996). Decoupling of calcification and photosynthesis in the coccolithophore *Emiliania huxleyi* under steady-state light-limited growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 142: 87–97.
- Brewer, P.G. and Goldman, J.C. (1976). Alkalinity changes generated by phytoplankton growth. *Limnol. Oceanogr.*, 21: 108–117.
- Brewer, P.G., Wong, G.T.F., Bacon, M.P. and Spencer, D.W. (1975). An ocean calcium problem. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 26: 81–87.
- Broecker, W.S. and Peng, T.H. (1982). *Tracers in the Sea*. Eldigio Press.
- Buitenhuis, E.T., Baar, J.W. de and Veldhuis, J.W. (1999). Photosynthesis and calcification by *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) as a function of inorganic carbon species. *J. Phycol.*, 35: 949–959.
- Dawson, R.M.C., Elliot, D.C., Elliot, W.H. and Jones, K.M. (1986). *Data for Biochemical Research*. 3rd ed. Clarendon Press.
- Dickson, A.G. (1981). An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. *Deep-Sea Res.*, 28: 609–623.
- Fraga, F. y Pérez, F.F. (1990). Transformaciones entre composición química del fitoplancton, composición elemental y relación de Redfield. *Sci. Mar.*, 54: 69–76.
- Fraga, F., Ríos, A.F., Pérez, F.F. and Figueiras, F.G. (1998). Theoretical limits of oxygen:carbon and oxygen:nitrogen ratios during photosynthesis and mineralisation of organic matter in the sea. *Sci. Mar.*, 62: 161–168.

correcta para la  $TA_p$  de una muestra de agua de mar filtrada sería:

Puesto que ni el  $N_2$  es una fuente universal de nitrógeno ni el DMSP y  $CaCO_3$  son productos universales de la fotosíntesis del fitoplancton, éstos se determinan únicamente en estudios específicos. Por esta razón no han sido incluidos en la definición revisada de  $TA_p$ . En consecuencia, debieran observarse anomalías al comportamiento conservativo de la  $TA_p$  si se produjese fijación de  $N_2$  ó  $CaCO_3$  ó producción de DMSP. Mientras que la fijación de  $N_2$  tiene un efecto muy limitado sobre la variación de la TA del agua de mar (solamente  $-0.08 \times \Delta[N_2]$  para muestras no filtradas y  $-0.02 \times \Delta[N_2]$  para muestras filtradas), la síntesis de DMSP y, principalmente, de  $CaCO_3$  produce cambios más substanciales. En este sentido, las anomalías de  $TA_p$  han sido utilizadas tradicionalmente para estimar la síntesis de  $CaCO_3$  ( $\Delta CaCO_3 = \Delta C_T - 0.5 \times \Delta TA_p$ ). El cálculo de  $TA_p$  con la ecuación (25) subestimaría la síntesis de  $CaCO_3$  durante una proliferación de coccolitoforales con una razón Corg: $CaCO_3$  de 1:1 solamente en 1.1%, 2.2% y 5.0% para 5%, 10% y 20% de carbono orgánico celular en forma de DMSP, respectivamente.

### Agradecimientos

Este estudio se realizó en el marco de dos estudios financiados por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT), con números de referencia MAR99-1039-C02-01 y REN2000-0880-C02-01.

Traducido al español por los autores.

- Goldman, J.C. and Brewer, P.G. (1980). Effect of nitrogen source and growth rate on phytoplankton-mediated changes in alkalinity. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 352–357.
- Johansson, O. and Wedborg, M. (1982). On the evaluation of potentiometric titrations of seawater with hydrochloric acid. *Oceanol. Acta*, 5: 209–218.
- Laws, E.A. (1991). Photosynthetic quotients, new production and net community production in the open ocean. *Deep-Sea Res.*, 38: 143–167.
- Matrai, P.A. and Keller, M.D. (1994). Total organic sulfur and dimethylsulfoniopropionate in marine phytoplankton: intracellular variations. *Mar. Biol.*, 119: 61–68.
- Millero, F.J. (1995). Thermodynamics of the carbon dioxide system in the oceans. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 59: 661–677.
- Miyata, K. and Hattori, A. (1986). A simple fractionation method for determination of phosphorus components in phytoplankton: application to natural population of phytoplankton in summer surface waters of Tokyo Bay. *J. Oceanol. Soc. Japan*, 42: 255–265.
- Redfield, A.C., Ketchum, B.H. and Richards, F.A. (1963). The influence of organisms on the composition of seawater. In: M.N. Hill (ed.), *The Sea*. Vol. 2. Interscience, pp. 26–77.
- Richards, F.A. (1965). Anoxic basins and fjord. In: J.P. Riley and G. Skirrow G (eds.), *Chemical Oceanography*. Vol. 1. Academic Press, pp. 611–645.

- Robertson, J.E., Robinson, C., Turner, D.R., Holligan, P., Watson, A.J., Boyd, P., Fernández, E. and Finch, M. (1994). The impact of a coccolithophore bloom on oceanic carbon uptake in the northeast Atlantic during summer 1991. *Deep-Sea Res., Part I*, 41: 297–314.
- Santaballa, J.A. (1985). Efectos isotópicos del disolvente sobre las reacciones de nitrosación de la piperacina y el  $\beta$ -naftol. Ph.D. thesis, Universidad de Santiago de Compostela, 316 pp.
- Simó, R., Pedrós-Alió, C., Malin, G. and Grimalt, J.O. (2000). Biological turnover of DMS, DMSP and DMSO in contrasting open-ocean waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 203: 1–11
- Spencer, C.P. (1975). The micronutrient elements. In: J.P. Riley and G. Skirrow (eds.), *Chemical Oceanography*. 2nd ed. Academic Press, New York, pp. 245–300.
- Wada, E. and Hattori, A. (1991). *Nitrogen in the Sea: Forms, Abundances and Rate Processes*. CRC Press, Boca Raton, 208 pp.