

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

CALIDAD DE INFORMACIÓN Y DETECCIÓN DE LOS DISPOSITIVOS PRESENTES EN CÁMARAS ESTÁTICAS PARA COLECTAR GASES TRAZA EN SUELOS DE HUMEDAL

*Lenin E. Medina-Orozco¹
Norma E. García-Calderón²
Felipe García-Oliva³
Elena Ikkonen⁴

INFORMATION AND DETECTION QUALITY OF DEVICES
PRESENT IN STATIC CHAMBERS FOR COLLECTING
TRACE GASES IN WETLAND SOILS

Recibido el 15 de junio de 2016; Aceptado el 16 de noviembre de 2017

Abstract

The aim of the present study was to explore in the field the effect of laboratory devices and static chambers to obtain trace gas information during the measurement of flows. The gases were collected from two wetlands of Lake Patzcuaro, Michoacan. Gas samples were collected in vial glasses using static chambers and their results showed statistically acceptable values of the gas capture system. The chromatograph showed a strong correlation between the observed values and the expected ones. The working protocol was efficient to prevent noise from the water's entrance in the gas detector. Statistical evidence suggests the possibility of reducing the number of samples in the estimated flow without modifying significantly the results. The pressurization effect was minimized by replacing the initial concentration (C1), for the atmospheric concentration that had been measured outside the chamber. There are important differences when estimating the flow models of linear, quadratic and Hutchinson-Mosier. Finally, a great degree of underestimation of the gas flow was found using a linear regression (52.3%) respected to a quadratic regression (33.8%) and contrasting it against the theoretical values of a flow model.

Keywords: chromatograms, dynamic chambers, gas fluxes, hydromorphic soil, vadose zone.

¹. Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

² Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Facultad de Ciencias (UMDI-FC-J), Universidad Nacional Autónoma de México, México.

³ Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

⁴ Instituto de Biología, Academia Rusa de las Ciencias, Petrozavodsk, Rusia.

* Autor Correspondal: Instituto de Geología, Posgrado en Ciencias de la Tierra, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. Ciudad de México. C.P. 04510. Email: leninmed@gmail.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue explorar el efecto de los dispositivos de laboratorio y las cámaras estáticas en el campo para la obtención de información de gases traza durante la medición de los flujos. Los gases fueron colectados en dos humedales del lago de Pátzcuaro, Michoacán. Se colectaron muestras de gas en frascos viales de vidrio usando cámaras estáticas. Los gases se cuantificaron mediante cromatografía. Los resultados mostraron valores estadísticamente aceptables del sistema de captura de gases. El cromatógrafo presentó fuerte correlación entre los valores observados y esperados. El protocolo de trabajo fue eficiente para evitar ruido por la entrada de agua en el detector de gases. Se encontró evidencia estadística que sugiere la posibilidad de reducir el número de muestras en la estimación del flujo sin modificar significativamente los resultados. El efecto de sobrepresurización se minimizó reemplazando la concentración inicial (C_1), por la concentración atmosférica medida fuera de la cámara. Existen diferencias importantes al estimar el flujo con los modelos de tipo lineal, cuadrático y de Hutchinson-Mosier. Finalmente, se encontró un mayor grado de subestimación del flujo de gas utilizando una regresión lineal (52.3 %) con respecto a una regresión cuadrática (33.8 %) contrastando contra los valores teóricos de un modelo de flujo.

Palabras clave: cámaras dinámicas, cromatogramas, flujos de gas, suelo hidromórfico, zona vadosa.

Introducción

Desde hace más de dos décadas el uso de cromatografía para estimar los flujos de Gases de Efecto Invernadero (GEI) colectadas en cámaras estáticas desplazó a las técnicas clásicas, como las trampas de hidróxido de sodio colocadas al interior de las cámaras (Raich *et al.*, 1990). Sin embargo, las fuentes de error derivadas del uso de las cámaras estáticas y al uso del cromatógrafo de gases, pueden diferir significativamente con relación a los resultados teóricos esperados (Nay *et al.*, 1994). Existen dos tipos de fuentes de error: el primero, asociado a la medición de la concentración de los gases en el cromatógrafo y el segundo, coligado al uso de las cámaras estáticas herméticas. Errores asociados a la saturación de agua de la atmósfera del interior de la cámara han sido reportados como uno de los más significativos (Rella *et al.*, 2013).

Se ha documentado que la calibración del cromatógrafo es determinante en la evaluación de gases, y se ha sugerido, que la calibración del mismo sea frecuente, utilizando al menos dos estándares de gases a lo largo de un día de trabajo y con ello poder generar datos confiables (Van der Laan *et al.*, 2009). En este mismo sentido, se ha sugerido que el error por cromatografía puede ser mayor cuando son datos obtenidos durante una campaña de un año de trabajo debido a las variaciones del propio equipo (Van der Laan *et al.*, 2009). Otra de las fuentes de error se atribuye al límite de detección del propio equipo, y es más significativo cuando las concentraciones son pequeñas (Parkin *et al.*, 2012). Estas fuentes de error pueden ser corregidas mediante métodos estadísticos convencionales de regresión. Errores causados por el vapor de agua en ambientes húmedos, representan la principal fuente de error en la medición cromatográfica (Van der Laan *et al.*, 2009; Rella *et al.*, 2013).

Las cámaras herméticas han sido ampliamente utilizadas para estimar los flujos de gas entre la superficie del suelo y la atmósfera. Dos tipos de cámara han sido utilizadas: estáticas y dinámicas. En las primeras, se colecta la muestra en el campo y posteriormente se mide la concentración del gas en laboratorio. En las segundas, las cámaras generalmente están conectadas a un autoanalyzer y se pueden obtener los datos inmediatamente en el campo. Las principales fuentes de error por utilización de las cámaras herméticas son por diferentes factores, entre ellos, se han documentado las causadas durante la colocación de las cámaras sobre el suelo, al modificar el gradiente de difusión causado por la sobrepresurización de la cámara y la despresurización del suelo.

Otras fuentes de error son el número de muestras tomadas en el interior de la cámara (generalmente tres), el número de repeticiones por cámara, el tiempo de colecta de los gases (comúnmente entre 60 s hasta 120 min), el uso de diferentes tamaños de área de la base de la cámara, diferencias en el volumen interno de las cámaras, el uso o ausencia de sistemas de turbulencia artificial al interior de la cámara producido con una bomba o ventilador que modifican la presión interna, entre otros de menor trascendencia (Take *et al.*, 2003; Pumpanen *et al.*, 2004; Livingston *et al.*, 2006; Goldemfum, 2009; Madsen *et al.*, 2010; Muñoz *et al.*, 2011). Aunado a lo anterior, también hay fuentes de error inherentes a las variables del suelo, a la vegetación y al contenido de vapor de agua en la atmósfera (Wagner *et al.*, 1997; Conen y Smith, 1998; Tang *et al.*, 2003; Livingston *et al.*, 2006; Venterea y Baker, 2008; Vanatta y Cowles, 2011).

La utilización de diversos tipos de modelos de regresión para estimar los flujos del gas al interior de las cámaras, también puede ser una fuente de error. Resultados de investigaciones realizadas por diversos autores, han sugerido que las concentraciones del gas al interior de las cámaras presentan una tendencia que se ajusta a modelos no lineales cuando se cuenta con al menos cuatro lecturas (Wagner *et al.*, 1997; Davidson *et al.*, 2002; Nakano *et al.*, 2003; Livingston *et al.*, 2006; Kutzbach *et al.*, 2007; Senevirathna *et al.*, 2007; Forbrich *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2010). Por el contrario, es difícil de establecer otro modelo de ajuste no lineal, cuando se cuenta únicamente con tres valores de concentración del gas en la cámara, siendo utilizado el uso de una recta como estimador de los flujos de gas (Wagner *et al.*, 1997; Livingston *et al.*, 2006). Por otro lado, el uso de las regresiones no lineales son adecuadas cuando los poros del suelo no están saturados de agua, cuando el suelo no tiene cobertura de vegetal, si el tiempo de medición es corto y si se asume que las condiciones al interior de las cámaras permanecen constantes, lo que en condiciones de campo resulta difícil de controlar (Wagner *et al.*, 1997; Livingston *et al.*, 2006; Kutzbach *et al.*, 2007). Parkin y Venterea (2010) y Parkin *et al.* (2012) sugieren que las regresiones de tipo lineal son adecuadas cuando se modifican las constantes de los modelos teóricos, un ejemplo de lo anterior, ocurre al instalar una cámara sobre el suelo.

Una vez identificadas las fuentes de error, éstas pueden reducirse mediante pruebas preliminares en cada sitio, a través de la utilización de protocolos adecuados (Davidson *et al.*, 2002; Venterea, 2010) o por medio de modelos estadísticos, que permitan cuantificar el grado del error (Parkin *et al.*, 2012).

Por lo anteriormente expuesto, explorar el efecto del instrumental de laboratorio y campo durante la medición de flujos de gases traza en los humedales del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, permitirá definir un protocolo adecuado para reducir la incertidumbre en la estimación de los flujos de estos gases para las condiciones de humedal en cuerpos de agua del centro de México y ser un punto de partida para futuras investigaciones sobre el tema.

Materiales y métodos

Descripción del área de estudio

El lago de Pátzcuaro es un cuerpo de agua intermontano del neotrópico que forma humedales lacustres. Se localiza sobre el Cinturón Volcánico Transmexicano (CVT) en la región Centro-Norte del estado de Michoacán. Las coordenadas son: 19° 32' y 19° 42' latitud norte y los meridianos 101° 45' y 101°31' longitud oeste, la altitud del espejo de agua se ubica a los 2036 msnm (Figura 1).

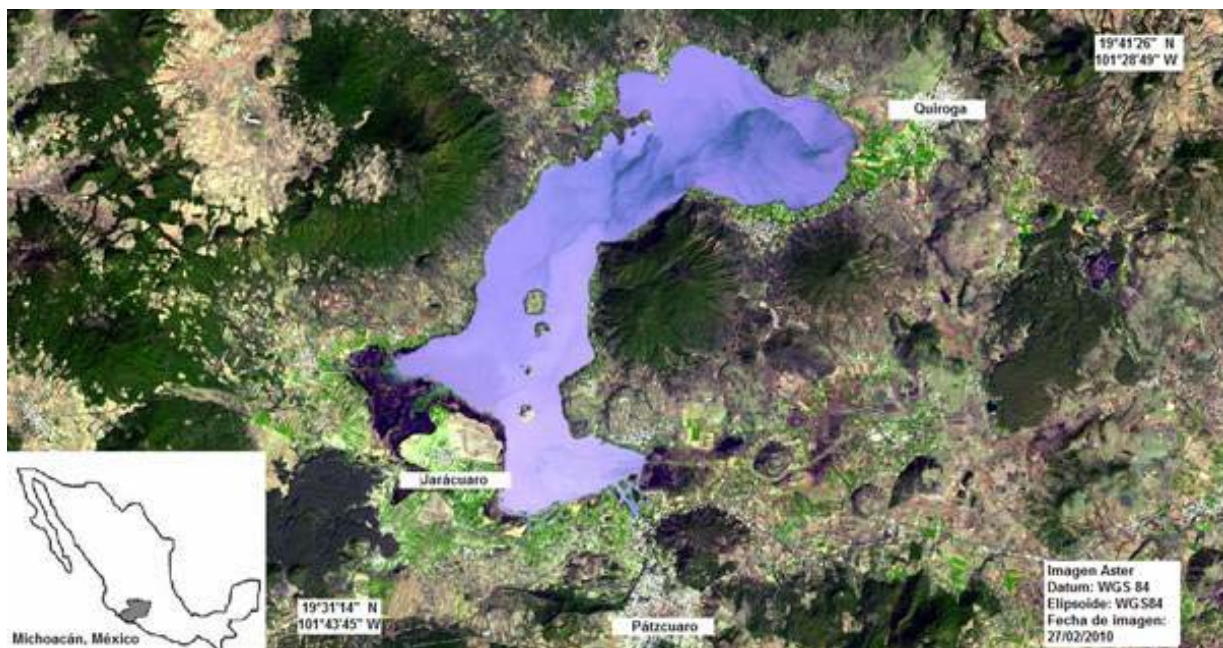


Figura 1. Localización de los humedales del lago de Pátzcuaro.

La colecta de gases se realizó en dos humedales de la ribera del lago de Pátzcuaro: Ichupio y Jarácuaro. La localidad de Ichupio pertenece al municipio de Tzintzuntzan y se ubica en las coordenadas geográficas 19° 38' 22.6" N y 101° 35' 34.3" O a una altitud de 2040 msnm. El segundo sitio se localiza en la ex isla de Jarácuaro, en las coordenadas 19° 43' 00" N y 101° 41' 17.1" O a los 2041 msnm en el municipio de Erongarícuaro. Los suelos de las localidades fueron descritos morfológicamente de acuerdo con Schoeneberger *et al.* (2002) y USDA-NRCS (2006). En el humedal de Ichupio el suelo corresponde a un Gleysol Lúvico (Sulfúrico) y en el humedal de Jarácuaro a un Fluvisol oxiácuico (hiperhúmico, sulfúrico) de acuerdo con la clasificación de la WRB (IUSS Working Group WRB. 2007) (Medina *et al.*, 2014).

Equipo de cromatografía

Se utilizó un cromatógrafo de gases (GC) Agilent 6890 series. Para la separación de los gases se utilizó una columna porapack empacada marca Agilent 190006C-015 operada a una temperatura interna de 30 °C. El gas CO₂ fue transformado a metano después de que la muestra pasó por la columna utilizando un metanizador. El CH₄ y el CO₂ transformado en metano, fueron detectados mediante ionización de flama (FID) operado a 300 °C. El gas acarreador fue (N₂) con un flujo de 40 mL min⁻¹. Para la calibración del equipo se utilizaron estándares certificados de Praxair® con un error ± 5 %. La columna se limpió (purga) con alta frecuencia (± 100 muestras) incrementando la temperatura de la columna hasta 200 °C, con la finalidad de eliminar impurezas proveniente de los viales con muestras de gas. Posterior a cada purga, se calibró el equipo con los gases estándar. La inyección de las muestras de gases en la válvula del cromatógrafo fue de manera manual tomando una alícuota de 1 mL con una jeringa (Hamilton Co.) de un vial de 20 mL de volumen.

Materiales utilizados en la colecta de los gases

Para coleccionar los gases (CH₄ y CO₂) en los dos sitios de estudio se utilizaron frascos viales de vidrio y volumen de 20 mL, sellados con encapsulador manual y una septa de silicona (Corning System, U.S.A) de 20x3 mm, este método es ampliamente utilizado en estudios de flujos de gases científicos debido a la alta plasticidad, resistencia y compresibilidad de los septas de silicio y casquillo de aluminio. Los frascos utilizados fueron evacuados para extraer el aire y remplazarlo con gas nitrógeno. El procedimiento fue el siguiente; 1) generación de vacío del vial durante 30 segundos, 2) inyección de nitrógeno durante 30 segundos para desplazar el aire del interior del frasco, se repitieron los pasos uno y dos y se finalizó con 1 ½ min de vacío. El sistema de vacío se realizó mediante un sistema cerrado de tubería de cobre conectado a una bomba de ¼ de hp en un extremo y un tanque con nitrógeno en el extremo contrario. Los frascos viales fueron conectados en las terminales de seis salidas que terminan en agujas hipodérmicas controladas por un sistema de apertura y cerrado por llaves manuales. El sistema cuenta con un manómetro que permite identificar si el sistema se encuentra totalmente hermético durante el evacuado de los frascos viales.

Descripción de las cámaras herméticas

Las cámaras utilizadas en el presente estudio fueron del tipo hermética, sin ventilas y sin ventiladores al interior para evitar las perturbaciones causadas por el viento y la turbulencia de acuerdo con Lai *et al.* (2012). Las cámaras cerradas utilizadas en los ensayos de campo fueron de dos tipos y materiales; 1) oscuras, para la medición de la respiración (emisión de gases) y 2) transparentes para medir la fotosíntesis (asimilación de gases). Las cámaras oscuras fueron de dos formas: tubulares y rectangulares. Las primeras construidas de material reflejante (acero inoxidable) con base circular de 20 cm de diámetro (157.08 cm²) y altura de 30 cm. Las rectangulares de 40 x 30 cm (1200 cm²) y altura de 15 cm. La altura efectiva al interior de la cámara fue variable en función del tirante de agua. Las cámaras transparentes fueron construidas de acrílico (transparencia de 90 % medido con un PAR), con base rectangular de 40 x 30 cm (1200 cm²) y altura de 15 cm cuando se midió con pastizal hidrófilo y de 100 cm de alto para vegetación hidrófita enraizada emergente (*Typha sp* y *Cyperus sp*). Todas las cámaras descritas presentan un orificio de 10 mm en la parte superior para colocar una septa gris de silicona, donde se inserta la aguja de dos vías y coleccionar la muestra de los gases del interior de la cámara. Todas las cámaras fueron equipadas con termómetros de plasma en su interior con una precisión de 1 °C, para conocer la temperatura inicial y final durante la colecta de los gases.

Ensayos de laboratorio

El cromatógrafo puede introducir errores inherentes al propio equipo y por su manejo en laboratorio. Para conocer los posibles errores introducidos por el equipo causado por la deriva, o la oscilación del mismo, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, para comparar los datos observados contra los datos esperados del estándar (n = 53). Para realizar esta prueba se utilizaron todos los valores obtenidos durante el periodo de estudio considerando las calibraciones realizadas del equipo durante los días de medición en el cromatógrafo. Adicionalmente se realizó una prueba de rachas de Wald-Wolfowitz para conocer si el cromatógrafo se comportó de manera similar durante el periodo de trabajo o se presentaron efectos de oscilación (diferencias en la sensibilidad de las lecturas).

Los datos fueron ordenados por fechas consecutivas, (Fecha inicio: 10/02/2009; Fecha de terminación 13/10/2010, total de muestras, 510). Las concentraciones estándar de metano utilizadas fueron 0.03, 1.0, 99.3, 970, 1002 ppm y de bióxido de carbono fueron 30.2, 299, 450, 1516, 4975, 5120 ppm. Adicionalmente, se realizó una regresión utilizando los datos esperados (estándar) y lo observado, y se determinó el coeficiente de Pearson.

Hermeticidad de los frascos viales

Se probaron dos grupos de frascos viales: (1) evacuados y (2) con una concentración de gas estándar conocida. Los dos grupos de frascos viales fueron sometidos a condiciones de campo y devueltos al laboratorio para probar si presentaron cambios en la concentración de los dos gases, como prueba de su hermeticidad.

Repetitividad de las muestras de gases colectadas en los viales

Uno de los principales problemas en los estudios de flujo de gases, durante una o más campañas de muestreo, es la cantidad de muestras a analizar en laboratorio por técnicas de cromatografía de gases. Estudios previos han sugerido que los gases de un mismo vial, deberían de leerse dos veces para obtener un buen valor del cromatógrafo y tener dos muestras independientes en cada lectura de la atmósfera interna de la cámara (Parkin y Venterea, 2010; Parkin *et al.*, 2012). Lo anterior implica una cantidad de esfuerzo humano y económico muy grande por la cantidad de repeticiones en el campo y muestras que deben de medirse en el laboratorio.

Por lo anterior, se midieron muestras de viales dos veces en el cromatógrafo para obtener pruebas de la repetitividad de los datos y de muestras independientes de la atmósfera de las cámaras. Una prueba de Kruskal-Wallis para muestras pareadas fue realizada para comparar entre lecturas de la concentración del gas del mismo vial. Las muestras pareadas colectadas en distintos viales se analizaron con una prueba de U Mann-Whitney para muestras independientes.

Ensayos en campo

La colecta de los gases en el campo se realizó entre el día 24 de enero de 2009 y el 20 de febrero de 2010, con una periodicidad de 15 días, y entre las 7:00 hrs y las 19:00 hrs (periodo de luz) en los dos humedales de lago de Pátzcuaro. Se colectaron muestras en cinco micrositios en el humedal de Ichupio y cuatro para el humedal de Jarácuaro, en un gradiente de humedad que varía de suelo temporalmente saturado a suelo permanentemente saturado. La distancia entre los micrositios fue de dos metros en Ichupio y de cuatro en Jarácuaro.

Las condiciones del suelo para la instalación de las cámaras fueron las siguientes: (1) suelo desnudo (respiración del suelo); (2) Rizoma (respiración suelo y raíz); y (3) suelo, raíz y zona aérea de la vegetación (respiración y fotosíntesis). El lapso de colecta en cámaras oscuras y transparentes fue de 30 minutos para 0, 10, 20 y 30 min y se obtuvieron cuatro concentraciones de gas (C_1 , C_2 , C_3 y C_4), que corresponden a cada uno de los tiempos, respectivamente. Adicionalmente se colectaron de 0, 3, 6 y 9 min (C_1 , C_2 , C_3 , C_4) en las cámaras transparentes. Los flujos de gases son estimados positivamente o negativamente por el incremento o decremento en la concentración del gas al interior de las cámaras para un tiempo dado (C_1 , C_2 , C_3 y C_4). La C_1 corresponde a la concentración inicial (tiempo cero, t_0) y las subsecuentes lecturas corresponden a los incrementos o decrementos medidos a los 10, 20 y 30 min.

Procedimiento para la colecta de muestras de gas in situ

Los gases se colectaron del interior de la cámara introduciendo una aguja de dos vías entre la septa y el vial durante al menos un minuto para igualar las presiones entre el interior de la cámara y el vial. Las muestras fueron llevadas al laboratorio y se midieron en un periodo no mayor a 30 días en función de las muestras previas acumuladas.

Efecto del tipo de modelo de regresión en la estimación de los flujos de gas

Los flujos de gases son estimados a partir de la tasa de cambio de la concentración de los gases en el interior de las cámaras. Por lo anterior es necesario aplicar un modelo de regresión para calcular la pendiente de la concentración del gas vs el tiempo de medición. Se probaron tres modelos de regresión; un modelo lineal y el modelo cuadrático (Quad) de (Wagner *et al.*, 1997) (para cuatro puntos), y el modelo de Hutchinson y Mosier (aplicable a tres concentraciones), los cuales fueron calculados en una hoja de Excel® propuesto por Venterea (2010) disponible en la dirección <http://jeq.sciijournals.org>. Para lo anterior, se escogieron como ejemplo dos cámaras oscuras de un micrositio; una de ellas con vegetación y otra sin vegetación con los mismos parámetros edafoclimáticos.

Para contrastar los valores y tener un punto de vista de las diferencias entre los tres estimadores del flujo, el mismo modelo de flujo teórico (TFU-Subestimación del Flujo Teórico) (Venterea, 2010) indica los valores porcentuales de la subestimación con respecto a un valor teórico derivado de la teoría de flujo de gas en el suelo.

Los datos de las cámaras fueron del día 12 de septiembre de 2009. El modelo TFU requiere de algunos parámetros ambientales, los cuales fueron: presión = 7.89 atm, temperatura de la cámara = 33 °C, tiempo $h = 0, 0.17, 0.33$ y 0.50 , volumen de la cámara = 6864 cm^3 , densidad aparente del suelo = 1.1 g cm^{-3} , Contenido de agua $0.47 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$ (porosidad $0.57 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-3}$), temperatura del suelo = 29.4 °C, pH del suelo = 8.2, arcilla = 25 % (0.25). Los valores de C_1, C_2, C_3 y C_4 fueron 1119, 1688, 2081 y 2853 ppm de CO_2 para la cámara opaca con vegetación y de 1119, 1041, 1379 y 1467 ppm de CO_2 para la cámara sin vegetación.

Mediciones ambientales

En cada micrositio (condición del suelo), se obtuvieron mediciones de variables edafoclimáticas para obtención de los flujos de gas. Se midió la temperatura del suelo en los primeros cinco centímetros de profundidad (termómetro Hanna HI 98840™) y la humedad del suelo por gravimetría. La velocidad del viento (ms^{-1}) y la temperatura del aire (T°) (Sper Scientific® Anemómetro 840003) durante el tiempo de la colecta de gases. La intensidad de la luz fue medida con un sensor de radiación solar (PAR) de Decagon Devices® (Wm^{-2}).

Análisis de los datos

Los cromatogramas fueron integrados manualmente en el software GC Chemstation Rev.A.08.03[847] Copyright © Agilent Technologies 1990-2000. Los análisis estadísticos fueron de tipo no paramétrico debido a que los datos no presentaron distribución normal y se realizaron utilizando el programa MINITAB® Release 14.1.

Resultados y discusión

Estabilidad del cromatógrafo

La prueba de Kruskal-Wallis sugiere que no hay diferencias significativas entre los valores de los gases estándar y la lectura del cromatógrafo, lo anterior es significativo, debido a que indica que los resultados obtenidos por cromatografía fueron consistentes durante el periodo de trabajo (CH_4 , $p = 0.067$, $n = 237$, $g.l = 189$ y CO_2 $p = 0.170$, $n = 256$, $g.l = 220$, y $\alpha = 0.05$; prueba de Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.010$, $\alpha = 0.05$, para ambos gases). Los valores obtenidos por regresión fueron de 99.2 % para el metano y de 99.1 % para el bióxido de carbono (Figura 2).

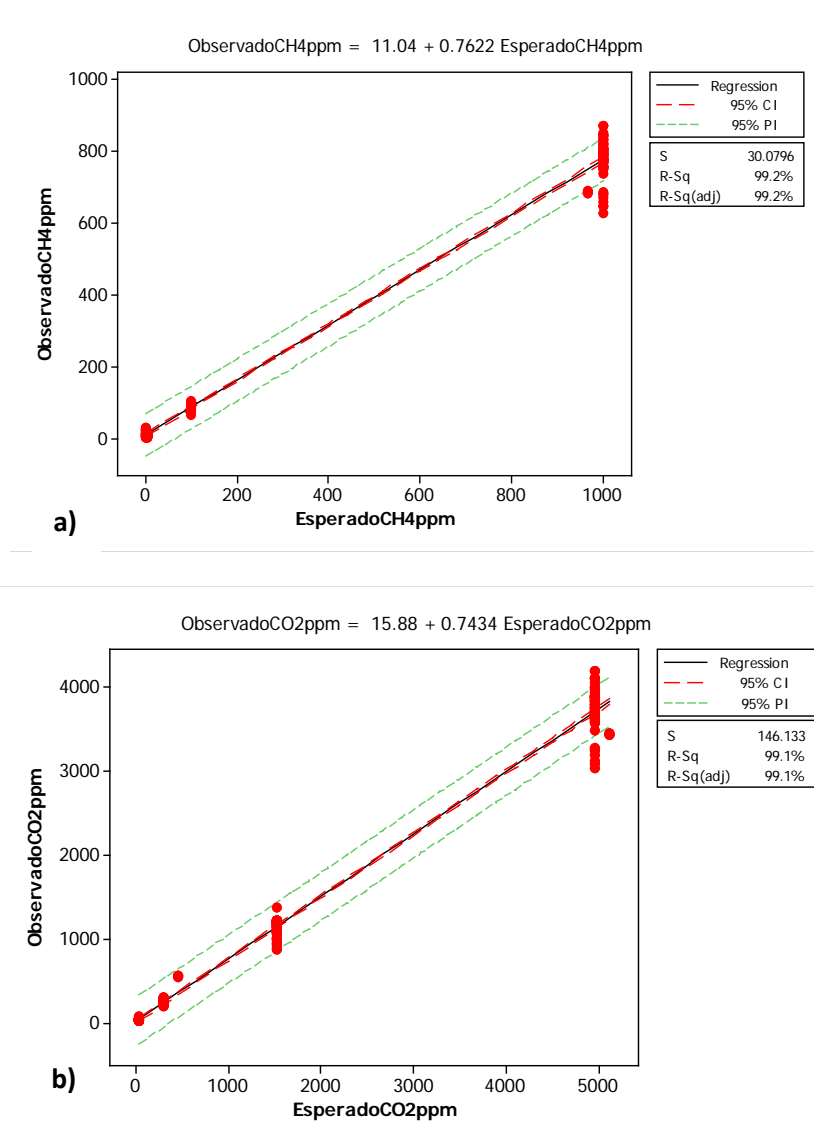


Figura 2. Regresión entre la concentración de metano y bióxido de carbono (observado vs esperado) (pares $n = 237$). Metano (a), bióxido de carbono (b).

Los resultados mostraron que el equipo de cromatografía presenta fluctuaciones significativas estadísticamente en las lecturas durante el periodo de estudio (10/02/2009 al 13/10/2010). De acuerdo los resultados de la prueba de rachas de Wald–Wolfowitz, la serie de datos acumulados no es homogénea ($p = 0.000$, $\alpha = 0.05$, $n = 510$), lo anterior puede interpretarse de la siguiente manera: el equipo de cromatografía presenta diferente sensibilidad durante un periodo largo de tiempo de trabajo, pudiendo ser causado por las variaciones atmosféricas (presión, temperatura y humedad), el manejo en laboratorio y los componentes del propio equipo, entre otros que pueden causar incompatibilidad entre diferentes laboratorios (Cleaver, 2001). De lo anterior se sugiere un acondicionamiento del laboratorio de trabajo con clima estable.

Los cromatogramas no presentaron picos negativos también llamados “*water dip*” causados por la entrada de agua en el detector de gases (Vanatta y Cowles, 2011; Rella *et al.*, 2013), lo anterior sugiere, que purgar el equipo después de 100 muestras leídas, fue suficiente para eliminar el agua acumulada dentro de la columna y evitar ruidos en los cromatogramas. El tiempo utilizado para cada purga y reiniciar las lecturas puede llevar 45 a 60 minutos para el equipo utilizado en el presente trabajo.

Hermeticidad de los frascos viales

Las pruebas de hermeticidad en viales evacuados, presentaron los siguientes valores promedio: CH₄ 13.7 ± 7.0 ppm y de CO₂ 136.6 ± 70.3 ppm, $n = 12$, siendo, en todos los casos valores por debajo de la concentración media de la atmósfera (CH₄ 24.2 ± 11.1 ppm y de CO₂ 519.8 ± 236.2 ppm). Lo anterior sugiere que los frascos viales son un buen sistema de colección de gases en suelos de humedal. Por lo anterior, no existen evidencias de que los frascos viales introduzcan error en la estimación de los flujos de carbono con cámaras estáticas. Los resultados son consistentes con lo reportado por Glatzel y Well (2008) como uno de los sistemas más consistentes aun cuando se presentan variaciones importantes con cambios de presión, temperatura y número de pinchados de la septa de silicona.

Efecto de la repetitividad de las muestras

La prueba de Kruskal-Wallis sugiere que no existen diferencias significativas estadísticamente (CH₄ $p = 0.423$, D.E = 7.0, $\alpha = 0.05$, $n = 7$, g.l = 6; CO₂ $p = 0.423$, D.E = 97.1, $\alpha = 0.05$, $n = 7$, g.l = 6) entre la primera y segunda lectura de las alícuotas tomadas del mismo vial. Lo anterior sugiere, que no existe la necesidad de realizar una segunda lectura y reduce significativamente el tiempo de trabajo en laboratorio, en contraste con los protocolos sugeridos por otros autores (Parkin y Venterea, 2010; Parkin y Venterea, 2012). Los datos no son concluyentes por el número de muestras utilizadas pero son un punto de partida para trabajos posteriores.

En este contexto, las muestras colectadas por duplicado (pareadas) al interior de las cámaras, sugieren con base en la prueba de U de Mann-Whitney, que no hay suficiente evidencia que demuestre que las medianas sean diferentes ($p = 0.6891$, $\alpha = 0.05$, D.E = 8.3 para el CH₄ y $p = 1.000$, $\alpha = 0.05$, D.E = 179.5 para el CO₂; Kolgomorov-Smirnov, $p < 0.010$ para un $\alpha = 0.05$). Lo anterior indica, que el no contar con repeticiones para cada concentración de gases, en los intervalos de tiempo establecidos para las cámaras estáticas (punto de la recta; C₁, C₂, C₃, C₄), no introduce error que modifique significativamente la estimación de los flujos de gas para los humedales estudiados. En el mismo sentido que en el párrafo anterior, se pueden obtener resultados estadísticamente aceptables sin necesidad de contar con muestras por duplicado, reduciendo los tiempos y costos del estudio, en contraste con lo sugerido por Parkin y Venterea, 2010 y Parkin y Venterea, 2012.

Efecto del tiempo inicial (t_0) en la estimación del flujo

Uno de los efectos más significativos en las cámaras, son los artificios introducidos durante la instalación de las cámaras sobre el suelo. En la figura 3a se muestra un error de este tipo causado por la presurización durante la instalación de la cámara. Una interpretación errónea en las tendencia del gas, puede ser causada al considerar a la concentración inicial (C₁) del tiempo cero (t_0), con valores mayores a los de la atmósfera, cuando el valor teórico debería de ser el mismo que el atmosférico.

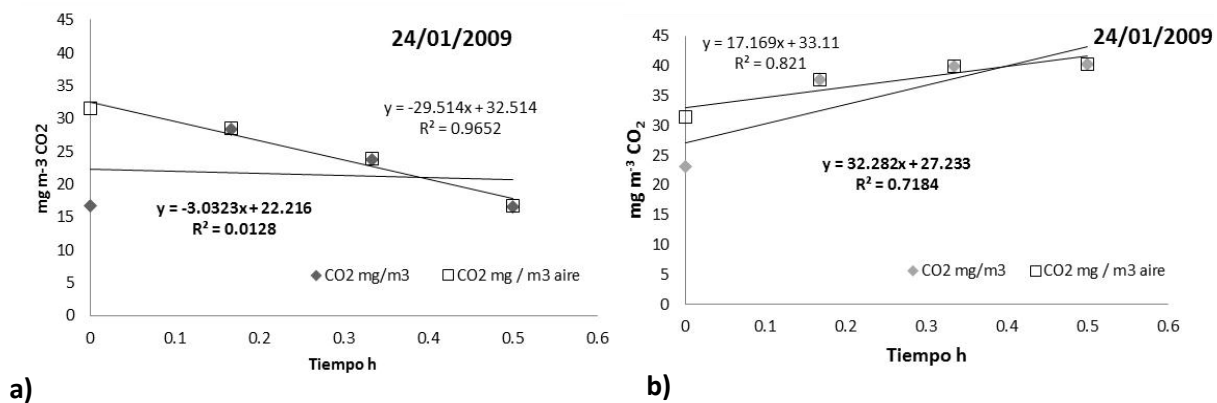


Figura 3. Errores introducidos por artificios de las cámaras estáticas herméticas (opacas y transparentes) para el tiempo cero (t_0) ($n = 4$).

En el presente estudio se consideró como un valor adecuado para el tiempo cero, el valor de la concentración del gas en la atmósfera medido fuera de la cámara, y como se aprecia en la figura 3b se obtiene un mejor ajuste, y se reduce el efecto de cambios de presión. De tal manera que el valor de la atmósfera es la concentración del tiempo inicial (t_0) como una alternativa para reducir el efecto descrito por Davidson *et al.* (2002) y evitar así, interpretaciones erróneas de los flujos.

Para el caso de C_2 , C_3 y C_4 son los valores del interior de la cámara y se asume que existe en esos momentos un equilibrio de la presión. Lo anterior se logra dejando la cámara recién instalada durante un minuto sin la septa de silicona para favorecer el equilibrio entre la cámara y la atmósfera, situación similar a lo que se puede lograr con las cámaras que presentan ventilas pero con la ventaja sobre las mismas, que no se ven afectadas por los cambios de velocidad del viento (Conen y Smith, 1998) definido como efecto “venturi” (Lai *et al.*, 2012).

Efecto de la humedad en cámaras transparentes

Otro artificio importante dentro de las cámaras, es la reducción de la luz por el efecto de la opacidad derivada de la humedad acumulada y adherida a las paredes la cámara por el fenómeno de adhesión. Las cámaras transparentes fueron probadas durante 30 min, de la misma manera que las cámaras oscuras, con el fin de homogeneizar los tiempos. Sin embargo, los resultados sugieren que para periodos mayores a 10 minutos, presentaron cambios significativos en la concentración de los gases atribuibles a la modificación en la transparencia de la cámara y por el incremento de la temperatura interna con respecto al exterior ($> 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, después de 10 min). En algunos de los casos, se presentaron caídas drásticas en la concentración de los gases dando como resultado valores negativos, con respecto al tiempo 0, después de 10 minutos.

En este estudio se sugiere resolver el problema reduciendo los tiempos de lectura de 30 minutos a solamente 9 minutos. Los resultados obtenidos con 0, 3, 6 y 9 min, fueron resultados razonablemente buenos, evitando caídas drásticas en la concentración de los gases.

Patrones de datos para cuatro puntos de muestreo al interior de las cámaras herméticas

De las curvas generadas a partir de la concentración de gas (variable dependiente) y el tiempo de medición (variable independiente), se encontraron distintos patrones de regresión, lo que dificulta la decisión de escoger un método adecuado de regresión para estimar los flujos de gas, siendo consistente por lo reportados por otros autores (Parkin y Venterea, 2010). Sin embargo se ha sugerido utilizar una regresión lineal, debido a que no se pueden separar los efectos causados por cambios en la humedad, presión y otros factores al interior de las cámaras y además es el tipo de regresión utilizada por cámaras dinámicas (Lai *et al.*, 2012), con fines de comparación resultaría mejor tener los mismos tipos de regresión.

Otros autores han reportado el problema de utilizar diversos modelos de regresión en una misma investigación, además sugieren no eliminar datos a juicio del investigador, que suele ser utilizado para obtener mejores ajustes de la recta, a menos que éste sea explicado por una perturbación conocida (Parkin y Venterea., 2010; Parkin *et al.*, 2012), además de que la decisión de escoger diferentes modelos para cada caso particular, no garantiza que se tenga una mejor estimación del flujo (Wagner *et al.*, 1997; Livingston *et al.*, 2006; Parkin y Venterea, 2010) y resulta un gasto de recurso de tiempo muy elevado para una investigación con muestreos intensos.

Efecto del tipo de modelo de regresión en la estimación de los flujos de gas

Finalmente, en lo que respecta a las regresiones como estimadores para los flujos de gas, en el primer ejercicio, cámara con vegetación, los flujos calculados fueron de $59.8 \mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$ si se aplica un modelo lineal y de $43.7 \mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$ con el modelo cuadrático (Quad), para el modelo de Hutchinson y Mosier, el cálculo del flujo no es posible debido a que C_2 fue menor (1041 ppm CO_2) con respecto al C_1 (1119 ppm CO_2), siendo una limitante importante de este modelo sobre todo si se manejan grandes volúmenes de datos.

En el segundo caso, en la cámara obscura sin vegetación, los flujos fueron de 14.7 y $1.6 \mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$ con el modelo lineal y cuadrático, respectivamente y de $9.4 \mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$ utilizando el modelo de Hutchinson y Mosier. Se observan diferencias importantes entre un estimador y otro, los resultados se resumen en la tabla 1.

Los resultados sugieren que el porcentaje en la subestimación del flujo es de 52.3% cuando se utilizó el modelo lineal y de 33.8% cuando el modelo fue cuadrático (Quad) en ambos casos, lo anterior sugiere que el modelo lineal presenta mayor porcentaje de flujo comparado con el modelo teórico de flujo. Sin embargo, el modelo no considera la interacción con la vegetación, sino solamente los parámetros edafoclimáticos (Venterea, 2010) de ahí que los valores sean iguales en ambos ejercicios.

Tabla 1. Resumen de los flujos de gases estimados por tres modelos de regresión.

Modelo	Con vegetación		Sin vegetación	
	$\mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$	R^2	$\mu\text{g C m}^2 \text{ h}^{-1}$	R^2
Lineal	59.8	0.986	14.7	0.757
Cuadrático	43.7	0.993	1.6	0.946
Hutchinson y Mosier	n.d.	n.d.	9.4	0.314

Nota: El modelo Hutchinson y Mosier no es posible de obtener en la cámara con vegetación

Derivado de lo anterior, se muestra la dificultad que implica el decidir el tipo de modelo a utilizar en un estudio de flujo de gases, y por qué las discusiones al respecto en la literatura siguen siendo un tema de actualidad (Wagner *et al.*, 1997; Davidson *et al.*, 2002; Nakano *et al.*, 2003; Takle *et al.*, 2003; Pumpanen *et al.*, 2004; Livingston *et al.*, 2006; Kutzbach *et al.*, 2007; Senevirathna *et al.*, 2007; Goldemfum, 2009; Forbrich *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2010; Madsen *et al.*, 2010; Ventera, 2010; Muñoz *et al.*, 2011; Lai *et al.*, 2012).

Resalta la importancia de continuar este tipo de estudios en suelos de humedal, donde los estudios son aún escasos en la literatura y donde las implicaciones pueden ser mayores inclusive durante la medición de gases en el laboratorio cuando las muestras de gases son acompañados de vapor de agua (van der Laan *et al.*, 2009; Vanatta y Cowles, 2011; Rella *et al.*, 2013).

Conclusiones

Los resultados mostraron que los frascos viales son razonablemente aceptables como sistema de captura de gases en un sistema hermético, al no encontrar evidencia de que sean una fuente de error.

El cromatógrafo presentó resultados relevantes entre los valores observados y esperados durante el periodo de estudio, sin embargo, se presentó oscilación o variación durante el periodo de estudio, siendo significativo en la medición de bióxido de carbono, no así para el metano, lo que sugiere que el laboratorio de cromatografía debe contar con sistema de clima para reducir la variación de la sensibilidad en las lecturas.

Se encontró que purgar el cromatógrafo con frecuencia, es decir cada 100 muestras fue suficiente para que no se presente el efecto “water dip” causado por la entrada de agua en el detector de gases y que se presenta como picos negativos en los cromatogramas.

Por otro lado, se encontró evidencia estadística que sugiere la posibilidad de eliminar las muestras pareadas en cada cámara para obtener los puntos C_1 , C_2 , C_3 y C_4 en la estimación del flujo, así como leer una sola ocasión el gas contenido de un frasco vial, en contraste con lo que sugieren algunos autores.

En el presente estudio se encontró que al instalar la cámara se presenta un efecto de sobrepresurización y se sugiere reemplazar la concentración inicial (C_1) del tiempo cero por el valor de la concentración de la atmósfera medido fuera de la cámara.

El tiempo adecuado para medir concentración de gas en cámaras transparentes fue de 9 minutos, debido a que la cámara presenta reducción en la entrada de luz por efecto del vapor de agua que se adhiere a las paredes y al incremento de la temperatura interna con respecto a la exterior.

Los resultados indican la dificultad de decidir sobre el tipo de correlación a emplear en la estimación del flujo contrastando de tipo lineal, cuadrático y el modelo Hutchinson-Mosier, este último modelo falla cuando una de las concentraciones se reduce por efecto de la asimilación de los gases.

Finalmente, se encontró un mayor grado de subestimación del flujo de gas utilizando una regresión lineal (52.3 %) con respecto a una regresión cuadrática (33.8 %), comparados contra un modelo teórico para flujo de gas del suelo. Desafortunadamente no se cuenta con información referente a flujos de gases en el lago de Pátzcuaro que permitan contrastar los resultados obtenidos en este estudio.

Agradecimientos

El primer autor agradece el apoyo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para cursar el doctorado en Ciencias de la Tierra dentro del programa de doctorado de la Universidad Nacional Autónoma de México. Así como al proyecto: Focos rojos de gases con efecto de invernadero en México: Estructura y funcionamiento de los suelos saturados de humedad. Semarnat-CONACyT 23489 y al proyecto PAPIIT-IN224410. Al M.C. José Manuel Hernández Solís y la Dra. Amparo Martínez Arroyo del centro de Ciencias de la Atmósfera, por su apoyo en la cromatografía de gases.

Referencias bibliográficas

- Arkebauer, T.J., Chanton, J.P., Verma, S.B., Kim, J. (2001) Field measurements of internal pressurization in *Phragmites australis* (poaceae) and implications for regulation of methane emissions in a midlatitude prairie wetland, *American Journal of Botany*, **88**(4), 653–658.
- Cleaver, K.D. (2001) The analysis of process gases: a review, *Accred Qual Assur*, **6**(1), 8-15. doi: 10.1007/s007690000179.
- Conen, F., Smith, K.A. (1998) A re-examination of closed flux chamber methods for the measurement of trace gas emission from soils to the atmosphere, *European Journal of Soil Science*, **49**(4), 701-707. doi: 10.1046/j.1365-2389.1998.4940701.x.
- Davidson, E. A., Savage, K., Verchot, L.V., Navarro, R. (2002) Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration, *Agricultural and Forest Meteorology*, **113**(1-4), 21–37. doi:10.1016/S0168-1923(02)00100-4
- Forbrich, I., Kutzbach, L., Hormann, A., Wilmking, M. (2010) A comparison of linear and exponential regression for estimating diffusive CH₄ fluxes by closed-chambers in peatlands, *Soil Biology & Biochemistry*, **42**(3), 507-515. doi:10.1016/j.soilbio.2009.12.004.
- Glatzel, S., Well, R. (2008) Evaluation of septum-capped vials for storage of gas samples during air transport, *Environ Monit Assess*, **136**(1), 307–311. doi 10.1007/s10661-00796862.
- Goldemfum, J.A. (2009) The UNESCO/IHA measurement specification guidance for evaluating the GHG status of man-made freshwater reservoirs. The UNESCO/IHA Geenhouse Gas (GHG) Research project. <http://unesdoc.unesco.org/images/0018/001831/183167e.pdf>
- IUSS Working Group WRB (2007) World Reference Base for Soil Resources 2006, first update 2007. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome, 128 pp. http://www.fao.org/fileadmin/templates/nr/images/resources/pdf_documents/wrb2007_red.pdf
- Jiang, C., Yu, G., Cao, G., Li, Y., Zhang, S., Fang, H. (2010) CO₂ Flux Estimation by Different Regression Methods from an Alpine Meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau, *Advances in atmospheric sciences*, **27**(6), 1372-1379. doi: 10.1007/s00376-010-9218-9
- Kutzbach, L., Schneide, J., Sachs, T., Giebels, M., Nykänen. H., Shurpali, N.J., Martikainen, P.J., Alm, J., Wilmking, M. (2007) CO₂ flux determination by closed-chamber methods can be seriously biased by inappropriate application of linear regression, *Biogeosciences*, **4**(6), 1005–1025. doi:10.5194/bg-4-1005-2007.
- Lai, D.Y.F., Roulet, N.T., Humphreys, E.R., Moore, T.R., Dalva, M. (2012) The effect of atmospheric turbulence and chamber deployment period on autochamber CO₂ and CH₄ flux measurements in an ombrotrophic peatland, *Biogeosciences Discuss*, **9**(8), 1439–1482. doi:10.5194/bg-9-3305-2012
- Livingston, GP., Hutchinson, G. L. Spartalian, K. (2006) Trace gas emission in chambers: a non-steady-state diffusion model, *Soil Sci. Soc. Am. J*, **70**(5), 1459–1469. doi:10.2136/sssaj2005.0322

- Madsen, R., Xu, L., Mcdermitt, D. (2010) Consideration for making chamber-based soil CO₂ flux measurement. In: 19th World Congress of Soil Science. Soil Solutions for a Changing World. 1-6 August 2010. Brisbane. Australia. Published on DVD. <http://iuss.org/19th%20WCSS/Symposium/pdf/1272.pdf>.
- Malensehk, M., Olsen, D.B. (2009) Methane number testing of alternative gaseous fuel, *Fuel*, **88**(4): 650-656. doi:10.1016/j.fuel.2008.08.020.
- Medina-Orozco, L.E., García, C.N.E., García, O.F., Ikkonen, E. (2014) Suelos de humedal del lago de Pátzcuaro Michoacán, México, *Revista Tecnología y Ciencias del Agua*, **5**(5), 111-124.
- Minitab Release 14. (2004) Minitab for windows. State College; Pennsylvania: Minitab Inc, (2004).
- Muñoz, C., Saggar, S., Berben, P., Giltrap, D., Jha, N. (2011) Influence of waiting time after insertion of base chamber into soil on produced greenhouse gas fluxes, *Chilean Journal of Agricultural Research*, **71**(4), 610-614.
- Nakano, T., Sawamoto, T., Morishita, T., Inoue, G., Hatano, R. (2003) A comparison of regression methods for estimating soil-atmosphere diffusion gas fluxes by a closed-chamber technique, *Soil Biology & Biochemistry*, **36** (1): 107-113. doi:10.1016/j.soilbio.2003.07.005.
- Nay, S.M., Mattson, K.G., Bormann, B.T. (1994) Biases of chamber methods for measuring soil CO₂ efflux demonstrated with a laboratory apparatus, *Ecology*, **85**(8), 2460-2463.
- Parkin, T.B., Venterea, R.T., (2010) Sampling Protocols. Chapter 3. p. 3-1 to 3-39. Chamber-Based Trace Gas Flux Measurements. IN Sampling Protocols. R.F. Follett, editor.
- Parkin, T.B., Venterea, R.T., Hargreaves, S.K. (2012) Calculating the detection limits of chamber-based soil greenhouse gas flux measurements, *J. Environ. Qual*, **41**, 705-715, doi:10.2134/jeq2011.0394.
- Pumpanen, J., Kolari, P., Ilvesniemi, H., Minkkinen, K., Vesala, T., Niinistö, S., Lohila, A., Larmola, T., Morero, M., Pihlatie, M., Janssens, I., Yuste, J.C., Grünzweig, J.M., Reth, S., Subke, J.A., Savage, K., Kutsch, W., Østreg, G., Ziegler, W., Anthoni, P., Lindroth, A., Hari, P. (2004) Comparison of different chamber techniques for measuring soil CO₂ efflux, *Agricultural and Forest Meteorology*, **123**, 159-176. doi:10.1016/j.agrformet.2003.12.001.
- Raich, J.W., Bouden, R.D., Steudler, P.A. (1990) Comparison two static chamber techniques for determining carbon dioxide efflux from forest soil, *Soil Sci. Soc. Am. J*, **54**(6), 1754-1757. doi:10.2136/sssaj1990.03615995005400060041x.
- Schoeneberger, P.J., Wysocki, D.A., Benham, E.C., Broderson, W.D. (2002) Field book for describing and sampling soils, Version 2.0. Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln, NE. http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_052523.pdf.
- Senevirathna, D.G.M., Achari, G., Hettiaratchi (2007) A mathematical model to estimate errors associated with closed flux chambers, *Environmental Modeling & Assessment*, **12**(1), 1-12. doi:10.1007/s10666-006-9042-x.
- Takle, E.S., Brandle, J.R., Schmidt, R.A., Garcia, R., Litvina, I.V., Massman, W. J., Zhou, X., Doyle, G., Rice, C. W. (2003) High-frequency pressure variations in the vicinity of a surface CO₂ flux chamber, *Agricultural and Forest Meteorology*, **114**(3-4), 245-250. doi:10.1016/S0168-1923(02)00174-0.
- Tang, J., Baldocchi, D.D., Qi, Y., Xu, L. (2003) Assessing soil CO₂ efflux using continuous measurements of CO₂ profiles in soils with small solid-state sensors, *Agricultural and Forest Meteorology*, **118**(3-4), 207-220. doi:10.1016/S0168-1923(03)00112-6.
- USDA-NRCS, United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service (2006) Field Indicators of Hydric Soils in the United States, Version 6.0. G.W. Hurt and L.M. Vasilas (eds). USDA, NRCS, in cooperation with the National Technical Committee for Hydric Soils.
- Vanatta, L.E., Cowles, D.C. (2011) Statistically sound calibration curves for chromatographic methods involving negative response data, *Journal of Chromatographic Science*, **49**(8), 610-611. doi: 10.1093/chrsci/49.8.610.
- Van der Laan, S., Neubert, R.E.M., H.A.J, Meijer. (2009) A single gas chromatograph for accurate atmospheric mixing ratio measurements of CO₂, CH₄, N₂O, SF₆ and CO, *Atmos. Meas. Tech*, **2**, 549-559. doi:10.5194/amt-2-549-2009.



- Venterea, R.T. (2010) Simplified method for quantifying theoretical underestimation of chamber-based trace gas fluxes, *J. Environ. Qual*, **39**, 126–135. doi:10.2134/jeq2009.0231.
- Venterea, R.T., Baker, J.M. (2008) Effects of Soil Physical Nonuniformity on Chamber-Based Gas Flux Estimates, *Soil Science Society of American Journal*, **72**(5), 1410-1417. doi:10.2136/sssaj2008.0019.
- Wagner, S.W., Reicosky, D.C., Alessi, R.S. (1997) Regression models for calculating gas fluxes measured with a closed chambers, *Agronomy Journal*, **89**, 279-284.
- Xu, L., Furtaw, M.D., Madsen, R.A., Garcia, R.L., Anderson, D.J., McDermitt, D.K. (2006) On maintaining pressure equilibrium between a soil CO₂ flux chamber and the ambient air. LI-COR Biosciences, 4421 Superior Street, Lincoln, NE 68504, USA. 20 pp.