

COMPARAÇÕES ENTRE MEDIÇÕES EM TEMPO REAL DA $p\text{CO}_2$ AQUÁTICA COM ESTIMATIVAS INDIRETAS EM DOIS ESTUÁRIOS TROPICAIS CONTRASTANTES: O ESTUÁRIO EUTROFIZADO DA BAÍA DE GUANABARA (RJ) E O ESTUÁRIO OLIGOTRÓFICO DO RIO SÃO FRANCISCO (AL)

Luiz C. Cotovicz Jr.^{a,b,*}, Bruno G. Libardoni^{a,b,#}, Nilva Brandini^{a,#}, Bastiaan A. Knoppers^{a,#} e Gwenaél Abril^{a,b,#}

^aInstituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Outeiro São João Batista s/n, 24020015, Niterói - RJ, Brasil.

^bEnvironnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC), CNRS, Université de Bordeaux, Allée Geoffroy Saint-Hilaire, 33615 Pessac Cedex France.

Recebido em 30/04/2016; aceito em 06/06/2016; publicado na web em 16/08/2016

COMPARISONS BETWEEN REAL-TIME $p\text{CO}_2$ MEASUREMENTS WITH INDIRECT ESTIMATES IN TWO CONTRASTING BRAZILIAN ESTUARIES: THE EUTROPHIC GUANABARA BAY (RJ) AND THE OLIGOTROPHIC SÃO FRANCISCO RIVER ESTUARY (AL). Carbon dioxide (CO_2) fluxes from aquatic systems are generally derived from the gradient in the partial pressure of CO_2 ($p\text{CO}_2$) between air and surface waters. In this study, we compare real-time measurements of water $p\text{CO}_2$ using an equilibrator and non-dispersive infrared gas detector, with calculations based on pH and total alkalinity (TA) in two contrasting Brazilian estuaries: Guanabara Bay (Rio de Janeiro) and the São Francisco River Estuary (Alagoas). In Guanabara Bay, the measured and calculated values showed an excellent agreement ($R^2 = 0.95$, $p < 0.0001$), without significant statistical differences between the two methods. In the São Francisco River Estuary, where the entire gradient from freshwaters to seawater could be sampled, important overestimates were found for the calculated $p\text{CO}_2$. The overestimation was on average 71%, and reached up to 737%. This large bias in $p\text{CO}_2$ calculation was verified at low pH and TA concentrations in freshwaters ($\text{pH} < 7.5$; $\text{TA} < 700 \mu\text{mol kg}^{-1}$) possibly due to the contribution of organic alkalinity, lowering the buffer capacity of the carbonate system. As such, direct measurements of $p\text{CO}_2$ should be considered as a priority for CO_2 studies conducted in estuarine systems, particularly tropical systems where physical and biological processes are prone to significant spatial and temporal variability.

Keywords: CO_2 ; direct measurements; spatial and temporal variability; estuaries.

INTRODUÇÃO

O dióxido de carbono (CO_2) é o principal gás do efeito estufa e tem a maior contribuição no aquecimento do sistema climático global.¹ Os níveis atuais alarmantes das concentrações atmosféricas de CO_2 e as taxas de aumento das emissões antropogênicas ao longo das últimas décadas alertam a importância da identificação, quantificação e monitoramento das fontes e sumidouros de dióxido de carbono.² O recente processo de acidificação dos oceanos, que também é atribuído ao aumento das concentrações de CO_2 atmosférico,³ reforça a importância dos estudos da dinâmica desse gás, tanto no oceano aberto quanto em ecossistemas costeiros. Além disso, publicações recentes relataram o aumento da acidificação costeira como resultado da hipóxia e anóxia em águas costeiras em função de estágios avançados da eutrofização, especialmente em ambientes impactados por atividades antropogênicas.⁴⁻⁶ Os oceanos abertos são importantes sumidouros de CO_2 atmosférico com fluxos na interface água-atmosfera bem quantificados,⁷ enquanto águas costeiras estão sujeitas a maiores incertezas devido à elevada heterogeneidade espacial e temporal, diferentes tipologias geomorfológicas e hidrológicas (estuários dominados por águas fluviais, dominados pelo mar, com regimes de maré, ondas e ventos diferenciados).⁸⁻¹⁰ Outro aspecto a ser considerado é a menor disponibilidade de informações sobre estuários tropicais em comparação aos estuários temperados e boreais. Para o estabelecimento de estimativas mais precisas e confiáveis nos balanços de CO_2 e sua dinâmica na região costeira e oceânica, fazem-se necessários levantamentos de alta qualidade e quantidade nas medições da pressão parcial do CO_2 ($p\text{CO}_2$) nas águas, uma vez

que o gradiente da $p\text{CO}_2$ na interface água-atmosfera é um dos componentes do cálculo dos fluxos. Caso contrário, os balanços globais e regionais de carbono podem ser superestimados ou subestimados.

Um grande número de publicações sobre os níveis aquáticos da $p\text{CO}_2$ e os fluxos de CO_2 na interface água-atmosfera foram conduzidos com amostragens discretas, com quantificações da $p\text{CO}_2$ derivadas indiretamente mediante cálculo de um dos pares do sistema carbonato. O sistema carbonato inclui o pH da água do mar, a alcalinidade total (AT), o carbono inorgânico dissolvido (CID) e a pressão parcial do CO_2 na água ($p\text{CO}_2$).¹¹ Ainda não existe um consenso de quais parâmetros combinados são os ideais para os cálculos do sistema carbonato, e isso se reflete em um número diversificado de abordagens indiretas.^{11,12} Em ecossistemas fluviais e estuarinos, na maioria dos casos o cálculo da $p\text{CO}_2$ é realizado com base nos valores de pH e AT da água.^{13,14} Entretanto, análises e estudos de alta qualidade do pH da água do mar não são triviais, e essa é considerada uma das áreas mais desafiadoras da oceanografia química.¹¹ Medições de alta qualidade do pH e do sistema carbonato também são essenciais para o estudo dos efeitos da acidificação dos oceanos na biota marinha.

Os cálculos da $p\text{CO}_2$ são altamente sensíveis a pequenas mudanças nos valores do pH, dessa forma, a análise necessita ser extremamente exata. Diversos protocolos de análise e escalas diferentes do pH tem sido utilizados, dificultando a comparação dos resultados.¹⁵ Além disso, a abordagem discreta na amostragem muitas vezes não identifica processos que atuam em escalas espaciais pequenas, que são comuns nos ambientes costeiros.¹⁶ Um estudo recente publicado na literatura revelou até 30% de discrepância entre os valores da $p\text{CO}_2$ derivados através dos diferentes pares do sistema carbonato em testes laboratoriais (AT-CID; AT-pH; CID-pH).¹² Também, outro estudo apontou importantes superestimativas no cálculo da $p\text{CO}_2$ em função do pH e da AT em águas doces, com baixa AT e ricas em

*e-mail: lccjunior@id.uff.br

#Programa de Pós-Graduação em Geoquímica

material orgânico que contribui significativamente na AT, diminuindo a capacidade de tamponamento do sistema carbonato.¹⁷ Portanto, o monitoramento contínuo e direto da $p\text{CO}_2$ utilizando técnicas de equilíbrio acopladas com sensores de detecção na região do infravermelho (*non-dispersive infrared gas analyzer*, NDIR) são reconhecidos como os melhores procedimentos analíticos de detecção desse gás.^{11,16,17}

Diversos tipos de sistemas de equilíbrio têm sido propostos para as medições contínuas e diretas da $p\text{CO}_2$ aquática, mas um grande número de sistemas apresentam lento tempo de resposta, que podem variar entre 2 e 20 minutos.^{16,18} Águas costeiras apresentam geralmente elevada turbidez e dinâmica temporal e espacial elevadas, onde as trocas de CO_2 são frequentemente rápidas, então o tempo de resposta nas medições deve ser igualmente rápido, de modo a englobar esses importantes processos de curta escala. Assim, dois critérios fundamentais devem ser levados em consideração para o design de equilibradores em sistemas costeiros: 1) deve ter um tempo de resposta rápido porque variabilidades espaciais e temporais podem ser importantes em estuários; 2) devem ser robustos e permitir altos níveis de turbidez sem riscos de entupimento pelo material particulado presente na água.¹⁶ Um tipo específico de equilibrador (*marble equilibrator*) foi proposto por Frankignoulle *et al.*,¹⁶ com adaptações realizadas por Abril *et al.*¹⁹ Esse sistema de equilíbrio da $p\text{CO}_2$ entre as fases gasosa e líquida do equilibrador foi originalmente desenvolvido para medições de CO_2 em águas estuarinas de elevada turbidez, sendo posteriormente aplicado com sucesso em diversos tipos de ecossistemas costeiros (estuários, lagunas e plumas de rios) e de água doce (rios, lagos e reservatórios). Esse equilibrador também já foi utilizado no oceano aberto.²⁰ Em um experimento que comparou seis tipos de equilibradores (*marble equilibrator*, *shower head exchanger*, *passive hydrophobic tubular membrane*, e três tipos de *membrane contactors*), Santos *et al.*,¹⁸ mostraram que o *marble equilibrator* teve o menor tempo de equilíbrio principalmente por permitir alta velocidade do fluxo de água, sendo um equilibrador ideal para estudos de CO_2 em regiões costeiras.^{16,18,21} Além disso, a turbidez das águas pode causar outras limitações em equilibradores. Por exemplo, Bakker *et al.*,²² reportaram frequentes entupimentos do sistema amostrando águas com florações fitoplanctônicas utilizando equilibrador do tipo “*shower-head*”, justamente quando as medições são de particular interesse.

Poucos estudos foram direcionados em ambientes estuarinos para a comparação dos valores da $p\text{CO}_2$ medida com a $p\text{CO}_2$ calculada. Frankignoulle e Borges,²³ no estuário Scheldt, Bélgica, encontraram excelente correlação entre medições diretas e indiretas em águas com elevado pH e AT. Em outro estudo, conduzido nas águas do estuário Hudson, Estados Unidos, os autores encontraram 15% de discrepância entre os valores da $p\text{CO}_2$ medidos e calculados, porém sem detectar predominância de superestimativas ou subestimativas.²⁴ Na costa do Brasil, as primeiras medições diretas da $p\text{CO}_2$ aquática e cálculos dos fluxos de CO_2 foram conduzidos por Ito *et al.*,²⁵ na região sudeste da plataforma continental brasileira. Entretanto, estudos publicados em estuários sobre estimativas da $p\text{CO}_2$ e fluxos de CO_2 foram conduzidos de maneira discreta e indireta (mediante valores de pH e AT),^{13,14} exceto em um trabalho recente realizado nas águas eutróficas da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, com medições diretas da $p\text{CO}_2$.²⁶ No presente estudo, o equilibrador do tipo *marble equilibrator* foi utilizado para o levantamento direto da $p\text{CO}_2$ aquática e comparação com estimativas indiretas (a partir dos valores do pH e AT) em dois sistemas estuarinos tropicais contrastantes: a Baía de Guanabara (RJ) e o Estuário do Rio São Francisco (AL). O primeiro sistema, dominado por águas de elevada salinidade, é considerado um dos mais impactados e eutrofizados estuários do mundo. O segundo sistema é um estuário do tipo deltaico, dominado pelas águas oligotróficas do Rio São Francisco. Ambos os sistemas apresentam elevadas variações nas

suas propriedades físico-químicas, e podem ilustrar a aplicação dessa técnica. Uma descrição ilustrativa do sistema de medição é apresentada, além de testes laboratoriais do tempo de resposta e comparações entre estimativas diretas e indiretas nos estuários.

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudo

A Baía de Guanabara (Figura 1a) é uma baía costeira tropical localizada na costa sudeste do Brasil (22°41' - 22°58' S e 43°02' - 43°18' W). Tem área superficial de 384 km², profundidade média de 5,7 m e volume de água estimado em 1870 x 10⁶ m³.²⁷ A baía é governada por um regime de micromarés com variação média de 0,7 m.²⁷ O clima é tropical úmido, com verão quente e úmido (período entre Outubro e Março) e inverno mais frio e seco (Abril a Novembro).²⁸ O clima é caracterizado pela massa de ar Equatorial continental durante o verão, e massa de ar Tropical durante o restante do ano, com passagens frequentes de frentes polares principalmente durante inverno.²⁹ As precipitações acumuladas anuais variam entre 1220 - 1800 mm ano⁻¹.²⁹ A média anual da descarga de água doce para a baía é de 100 ± 59 m³ s⁻¹, e varia de aproximadamente 40 m³ s⁻¹ no inverno a 190 m³ s⁻¹ no verão. A baixa descarga de água fluvial comparada com o volume de água da baía que participa na circulação gravitacional resulta em uma forte predominância de condições salinas nas águas.²⁷ A Baía de Guanabara tem sofrido com a intensa influência antropogênica ao longo dos últimos 50 anos. Atualmente, mais de 7 milhões de pessoas vivem no seu entorno, e como consequência da acumulação a longo prazo do descarte de esgoto doméstico ao longo do seu curso, as águas são classificadas como eutróficas, e hipertróficas em algumas localidades, com florações densas de fitoplâncton ocorrendo ao longo de todo o ano.^{26,30}

O estuário do Rio São Francisco (Figura 1b) está localizado na região Nordeste (SE/AL) do Brasil (10°15' - 10°33' S e 36°24' - 36°36' W). O Rio São Francisco, em descarga de água, é o segundo maior rio do Brasil. A bacia hidrográfica do Rio São Francisco cobre aproximadamente 639210 km² e corresponde à mais extensa bacia hidrográfica dentro do território brasileiro.³¹ O domínio climático do estuário é classificado como quente e úmido.³² A precipitação acumulada anual no estuário do São Francisco varia entre 1.250 mm e 1.500 mm, sendo a estação chuvosa verificada entre os meses de maio a julho.³³ Desde 1950, o rio vem sofrendo intensas modificações ao longo de suas margens, principalmente com a construção de barragens na forma de cascata, que controlam aproximadamente 98% da bacia de drenagem. As construções das barragens ao longo das margens do rio modificaram a hidrodinâmica, e atualmente a vazão é regular e constante de aproximadamente 2000 m³ s⁻¹.³⁴ A profundidade do estuário é variável, com média de aproximadamente 3 m. A zona costeira onde está inserido o estuário apresenta regime de mesomares semidiurnas. Os níveis baixos de clorofila *a* e nutrientes nas águas do estuário evidenciam as condições oligotróficas.^{31,34}

Procedimentos de amostragens

A campanha amostral na Baía de Guanabara foi realizada entre abril de 2014 e abril de 2015, totalizando 9 campanhas amostrais.²⁶ Na região do baixo Rio São Francisco, um total de 3 campanhas de amostragem foram realizadas, em agosto de 2014 e março e julho de 2015 (Figura 1). Em todas as campanhas, os procedimentos de amostragens consistiram em varreduras espaciais com o auxílio de embarcações de pequeno a médio porte (média de 6 tripulantes por campanha) para medições contínuas e em tempo real da $p\text{CO}_2$, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido (OD), fluorescência, pH e posição geográfica, todos

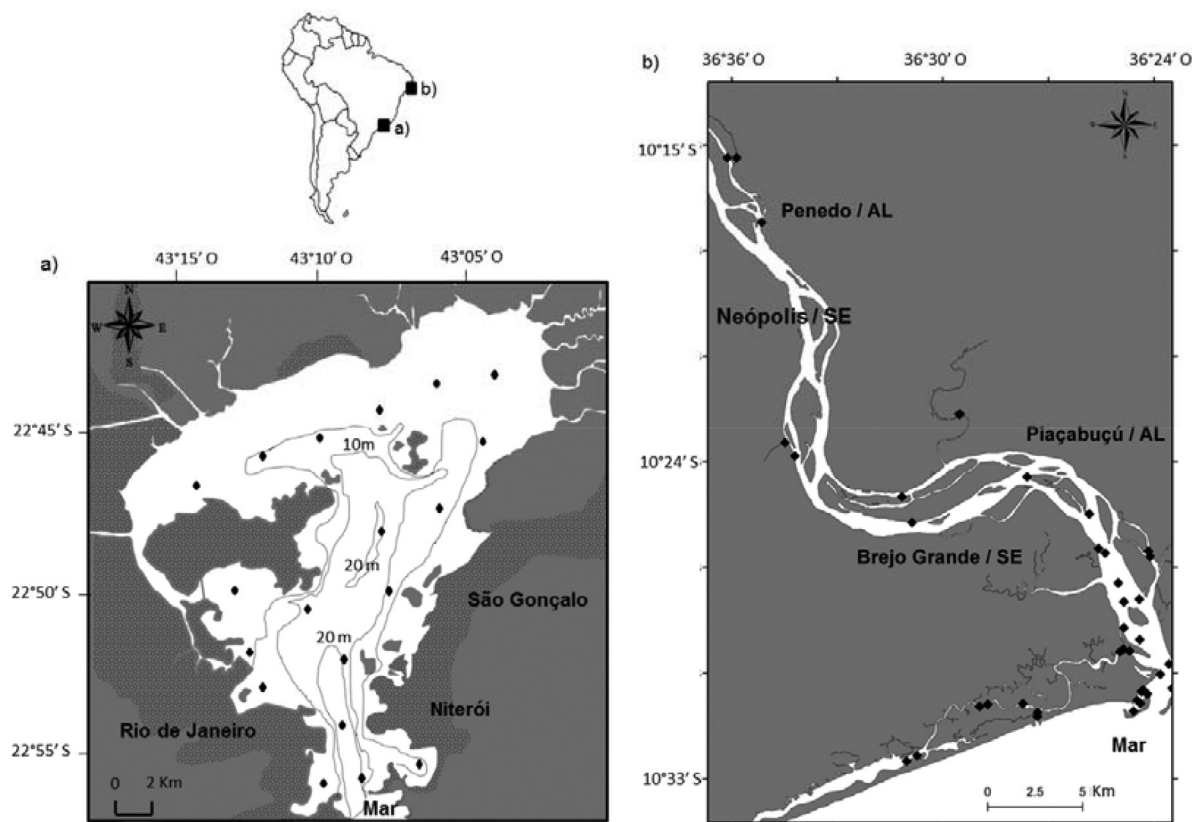


Figura 1. Mapas das áreas de estudos contempladas na presente pesquisa. A Figura 1a apresenta a Baía de Guanabara (RJ) com as linhas isobatimétricas (de 10 e 20 m) e os pontos de amostragens. A Figura 1b representa o sistema estuarino do Rio São Francisco (SE/AL), com os referentes pontos amostrados

os parâmetros medidos e gravados com frequência de 1 minuto. Nas amostragens da Baía de Guanabara, uma bomba de água submersível (bomba de sucção submersa CIBR 12V) foi acoplada na parte lateral da embarcação de modo a prover água em sub-superfície (0,5 m de profundidade) continuamente para o sistema de medição, com energia alimentada por baterias do tipo automotivas de 60 Ah. Nas amostragens do Rio São Francisco, a água foi provida para a embarcação através de uma bomba de porão disponível na própria embarcação, alimentada com bateria automotiva de 150 Ah e coleta de água a aproximadamente 0,5 m de profundidade. Essa profundidade de amostragem em sub-superfície é representativa da camada de água que realiza trocas gasosas na interface água-atmosfera, assumindo que até 0,5 m de profundidade a água é bem misturada. Além disso, caso a bomba esteja fixada a profundidades menores que 0,5 m existe a possibilidade de contato da bomba com o ar atmosférico (devido aos movimentos laterais da embarcação), prejudicando a qualidade das medições. Amostragens discretas para AT e clorofila *a* foram coletadas em aproximadamente 20 estações em cada campanha amostral (Figuras 1a e 1b). As amostras de água foram retiradas em sub-superfície (0,5 m de profundidade) com o auxílio de uma garrafa Niskin (3 L) e acondicionadas (colocadas a frio e no escuro) para posterior análise em laboratório. Em maio de 2013 também foi realizada uma amostragem de 25 horas em uma estação fixa localizada próxima à desembocadura da Baía de Guanabara de modo a testar potencialidades do sistema contínuo de medição para o monitoramento das variações diurnas dos parâmetros considerados nesse estudo.

Procedimentos analíticos

A alcalinidade total (AT) foi determinada em 100 mL de amostras de água filtradas com filtros GF/F. A técnica de análise foi baseada

na titulação clássica de Gran,³⁵ utilizando um sistema de titulação automático (Metler Toledo Mod. T50). A reprodutibilidade do método foi $\pm 3 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ($n = 7$). A acurácia estimada das medições foi de aproximadamente $\pm 7 \mu\text{mol kg}^{-1}$ de acordo com material de referência certificado para alcalinidade (CRM provido por A.G. Dickson, da *Scripps Institution of Oceanography*). Análises de clorofila *a* foram quantificadas segundo procedimentos descritos em Strickland e Parsons,³⁶ utilizando o material contido nos filtros GF/F.

As medições contínuas de temperatura, salinidade, clorofila *a* e OD foram realizadas com o auxílio de uma multisonda YSI® 6600 V2, devidamente calibrada e inserida em uma estrutura acrílica customizada com fluxo de água corrente. A calibração do sensor óptico de OD foi realizada através do valor de saturação atmosférica (acurácia $\pm 3\%$). O sensor da salinidade foi calibrado com material certificado de condutividade (acurácia $\pm 0,1$ na escala prática de salinidade). Os valores de temperatura do termômetro da multisonda foram confrontados com valores de outros dois termômetros (acurácia $\pm 0,1$ °C). A calibração do sensor de fluorescência foi realizada utilizando água deionizada como valor de base. Posteriormente, os valores de fluorescência foram correlacionados com as análises discretas de clorofila *a* a fim de derivar um fator de correção.²⁶ O pH foi medido continuamente e também discretamente com um pHmetro WTW 3310, equipado com um eletrodo Sentrix 41 e termômetro. A calibração do eletrodo de pH foi feita da forma “three-point standard”, mediante valores certificados de pH de 4,01, 7,00 e 10,01 da marca WTW, de acordo com a escala da *National Institute of Standards and Technology* (NIST), antes e após cada amostragem. A precisão estimada das medições de pH foi da ordem de 0,01. A $p\text{CO}_2$ foi medida pela técnica da equilíbrio na qual um fluxo contínuo de água ($1\text{--}2 \text{ L min}^{-1}$) é bombeado para o sistema e segue a partir do topo do equilibrador para a base, enquanto um fluxo contínuo de ar segue na

direção contrária, da base para o topo (1 L min^{-1}).^{16,19,37} A Figura 2 mostra detalhes do equilibrador e do sistema contínuo de medição, que foi adaptado de prévios trabalhos.^{16,19} O principal objetivo dessa técnica é alcançar rapidamente o equilíbrio na transferência do gás entre a fase gasosa e a fase líquida dentro do sistema de medição. O equilibrador consiste em um tubo de acrílico (diâmetro de 8 cm, altura de 1 m), preenchido com bolas de gude (*marbles*). A presença das bolas de gude diminui o volume interno do equilibrador para aproximadamente 0,6 L, por outro lado promove o aumento da área superficial de troca para aproximadamente $1,4 \text{ m}^2$. O ar no sistema é seco utilizando *drierite* antes de passar por um detector de gás na região do infravermelho (NDIR, LICOR®, Tipo LI-820). A distância do percurso entre a tomada de água e o ponto da medida analítica foi de aproximadamente 1,5 m. As diferenças na temperatura da água no local de coleta e no aparelho de medição foram menores que $0,2 \text{ }^\circ\text{C}$, ou seja, não houve perda e/ou ganho significativo de calor dentro do sistema durante a medição. Antes e após cada amostragem, o instrumento foi calibrado utilizando 3 misturas de gases padrão com concentrações conhecidas de CO_2 (410, 1007 e 5035 ppmv). N_2 passando por *soda lime* foi utilizado para o estabelecimento do nível 0 do NDIR, e então a mistura de 1007 ppmv foi utilizada para a calibração. Os outros dois padrões (410 e 5035 ppmv) foram utilizados para verificar a linearidade do sinal. A precisão e a acurácia das medições da $p\text{CO}_2$ foram da ordem de 3 e 5 ppmv, respectivamente.

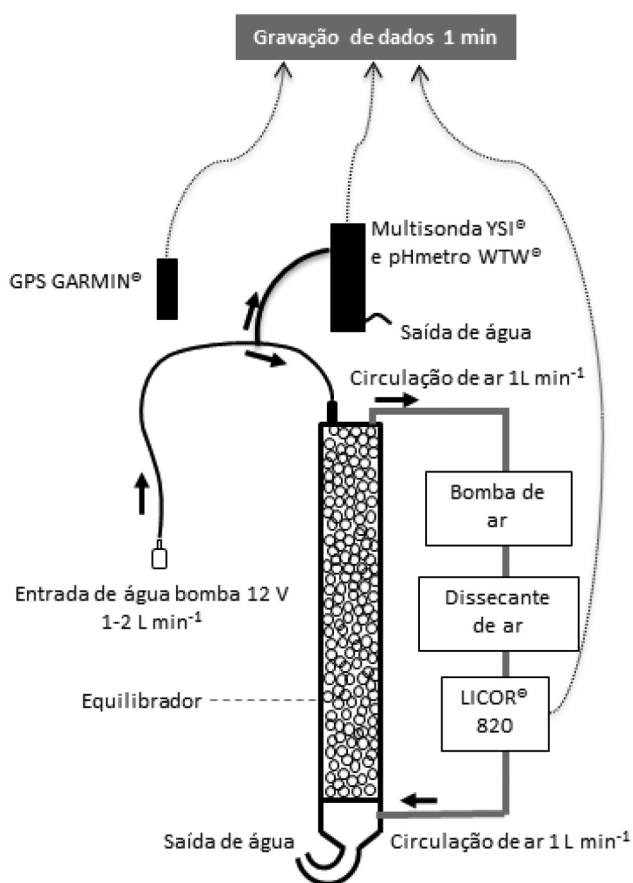


Figura 2. Desenho esquemático mostrando o sistema de medição contínuo (ver no texto explicações detalhadas). Figura adaptada de Frankignoulle *et al.*¹⁶

Testes de desempenho do equilibrador foram conduzidos em laboratório para determinar o tempo de resposta do sistema em função de mudanças abruptas nos valores da $p\text{CO}_2$. Esses testes foram realizados adicionando quantidades de 0,2, 0,5, 1 e 3 mL de HCl 0,1N em um sistema de circulação de água de torneira com valores

aproximados de alcalinidade de $0,451 \text{ mmol kg}^{-1}$, pH de 7,5 (escala NIST) e temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os procedimentos laboratoriais foram adaptados do trabalho de Frankignoulle *et al.*¹⁶ Adicionando ácido na água, uma certa quantidade da alcalinidade será neutralizada, produzindo imediatamente CO_2 dissolvido no volume de água, que rapidamente se equilibra dentro do sistema. A entrada e a saída de água do sistema ficaram dentro de um mesmo recipiente contendo aproximadamente 15 L de água.

Cálculos do sistema carbonato e estatística

O cálculo da $p\text{CO}_2$ foi realizado através dos valores medidos de AT e pH. Foram utilizadas as constantes de dissociação do ácido carbônico de acordo com Mehrbach *et al.*,³⁸ reformuladas por Dickson e Millero,³⁹ a constante de acidez do borato segundo Lee *et al.*,⁴⁰ e o coeficiente de solubilidade do CO_2 de Weiss.⁴¹ Todos os cálculos do sistema carbonato foram realizados no programa CO2calc® 1.2.9.⁴² Foi aplicado o teste estatístico de Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos dados. Como os resultados não apresentaram distribuição normal foi aplicado o teste pareado de Wilcoxon para testar a diferença entre médias. Regressões lineares simples foram calculadas para comparar a $p\text{CO}_2$ medida pelo sistema online de medição com a $p\text{CO}_2$ calculada com base nos valores de pH e AT, com verificação do desvio da reta 1:1. O programa GraphPad Prism® 6.0 foi utilizado para os cálculos estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de desempenho do sistema de equilíbrio e comparações com outros estudos

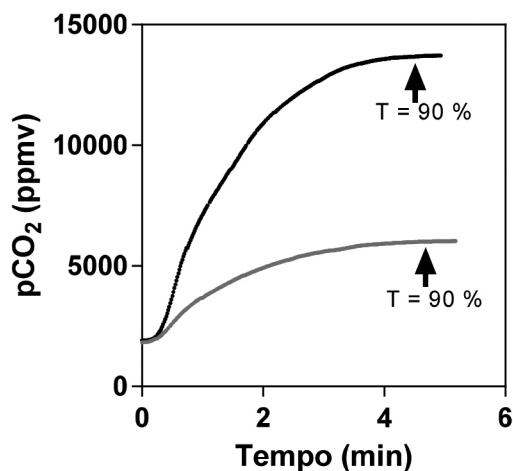
As adições de ácido durante os testes do tempo de resposta do sistema aumentaram os valores da $p\text{CO}_2$ da água, como esperado. A Tabela 1 sumariza os resultados dos testes do tempo de resposta (ou tempo de equilíbrio). Normalmente, o cálculo do tempo de equilíbrio desses tipos de sistemas são realizados através das curvas exponenciais de aumento ou diminuição dos valores de $p\text{CO}_2$, ou considerando a estabilização dos valores da $p\text{CO}_2$ de acordo com o coeficiente de variação.^{43,44} Nesse trabalho, o tempo de equilíbrio foi definido como o tempo necessário para se atingir a estabilização nos valores de $p\text{CO}_2$ após a adição de HCl. O valor final da $p\text{CO}_2$ foi estabelecido quando a variação dos valores da $p\text{CO}_2$ foi menor que 1% do coeficiente de variação durante um período de 2 min.⁴⁴ O tempo de equilíbrio 90% ($T_{90\%}$) foi considerado o tempo total necessário para se atingir 90% da faixa de variação dos valores da $p\text{CO}_2$ ($\Delta p\text{CO}_2 = p\text{CO}_2 \text{ final} - p\text{CO}_2 \text{ inicial}$).¹⁸

Os tempos necessários para se atingir 90% ($T_{90\%}$) da faixa de variação da $p\text{CO}_2$ ficaram entre 4,7 e 6,4 min, para adições ácidas variando entre 0,2 e 3 mL de HCl 0,1 N. O tempo de equilíbrio para variações de $\Delta p\text{CO}_2$ de 834, 4188 e 11799 ppmv foram equivalentes (diferença de apenas 20 s, aproximadamente). A exceção foi após a adição de 3 mL de ácido, quando a $p\text{CO}_2$ foi de aproximadamente 77000 ppmv e o tempo de equilíbrio consideravelmente maior (aproximadamente 2 min). Entretanto, concentrações dessa magnitude não foram verificadas em sistemas estuarinos.⁸ A Figura 3 apresenta exemplos das variações da $p\text{CO}_2$ em função do tempo (nessa figura apresentam-se exemplos para adições de HCl de 0,5 e 1 mL). Os tempos de 90% de equilíbrio estão indicados no gráfico.

O tempo de equilíbrio de 90%, que apresentou média 4,6 min, é suficientemente rápido para pesquisas envolvendo a dinâmica do CO_2 em regiões costeiras, e ideal para compreender as escalas temporais que atuam em estuários, como as variações sazonais e guiadas pelas marés, assim como a própria variação espacial dos sistemas.^{9,45} As

Tabela 1. Resultados dos testes do tempo de resposta do sistema de equilíbrio

Adição de ácido HCl (mL)	$p\text{CO}_2$ Inicial (ppmv)	$p\text{CO}_2$ Final (ppmv)	$\Delta p\text{CO}_2$ (ppmv)	$p\text{CO}_2$ no tempo de 90% de equilíbrio (ppmv)	Tempo de 90% de equilíbrio (min)
0,2	1610	2444	834	2433	4,7
0,5	1835	6023	4188	5382	4,6
1	1919	13718	11799	13669	4,5
3	1230	78651	77421	77570	6,4

**Figura 3.** Variação da $p\text{CO}_2$ em função do tempo para os testes do tempo de resposta. A curva em cinza representa o tempo de equilíbrio após adição de 0,5 mL de de HCl 0,1 N, e a curva em preto representa o tempo de equilíbrio após adição de 1 mL de HCl 0,1 N

diferenças nos tempos de equilíbrio ($T = 90\%$) para $p\text{CO}_2$ entre 834 e 11799 ppmv foram menores que 20 s, reforçando o bom, constante e linear tempo de resposta do sistema frente a mudanças abruptas nos valores da $p\text{CO}_2$. Uma das vantagens do presente sistema é permitir uma rápida velocidade de troca de gás entre as fases gasosa e líquida dentro do equilibrador,¹⁶ atingindo o equilíbrio mais rápido que outros equilibradores disponíveis no mercado.¹⁸

As variáveis que definem o tempo de equilíbrio da transferência gasosa entre as fases gasosa e líquida em um equilibrador incluem a área superficial de troca, o coeficiente de transferência, a pressão, o coeficiente de solubilidade, o volume da fase gasosa, o volume da fase líquida e a velocidade do fluxo de água.^{43,46-48} O tempo de resposta atingido pelo presente sistema está de acordo com os valores encontrados por Santos *et al.*,¹⁸ que utilizou um sistema similar de equilíbrio. Os resultados também estão em bom acordo com aqueles de Abril *et al.*,¹⁹ que reportaram estabilização de valores entre 2–4 min, em um teste realizado em águas de reservatório. Os resultados de Gulzow *et al.*,⁴⁶ também mostraram tempo de equilíbrio próximo a 4 min utilizando um sistema similar acoplado a um espectroscópio de cavidade (ICOS) para detecção do CO_2 . Entretanto, os resultados do tempo de equilíbrio do sistema testado no presente estudo mostraram valores mais elevados que aqueles reportados por Frankignoulle *et al.*,¹⁶ para águas estuarinas. Como ambos os sistemas de equilíbrio foram similares, a diferença pode ser explicada pela variação na velocidade do fluxo de água, pois a vazão de água no presente trabalho (1–2 L min^{-1}) foi menor que a vazão reportada por Frankignoulle *et al.*,¹⁶ (3 L min^{-1}). Um recente trabalho quantificou qual a influência da velocidade do fluxo de água sobre o tempo de resposta do equilibrador do tipo *marble*.⁴³ Os autores testaram fluxos de água variando entre 1,5 L min^{-1} e 9 L min^{-1} . Os resultados se ajustaram em uma equação polinomial inversa de primeira ordem, ou seja, quanto maior a velocidade do fluxo de água menor é o tempo

necessário para a equilíbrio. O tempo de resposta mais rápido (2 minutos) foi atingido quando o fluxo de água foi máximo (9 L min^{-1}), corroborando com trabalhos prévios e reforçando a influência preponderante da velocidade do fluxo de água sobre o tempo de resposta. Outros fatores também podem contribuir em menor grau para o tempo de resposta do sistema, incluindo a temperatura e a salinidade, que podem alterar a solubilidade, o coeficiente de difusividade e a viscosidade da água.⁴⁷

Diferenças entre os valores de $p\text{CO}_2$ calculados e medidos na Baía de Guanabara e no estuário do Rio São Francisco

A comparação dos valores calculados e medidos da $p\text{CO}_2$ na Baía de Guanabara e no estuário do Rio São Francisco é apresentada na Figura 4 e na Tabela 2, que também contém os resultados dos parâmetros físico-químicos das águas dos estuários. Para a Baía de Guanabara, os valores medidos e calculados foram altamente correlacionados ($Y = 1,084 * X - 27,71$; $R^2 = 0,95$; $p < 0,001$; $n = 174$), enquanto para o estuário do Rio São Francisco a correlação foi menor ($Y = 1,596 * X + 802,1$; $R^2 = 0,51$; $p < 0,001$; $n = 63$). Para a Baía de Guanabara, o valor médio da $p\text{CO}_2$ medido foi 418 ± 431 ppmv e o calculado foi 421 ± 452 ppmv. O teste pareado de Wilcoxon mostrou que a diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Para o estuário do Rio São Francisco, o valor médio da $p\text{CO}_2$ medido foi 1469 ± 2949 ppmv e o calculado foi 3147 ± 6583 ppmv. O teste de Wilcoxon mostrou haver diferenças significativas entre os valores medidos e calculados ($p < 0,01$). De uma maneira geral, os valores calculados da $p\text{CO}_2$ foram superestimados no estuário do Rio São Francisco.

A correlação positiva entre os valores calculados e medidos na Baía de Guanabara indica que a $p\text{CO}_2$ pode ser calculada com elevado grau de confiabilidade em ambientes estuarinos com águas de elevada salinidade (ausência de região estuarina com domínio de água doce). A correlação entre os valores medidos e calculados da $p\text{CO}_2$ também foi elevada para o estuário do Rio São Francisco considerando apenas as amostras com salinidade maior que 1 ($Y = 1,268 * X - 128,6$; $R^2 = 0,88$; $p < 0,001$), reforçando a hipótese acima. Entretanto, a correlação entre valores calculados e medidos decai fortemente se são considerados apenas os resultados das amostras com salinidade entre 0–1 ($Y = 1,298 * X + 2092$; $R^2 = 0,46$; $p < 0,001$), com valor médio da superestimativa da $p\text{CO}_2$ calculada de 137%, atingido o valor extremo de 737%. Se os dados das salinidades entre 0–1 são eliminados para o estuário do Rio São Francisco, a superestimativa decai fortemente, evidenciando que a problemática se concentra na região de água doce onde predominam baixos valores de pH e AT.

A influência da matéria orgânica dissolvida sobre os valores da AT foi recentemente discutida na literatura.¹⁷ Esses autores afirmam que a matéria orgânica pode contribuir com uma expressiva fração da AT (formação da alcalinidade orgânica), levando a importantes erros nas estimativas da $p\text{CO}_2$ se calculada mediante valores de pH e AT.^{49,50} Em alguns rios como o Amazonas e o Congo, Abril *et al.*,¹⁷ reportaram significantes superestimativas da $p\text{CO}_2$ calculada (> 50%) sob condições de $\text{pH} < 7$ e $\text{AT} < 1000 \mu\text{mol L}^{-1}$. Esses erros foram

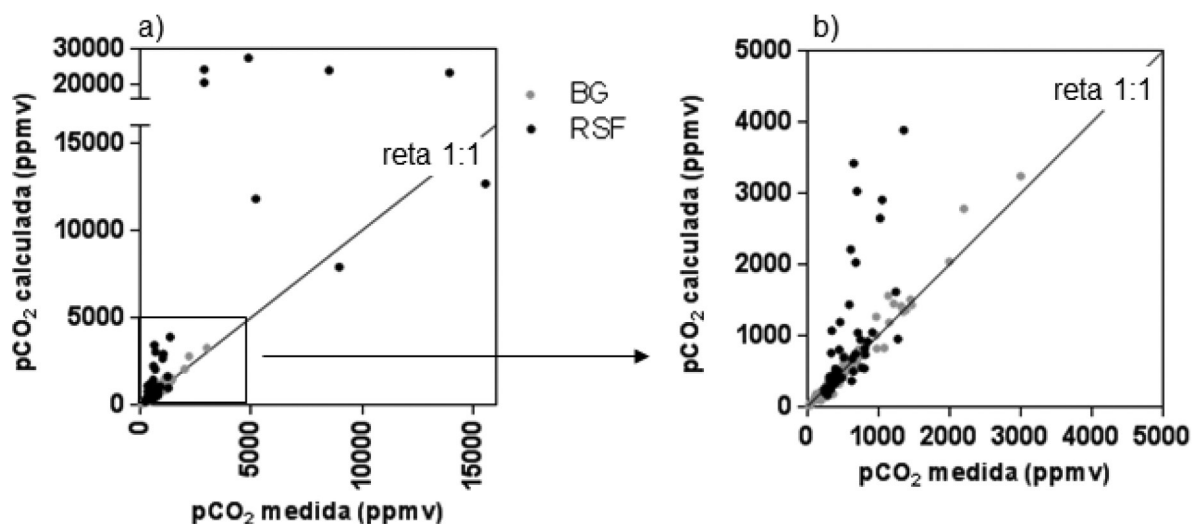


Figura 4. Comparação entre os valores calculados e medidos da $p\text{CO}_2$. A Figura 4a contém todos os resultados obtidos nessa comparação. A Figura 4b representa somente os pontos inseridos dentro do quadrado desenhado na Figura 4a

Tabela 2. Sumário dos parâmetros físico-químicos das águas da Baía de Guanabara e Estuário do Rio São Francisco contendo média, desvio padrão, mínimo e máximo

	Temperatura (°C)	Salinidade	AT ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	pH (NIST)	$p\text{CO}_2$ medida (ppmv)	$p\text{CO}_2$ calculada (ppmv)	Superestimativa da $p\text{CO}_2$ (%)
Baía de Guanabara	$25,8 \pm 2,5$ 21,6 / 33,6	$29,0 \pm 4,0$ 15,6 / 34,7	2119 ± 243 988 / 2488	$8,30 \pm 0,32$ 7,45 / 9,22	418 ± 431 24 / 3000	421 ± 452 13 / 3240	-1 ± 17 -53 / 104
Estuário do Rio São Francisco	$27,5 \pm 1,1$ 25,9 / 31,0	$7,7 \pm 10,7$ 0,0 / 35,8	984 ± 597 305 / 2401	$7,62 \pm 0,65$ 5,79 / 8,33	1469 ± 2948 228 / 15529	3148 ± 6582 163 / 27415	71 ± 154 -42 / 737

atribuídos à presença de alcalinidade orgânica em águas pobremente tamponadas pela alcalinidade carbonática. Essa problemática descrita por Abril *et al.*,¹⁷ pode ser uma possível explicação para as elevadas superestimativas da $p\text{CO}_2$ encontradas nas amostras de água doce do Rio São Francisco, ou seja, a contribuição da alcalinidade orgânica e o baixo tamponamento do sistema carbonato. Enquanto no estuário do Rio São Francisco os erros parecem ser significantes somente na região de baixa salinidade (Figura 5), não podemos excluir que em outros sistemas estuarinos (como aqueles influenciados por manguezais e marismas) a presença de ácidos orgânicos possa afetar os cálculos da $p\text{CO}_2$ também em salinidades intermediárias. As Figuras 5a, 5b e 5c apresentam gráficos quantificando o erro do cálculo da $p\text{CO}_2$, em porcentagem, em função da salinidade, pH e AT. De uma maneira geral, as maiores superestimativas foram verificadas na região entre 0-1 de salinidade, concomitantes com valores baixos de pH e AT. Dessa forma, os resultados sugerem que o cálculo da $p\text{CO}_2$ não

pode ser realizado para regiões de água doce de estuários com $\text{pH} < 7,5$ e $\text{AT} < 700 \mu\text{mol kg}^{-1}$. Segundo Abril *et al.*,¹⁷ nenhuma relação empírica pode ser derivada para corrigir o erro nos cálculos, assim nós corroboramos com os autores citados anteriormente de que a medição direta da $p\text{CO}_2$ é essencial para a alta qualidade dos dados.

Em adição à problemática do cálculo da $p\text{CO}_2$ descrita no parágrafo anterior, problemas nas medições do pH também podem ser as causas de importantes discrepâncias entre os valores da $p\text{CO}_2$ calculados e medidos. A Figura 6 apresenta os resultados teóricos da sensibilidade dos cálculos da $p\text{CO}_2$ em função de um erro de 0,05 unidades no pH. Os erros foram estabelecidos para condições típicas das águas da Baía de Guanabara (salinidade 30, temperatura 25 °C, AT 2 mmol kg^{-1}) e do estuário do Rio São Francisco (salinidade 10, temperatura 25 °C, AT 1 mmol kg^{-1}). As estimativas cobrem valores de pH entre 6 e 9. Por exemplo, para a Baía de Guanabara, em águas com salinidade média de 30, pH de 8,45 e AT de 2 mmol kg^{-1} , um

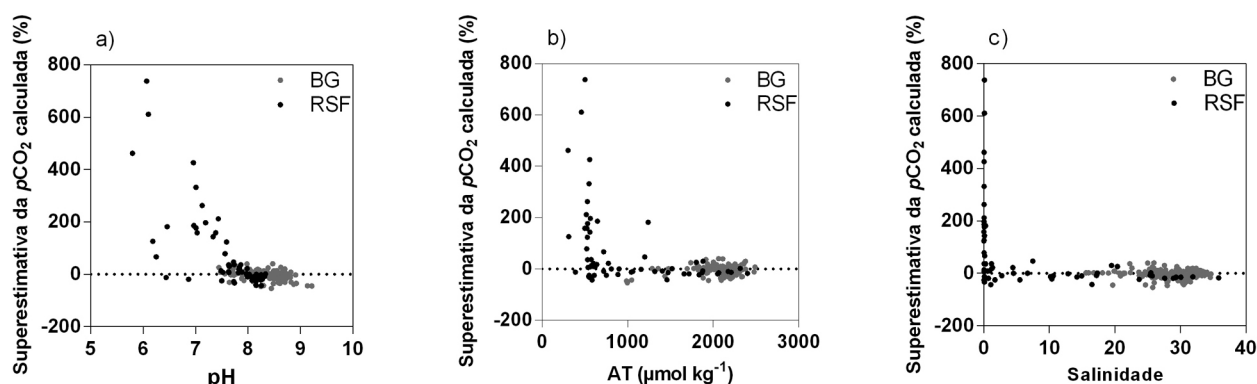


Figura 5. Comparação da superestimativa da $p\text{CO}_2$ calculada entre os dois sistemas estuarinos. O gráfico 5a apresenta a superestimativa em função dos valores de pH; o gráfico 5b apresenta a superestimativa em função da AT; o gráfico 5c apresenta a superestimativa em função da salinidade

erro de 0,05 unidades (0,6%) no pH resulta em um erro de $\pm 16\%$ no cálculo da $p\text{CO}_2$. No estuário do Rio São Francisco, em águas com salinidade de 10, pH de 8,05, e AT de 1 mmol kg^{-1} , um erro de 0,05 unidades (0,6%) no pH resulta em um erro de $\pm 13\%$ na $p\text{CO}_2$ calculada. Levando-se em conta que os cálculos dos fluxos de CO_2 na interface água-atmosfera incluem o gradiente da $p\text{CO}_2$ nessa interface, erros de apenas 0,05 nas medições do pH podem levar a erros nos

cálculos dos fluxos que passam de 20% em águas oligo-halinas a levemente meso-halinas.

Exemplos das medições em tempo real em estuários

Para exemplificar a aplicação das medições em escalas de pequenas variações espaciais e temporais, a Figura 7 é apresentada com os resultados obtidos durante um fundeio de 25 horas na Baía de Guanabara. O traçado em preto no mapa indica o trajeto percorrido pela embarcação e a seta indica o sentido da rota. Ao lado direito do mapa da Baía de Guanabara é possível observar 6 gráficos contendo a variação espacial dos parâmetros ao longo do trajeto percorrido pela embarcação (parâmetro *versus* Longitude), quando foi realizado um N amostral contendo 232 medições (1 por minuto). Os gráficos 7a e 7b apresentam a variação dos valores da $p\text{CO}_2$ e do OD (oxigênio dissolvido). As diminuições nos valores de $p\text{CO}_2$ concomitantes com aumentos nos valores de OD e clorofila *a* são relacionados com as atividades fitoplanctônicas que consumiram o CO_2 da água e liberaram OD através do processo da fotossíntese. Também nesses gráficos é possível observar a influência de plumas de rios (quando os valores de OD são mais baixos e os valores de $p\text{CO}_2$ são mais altos). Esses resultados mostram que as variações em curta escala espacial não poderiam ser observadas com tanta precisão caso a amostragem fosse discreta e pontual (os valores da $p\text{CO}_2$ alcançaram variações além de 1500 ppmv em uma distância de apenas 300 m, aproximadamente). A velocidade de navegação da embarcação foi de aproximadamente $2,3 \text{ m s}^{-1}$, configurando uma amostragem de alta resolução espacial (uma medição a cada 138 m, aproximadamente). Importante ressaltar que se os gradientes espaciais se tornam acentuados, é necessária a diminuição da velocidade de navegação em função do tempo de resposta do sistema de medição.

Os gráficos das Figuras 7g e 7h apresentam resultados de um fundeio de 25 horas realizado próximo à desembocadura da baía.

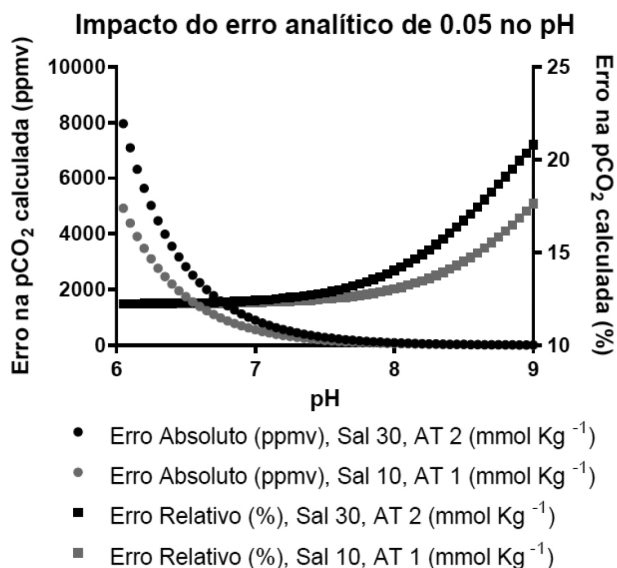


Figura 6. Impacto do erro analítico de 0,05 unidades na medição do pH sobre o cálculo da $p\text{CO}_2$. O gráfico apresenta resultados para condições típicas das águas da Baía de Guanabara (salinidade 30, temperatura $25 \text{ }^\circ\text{C}$, AT 2 mmol kg^{-1}) e das águas do estuário do Rio São Francisco (salinidade 10, temperatura $25 \text{ }^\circ\text{C}$, AT 1 mmol kg^{-1})

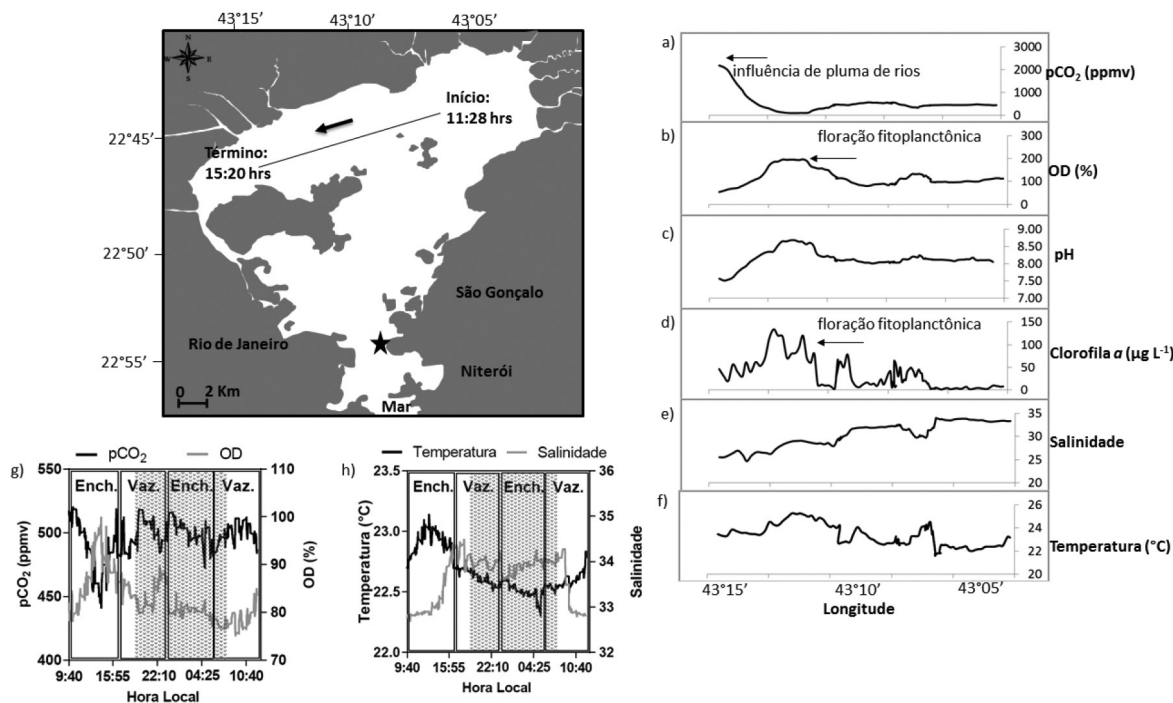


Figura 7. Exemplos da aplicação do sistema de medição contínuo na Baía de Guanabara (agosto de 2013). A linha em preto no mapa se refere à trajetória da embarcação. Os gráficos 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f se referem, respectivamente, aos valores da $p\text{CO}_2$, OD, pH, clorofila *a*, salinidade e temperatura obtidos durante a trajetória da embarcação. A estrela em preto no mapa se refere à localização do fundeio de 25 horas. O gráfico 7g apresenta as variações diurnas de $p\text{CO}_2$ e OD e o gráfico 7h apresenta as variações diurnas da temperatura e salinidade, com os períodos de maré enchente (Ench.) e vazante (Vaz.). A parte sombreada representa o período noturno

Nesses gráficos é possível ver que existem variações diurnas nas concentrações de OD e $p\text{CO}_2$, entretanto não foi possível indicar tendências de diminuição ou aumento da $p\text{CO}_2$ com a variação da maré, ou diferenças entre o dia e a noite. Durante as primeiras horas da coleta, durante maré enchente, é possível notar diminuição da $p\text{CO}_2$ e o aumento concomitante do OD, possivelmente relacionado com o processo de fotossíntese. Entretanto, após algumas horas, ainda durante maré enchente, a $p\text{CO}_2$ começa a subir com a concomitante diminuição do OD, provavelmente relacionado com a intrusão de águas que estavam no mar adjacente à baía. Após esse período, não foi possível visualizar tendências nas variações dos dados. A correlação negativa entre OD e $p\text{CO}_2$ ($r = 0,71$; $p > 0,001$; Teste de Spearman) corrobora a hipótese de que os processos de fotossíntese e respiração (controle biológico) explicam parcialmente a variação dos dados. Os valores da $p\text{CO}_2$ sempre acima de 400 ppmv indicam que a região se comportou como fonte de CO_2 para a atmosfera durante esse período. Maiores informações sobre as concentrações e as trocas atmosféricas de CO_2 na Baía de Guanabara podem ser encontradas em Cotovicz Jr. *et al.*,²⁴ Esses autores mostraram que o setor mais externo da baía de Guanabara apresentou variação sazonal comportando-se como fonte de CO_2 atmosférico no inverno ($2,85 \text{ mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) e sumidouro no verão ($-3,88 \text{ mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), relacionados com processos de fotossíntese e respiração pelas comunidades fitoplancônicas. Considerando o balanço anual, a região externa foi considerada um leve sumidouro de CO_2 ($-0,51 \text{ mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$).²⁴ A faixa da variação da $p\text{CO}_2$ durante o ciclo completo da maré realizado nesse fundeio foi de aproximadamente 90 ppmv, e menor que variações reportadas na literatura relacionadas com variações espaciais e diurnas.²⁴ Para o OD, é possível visualizar uma correlação positiva com a temperatura ($r = 0,68$; $p > 0,001$; Teste de Spearman). A temperatura e as concentrações de OD foram maiores durante o dia e relacionados com atividades fotossintéticas. A salinidade mostrou ser um parâmetro de menor importância tanto para variações diurnas do OD quanto da $p\text{CO}_2$. Outros estudos mostraram a importância do monitoramento do CO_2 em função de variações diurnas relacionadas com os processos de fotossíntese e respiração, e ao longo do ciclo de marés.^{51,52} O monitoramento das concentrações espaciais e temporais (sazonais, diurnas) da $p\text{CO}_2$ é necessário juntamente com levantamentos de parâmetros físico-químicos, meteorológicos e hidrodinâmicos, e o sistema de medição contínua pode abranger essas escalas como exemplificado nesse e em outros estudos.^{19,51,52}

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que para as águas salinas e eutrofizadas da Baía de Guanabara, as medições contínuas e diretas da $p\text{CO}_2$ apresentaram boa concordância com os resultados da $p\text{CO}_2$ calculada. Entretanto, para o estuário do Rio São Francisco, a diferença entre os valores calculados e medidos da $p\text{CO}_2$ foi alta e significativa, onde a $p\text{CO}_2$ calculada foi superestimada, em média, 74%. Essa problemática foi visualizada somente nas regiões do estuário ainda influenciadas pela maré, e dominadas pela água doce onde predominam condições de baixa AT e baixo pH. A superestimativa alcançou o valor extremo de 737%. Tais diferenças entre a $p\text{CO}_2$ calculada e medida podem ocasionar importantes erros nos cálculos dos fluxos de CO_2 nas regiões estuarinas. Dessa forma, os resultados sugerem que o cálculo da $p\text{CO}_2$ não deve ser realizado em regiões estuarinas com domínio de água doce, com $\text{pH} < 7,5$ e $\text{AT} < 700 \mu\text{mol kg}^{-1}$. Uma possível explicação para essas importantes superestimativas é a contribuição da alcalinidade orgânica sobre a AT, diminuindo o poder tampão do sistema carbonato e ocasionando erros nos cálculos através dos valores de pH e AT. Porém, novos estudos devem ser conduzidos para um caráter mais conclusivo dessa hipótese. Os resultados das

medições em tempo real também demonstraram que existem importantes variações de curta escala espacial e temporal nos valores da $p\text{CO}_2$ em ambos os sistemas, reforçando a importância de medições diretas e contínuas. A grande variabilidade da $p\text{CO}_2$ entre dois estuários distintos, e mesmo espacial para cada um dos estuários, mostra que estudos de $p\text{CO}_2$ na costa brasileira precisam ser intensificados para que se possa progressivamente modelar o comportamento da $p\text{CO}_2$ em águas estuarinas do clima tropical úmido ao subtropical influenciados, ou não, por atividades antrópicas ao longo da costa brasileira. Portanto, para cálculos mais precisos e fidedignos em se tratando dos estudos dos fluxos de CO_2 em sistemas costeiros, se faz necessária a implementação de medições diretas.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Ciência Sem Fronteiras, Modalidade Pesquisador Visitante Especial (PVE), Edital No 61/2011/Linha 2, Processo CNPq-Pve No 401.726/2012-6, pelo financiamento da pesquisa e concedimento de bolsas PVE para o Dr. Gwenaël Abril e pós-doutorado para a Dr^a. Nilva Brandini.

Dr. Bastiaan A. Knoppers é bolsista CNPq-PQ 1C (Proc. No. 304342/2014-9) UFF/RJ; MSc. Luiz C. Cotovicz Jr e Msc. Bruno G. Libardoni são bolsistas de doutorado do CNPq. Ao Prof. Dr. Paulo Ricardo Petter Medeiros, Departamento de Geografia e Meio Ambiente, Laboratório de LABMAR/UFAL, pelo suporte logístico e científico durante as campanhas amostrais. Ao Projeto “Variabilidade climática, oceânica e antrópica na Baía de Guanabara: perspectiva comparativa em diversas escalas temporais”, coordenado pelo Prof. Renato Campelo Cordeiro (UFF), pela disponibilização de equipamentos de medições. Ao técnico Dominique Poirier, do EPOC – Université de Bordeaux e à técnica Ludmila Costa, Lab. Biogeoquímica Marinha – Universidade Federal Fluminense, pelo suporte durante a etapa analítica. Agradecemos também aos três revisores anônimos desse artigo pelas correções e convenientes sugestões.

REFERÊNCIAS

1. Stocker, T. F.; Qin, D.; Plattner, G.-K.; Tignor, M.; Allen, S. K.; Boschung, J.; Nauels, A.; Xia, Y.; V. Bex, V.; Midgley, P. M.; *IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press: New York, 2013.
2. Le Quééré, C.; Raupach, M. R.; Canadell, J. G.; Marland, G.; Bopp, L.; Ciais, P.; Conway, T. J.; Doney, S. C.; Feely, R. A.; Foster, P.; Friedlingstein, P.; Gurney, K.; Houghton, R. A.; House, J. I.; Huntingford, C.; Levy, P. E.; Lomas, M. R.; Majkut, J.; Metzler, N.; Ometto, J. P.; Peters, G. P.; Prentice, I. C.; Randerson, J. T.; Running, S. W.; Sarmiento, J. L.; Schuster, U.; Sitch, S.; Takahashi, T.; Viovy, N.; van der Werf, G. R.; Woodward, F. I.; *Nat. Geosci.* **2009**, *2*, 831.
3. Feely, R. A.; Doney, S. C.; Cooley, S. R.; *Oceanography* **2009**, *22*, 36.
4. Cai, W. J.; Hu, X.; Huang, W. J.; Murrell, M. C.; Lehrter, J. C.; Lohrenz, S. E.; Chou, W. C.; Zhai, W.; Hollibaugh, J. T.; Wang, Y.; *Nat. Geosci.* **2011**, *4*, 766.
5. Duarte, C. M.; Hendriks, I. E.; Moore, T. S.; Olsen, Y. S.; Steckbauer, A.; Ramajo, L.; Carstensen, J.; Trotter, J. A.; McCulloch, M.; *Estuaries Coasts* **2013**, *36*, 221.
6. Wallace, R. B.; Baumann, H.; Gear, J. S.; Aller, R. C.; Gobler, C. J.; *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* **2014**, *148*, 1.
7. Takahashi, T.; Sutherland, S. C.; Wanninkhof, R.; Sweeney, C.; Feely, R. A.; Chipman, D. W.; Hales, B.; Friederich, G.; Chavez, F.; Sabine, C.; Watson, A.; Bakker, D. C. E.; Schuster, U.; Metzler, N.; Yoshikawa-Inoue, H.; Ishii, M.; Midorikawa, T.; Nojiri, Y.; Körtzinger, A.; Steinhoff, T.;

- Hoppema, M.; Olafsson, J.; Arnarson, T. S.; Tilbrook, B.; Johannessen, T.; Olsen, A.; Bellerby, R.; Wong, C. S.; Delille, B.; Bates, N. R.; de Baar, H. J. W.; *Deep-Sea Res., Part II* **2009**, *56*, 554.
8. Borges, A. V.; *Estuaries* **2005**, *28*, 3.
9. Borges, A. V.; Abril, G. Em *Treatise on Estuarine and Coastal Science*; Wolanski, E.; MacLuski, D., eds.; Academic Press: Amsterdam, 2011, cap. 5.04.
10. Chen, C. T. A.; Huang, T. H.; Chen, Y. C.; Bai, Y.; He, X.; Kang, Y.; *Biogeosciences* **2013**, *10*, 6509.
11. Dickson, A. G. Em *Guide for Best Practices in Ocean Acidification Research and Data Reporting*; Riebesell, U.; Fabry, V. J.; Hansson, L.; Gattuso, J. P., eds.; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 2010, cap. 1.
12. Hoppe, C. J. M.; Langer, G.; Rokitta, S. D.; Wolf-Gladrow, D. A.; Rost, B.; *Biogeosciences* **2012**, *9*, 2401.
13. Araujo, M.; Noriega, C.; Lefèvre, N.; *Frontiers in Marine Science* **2014**, *1*, 1.
14. Noriega, C. E. D.; Araujo, M.; *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 6164.
15. Marion, G. M.; Millero, F. J.; Camões, M. F.; Spitzer, P.; Feistel, R.; Chen, C. T. A.; *Mar. Chem.* **2011**, *126*, 89.
16. Frankignoulle, M.; Borges, A. V.; *Aquat. Geochem.* **2001**, *7*, 267.
17. Abril, G.; Bouillon, S.; Darchambeau, F.; Teodoru, C. R.; Marwick, T. R.; Tamoooh, F.; Ochieng Omengo, F.; Geeraert, N.; Deirmendjian, L.; Polsenaere, P.; Borges, A. V.; *Biogeosciences* **2015**, *12*, 67.
18. Santos, I. R.; Maher, D. T.; Eyre, B. D.; *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 7685.
19. Abril, G.; Richard, S.; Guérin, F.; *Sci. Total Environ.* **2006**, *354*, 246.
20. Borges, A. V.; Frankignoulle, M.; *Prog. Oceanogr.* **2001**, *51*, 283.
21. Borges, A. V.; Frankignoulle, M.; *Biogeochemistry* **2002**, *59*, 41.
22. Bakker, D. C. E.; De Baar, H. J. W.; De Wilde, H. P. J.; *Mar. Chem.* **1996**, *55*, 247.
23. Frankignoulle, M.; Borges, A.; Biondo, R.; *Water Res.* **2001**, *35*, 344.
24. Raymond, P. A.; Caraco, N. F.; Cole J. J.; *Estuaries* **1997**, *20*, 381.
25. Ito, R.; Schneider, B.; Thomas, H.; *Journal of Marine Systems* **2005**, *56*, 227.
26. Cotovicz Jr., L. C.; Knoppers, B. A.; Brandini, N.; Costa Santos, S. J.; Abril, G.; *Biogeosciences* **2015**, *12*, 6125.
27. Kjerfve, B.; Ribeiro, C. A.; Dias, G. T. M.; Filippo, A.; Quaresma, V. S.; *Cont. Shelf Res.* **1997**, *17*, 1609.
28. Bidone, E. D.; Lacerda, L. D.; *Regional Environmental Change* **2004**, *4*, 5.
29. Barbieri, E.; Coe-Neto, R. Em *Environmental Geochemistry of Coastal Lagoon Systems, Rio de Janeiro, Brazil*; Knoppers, B. A.; Bidone, E. D.; Abrão, J. J., eds.; UFF/FINEP: Rio de Janeiro, 1999, cap. 4.
30. Paranhos, R.; Pereira, A. P.; Mayr, L. M.; *Environ. Monit. Assess.* **1998**, *50*, 131.
31. Medeiros, P. R. P. I.; Knoppers, B. A.; Cavalcante, G. H.; Souza, W. F. L.; *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2011**, *54*, 387.
32. Bernardes, L. M. C.; *Rev. Bras. Geog.* **1951**, *13*, 473.
33. Nimer, E.; *Rev. Bras. Geog.* **1972**, *34*, 3.
34. Knoppers, B.; Medeiros, P. R. P.; Souza, W. F. L.; Jennerjahn, T. Em *Estuaries, Pollution. The Handbook of Environmental Chemistry*; Wangersky, P., ed.; Springer: Berlin, 2006, cap. 5.
35. Gran, G.; *Analyst* **1952**, *77*, 661.
36. Strickland, J. D. H.; Parsons, T. R. *A practical handbook of seawater analysis*, 2nd ed., Fisheries Research Board of Canada: Ottawa, 1972.
37. Abril, G.; Martinez, J. M.; Artigas, L. F.; Turcq, P. M.; Benedetti, M. F.; Vidal, L.; Meziane, T.; Kim, J. H.; Bernardes, M. C.; Savoye, N.; Deborde, J.; Souza, E. L.; Albéric, P.; Souza, M. F. L.; Roland, F.; *Nature* **2014**, *505*, 395.
38. Mehrbach, C.; Cuberson, C. H.; Hawley, J. E.; Pytkowicz, R. M.; *Limnol. Oceanogr.* **1973**, *18*, 897.
39. Dickson, A. G.; Millero, F. J.; *Deep-Sea Res.* **1987**, *34*, 1733.
40. Lee, K.; Kim, T. W.; Byrne, R. H.; Millero, F. J.; Feely, R. A.; Liu, Y. M.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **2010**, *74*, 1801.
41. Weiss, R. F.; *Mar. Chem.* **1974**, *2*, 203.
42. Robbins, L. L.; Hansen, M. E.; Kleypas, J. A.; Meylan, S. C.; *CO2 Calc: a user-friendly seawater carbon calculator for Windows, Mac OS X, and iOS (iPhone)*; U.S. Geological Survey Open-File Report, Estados Unidos, 2010.
43. Webb, J. R.; Maher, D. T.; Santos, I. R.; *Limnol. Oceanogr.: Methods* **2016**, *14*, 323.
44. Yoon, T. K.; Jin, H.; Oh, N.-H.; Park, J.-H.; *Biogeosciences* **2016**, *13*, 3915.
45. Frankignoulle, M.; Abril, G.; Borges, A.; Bourge, I.; Canon, C.; Delille, B.; Libert, E.; Theate, J. M.; *Science* **1998**, *282*, 434.
46. Gülzow, W.; Rehder, G.; Schneider, B.; Deimling, J. S. V.; Sackowiak, B.; *Limnol. Oceanogr.: Methods* **2011**, *9*, 176.
47. Macintyre, S.; Wanninkhof, R.; Chanton, J. Em *Biogenic trace gases: Measuring emissions from soil and water*; Matson, P. A.; Harriss, R. C., eds.; Wiley-Blackwell: Oxford, 1995, cap. 3.
48. Dimova, N.; Burnett, W. C.; Lane-Smith, D.; *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 8599.
49. Kim, H. C.; Lee, K.; *Geophys. Res. Lett.* **2009**, *36*, L20603.
50. Koeve, W.; Oschlies, A.; *Biogeosciences* **2012**, *9*, 3787.
51. Call, M.; Maher, D. T.; Santos, I. R.; Ruiz-Halpern, S.; Mangion, P.; Sanders, C. J.; Erler, D. V.; Oakes, J. M.; Rosentreter, J.; Murray, R.; Eyre, B. D.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **2015**, *150*, 221.
52. Maher, D. T.; Cowley, K.; Santos, I.; Macklin, P.; Eyre, B.; *Mar. Chem.* **2015**, *168*, 69.