

DETERMINACIÓN DE ALCALINIDAD TOTAL EN AGUA DE MAR UTILIZANDO TITULADOR AUTOMÁTICO TITRANDO 888. MÉTODO DE TITULACIÓN EN CELDA ABIERTA



REMARCO
REMARCO-AO-P-03
V.01

Octubre, 2021

Elaborado por:

Miguel Gómez Batista - CEAC, Cuba
César A. Bernal - INVEMAR, Colombia
Joan Albert Sánchez Cabeza - ICML-UNAM, México
Héctor Cartas Águila - CEAC, Cuba
Elianet Pérez Pérez - CEAC, Cuba
Gerardo Ruíz-Rodríguez - LABTOX-UES, El Salvador
Jonathan Herrera Merlo - CIRA-UNAN, Nicaragua

Edición:

César A. Bernal - INVEMAR, Colombia

Comité Ejecutivo de REMARCO

Representante de Acidificación de Océanos

Cesar Augusto Bernal
Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andrés" - INVEMAR
COLOMBIA

Representante de Contaminación Química

Ana Carolina Ruiz-Fernández
Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM.
MÉXICO

Representante de Floraciones Algales

Benjamin Suarez Isla
Universidad de Chile (LABTOX-UCHILE).
CHILE

Representante de Microplásticos

Denise Delvalle Borrero
Universidad Tecnológica de Panamá
PANAMÁ

Representante de Comunicaciones

Laura Brenes Alfaro.
Centro de Investigación en Contaminación Ambiental - CICA.
COSTA RICA

EQUIPO IAEA

Project Management Officer RLA/7/025

Magali Zapata Cazier
Organismo Internacional de Energía Atómica - OIEA

Technical Officer RLA/7/025

Carlos Manuel Alonso Hernández
Organismo Internacional de Energía Atómica - OIEA

Imagen de portada: Titulador automático.
CEAC, Cuba.

Foto: Miguel Gómez Batista.

Citar como:

Gómez M., Bernal C., Sánchez-Cabeza J.A., Cartas H., Pérez, E., Ruiz G., & Herrera J. (2021). Determinación de alcalinidad total en agua de mar utilizando titulador automático Titrand 888. Método de titulación en celda abierta. Red de Investigación de Estresores Marinos - Costeros en Latinoamérica y El Caribe - REMARCO. Santa Marta, Colombia. 38 pp. <https://remarco.org/manual-ao/>

REMARCO agradece al Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) el soporte para la elaboración del presente documento, a través del proyecto de Cooperación Técnica RLA/7/025.

Este material no tiene fines de lucro. Se prohíbe su venta. Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión del contenido de este producto para propósitos educativos u otros fines no comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, siempre que se especifique claramente la fuente.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| 1.OBJETIVO | 2 |
| 2.ALCANCE | 2 |
| 3.TÉRMINOS Y DEFINICIONES | 2 |
| 4.FUNDAMENTO TEÓRICO | 2 |
| 5.MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS | 3 |
| 5.1. Materiales..... | 3 |
| 5.2. Reactivos | 3 |
| 5.3. Equipos | 4 |
| 6.DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES | 4 |
| 6.1. Ensamblaje del titulador automático..... | 4 |
| 6.2. Configuración de los métodos de trabajo del titulador automático..... | 5 |
| 6.3. Acondicionamiento del electrodo de pH previo a la medición | 8 |
| 6.4. Preparación de las condiciones ambientales, acondicionamiento de muestras y patrones. | 9 |
| 6.5. Acondicionamiento del sistema de medición de alcalinidad total..... | 9 |
| 6.6. Medición de las muestras | 12 |
| 6.7. Registro de datos..... | 14 |
| 6.8. Cálculo y expresión de los resultados | 15 |
| 6.9. Estimación de incertidumbre..... | 16 |
| 7.CONTROL DE CALIDAD | 16 |
| 8.MANEJO DE RESIDUOS | 16 |
| 9.DOCUMENTOS DE REFERENCIA | 17 |
| 10.ANEXOS | 1 |
| 10.1. ANEXO 1: Configuración del método “Verification with NBS Buffers” | 1 |
| 10.2. ANEXO 2: Configuración del método “Calibration Electrode with TRIS Buffer” | 6 |
| 10.3. ANEXO 3: Configuración del método “Alkalinity for 50 mL samples” | 13 |
| 10.4. ANEXO 4 Preparación de Material de Referencia Interno | 21 |

1. OBJETIVO

Describir el procedimiento para la determinación de la alcalinidad total en aguas marino-costeras empleando el titulador automático Titrando 888 en celda abierta.

2. ALCANCE

Este método está recomendado para los laboratorios de la red REMARCO que realicen determinaciones de alcalinidad total en aguas marino-costeras con titulación automática en celda abierta empleando el titulador automático Titrando 888, y está basado en el procedimiento estándar de operación 3b (Dickson et al., 2007). El mismo está diseñado para cumplir con la categoría de calidad "Weather" (incertidumbre de la alcalinidad total <10 $\mu\text{mol kg}^{-1}$) según lo establecido en el indicador 14.3.1 de los Objetivos de Desarrollo Sostenible.

Las muestras de agua deben colectarse, preservarse y almacenarse de acuerdo con el procedimiento "Recolección y preservación de muestras para la medición de variables del sistema de CO₂ en aguas marino – costeras" REMARCO-AO-P-01 ubicado en <https://remarco.org/manualao/>

3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

A_T: Alcalinidad Total ($\mu\text{mol kg}^{-1}$).

La alcalinidad total de una muestra de agua de mar se define como el exceso de especies aceptoras de protones sobre aquellas que los donan (Eq. 1). La definición de aceptor o donador de protones se realiza convencionalmente con respecto a la constante de disociación ácida pK= 4.5 (25 °C y cero fuerza iónica). Los ácidos débiles con pK > 4.5 son considerados donadores de protones, y las bases formadas por ácidos débiles con pK ≤ 4.5 son consideradas aceptoras de protones (Dickson, 1981, 1992; Dickson et al., 2007).

$$A_T = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B(OH)}_4^-] + [\text{OH}^-] + [\text{HPO}_4^{2-}] + 2[\text{PO}_4^{3-}] + [\text{SiO(OH)}_3^-] \\ + [\text{NH}_3] + [\text{HS}^-] - [\text{H}^+]_F - [\text{HSO}_4^-] - [\text{HF}] - [\text{H}_3\text{PO}_4] + [\text{minor bases} \\ - \text{minor acids}] \quad (1)$$

En la Eq. 1 los corchetes representan la concentración total en solución y [H⁺]_F es la concentración libre del ión hidrógeno. La concentración de amonio y sulfuro de hidrógeno son típicamente tan bajas que pueden ser despreciadas cuando se estudian aguas oceánicas abiertas; sin embargo, pueden ser significantes en ambientes anóxicos o aguas costeras (Hernández-Ayon et al., 2007; Wolf-Gladrow et al., 2007).

[H⁺]_F: Concentración libre de ión hidrógeno (mol kg^{-1}).

4. FUNDAMENTO TEÓRICO

En una celda abierta se adiciona un volumen conocido de agua de mar y se titula en dos etapas con una solución de ácido clorhídrico (0.1 N). En la primera etapa, la muestra se acidifica con una sola alícuota de solución valorante hasta alcanzar un pH entre 3.5 y 4.0 y se agita durante un tiempo que

permita que se escape el dióxido de carbono (CO_2) que se forma. En la segunda etapa, se continúa la titulación hasta alcanzar un pH cercano a 3.0.

El ácido se prepara en una solución de cloruro de sodio para aproximar la fuerza iónica del agua de mar y mantener aproximadamente constantes los coeficientes de actividad durante la valoración. El uso de celdas abiertas permite asumir, en un procesamiento posterior de los datos, que el carbono inorgánico total disuelto (y por lo tanto, la cantidad residual de ión bicarbonato) es aproximadamente cero en la región de pH entre 3.0 y 3.5. El progreso de la valoración se monitorea usando un electrodo de vidrio de referencia y se debe mantener constante la temperatura durante el mismo. La alcalinidad total se calcula a partir del volumen del valorante y los valores de potencial medidos durante la titulación, usando un ajuste no lineal de mínimos cuadrados que corrige la reacción con los iones sulfatos y fluoruros (Dickson et al., 2007).

5. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

5.1. Materiales

- ✓ Tubo conductor (Tygon).
- ✓ Pipetas Pasteur 50 mL.
- ✓ Vaso de precipitado de borosilicato y volumen 50 mL.
- ✓ Jeringa plástica de 60 mL.
- ✓ Vaso de precipitado de doble pared, borosilicato, y volumen 100 mL.
- ✓ Filtro de microfibras de vidrio GF/F ($0.7 \mu\text{m}$, $\varnothing 47 \text{ mm}$).
- ✓ Barra de agitación magnética.
- ✓ Frasco lavador con agua desionizada.
- ✓ Guantes libres de polvo.
- ✓ Papel libre de fibras por ejemplo los de marca "Kimwipes".
- ✓ Cuaderno de anotaciones o registro primario de datos.

5.2. Reactivos

- ✓ Solución valorante certificada: HCl a concentración de 0.1 mol kg^{-1} en matriz de NaCl (0.6 mol kg^{-1}) (Dickson's lab, SCRIPPS Institute, La Jolla, CA, co2crms@ucsd.edu).
- ✓ Buffer Tris en agua de mar sintética (Dickson's lab, SCRIPPS Institute, La Jolla, CA, co2crms@ucsd.edu).
- ✓ Material de Referencia Certificado para mediciones de CO_2 en agua de mar (SCRIPPS Institute, La Jolla, CA, co2crms@ucsd.edu).
- ✓ Buffer pH 4.0.
- ✓ Buffer pH 7.0.
- ✓ Solución saturada de Cloruro de mercurio (II) (HgCl_2).
- ✓ Solución de almacenamiento para electrodos de pH.

- ✓ Solución electrolítica de KCl a concentración 3M (Metrohm).
- ✓ Agua desionizada.

5.3. Equipos

- ✓ Titulador automático (Metrohm, Titrando 888) con bureta (5 mL).
- ✓ Unidad de agitación magnética (Metrohm, 801 Stirrer).
- ✓ Electrodo combinado de vidrio (Metrohm, Ecotrode).
- ✓ Punta anti-difusión para dispensar solución valorante durante la titulación (Metrohm).
- ✓ Electrodo de temperatura (Metrohm, pt 1000, ± 0.1 °C).
- ✓ Baño termostático con recirculación (± 0.1 °C) (Referencia: Julabo-CORIO 601F).
- ✓ Baño termostático (± 0.1 °C) (Referencia: Julabo-TW12).
- ✓ Balanza (± 0.0001 g).
- ✓ Sistema de filtración para filtros de 47 mm de diámetro.
- ✓ Computador.
- ✓ Software “*Titration and more*” Tiamo™ 2.5.

6. DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES

6.1. Ensamblaje del titulador automático

- a. Posicionar en el lugar de trabajo la unidad de titulación y accesorios, seguir las instrucciones descritas en el manual de usuario para su ensamblaje (Metrohm, 2016a) (Figura 1).
- b. Conectar la alimentación eléctrica al titulador.
- c. Conectar el titulador al computador a través del puerto USB.



Figura 1. Ensamblaje de los componentes del titulador 888 Titrande.

6.2. Configuración de los métodos de trabajo del titulador automático.

- 6.2.1. Método: Verificación del electrodo con buffers NBS “*Verification electrode with NBS buffers*”.
- Iniciar el software Tiamo™ 2.5.
 - Crear directorio nombrado "*Calibration_export*" hacia donde se exportarán los datos provenientes de la verificación. (e.g. C:\Data\Alkalinity\Calibration_exports).
 - Crear el método siguiendo las instrucciones del tutorial del software (Metrohm, 2016b) y las instrucciones del Anexo 1 para la configuración de cada comando del método (Figura 2).

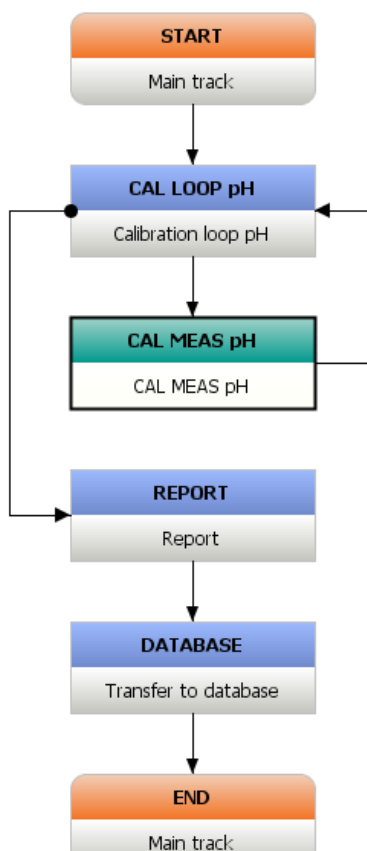


Figura 2. Secuencia de comandos del método “Verification electrode with NBS buffers”.

6.2.2. Método: Calibración del electrodo con buffer Tris “Calibration electrode with TRIS buffer”.

- a. Iniciar el software Tiamo™ 2.5.
- b. Crear el método siguiendo las instrucciones del manual del software (Metrohm, 2016b) y las instrucciones del Anexo 2 para la configuración de cada comando del método (Figura 3).

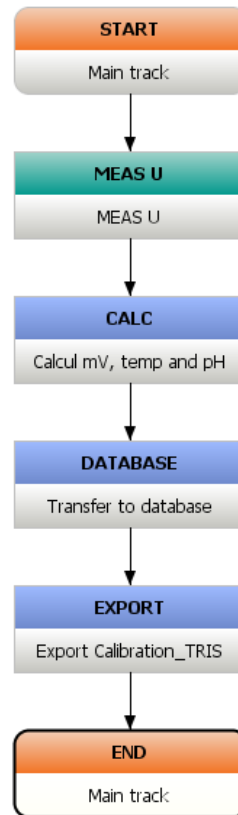


Figura 3. Secuencia de comandos del método “*Calibration electrode with TRIS buffer*”

6.2.3. Método: Determinación de alcalinidad “*Alkalinity for 50 mL*”

- a. Iniciar el software Tiamo™ 2.5.
- b. Crear directorio nombrado “*Titration_exports*” hacia donde se exportarán los datos provenientes de la titulación. (e.g. C:\Data\Alkalinity\Titration_exports).
- c. Crear el método siguiendo las instrucciones del manual del software (Metrohm, 2016b) y las instrucciones del Anexo 3 para la configuración de cada comando del método (Figura 4).

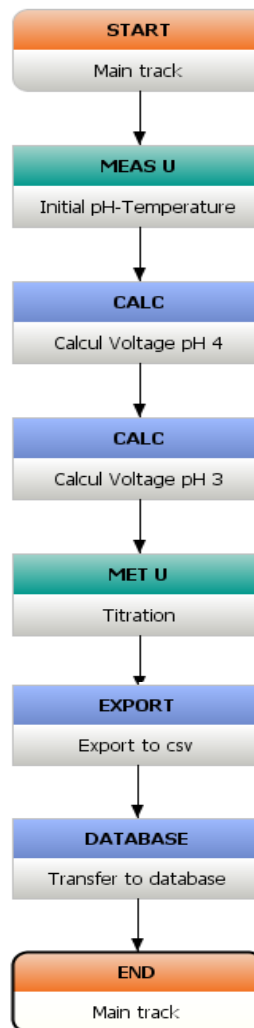


Figura 4. Secuencia de comandos del método “Alkalinity for 50 mL”

6.3. Acondicionamiento del electrodo de pH previo a la medición

Ejecutar las siguientes acciones para acondicionar el electrodo al menos 12 horas previas a la medición:

- Destapar el pequeño agujero del electrodo que permite el intercambio de la solución electrolítica con el aire.
- Revisar que el nivel de la solución electrolítica (KCl, 3M) se encuentre entre las marcas de mínimo y máximo. En caso contrario, agregar solución hasta el nivel indicado.
- Sumergir el electrodo en agua de mar durante el tiempo de acondicionamiento. Utilizar vaso de precipitado de 50 mL.

6.4. Preparación de las condiciones ambientales, acondicionamiento de muestras y patrones.

- a. Ajustar la temperatura del área de medición a 25 °C.
- b. Ajustar a 25 °C la temperatura de las muestras, los buffers (NBS: 7.0 / 4.0, TRIS) y el CRM colocándolos en un baño con temperatura controlada durante una hora antes de la medición.

6.5. Acondicionamiento del sistema de medición de alcalinidad total

6.5.1. Eliminación de las burbujas alojadas en el sistema de suministro de ácido.

- a. Iniciar el software TiamoTM 2.5.
- b. Desconectar el suministro de ácido hacia la bureta y colocar la punta dispensadora de ácido en el recipiente utilizado para la colección de residuos de limpieza de los electrodos.
- c. En el software Tiamo™ 2.5, seleccionar del menú “Manual control” la opción “Dosing device / Add fixed volumen”, indicar 5 mL y pulsar “Start”. La bureta dispensará el volumen de ácido indicado y durante el proceso de llenado se formará una burbuja en su interior (Figura 5).

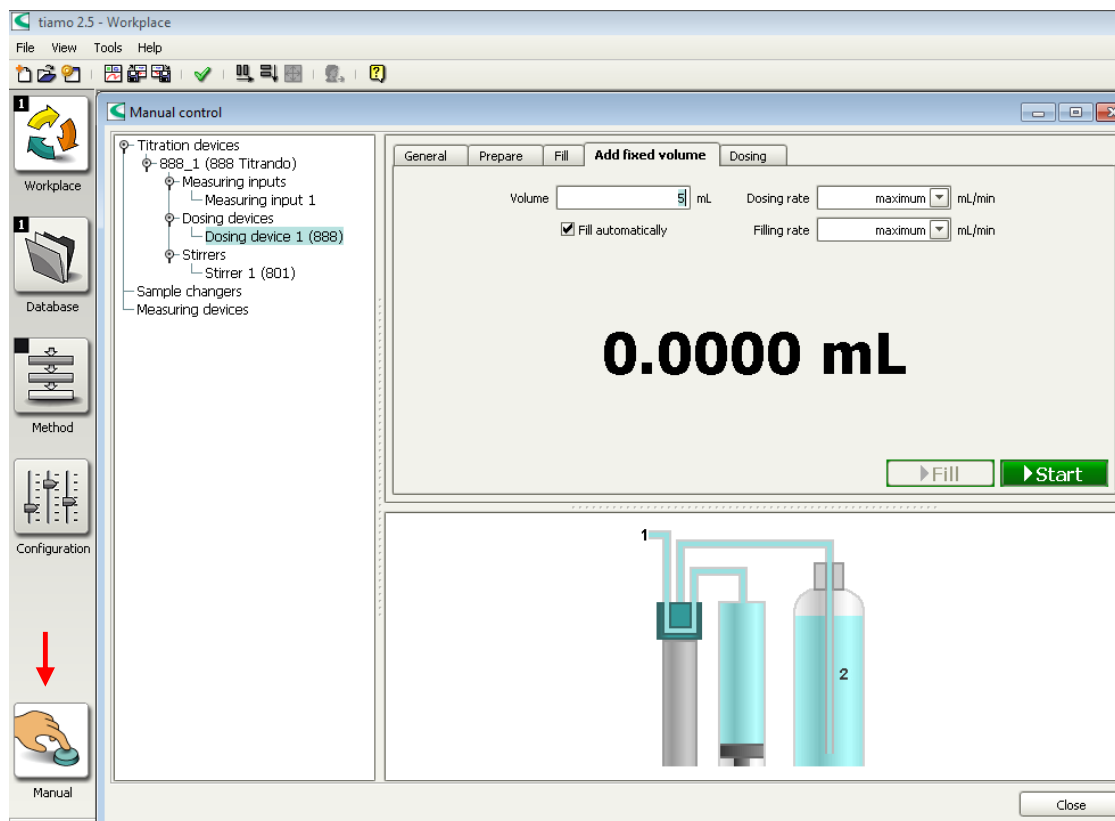


Figura 5: Vista del menú “Manual”/ “Dosing device” del software Tiamo™ 2.5

- d. Desenchufar la unidad que soporta la bureta (“Exchange Unit”) tirando suavemente; una vez libre, gírela hacia abajo y hacia arriba para eliminar las burbujas atascadas en la parte inferior

de la bureta. Cuando haya eliminado las burbujas, vuelva a conectar la unidad y conecte el suministro de ácido (Metrohm, 2016a). Coloque la punta dispensadora de ácido en el recipiente para la colección de residuos.

- e. Seleccionar del menú “Manual control” la opción “Dosing device / Add fixed volumen” y fijar 15 mL. Durante el proceso de llenado y vaciado, golpee suavemente las conexiones con los dedos para eliminar las burbujas alojadas en el sistema (Figura 6).

6.5.2. Verificación del electrodo de pH con buffers NBS

- a. Limpiar el electrodo y el sensor de temperatura con agua desionizada, secarlos y sumergirlos en buffer pH 7.0. Revisar que el pequeño orificio del electrodo este destapado. En el software Tiamo™ 2.5 desde el menú “Manual control” seleccionar “Stirrer” y ajustar la agitación a velocidad 2 (Figura 6). Mantener el electrodo sumergido durante al menos 2 minutos.

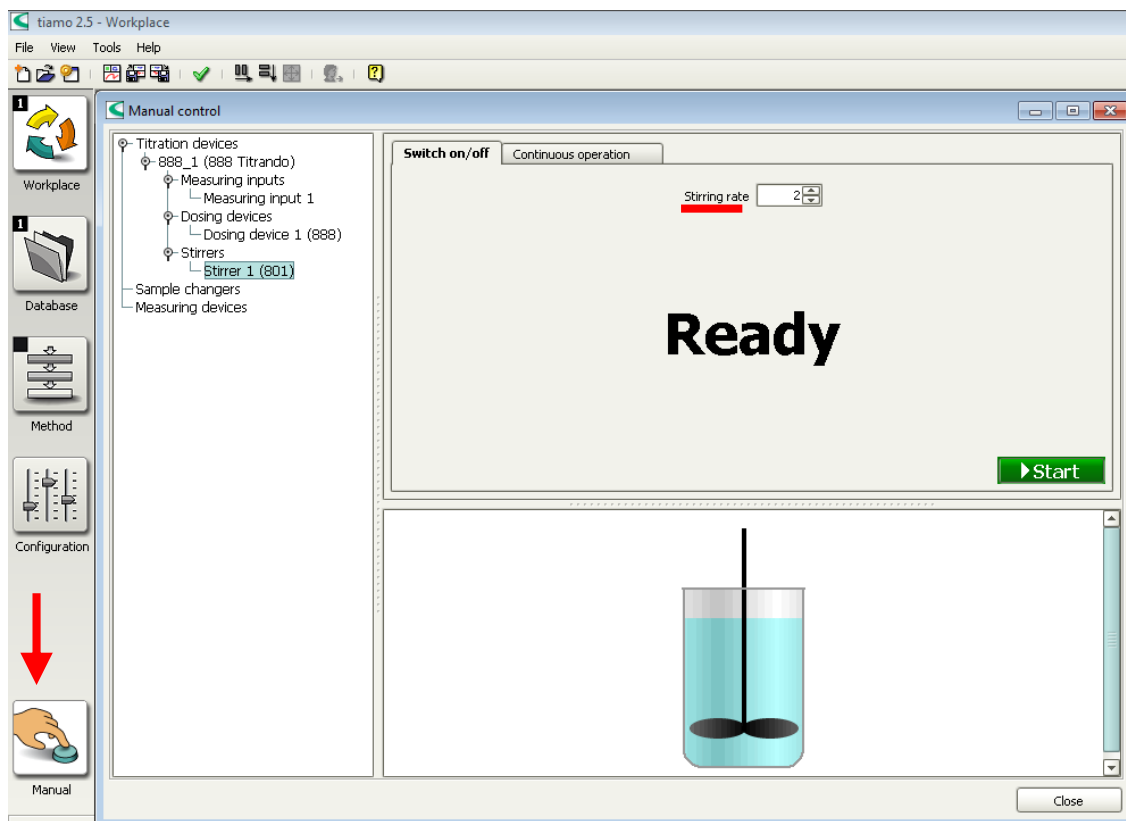


Figura 6: Vista del menú “Manual Control” del software Tiamo™ 2.5.

- b. Verificar la pendiente del electrodo de pH con los buffers NBS. En el software Tiamo™ 2.5, seleccionar el menú “Workplace”. En la ventana “Run”, seleccionar el método “Verification electrode with NBS buffers”. Primero medir el buffer pH 7.0 pulsando “Start” y después medir el buffer de pH 4.0. Entre las mediciones limpiar el electrodo de pH y el sensor de temperatura con agua desionizada y secarlos. Siga las instrucciones mostradas en la pantalla (Figura 7).

Nota 1: El electrodo se verifica en el rango de pH donde se llevará a cabo la segunda etapa de la titulación (pH entre 4 y 3).

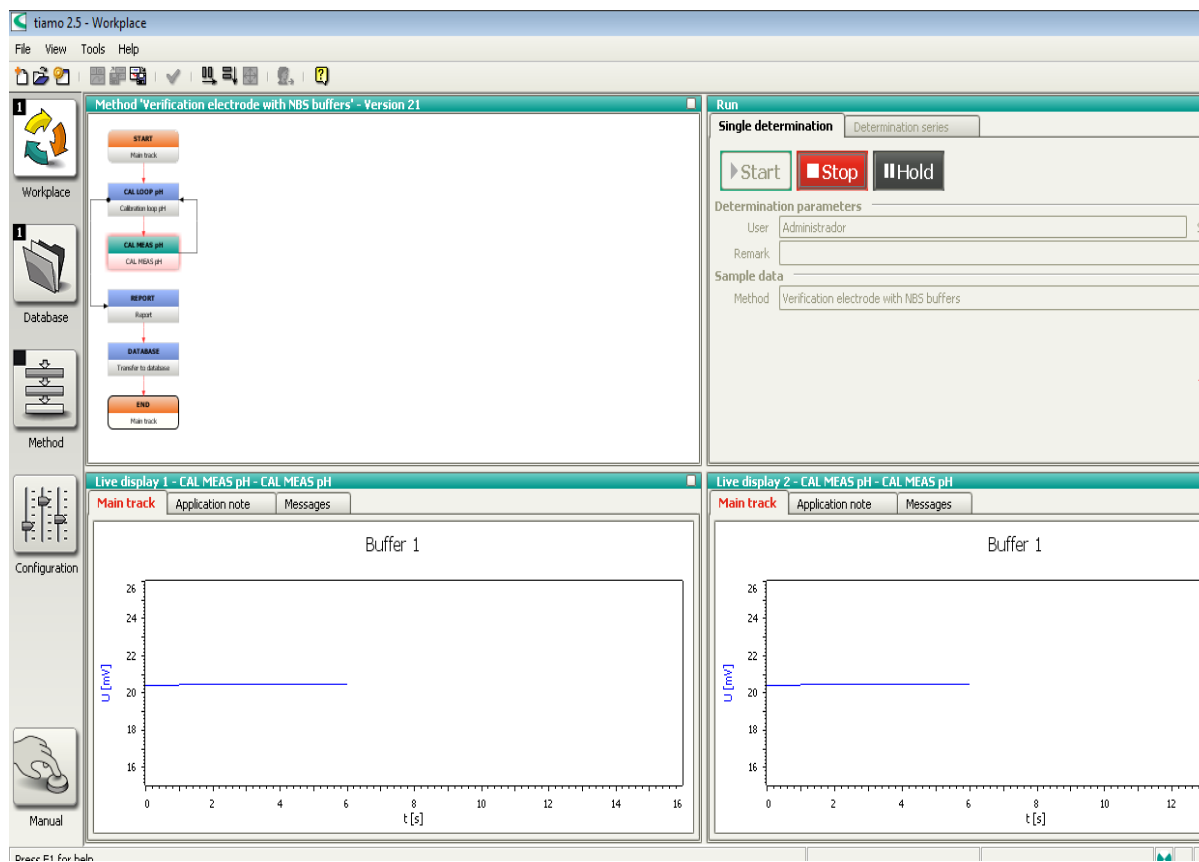


Figura 7: Vista del menú "Workplace" del software Tiamo™ 2.5 con el método "Verification electrode with NBS buffers" seleccionado

- c. En el software Tiamo™ 2.5, seleccionar el menú "Database". Abrir la base de datos "Calibration". En la ventana "Determination overview" seleccionar la determinación recién realizada, sobre ella pulse el clic derecho y seleccione "Show calibration curve". Verificar que el valor de la pendiente se encuentra en el rango 99.5 y 100.3%. Automáticamente se crea un PDF en la carpeta "Calibration_export" con el nombre "Calibration_electrode_fecha".

Nota 2: Si el valor se encuentra fuera de rango, ejecute nuevamente el método "Verification electrode with NBS buffers", en caso de que el valor de la pendiente se mantenga fuera de rango después de tres intentos de verificación proceda a cambiar la solución electrolítica, pasadas 24 horas ejecute nuevamente el método, de mantenerse fuera de rango tras tres intentos proceda a cambiar el electrodo.

- d. Guardar una copia de seguridad con los datos de la verificación.

6.5.3. Calibración del electrodo de pH con buffer TRIS

- a. Limpiar el electrodo, el sensor de temperatura y el agitador magnético con agua desionizada, secarlos y sumergirlos por 30 minutos en agua de mar. Cumplido el tiempo, limpiarlos con agua

desionizada y sumergirlos en el buffer TRIS. La punta dispensadora de ácido no se sumerge en este momento.

- b. En el software Tiamo™ 2.5, seleccionar el menú “Workplace”. En la ventana “Run” seleccionar el método “Calibration electrode with TRIS buffer”, ingresar la salinidad de su buffer y presionar “Start” (Figura 8).

Nota 3: Los valores de calibración se almacenan en el software en la base de datos “Calibration,” también se exportan hacia el directorio “Calibration_export” contenidos en el fichero “Calibration_TRIS.csv”, los mismos se utilizarán como referencia para el cálculo del pH de la muestra durante la titulación que se realizará al ejecutar el método “Alkalinity for 50 ml”, estos valores también se utilizarán para el cálculo de la alcalinidad total utilizando la función “at” del paquete seacarb de R.

- c. Guardar una copia de seguridad con los datos de la calibración.

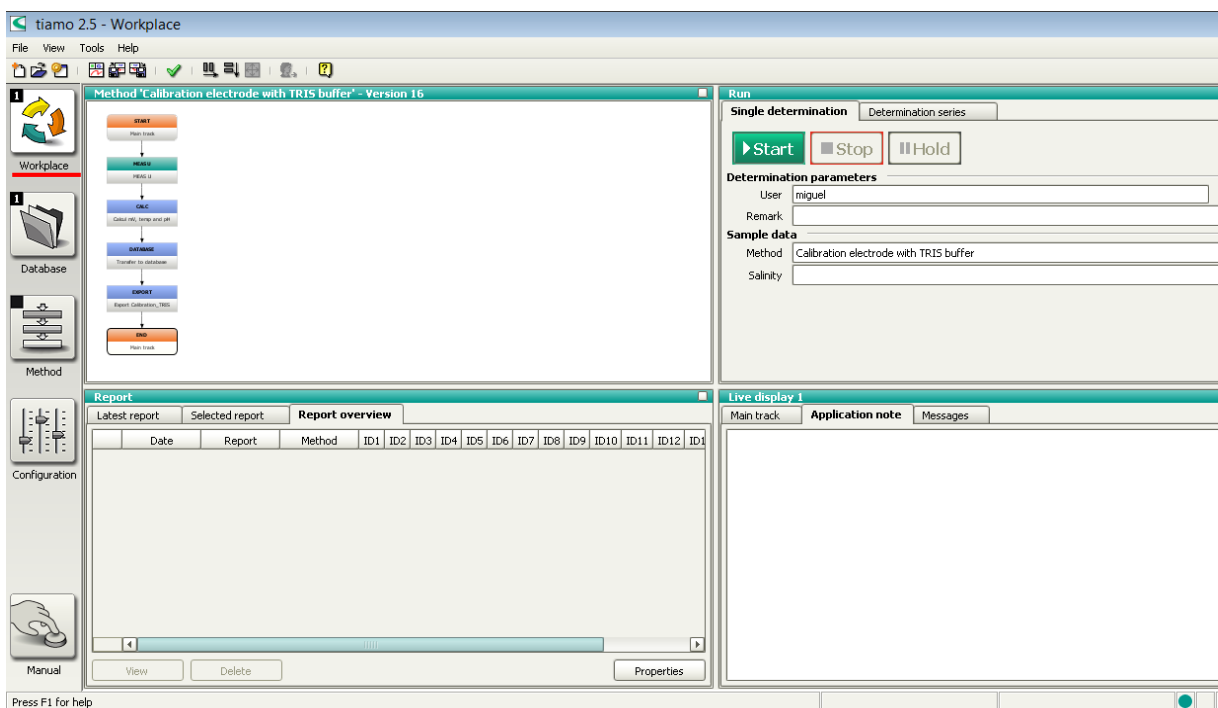


Figura 8: Vista del menú “Workplace” del software Tiamo™ 2.5 con el método “Calibration electrode with TRIS buffer” seleccionado

6.6. Medición de las muestras

6.6.1. Al comenzar la sección de análisis antes de medir sus muestras debe:

- a. Medir tres veces el Material de Referencia Interno (agua de mar previamente caracterizada, su preparación se detalla en el Anexo 4). La diferencia entre el valor mayor y menor debe ser < 4

$\mu\text{mol.kg}^{-1}$. El valor de la medición debe estar en el rango $\pm 4 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ del valor previamente asignado.

- b. Medir una vez el Material de Referencia (CRM). El rango esperado del valor de la medición es de $\pm 4 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ del valor declarado en el certificado.

6.6.2. Los siguientes pasos son los mismos para el caso de que el material a analizar sea un Material de Referencia Interno, un Material de Referencia Certificado (CRM) o muestras de campo.

- a. Tomar un volumen de muestra en una jeringa de 60 mL conectada a un tubo Tygon® y purgar 3 veces.
- b. Tomar un volumen superior a 50 mL de muestra con la jeringa, desconectar el tubo Tygon® y secar con papel la parte externa de la jeringa.

Nota 4: Durante el proceso de transferencia de la muestra evite el contacto del tubo Tygon® con la grasa utilizada para sellar el recipiente que contiene la muestra.

- c. Retraer el émbolo de la jeringa generando una burbuja de aire en la punta para evitar pérdida de gotas durante el pesaje.
- d. Colocar la jeringa con la muestra sobre la balanza y ajustar cero.
- e. Acercar la punta de la jeringa al fondo del vaso de doble pared y trasvasar 50 mL con cuidado.

Nota 5: Evitar salpicaduras en las paredes. Si salpican gotas en la pared, estas gotas no serán tituladas aumentando la dispersión del resultado.

- f. Retraer el émbolo de la jeringa generando una burbuja de aire en la punta para evitar pérdida de gotas durante el pesaje.
- g. Colocar la jeringa sobre la balanza y registrar la masa. La información de la masa a titular será solicitada antes de comenzar el proceso de titulación.

Nota 6: para mantener la temperatura constante ($\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$), el vaso de doble pared estará conectado con el baño termocirculador. El agua circulante será regulada a temperatura de $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$. En caso de no disponer de un vaso de doble pared se puede utilizar un vaso de precipitado de 50 mL. En este caso se debe asegurar de que la temperatura del área de trabajo sea similar a la temperatura del agua a titular con el objetivo de reducir al mínimo la variación de temperatura durante el proceso de titulación.

- h. Limpiar con agua desionizada el electrodo de pH, el de temperatura, la punta dispensadora del ácido y el agitador magnético con agua desionizada, secarlos y sumergirlos en la muestra.
- i. En el software Tiamo™ 2.5, seleccionar el menú "Workplace". En la ventana "Run", seleccionar el método "Alkalinity for 50 ml" e ingresar la información solicitada (nombre del analista, salinidad de la muestra, nombre de la muestra y su masa) y seguidamente pulsar "Start". Cuando termina la medición se muestra en la pantalla el mensaje "Transmission to the database" (Figura 9).

Nota 7: El método incluye un tiempo de espera durante el cual el electrodo se estabiliza y luego comienza una primera titulación hasta pH 4 y se permite la desgasificación de CO_2 durante 2 minutos. Finalizada la desgasificación la titulación continúa hasta pH 3. Puede seguir la evolución del volumen de ácido agregado, el voltaje (mV) y la temperatura en la pantalla. Los valores de la titulación se almacenan y se exportan al directorio "Titration_exports" contenidos en el fichero "ID de la muestra_Fecha de la titulación.csv"

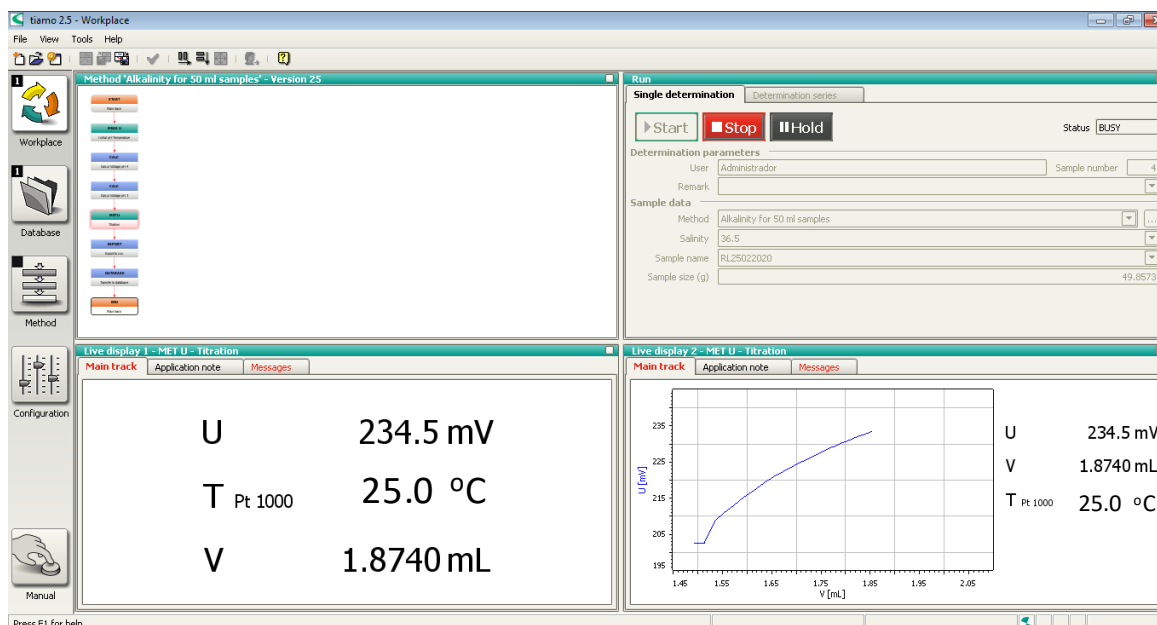


Figura 9: Vista del menú “Workplace” del software Tiamo™ 2.5 con el método “Alkalinity 50 ml samples” ejecutándose el comando MET U.

- j. Retirar los electrodos, la punta dispensadora de ácido de la muestra y el agitador magnético. Limpiarlos con agua desionizada y secarlos.
 - k. Desechar la muestra en el recipiente para el almacenamiento de residuos de soluciones que contienen Hg.
 - l. Limpiar tres veces con agua desionizada el vaso de doble pared y secarlo.
 - m. Medir la siguiente muestra siguiendo los pasos de 6.6.2.
- Nota 8:** Si la sesión de análisis continúa al día siguiente, mantener el electrodo sumergido en agua de mar. Si la sesión de análisis finaliza, tapar nuevamente el pequeño agujero del electrodo de pH, limpiar los electrodos, la punta dispensadora del ácido con agua desionizada, secarlos y colocarlos en sus recipientes de protección.
- n. Guardar una copia de seguridad con los datos de la titulación.

6.7. Registro de datos.

- a. Anotar en el registro primario los datos relacionados con:
 - ✓ Código de la muestra.
 - ✓ Dirección del directorio donde están contenidas las copias de seguridad.
 - ✓ Características de la solución valorante (concentración, densidad).

- ✓ Salinidad de la muestra.
 - ✓ Masa de la muestra.
- b. Guardar una copia digital de seguridad con los datos generados durante el proceso de verificación, calibración, medición de las muestras y los datos contenidos en el registro primario.

6.8. Cálculo y expresión de los resultados

La alcalinidad total se calcula a partir del volumen del valorante/titulante y los valores de potencial (mV) medidos durante la titulación, usando un ajuste no lineal de mínimos cuadrados (Bates y Watts, 1988) que corrige la reacción con los iones sulfatos y fluoruros (Dickson et al., 2007):

$$A_T + \left(\frac{S_T}{1 + K_S Z / (f[H'])} \right) + \left(\frac{F_T}{1 + K_F / (f[H'])} \right) + \left(\frac{m_0 + m}{m_0} \right) \left(\frac{f[H']}{Z} \right) - \left(\frac{m}{m_0} \right) C = 0 \quad (2)$$

Donde:

A_T : Alcalinidad total (mol kg⁻¹).

m : Masa de ácido consumido durante la titulación (g).

m_0 : Masa de la muestra al inicio de la titulación (g)

C : Concentración del ácido (mol kg⁻¹).

S_T : Concentración total de sulfato (mol kg-soln⁻¹).

F_T : Concentración total de fluoruro ((mol kg-soln⁻¹).

K_F : Constante de disociación del [HF] (mol kg-soln⁻¹).

K_S : Constante de disociación del [HSO]₄⁻ (mol kg-soln⁻¹).

A_T se calcula a través de la función de Gran (Gran, 1952). La ecuación (2) es lineal en m y tiene un cero en $A_T = mC/m_0$. A_T puede ser estimada a través de un ajuste de mínimos cuadrados de F_1 contra m

$$F_1 = (m_0 + m) \exp\left(\frac{E}{RT/F}\right) \quad (3)$$

Donde

E : Diferencia de potencial durante la titulación (V).

R : Constante universal de los gases (J K⁻¹ mol⁻¹).

F : Constante de Faraday (C mol⁻¹).

T : Temperatura de titulación (K).

Las concentraciones totales de sulfato y flúor en función de la salinidad se definen como:

$$S_T = \left(\frac{0.14}{96.062} \right) * \left(\frac{S}{1.800655} \right) \quad (4)$$

$$F_T = \left(\frac{0.000067}{18.998} \right) * \left(\frac{S}{1.800655} \right) \quad (5)$$

Donde

S : Salinidad.

$$Z = 1 + S_T / K_S \quad (6)$$

La ecuación 1 se resuelve con un software capaz de realizar ajustes no lineales, como por ejemplo la función Solver en Excel, o la función at() del paquete "seacarb" en R (Lavigne et al., 2019).

En REMARCO se elaboró una hoja de cálculo en Excel y un Script en R para la determinación de alcalinidad total en agua de mar. Estas herramientas reportan el valor de alcalinidad total junto a la incertidumbre de la medición (<https://remarco.org/manual-ao/>).

6.9. Estimación de incertidumbre

Las fuentes de incertidumbre en la determinación de alcalinidad total incluyen factores relacionados con la concentración y densidad del ácido utilizado como solución valorante, y la precisión de los instrumentos utilizados en el control de la temperatura durante la titulación, el volumen de ácido dispensado y la medición de la diferencia de potencial. La incertidumbre se determina por la combinación de las fuentes individuales de incertidumbre a través de la propagación de los errores de cada una de las fuentes (Ellison y Williams, 2012). Para su determinación remítase al procedimiento de estimación de incertidumbre REMARCO-AO-P-07.

7. CONTROL DE CALIDAD

Mantener un registro detallado de la metodología utilizada y los resultados, lo que incluye:

- ✓ Datos primarios de la titulación.
- ✓ Características de la solución valorante (concentración, densidad).
- ✓ Temperatura de titulación.
- ✓ Salinidad de la muestra.
- ✓ Peso de la muestra.
- ✓ Documentos del sistema de control de la calidad.

Para determinar la exactitud de la medición de A_T debe ser analizado el material de referencia certificado (CRM). Idealmente debe de analizarse un CRM cada diez muestras dentro de una sesión de medición y como mínimo deben realizarse dos mediciones (inicio y final) durante cada sesión de medición (Pimenta y Grear, 2018). Represente los resultados obtenidos en un gráfico de control conformado según SOP 22 Dickson et al., (2007). Adicionalmente, entre mediciones del CRM puede realizar determinaciones de material de referencia interno.

Para determinar la precisión de la medición de A_T se debe realizar al menos una muestra duplicada cada diez muestras que se analicen y anotar la diferencia absoluta entre las mediciones. Tras analizar 12 muestras duplicadas construya un gráfico de control según REMARCO-AO-P-06 basado en SOP 22 Dickson et al., (2007).

8. MANEJO DE RESIDUOS

El presente método genera residuos ácidos con contenido de mercurio. Estos residuos se almacenan en recipientes adecuados protegidos de la corrosión (plástico o vidrio), rotulados según la clasificación interna de RESPEL del laboratorio y ubicarlos en el sitio de disposición temporal del laboratorio, para posteriormente entregarlos a una compañía especializada para su tratamiento.

Llevar el control de generación de residuos.

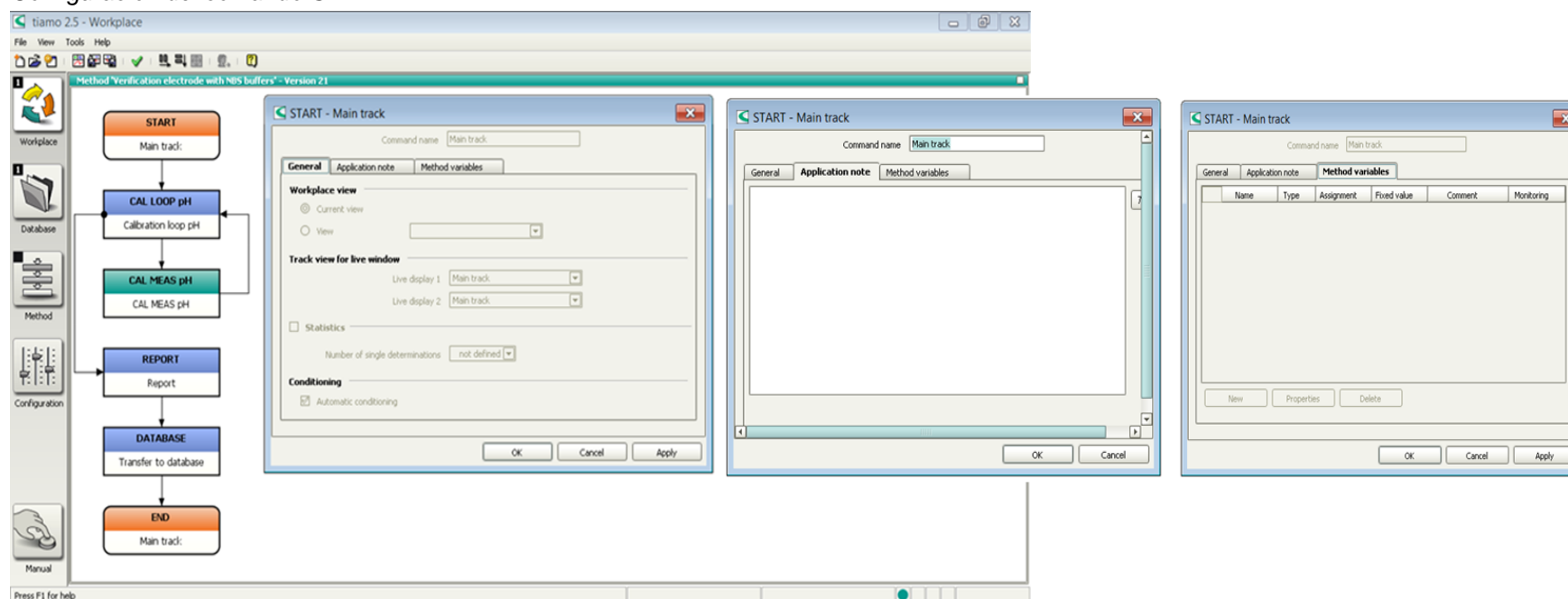
9. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

- Bates, D. M. and Watts, D. G.: Nonlinear Regression : Iterative Estimation and Linear Approximations, in Nonlinear Regression Analysis and Its Applications, JOHN WILEY & SONS, Ontario, Canada., 1988.
- Dickson, A. G.: An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data, *Deep Sea Res. Part A, Oceanogr. Res. Pap.*, 28(6), 609–623, doi:10.1016/0198-0149(81)90121-7, 1981.
- Dickson, A. G.: The development of the alkalinity concept in marine chemistry, *Mar. Chem.*, 40(1–2), 49–63, doi:10.1016/0304-4203(92)90047-E, 1992.
- Dickson, A. G., Sabine, C. L. and Christian, J. R.: Guide to best practices for ocean CO₂ measurements, *PICES Spec. Publ.* 3, 3(8), 191, doi:10.1159/000331784, 2007.
- Ellison, S. L. . and Williams, A.: *Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Third edit., 2012.
- Gazeau, F., Alliouane, S. and Comeau, S.: Total alkalinity Protocol, *Observatoire Oceanologique Villefranche sur mer. Francia.*, 2014.
- Gran, G.: Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. Part II, *Analyst*, 77(920), 661–670, doi:10.1039/AN9527700661, 1952.
- Hernández-Ayon, J. M., Zirino, A., Dickson, A. G., Camiro-Vargas, T. and Valenzuela-Espinoza, E.: Estimating the contribution of organic bases from microalgae to the titration alkalinity in coastal seawaters, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 5(JUL), 225–232, doi:10.4319/lom.2007.5.225, 2007.
- Huang, W. J., Wang, Y. and Cai, W. J.: Assessment of sample storage techniques for total alkalinity and dissolved inorganic carbon in seawater, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 10, 711–717, doi:10.4319/lom.2012.10.711, 2012.
- Lavigne, H., Orr, J., Gentili, B., Hagens, M., Hofmann, A. and Rae, J.: Package ‘ seacarb ’: Seawater Carbonate Chemistry. [online] Available from: <https://cran.r-project.org/package=seacarb>, 2019.
- Metrohm: 888 Titrand. User manual, 8.888.8004. [online] Available from: www.methom.com, 2016a.
- Metrohm: TiamoTM. Tutorial, 8.101.8003. [online] Available from: www.methom.com, 2016b.
- Pimenta, A. . and Grear, J. .: Guidelines for measuring changes in seawater pH and associated carbonate chemistry in coastal environments of the Eastern United States, p. 56, Office of Research and Development, National Health and Environmental Effects Research Laboratory., 2018.
- Wolf-Gladrow, D. A., Zeebe, R. E., Klaas, C., Körtzinger, A. and Dickson, A. G.: Total alkalinity: The explicit conservative expression and its application to biogeochemical processes, *Mar. Chem.*, 106(1-2 SPEC. ISS.), 287–300, doi:10.1016/j.marchem.2007.01.006, 2007.

10. ANEXOS

10.1. ANEXO 1: Configuración del método “Verification with NBS Buffers”

Configuración del comando STAR



The screenshot displays the 'tiarno 2.5 - Workplace' software interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. A central workflow diagram shows the following steps: START (Main track), CAL LOOP pH (Calibration loop pH), CAL MEAS pH (CAL MEAS pH), REPORT (Report), DATABASE (Transfer to database), and END (Main track). Three configuration dialog boxes for the 'START - Main track' command are overlaid on the right side of the screen.

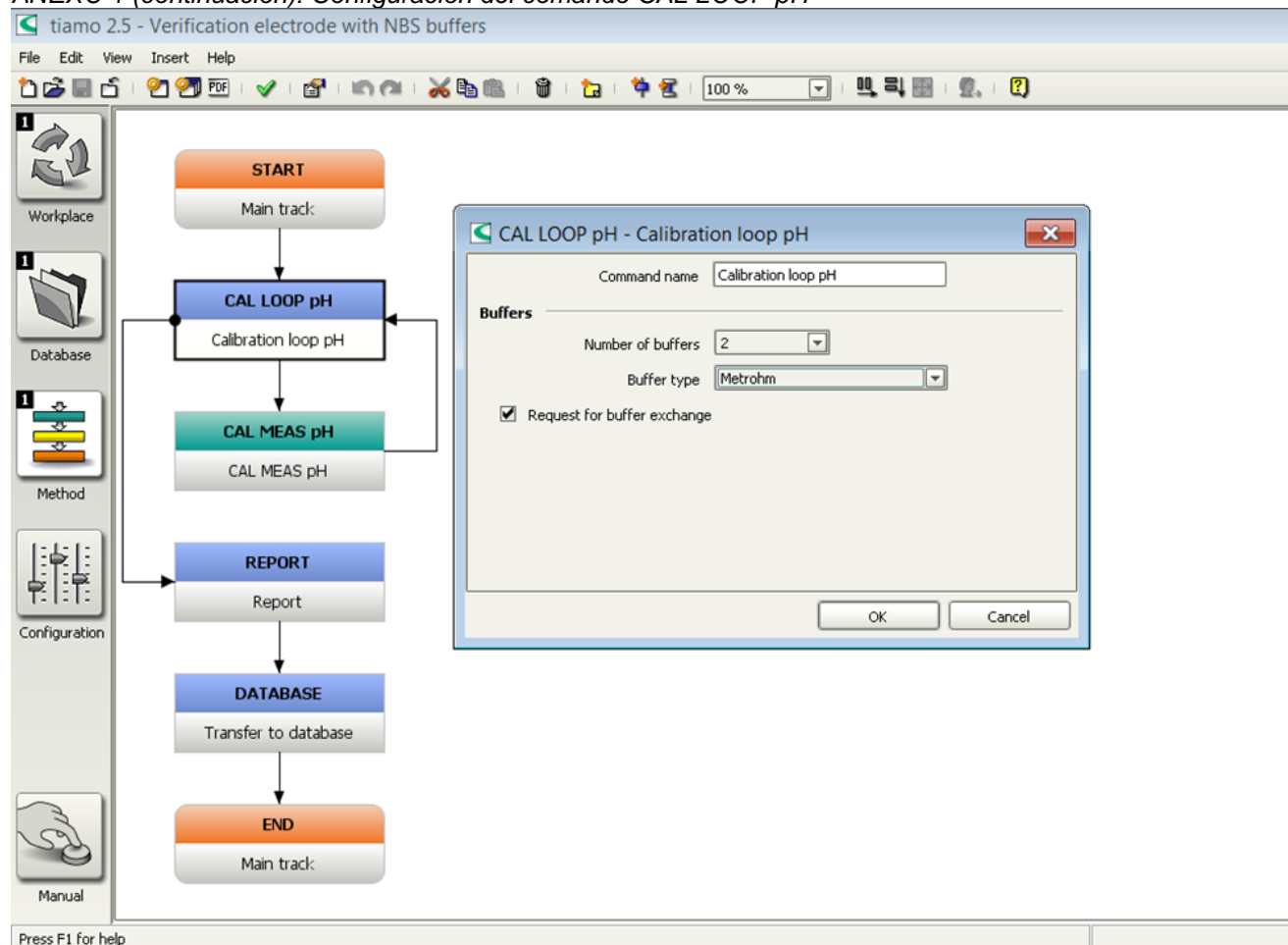
The first dialog box, titled 'START - Main track', shows the 'General' tab with the following settings:

- Command name: Main track
- Workplace view: Current view, View
- Track view for live window: Live display 1: Main track, Live display 2: Main track
- Statistics: Statistics
- Number of single determinations: not defined
- Conditioning: Automatic conditioning

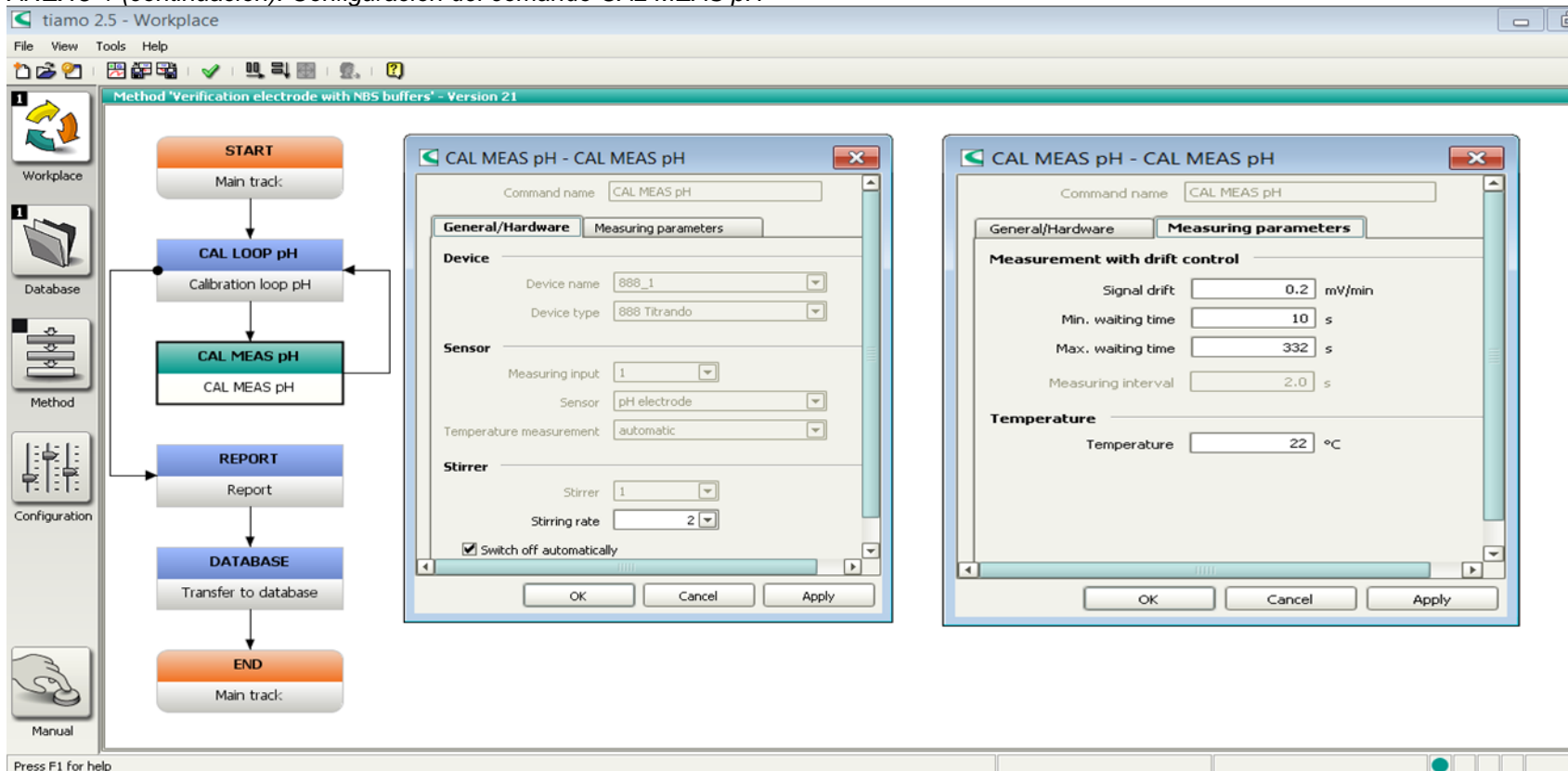
The second dialog box, also titled 'START - Main track', shows the 'Application note' tab, which is currently empty.

The third dialog box, titled 'START - Main track', shows the 'Method variables' tab, which contains a table with the following columns: Name, Type, Assignment, Fixed value, Comment, and Monitoring. The table is currently empty.

ANEXO 1 (continuación): Configuración del comando CAL LOOP pH

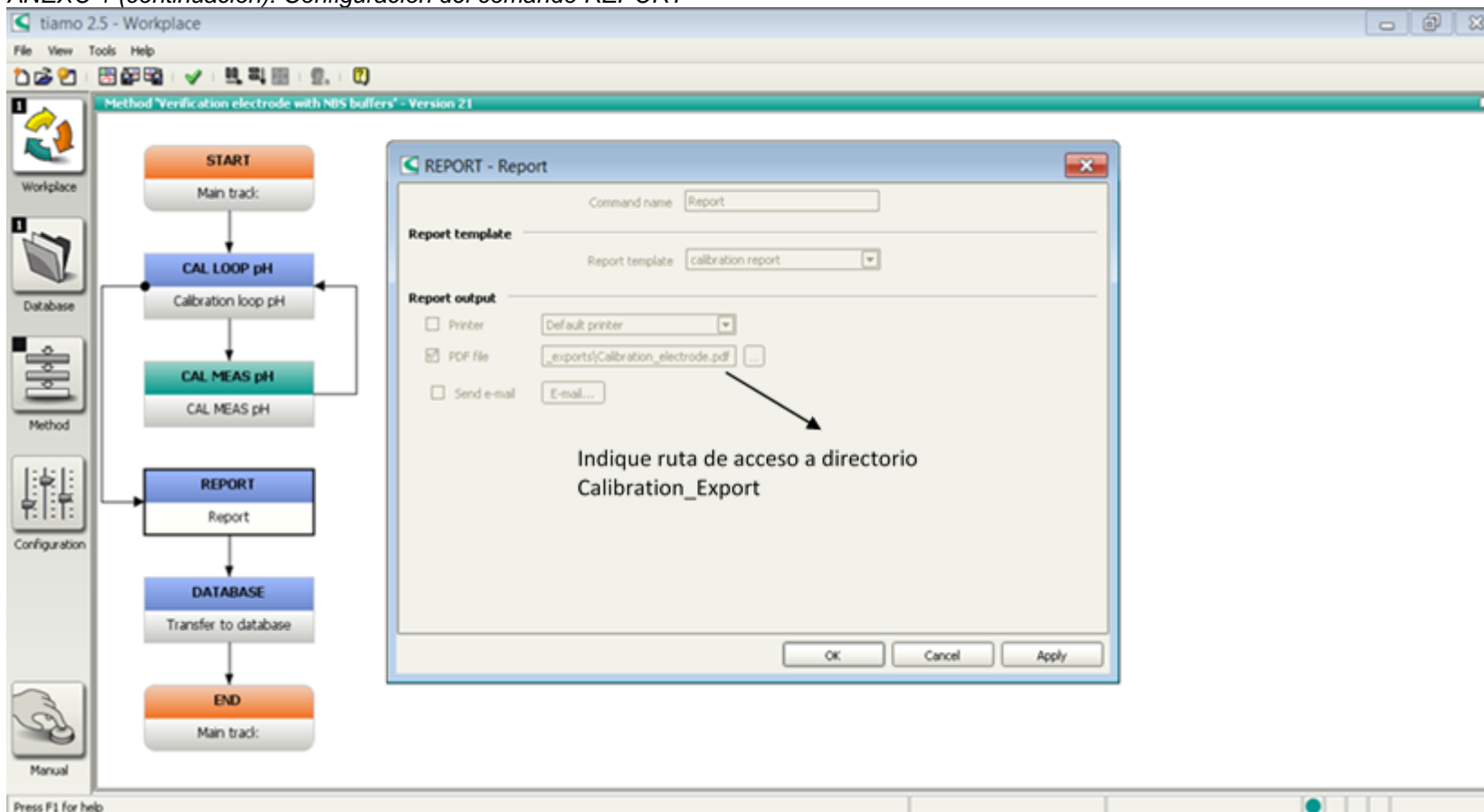


ANEXO 1 (continuación): Configuración del comando CAL MEAS pH



The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Workplace' software interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main workspace shows a workflow diagram with the following steps: START (Main track), CAL LOOP pH (Calibration loop pH), CAL MEAS pH (CAL MEAS pH), REPORT (Report), DATABASE (Transfer to database), and END (Main track). Two configuration windows for the 'CAL MEAS pH' command are open. The left window shows the 'General/Hardware' tab with the following settings: Command name: CAL MEAS pH; Device name: 888_1; Device type: 888 Titrande; Measuring input: 1; Sensor: pH electrode; Temperature measurement: automatic; Stirrer: 1; Stirring rate: 2; and a checked option for 'Switch off automatically'. The right window shows the 'Measuring parameters' tab with the following settings: Signal drift: 0.2 mV/min; Min. waiting time: 10 s; Max. waiting time: 332 s; Measuring interval: 2.0 s; and Temperature: 22 °C. Both windows have OK, Cancel, and Apply buttons at the bottom.

ANEXO 1 (continuación): Configuración del comando REPORT



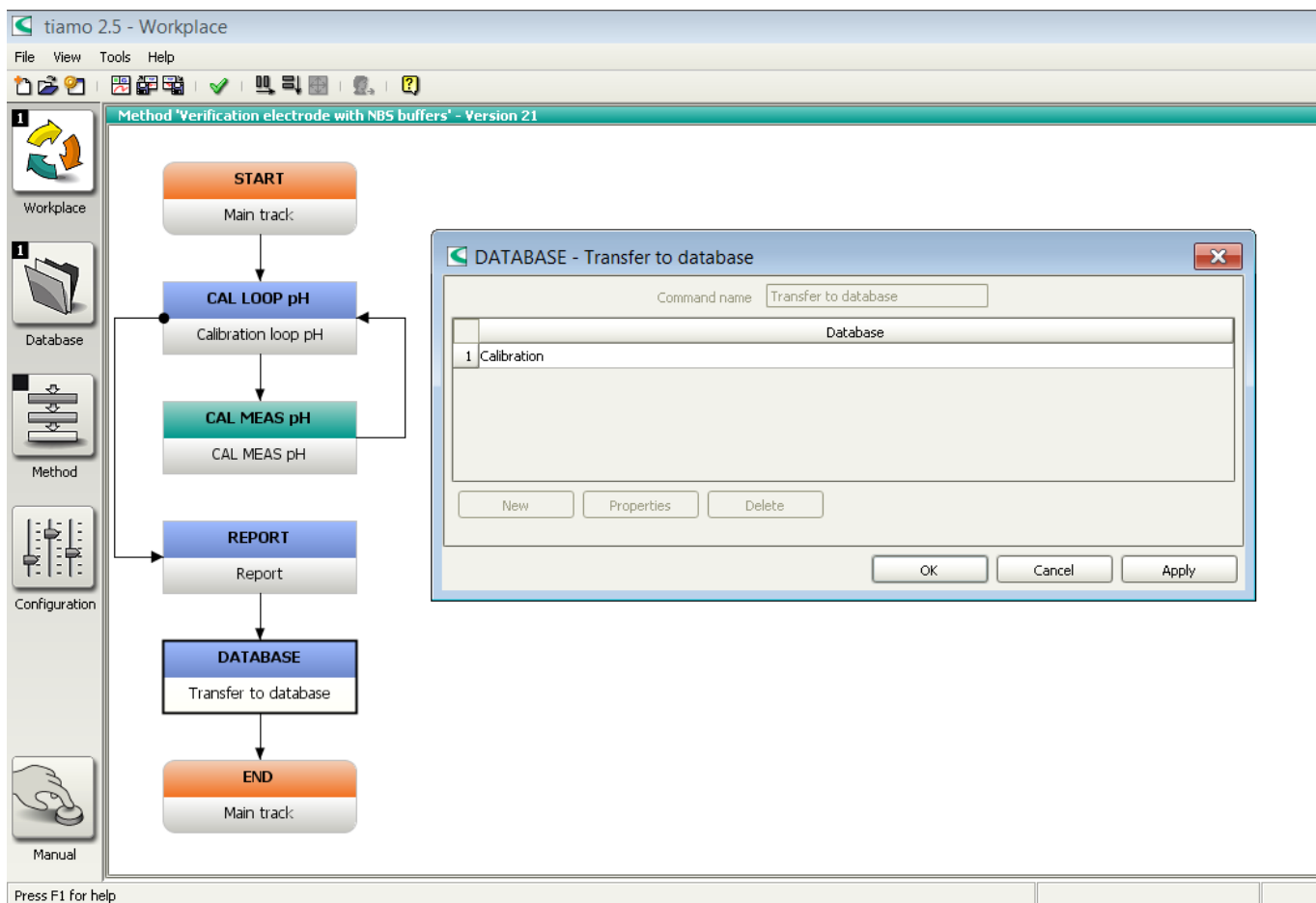
The screenshot displays the 'tiarno 2.5 - Workplace' software interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main workspace shows a workflow diagram with the following steps: START (Main track), CAL LOOP pH (Calibration loop pH), CAL MEAS pH (CAL MEAS pH), REPORT (Report), DATABASE (Transfer to database), and END (Main track). A 'REPORT - Report' dialog box is open, showing the following configuration options:

- Command name: Report
- Report template: calibration report
- Report output:
 - Printer: Default printer
 - PDF file: _exports\Calibration_electrode.pdf
 - Send e-mail: E-mail...

An arrow points to the PDF file path, with the text: "Indique ruta de acceso a directorio Calibration_Export".

Press F1 for help

ANEXO 1 (continuación): Configuración del comando DATABASE



The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Workplace' interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for 'Workplace', 'Database', 'Method', 'Configuration', and 'Manual'. The main workspace shows a workflow diagram for 'Method 'Verification electrode with NBS buffers' - Version 21'. The workflow consists of the following steps:

- START** (Main track)
- CAL LOOP pH** (Calibration loop pH)
- CAL MEAS pH** (CAL MEAS pH)
- REPORT** (Report)
- DATABASE** (Transfer to database)
- END** (Main track)

A dialog box titled 'DATABASE - Transfer to database' is open, showing a table with the following data:

| Database | |
|----------|-------------|
| 1 | Calibration |

Below the table are buttons for 'New', 'Properties', and 'Delete'. At the bottom of the dialog are 'OK', 'Cancel', and 'Apply' buttons. The status bar at the bottom left indicates 'Press F1 for help'.

10.2. ANEXO 2: Configuración del método “Calibration Electrode with TRIS Buffer”

Press F1 for help

Configuración del comando STAR

START - Main track

Command name: Main track

General Application note Method variables

Workplace view

Current view

View

Track view for live window

Live display 1: Main track

Live display 2: Main track

Statistics

Number of single determinations: not defined

Conditioning

Automatic conditioning

OK Cancel

START - Main track

Command name: Main track

General Application note Method variables

START - Main track

Command name: Main track

General Application note Method variables

| Name | Type | Assignment | Fixed value | Comment | Monitoring |
|------------|--------|------------|-------------|---------|--------------------------|
| 1 Salinity | Number | ID1 | | | <input type="checkbox"/> |

New Properties Delete

OK Cancel

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando MEAS U

The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Calibration electrode with TRIS buffer' software interface. On the left, a vertical toolbar includes icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main workspace shows a workflow diagram with the following steps: START (Main track), MEAS U (MEAS U), CALC (Calcul mV, temp and pH), DATABASE (Transfer to database), EXPORT (Export Calibration_TRIS), and END (Main track).

Four configuration windows for the 'MEAS U' command are overlaid on the main interface:

- MEAS U - MEAS U (Top Left):** Shows the 'General/Hardware' tab. Fields include: Command name (MEAS U), Device name (888_1), Device type (888 Titrande), Measuring input (1), Sensor (pH electrode), Temperature measurement (automatic), and Stirrer (1, 2). A checkbox for 'Switch off automatically' is checked.
- MEAS U - MEAS U (Top Right):** Shows the 'Measuring parameters' tab. Fields include: Command name (MEAS U), Signal drift (0.2 mV/min), Min. waiting time (30 s), Max. waiting time (332 s), Measuring interval (1 s), Stop measured value (off mV), and Temperature (22 °C). The 'Measurement with drift control' radio button is selected.
- MEAS U - MEAS U (Bottom Left):** Shows the 'Evaluations' tab. Under 'Additional measured values', there are checkboxes for 'Additional calculated measured values' and 'Additional external measured values', both of which are currently unchecked.
- MEAS U - MEAS U (Bottom Right):** Shows the 'Evaluations' tab. Under 'Additional measured values', there are checkboxes for 'Fixed endpoint evaluation', 'Minimum evaluation', 'Maximum evaluation', and 'Break point evaluation', all of which are currently unchecked.

The Windows taskbar at the bottom shows the system clock as 00:22 on 26-May-20.

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando CALC

tiamo 2.5 - Calibration electrode with TRIS buffer

File Edit View Insert Help

100 %

1 Workplace

1 Database

2 Method

Configuration

Manual

START
Main track

MEAS U
MEAS U

CALC
Calcul mV, temp and pH

DATABASE
Transfer to database

EXPORT
Export Calibration_TRIS

END
Main track

CALC - Calcul mV, temp and pH

Command name: Calcul mV, temp and pH

| Result name | Formula | Unit | Decimal places | Assignment | Statistics | Result monitoring |
|-------------|---------------------------------------|------|----------------|------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 mv_TRIS | = 'MEAS U.EME' | | 2 | RS01 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2 Temp_TRIS | = 'MEAS U.ETE' | °C | 2 | RS02 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3 pH_TRIS | =(11911,08-18,2499* 'MV.Salinity' ... | | 2 | RS03 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Result mv_TRIS - RS01

Definition Monitoring Options

Result name: mv_TRIS

Formula: = 'MEAS U.EME'

Unit: [dropdown]

Decimal places: 2

Assignment: RS01

Statistics

Description: RS.'Result name'[,VAL]
Result value.

Save as template OK Cancel

Result mv_TRIS - RS01

Definition Monitoring Options

Result monitoring

Lower limit: [input]

Upper limit: [input]

Message: [text area]

Display message

Record message

Save as template OK Cancel

Result mv_TRIS - RS01

Definition Monitoring Options

Save result as common variable

Common variable: Voltage TRIS

Save result as titer

Solution name: [dropdown]

Save result as global variable

Global variable: [dropdown]

Save as template OK Cancel

Press F1 for help

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando CALC

tiemo 2.5 - Calibration electrode with TRIS buffer

File Edit View Insert Help

100 %

1 Workplace

1 Database

2 Method

Configuration

Manual

START
Main track

MEAS U
MEAS U

CALC
Calcul mV, temp and pH

DATABASE
Transfer to database

EXPORT
Export Calibration_TRIS

END
Main track

CALC - Calcul mV, temp and pH

Command name: Calcul mV, temp and pH

| | Result name | Formula | Unit | Decimal places | Assignment | Statistics | Result monitoring |
|---|-------------|---------------------------------------|------|----------------|------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 | mv_TRIS | = 'MEAS U.EME' | | 2 | RS01 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2 | Temp_TRIS | = 'MEAS U.ETE' | °C | 2 | RS02 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3 | pH_TRIS | =(11911,08-18,2499* 'MV.Salinity' ... | | 2 | RS03 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Result Temp_TRIS - RS02

Definition Monitoring Options

Result name: Temp_TRIS

Formula: = 'MEAS U.ETE'

Unit: °C

Decimal places: 2

Assignment: RS02

Statistics

Description: RS.'Result name'[.VAL]
Result value.

Save as template OK Cancel

Result Temp_TRIS - RS02

Definition Monitoring Options

Result monitoring

Lower limit:

Upper limit:

Message:

Display message

Record message

Message by e-mail

Acoustic signal

Action

Cancel determination

Cancel determination and series

Save as template OK Cancel

Result Temp_TRIS - RS02

Definition Monitoring Options

Save result as common variable

Common variable: Temp_TRIS

Save result as titer

Solution name:

Save result as global variable

Save as template OK Cancel

Press F1 for help

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando CALC

tiemo 2.5 - Calibration electrode with TRIS buffer

File Edit View Insert Help

100 %

1 WORKPLACE

2 DATABASE

3 METHOD

4 CONFIGURATION

5 MANUAL

START

Main track

MEAS U

MEAS U

CALC - Calcul mV, temp and pH

Command name: Calcul mV, temp and pH

| Result name | Formula | Unit | Decimal places | Assignment | Statistics | Result monitoring |
|-------------|---------------------------------------|------|----------------|------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 mv_TRIS | = 'MEAS U.EME' | | 2 | RS01 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2 Temp_TRIS | = 'MEAS U.ETE' | °C | 2 | RS02 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3 pH_TRIS | =(11911,08-18,2499* 'MV.Salinity' ... | | 2 | RS03 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

OK Cancel

Result pH_TRIS - RS03

Definition Monitoring Options

Result name: pH_TRIS

Formula:
$$\frac{=(11911,08-18,2499 * 'MV.Salinity' - 0,039336 * 'MV.Salinity' ^ 2) * 1 / ('RS.Temp_TRIS' + 273,15) - 366,27059 + 0,53993607 * 'MV.Salinity' + 0,00016329 * 'MV.Salinity' ^ 2 + (64,52243 - 0,084041 * 'MV.Salinity') * \text{Ln}('RS.Temp_TRIS' + 273,15) - 0,11149858 * ('RS.Temp_TRIS' + 273,15)}$$

Unit: []

Decimal places: 2

Assignment: RS03

Statistics

Description: []

Save as template OK Cancel

Result pH_TRIS - RS03

Definition Monitoring Options

Result monitoring

Lower limit: []

Upper limit: []

Message: []

Display message

Record message

Message by e-mail E-mail: []

Save as template OK Cancel

Result pH_TRIS - RS03

Definition Monitoring Options

Save result as common variable

Common variable: pH_TRIS

Save result as title

Solution name: []

Save result as global variable

Global variable: []

Save as template OK Cancel

DelValls, T. A. and Dickson, A. G.
doi:10.1016/S0967-0637(98)00019-3.

Detalle de la formula

$$\frac{=(11911,08 - 18,2499 * 'MV.Salinity' - 0,039336 * 'MV.Salinity' ^ 2) * 1 / ('RS.Temp_TRIS' + 273,15) - 366,27059 + 0,53993607 * 'MV.Salinity' + 0,00016329 * 'MV.Salinity' ^ 2 + (64,52243 - 0,084041 * 'MV.Salinity') * \text{Ln}('RS.Temp_TRIS' + 273,15) - 0,11149858 * ('RS.Temp_TRIS' + 273,15)}$$

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando DATABASE

The screenshot displays the 'tiamo 2.5' software interface for 'Calibration electrode with TRIS buffer'. The main window shows a workflow diagram with the following steps:

- START** (Main track)
- MEAS U** (MEAS U)
- CALC** (Calcul mV, temp and pH)
- DATABASE** (Transfer to database)
- EXPORT** (Export Calibration_TRIS)
- END** (Main track)

A dialog box titled 'DATABASE - Transfer to database' is open, showing the following configuration:

- Command name:
- Database list:

| | Database |
|---|-------------|
| 1 | Calibration |
- Buttons: New, Properties, Delete, OK, Cancel

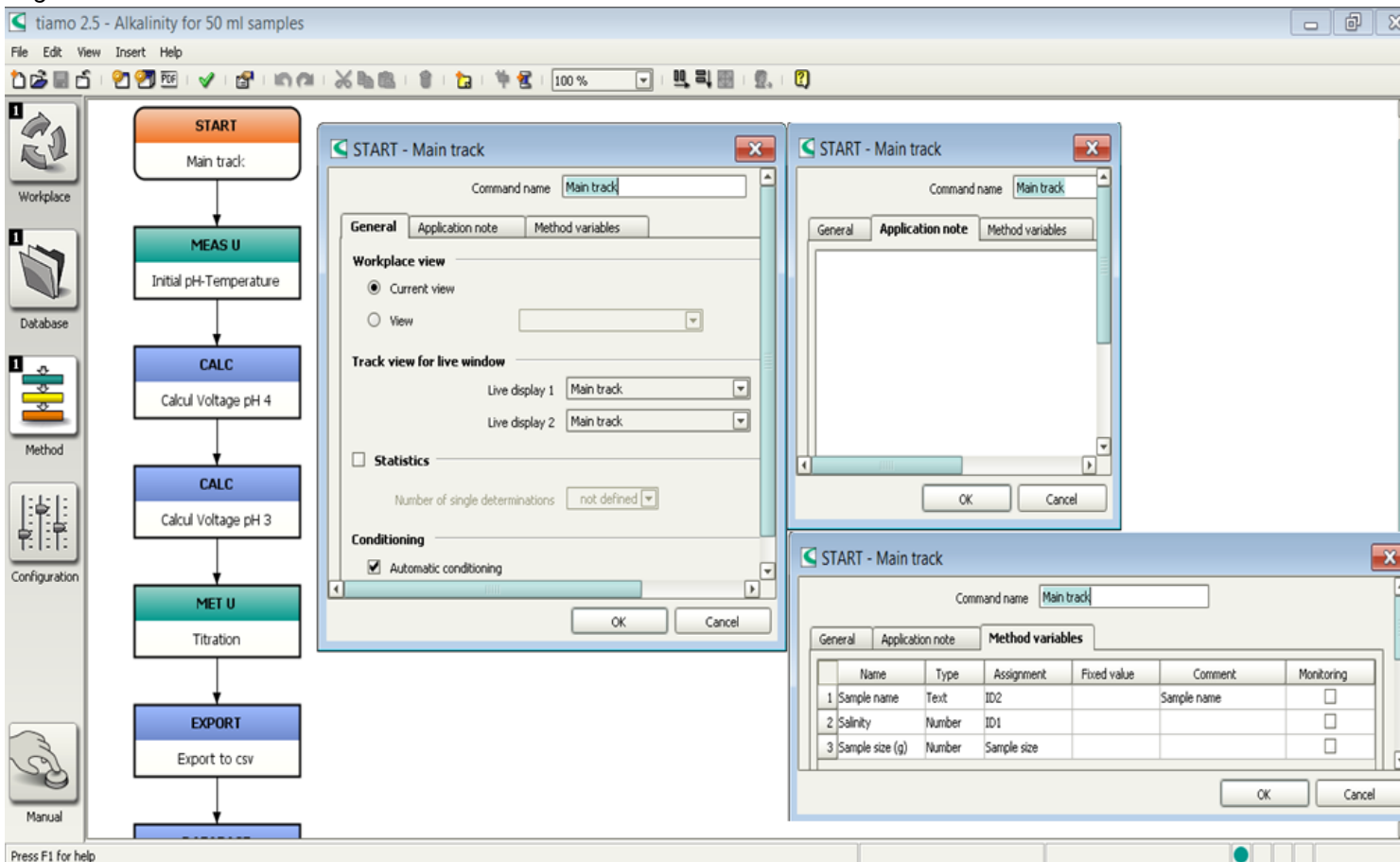
The interface includes a sidebar with icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The status bar at the bottom indicates 'Press F1 for help'.

ANEXO 2 (continuación): Configuración del comando EXPORT

The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Calibration electrode with TRIS buffer' software interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main workspace shows a vertical flowchart with the following steps: START (Main track), MEAS U (MEAS U), CALC (Calcul mV, temp and pH), DATABASE (Transfer to database), EXPORT (Export Calibration_TRIS), and END (Main track). An 'EXPORT - Export Calibration_TRIS' dialog box is open, showing 'Command name' as 'Export Calibration_TRIS' and 'Export template' as 'Calibration_export'. The dialog has 'OK' and 'Cancel' buttons at the bottom. The status bar at the bottom left reads 'Press F1 for help'.

10.3. ANEXO 3: Configuración del método “Alkalinity for 50 mL samples”

Configuración del comando STAR



The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' application window. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main workspace shows a workflow diagram with the following steps: START (Main track), MEAS U (Initial pH-Temperature), CALC (Calcul Voltage pH 4), CALC (Calcul Voltage pH 3), MET U (Titration), and EXPORT (Export to csv). Three configuration dialog boxes for the 'STAR - Main track' command are open:

- General tab:** Command name is 'Main track'. Under 'Workplace view', 'Current view' is selected. Under 'Track view for live window', 'Live display 1' and 'Live display 2' are both set to 'Main track'. Under 'Statistics', 'Number of single determinations' is 'not defined'. Under 'Conditioning', 'Automatic conditioning' is checked.
- Application note tab:** This tab is currently empty.
- Method variables tab:** Contains a table with the following data:

| | Name | Type | Assignment | Fixed value | Comment | Monitoring |
|---|-----------------|--------|-------------|-------------|-------------|--------------------------|
| 1 | Sample name | Text | ID2 | | Sample name | <input type="checkbox"/> |
| 2 | Salinity | Number | ID1 | | | <input type="checkbox"/> |
| 3 | Sample size (g) | Number | Sample size | | | <input type="checkbox"/> |

At the bottom left, a status bar indicates 'Press F1 for help'.

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando MEAS U

The screenshot displays the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' software interface. On the left, a vertical toolbar contains icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. The main area features a workflow diagram with the following steps: START (Main track), MEAS U (Initial pH-Temperature), CALC (Calcul Voltage pH 4), CALC (Calcul Voltage pH 3), MET U (Titration), and EXPORT (Export to csv). Three overlapping dialog boxes are shown, all titled 'MEAS U - Initial pH-Temperature'. The top-left dialog is in the 'General/Hardware' tab, showing fields for Device name (888_1), Device type (888 Titrande), Sensor (pH electrode), and Stirrer (1). The top-right dialog is in the 'Evaluations' tab, showing checkboxes for 'Fixed endpoint evaluation', 'Minimum evaluation', 'Maximum evaluation', and 'Break point evaluation'. The bottom dialog is in the 'Measuring parameters' tab, showing 'Measurement with drift control' selected, with parameters for Signal drift (1 mV/min), Min. waiting time (0 s), Max. waiting time (30 s), Measuring interval (2.0 s), Stop measured value (off mV), and Temperature (22 °C).

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando CALC

tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples

File Edit View Insert Help

100 %

1 **START**
Main track

MEAS U
Initial pH-Temperature

CALC
Calcul Voltage pH 4

CALC
Calcul Voltage pH 3

MET U
Titration

EXPORT
Export to csv

Workplace
Database
Method
Configuration
Manual

CALC - Calcul Voltage pH 4

Command name: Calcul Voltage pH 4

| Result name | Formula | Unit | Decimal places | Assignment | Statistics | Result monitoring |
|----------------|---|------|----------------|------------|-------------------------------------|--------------------------|
| 1 Voltage pH 4 | =(('CV.Voltage TRIS' /1000)-(4- 'CV.pH TRIS' .. | | 2 | RS10 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Result Voltage pH 4 - RS10

Definition Monitoring Options

Result name: Voltage pH 4

Formula:
$$=(('CV.Voltage TRIS' /1000)-(4- 'CV.pH TRIS') * 8,31447215 * ('Initial pH-Temperature.ETE' +273,15) * (ln(10)/96485,339924)) * 1000$$

Unit: []

Decimal places: 2

Assignment: RS10

Statistics

Description: []

Save as template OK Cancel

Result Voltage pH 4 - RS10

Definition Monitoring Options

Result monitoring

Lower limit: []

Upper limit: []

Message: []

Display message

Record message

Message by e-mail [Email...]

Acoustic signal

Save as template OK Cancel

Result Voltage pH 4 - RS10

Definition Monitoring Options

Save result as common variable

Common variable: Voltage pH 4

Save result as titer

Solution name: []

Save result as global variable

Global variable: []

Save as template OK Cancel

Detalle de la formula

$$=(('CV.Voltage TRIS' /1000) - (4 - 'CV.pH TRIS') * 8,31447215 * ('Initial pH - Temperature.ETE' + 273,15) * (ln(10) / 96485,339924)) * 1000$$

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando CALC

The screenshot shows the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' application. The main workflow is as follows:

- START** (Main track)
- MEAS U** (Initial pH-Temperature)
- CALC** (Calcul Voltage pH 4)
- CALC** (Calcul Voltage pH 3)
- MET U** (Titration)
- EXPORT** (Export to csv)

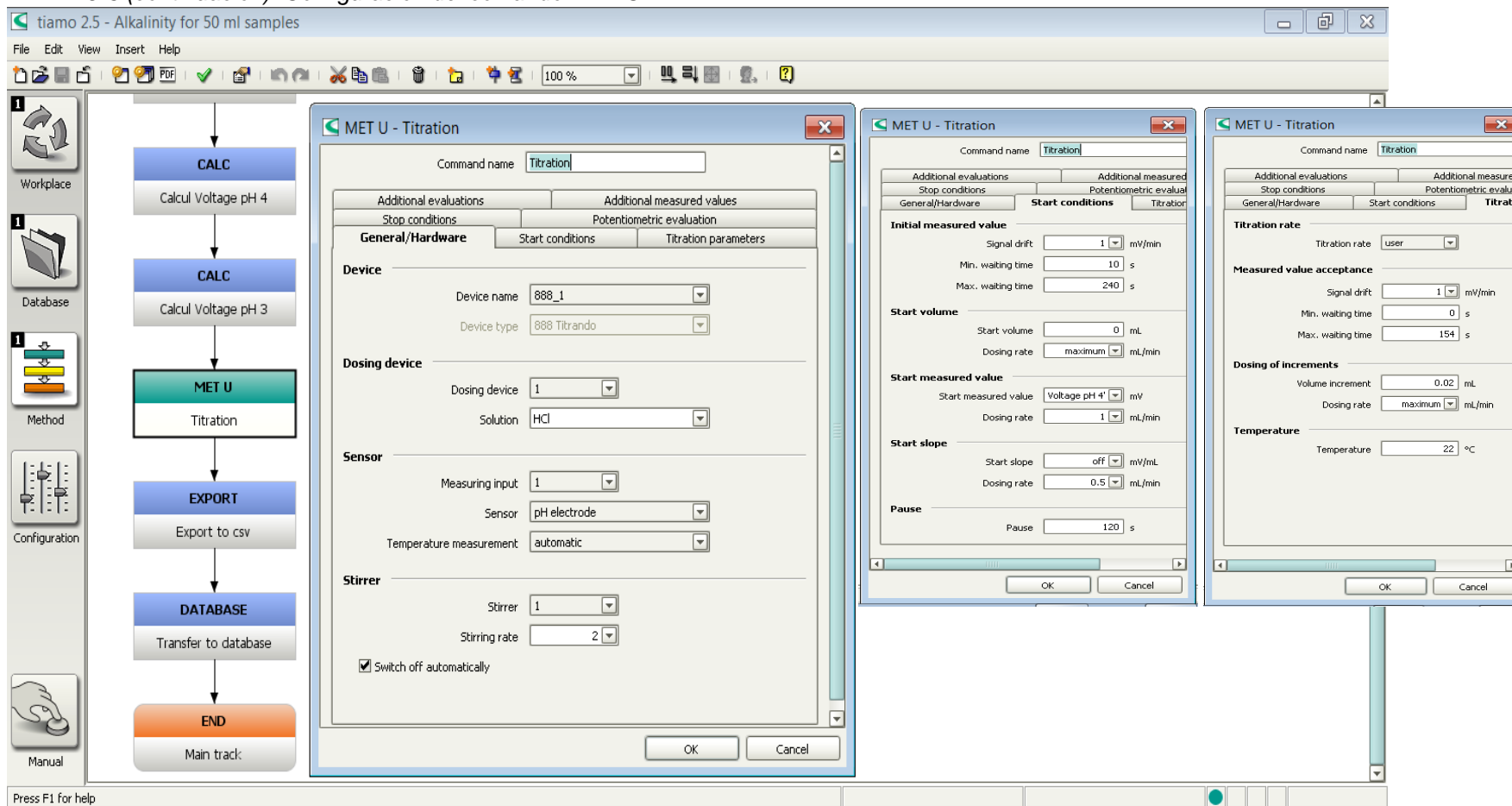
Three dialog boxes are open for configuration:

- CALC - Calcul Voltage pH 3**: Shows a table with columns: Result name, Formula, Unit, Decimal places, Assignment, Statistics, Result monitoring. Row 1: Voltage pH 3, $=('CV.Voltage\ TRIS' / 1000) - (3 - 'CV.pH\ TRIS') * 8,31447215 * ('Initial\ pH-Temperature.ETE' + 273,15) * (ln(10) / 96485,339924) * 1000$, mV, 2, RS09, checked, unchecked.
- Result Voltage pH 3 - RS09**: Shows the formula and unit settings. Unit: mV, Decimal places: 2, Assignment: RS09. Statistics: checked. Description: RS.'Result name'[,VAL] Result value.
- Result Voltage pH 3 - RS09**: Shows options for saving results. Save result as common variable. Common variable: Voltage pH 3. Save result as titer. Save result as global variable. Display message. Record message. Message by e-mail.

Detalle de la formula

$$= ('CV.Voltage\ TRIS' / 1000) - (3 - 'CV.pH\ TRIS') * 8,31447215 * ('Initial\ pH - Temperature.ETE' + 273,15) * (ln(10) / 96485,339924) * 1000$$

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando MET U



The screenshot shows the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' application window. The main interface includes a menu bar (File, Edit, View, Insert, Help), a toolbar, and a left sidebar with icons for Workplace, Database, Method, Configuration, and Manual. A central workflow diagram shows the sequence of operations: CALC (Calcul Voltage pH 4), CALC (Calcul Voltage pH 3), MET U (Titration), EXPORT (Export to csv), DATABASE (Transfer to database), and END (Main track). Three configuration dialog boxes for 'MET U - Titration' are open, displaying the following settings:

- Command name:** Titration
- General/Hardware:**
 - Device name: 888_1
 - Device type: 888 Titrando
 - Dosing device: 1
 - Solution: HCl
 - Measuring input: 1
 - Sensor: pH electrode
 - Temperature measurement: automatic
 - Stirrer: 1
 - Stirring rate: 2
 - Switch off automatically
- Start conditions:**
 - Initial measured value:
 - Signal drift: 1 mV/min
 - Min. waiting time: 10 s
 - Max. waiting time: 240 s
 - Start volume:
 - Start volume: 0 mL
 - Dosing rate: maximum mL/min
 - Start measured value:
 - Start measured value: Voltage pH 4' mV
 - Dosing rate: 1 mL/min
 - Start slope:
 - Start slope: off mV/mL
 - Dosing rate: 0.5 mL/min
 - Pause: 120 s
- Titration parameters:**
 - Titration rate: user
 - Measured value acceptance:
 - Signal drift: 1 mV/min
 - Min. waiting time: 0 s
 - Max. waiting time: 154 s
 - Dosing of increments:
 - Volume increment: 0.02 mL
 - Dosing rate: maximum mL/min
 - Temperature: 22 °C

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando MET U

tiemo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples

File Edit View Insert Help

100 %

1 Workplace

1 Database

1 Method

Configuration

Manual

MET U - Titration

Command name: Titration

General/Hardware | Start conditions | Titration parameters

Additional evaluations | Additional measured values

Stop conditions | Potentiometric evaluation

Stop conditions

Stop volume: off mL

Stop measured value: Voltage pH 3' mV

Stop EP: off

Volume after EP: off mL

Stop time: off s

Filling rate: maximum mL/min

OK Cancel

MET U - Titration

Command name: Titration

General/Hardware | Start conditions | Titration parameters

Additional evaluations | Additional measured values

Stop conditions | Potentiometric evaluation

Stop conditions

Evaluation without window

EP criterion: 30 mV

EP recognition: all

Evaluation with measured value window (U)

Evaluation with volume window (mL)

OK Cancel

MET U - Titration

Command name: Titration

General/Hardware | Start conditions | Titration parameters | Stop conditions

Potentiometric evaluation | Additional evaluations | **Additional measured values**

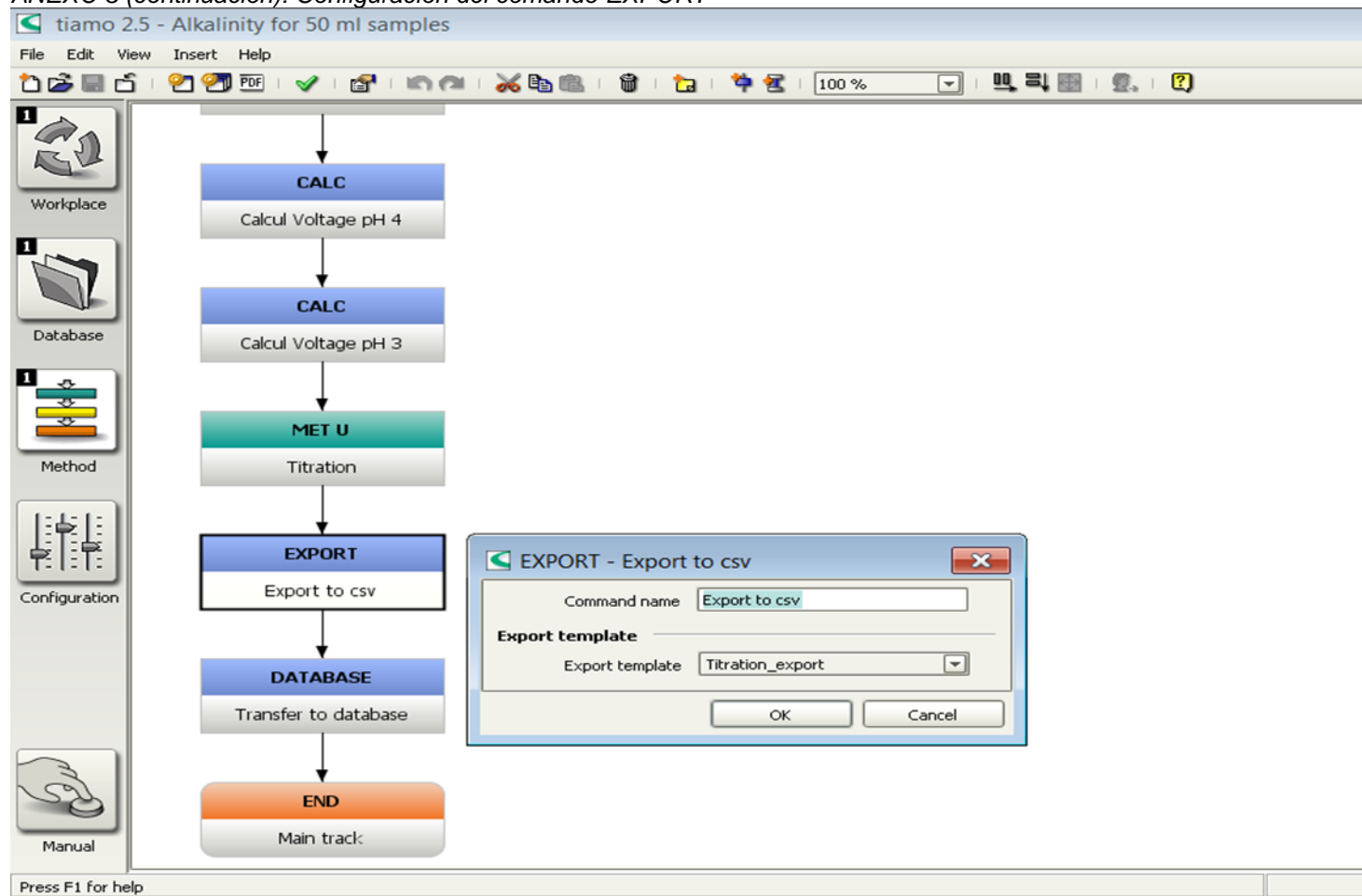
Additional calculated measured values

| | Name | Formula | Unit | Decimal places |
|---|-------------|------------------------|------|----------------|
| 1 | Sample size | = 'MV.Sample size (g)' | g | 2 |
| 2 | Salinity | = 'MV.Salinity' | g/L | 2 |

New Properties Delete

OK Cancel

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando EXPORT



The screenshot shows the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' software interface. The main window displays a vertical workflow diagram with the following steps:

- Workplace** (icon: circular arrows)
- Database** (icon: folder)
- Method** (icon: three horizontal bars)
- Configuration** (icon: sliders)
- Manual** (icon: hand holding a coin)

The workflow steps are:

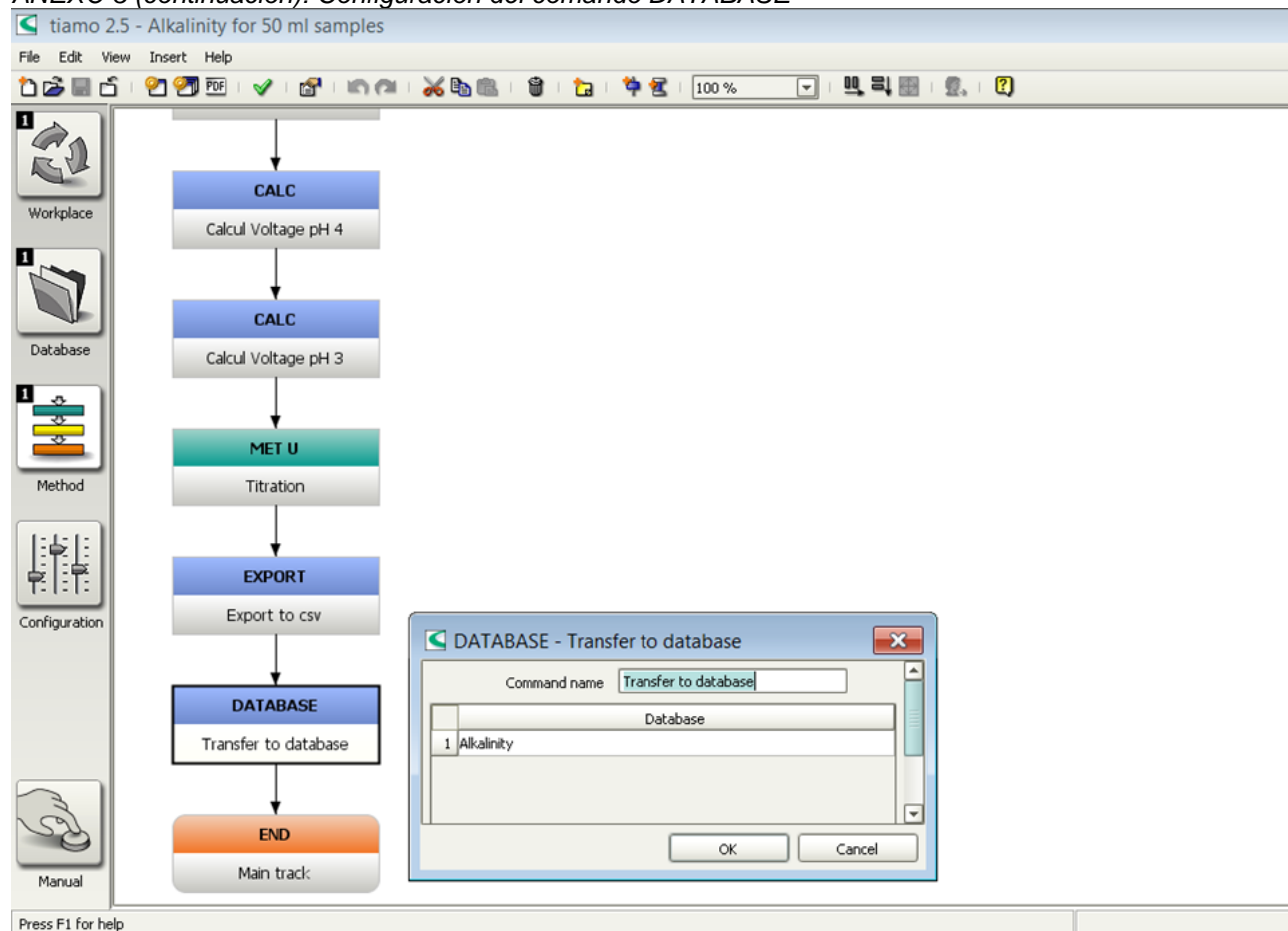
- CALC** (blue box): Calcul Voltage pH 4
- CALC** (blue box): Calcul Voltage pH 3
- MET U** (green box): Titration
- EXPORT** (blue box): Export to csv
- DATABASE** (blue box): Transfer to database
- END** (orange box): Main track

An **EXPORT - Export to csv** dialog box is open, showing the following configuration:

- Command name:
- Export template:
- Buttons:

At the bottom of the software window, it says "Press F1 for help".

ANEXO 3 (continuación): Configuración del comando DATABASE



The screenshot shows the 'tiamo 2.5 - Alkalinity for 50 ml samples' software interface. The main window displays a vertical workflow diagram with the following steps:

- Workplace** (Refresh icon)
- Database** (Folder icon)
- Method** (Method icon)
- Configuration** (Sliders icon)
- Manual** (Hand icon)

The workflow steps are:

- CALC** (Calcul Voltage pH 4)
- CALC** (Calcul Voltage pH 3)
- MET U** (Titration)
- EXPORT** (Export to csv)
- DATABASE** (Transfer to database)
- END** (Main track)

A dialog box titled "DATABASE - Transfer to database" is open, showing the following configuration:

- Command name:
- Database:

| | Database |
|---|------------|
| 1 | Alkalinity |
- Buttons: OK, Cancel

Press F1 for help

10.4. ANEXO 4 Preparación de Material de Referencia Interno

- a. Filtrar agua de mar a través de filtro GF/F (0.7 μm , \varnothing 47 mm).
- b. Mantener en agitación durante 48 horas.
- c. Medir la salinidad y registrar.
- d. Envasar en recipientes de Borosilicato o HDPE (Huang et al., 2012).
- e. Añadir a cada recipiente solución saturada de HgCl_2 a una proporción de 0.02% del volumen de agua a envasar.
- f. Sellar de manera que se minimice el intercambio de CO_2 con la atmósfera.
- g. Realizar diez determinaciones de A_T siguiendo el protocolo descrito en este procedimiento de manera que se realicen al menos dos determinaciones por cada recipiente.

Nota 9: La diferencia entre la medición mayor y menor de las 10 réplicas debe ser $< 4 \mu\text{mol. kg}^{-1}$

- h. Asignar el valor promedio del total de las determinaciones como valor de referencia.
- i. Etiquetar cada recipiente con el valor de A_T asignado, la salinidad y la fecha de determinación.
- j. Almacenar a temperatura entre 22 °C y 25 °C y protegido de la luz.
- k. Construir gráfico de control según REMARCO-AO-P-06 basado en SOP 22 Dickson et al., (2007).