



TRABAJO FINAL DE GRADO

DESARROLLO Y APLICACIÓN DE CÁMARAS BENTÓNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLUJOS EN SISTEMAS COSTEROS



Ana Isabel Aldarias Martos

Grado en Ciencias del Mar

Julio, 2015

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer a mis tutores Jesús Forja Pajares y Teodora Ortega Díaz, por darme la oportunidad de trabajar como alumna colaboradora en el departamento, durante los dos últimos años, y por dirigirme este trabajo. Gracias a los dos, y también al resto de alumnos y profesores del departamento, por vuestra ayuda, apoyo y motivación.

Además me gustaría agradecer de una forma especial a José Perdigones Prian, del Departamento de Construcciones Navales de la Universidad de Cádiz, por su ayuda en la construcción de la cámara bentónica. Gracias por ayudarnos a hacer realidad las ideas que teníamos en la mente sobre el diseño de la cámara.

No puedo olvidarme de agradecer a mi familia, por animarme desde esos 400 km de distancia y por haberme ayudado a cumplir mi sueño de estudiar la carrera que siempre he deseado.

Por último gracias a mis amigos, compañeros de clase y compis de piso, por estar para lo bueno y lo no tan bueno. Siempre es de agradecer tener alguien que te saque una sonrisa desde las 8 de la mañana.

<u>ÍNDICE</u>

Abstract	página 4
Resumen	página 4
1. Introducción	página 5
2. Objetivos	página 11
3. Material y Métodos	página 12
4. Resultados y Discusión	página 20
6. Conclusiones	página 28
7. Bibliografía	página 29
Anexos	página 32

ABSTRACT

A benthic autonomous small-sized chamber has been designed, which allows sampling and obtaining real time data for the study of benthic fluxes in coastal systems. In the laboratory, various tests have been performed in order to check the operation of the chamber, ensuring that consumption is stable and the chamber is sealed.

The benthic chamber encloses a volume of 47.21 L. The volume of water incubated is continuously stirring by three centrifugal pumps that simulate environment natural hydrodynamic conditions. Depending on the pump voltage applied, both the flow values and the thickness of the sediment-water interface (also called diffusive boundary layer, DBL) are affected. DBL thickness for voltages 3.5, 4.0 and 4.5 V varies between 190 and 564 μ m. Estimated calcium fluxes are 128.65 mmol m⁻² d⁻¹ and 158.62 mmol m⁻² d⁻¹ for a voltage of 4.0 to 4.5 V, respectively.

RESUMEN

Se ha diseñado una cámara bentónica autónoma de pequeñas dimensiones, lo que permite la toma de muestras y la obtención de datos a tiempo real para el estudio de los flujos bentónicos en sistemas costeros. En el laboratorio se han realizado distintas pruebas para comprobar el funcionamiento de la cámara, asegurando que el consumo es estable y que la cámara es estanca.

La cámara bentónica encierra un volumen de 47,21 L. El volumen de agua incubado está sometido a una continua agitación por parte de tres bombas centrífugas que simulan las condiciones hidrodinámicas naturales del medio. En función del voltaje aplicado a las bombas los valores de flujo y espesor de la interfase sedimento-agua (o también llamada capa límite difusiva, DBL) van a verse afectados. El espesor de DBL para voltajes de 3,5, 4,0 y 4,5 voltios varía entre 190 y 564 μ m. Los flujos de calcio estimados son de 128,65 mmol m⁻² d⁻¹ y 158,62 mmol m⁻² d⁻¹ para un voltaje de 4,0 y 4,5 voltios respectivamente.

1. INTRODUCCIÓN

Las zonas costeras son las áreas más activas geoquímica y biológicamente de la tierra, aunque constituyen tan solo un 7% de la superficie oceánica (Wollast, 1998). En dichas zonas se produce el intercambio de importantes cantidades de materia y energía con el océano abierto (Gattuso et al., 1998), es por ello que estas áreas desempeñan un papel fundamental en los ciclos biogeoquímicos globales de carbono y nutrientes (Mantoura et al., 1991). Además se caracterizan por una alta productividad primaria, equivalente al 20 % de la productividad primaria oceánica (Wollast, 1998). Los sistemas costeros reciben importantes cantidades de materia orgánica, fundamentalmente a través de los ríos (un 90%) (Gibbs, 1981). Esta materia orgánica (alóctona y autóctona) sedimenta muy rápidamente debido a la escasa profundidad de la columna de agua (Gattuso et al., 1998) y es degradada por diferentes procesos enzimáticos mediados por microorganismos que utilizan la materia orgánica como fuente de energía.

La regeneración bentónica es el resultado de un conjunto de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen lugar en el sedimento. A través de estos procesos se produce la remineralización de la materia orgánica y la difusión de los productos resultantes de esta, al agua sobrenadante, donde quedan a disposición del fitoplancton (Jahnke et al., 2005).

En el sedimento se dan distintos mecanismos de degradación, aeróbicos y anaeróbicos, debido a la oxidación de la materia orgánica. La continua deposición de esta materia orgánica hace que en el sedimento tenga lugar un estado de desequilibrio químico. Este proceso de diagénesis tiene como resultado la producción y liberación al agua intersticial de importantes cantidades de carbono inorgánico y nutrientes, así como el consumo progresivo de determinados aceptores de electrones (principalmente oxígeno y sulfato) utilizados en estas reacciones (Jørgensen et al., 1998). Este conjunto de procesos originan la liberación de carbono inorgánico, nutrientes y gases de efecto invernadero como el CO₂, CH₄ y N₂O (Cai et al., 2000), parte de los cuales pueden ser posteriormente emitidos a la atmósfera. La difusión desde la superficie del sedimento de estas sustancias, se debe a los marcados gradientes verticales de concentración existentes en agua intersticial. A su vez los procesos de transporte se verán potenciados por la influencia de las corrientes cerca del fondo y/o la actividad irrigadora de la fauna bentónica.

En las últimas décadas, debido al interés científico, se han desarrollado varias técnicas para cuantificar la intensidad con que se produce la regeneración bentónica y el consecuente intercambio de especies inorgánicas (C, N, P) a través de la interfase aguasedimento. Pues la intensidad con que se producen estos procesos (especialmente en sistemas costeros) va a determinar la emisión de gases de efecto invernadero hacia la atmósfera o la existencia de fenómenos de eutrofización.

Estos métodos de cuantificación pueden clasificarse en indirectos o directos:

-Los métodos indirectos estiman la regeneración bentónica a partir de uno de los mecanismos involucrados en el proceso y se basan en medir la velocidad de degradación de la materia orgánica a través de la que se produce la liberación de los nutrientes al agua intersticial o en calcular los flujos difusivos que se generan como consecuencia de los gradientes verticales de concentración que existen en ese medio. Son métodos cuya validez requiere que ambos procesos - mineralización y difusión- se encuentren acoplados y que, además, no existan causas que alteren los flujos difusivos a través de la interfase. Existen fundamentalmente dos métodos indirectos: la medida de las actividades enzimáticas potenciales y los perfiles de concentración en el agua intersticial.

-Los métodos directos permiten estudiar los flujos bentónicos a partir de la evolución de la concentración de las especies químicas con el tiempo en un volumen de agua incubado en contacto con el sedimento (Ferguson et al., 2007). Existen dos posibilidades: hacer esa incubación en el laboratorio con un testigo de sedimento o hacerla in situ, delimitando el sistema a estudiar (agua + sedimento) mediante una cámara bentónica.

El desarrollo de las tecnologías in situ durante los últimos 30 años, ha dado lugar a un rápido progreso en la investigación oceanográfica. Hasta los años 70, la mayoría de medidas químicas eran realizadas a bordo de un barco o en laboratorio, usando procedimientos químicos convencionales. El muestreo se llevaba a cabo con botellas oceanográficas o testigos de sedimento, y las muestras se recuperaban y procesaban en cubierta. Sin embargo, el sedimento y el agua intersticial se podían alterar

significativamente, química, física y biológicamente, cuando se llevaba a superficie para analizar, después de haber sido muestreado en el fondo oceánico.

El conocimiento sobre la bioquímica del sedimento y los flujos a través de la interfase agua-sedimento, ha ido evolucionando con la introducción de las cámaras bentónicas y el uso de microelectrodos in situ (Viollier et al., 2003).

De todas las metodologías estudiadas hasta el momento la llevada a cabo con cámaras bentónicas es la que nos proporciona datos más reales del metabolismo bentónico (Viollier et al., 2003) debido a sus múltiples ventajas. En primer lugar porque no es necesaria la manipulación del sedimento y también porque en el cálculo de los flujos se incluyen tanto los procesos de difusión simple como el intercambio activo de sustancias entre el sedimento y la columna de agua debido a la bioturbación (Forja y Gómez-Parra, 1998). La superficie del fondo oceánico que puede llegar a abarcar la cámara bentónica es relativamente grande comparada con la de los testigos, por lo que podemos asumir la heterogeneidad del sedimento, así como la contribución de la fauna bentónica (Glud y Blackburn, 2002). Además este método es el que produce menor perturbación en el sistema natural (Ferrón, 2009).

Actualmente las cámaras bentónicas se están utilizando para tomar medidas in situ en distintos ambientes, desde intermareales (Forja y Gómez-Parra, 1998) hasta profundidades de 6000 m (Jahnke y Jahnke, 2005), y también para cuantificar flujos bentónicos en el interior de mesocosmos, en experimentos que exigen un gran control de las condiciones (Doering et al., 1987).

En los últimos años, se ha intensificado el uso de las cámaras bentónicas para cuantificar la contribución de la mineralización de la materia orgánica a la alcalinización progresiva que están experimentando los océanos. Este tipo de estudios se llevan a cabo principalmente en zonas costeras donde el aporte de materia orgánica da lugar a importantes flujos de carbono inorgánico disuelto (CID), con valores por encima de 500 mmol m⁻²d⁻¹ (Forja et al., 1998, Ortega et al., 2005, 2008). Los altos valores de estos flujos contribuyen al comportamiento de algunas zonas costeras como fuente de CO₂ a la atmósfera y otros gases invernadero como CH₄ y NO₂ (Ferrón, 2009).

Con los datos obtenidos durante la incubación con la cámara bentónica podemos aplicar la ecuación para el cálculo de flujos a través de la interfase, descrita a partir de la definición de flujo:

$$J = R^{-1} (dC/dt)_{t=0}$$
 (Ec.1)

Siendo J el flujo expresado como unidades de masa por unidad de superficie y tiempo, R la relación entre la superficie incubada por la cámara y el volumen de agua que contiene y $(dC/dt)_{t=0}$ el gradiente temporal de concentración a tiempo cero que se determina siguiendo la variación de la concentración de la especie estudiada en el interior de la cámara a lo largo del tiempo.

Las variaciones de concentración de las especies químicas en el interior de la cámara bentónica dependen directamente del valor de la superficie y el volumen de ésta. Es por ello, que la elección de las dimensiones debe realizarse previamente a la construcción de la cámara bentónica y en función de los flujos esperados y los tiempos de fondeo previstos. El tiempo de duración de los muestreos suele ser corto, menos de 4 horas, para evitar importantes alteraciones en la composición del agua incubada (Forja y Gómez-Parra, 1998; Ponce, 2002). También pueden utilizarse periodos de larga duración que suelen ser de días, no obstante, estos se realizan para estudiar el comportamiento del sistema en condiciones anóxicas (Anderson et al., 1986).

En profundidades someras se suelen fondear la cámara bentónica con la ayuda de buzos que permiten que sean colocadas suavemente sobre el sedimento para evitar que se perturbe el sistema. Sin embargo, si se desea fondear a profundidades mayores se suelen utilizar vehículos e instrumentos capaces de realizar operaciones automatizadas (Ponce, 2002).

En las incubaciones con cámaras bentónicas, al aislarse la superficie del sedimento se impide que actúe sobre él la hidrodinámica natural. Para suplir esta falta se pueden utilizar distintos métodos de agitación: bombas de recirculación, agitadores magnéticos o mecánicos en forma de hélice, incluso discos planos colocados en paralelo al sedimento (Forja, 1991; Glud et al., 1996).

El grado de agitación generado en el interior de la cámara, es otro factor importante a nivel operativo. En primer lugar porque va a evitar la estratificación del agua en el interior de la cámara bentónica, siendo los datos obtenidos representativos de todo el

volumen. Y en segundo lugar porque la velocidad del agua sobrenadante va a afectar directamente al transporte de especies a lo largo de la interfase agua-sedimento (DBL, capa límite difusiva). De hecho, medidas in situ de la demanda biológica de oxígeno (DBO) a distintos grados de agitación muestran un aumento del consumo de oxígeno, a través de la interfase, al aumentar la velocidad del agua sobrenadante (Callender y Hammond, 1982). Al igual que un aumento de la velocidad de la corriente cerca del sedimento produce una disminución del espesor de la interfase agua-sedimento, y por tanto un aumento de la velocidad de transferencia de especies entre el sedimento y la columna de agua (Jørgensen y Des Marais, 1990; Glud et al., 2007).

La DBL representa una fina película viscosa sobre la interfase agua-sedimento donde la difusión molecular se convierte en el principal mecanismo de transporte de materia. En algunos casos la DBL puede actuar como una importante barrera de difusión y limitar el intercambio de solutos (Jørgensen y Des Marais, 1990). En sedimentos con baja actividad biogeoquímica la resistencia de la DBL puede no tenerse en cuenta en el intercambio de solutos, pero en sistemas costeros donde la actividad biogeoquímica es alta, el espesor de la DBL puede llegar a ser muy significante (Boudreau y Jørgensen, 2001).

Por todo esto, el grado de agitación en el interior de la cámara bentónica debe regularse para intentar simular las velocidades de corriente sobre la superficie del sedimento en condiciones naturales (Ponce, 2002; Ortega, 2005).

En cuanto al diseño, las cámaras bentónicas suelen ser de tres formas: semiesféricas (Forja, 1991; López et al., 1995), cilíndricas (Viaroli et al., 1996; Glud et al., 1996) y cuadrangulares (Santschi et al., 1983; Glud et al., 1996). Y generalmente suelen ser opacas evitando de esta forma el consumo de nutrientes y la producción de oxígeno por fotosíntesis, aunque también se pueden utilizar transparentes para estudiar la acción del microfitobentos (Viaroli et al., 1996).

El material con el que se construye la cámara puede ser desde metacrilato, acero inoxidable, aluminio e incluso titanio (si se toman precauciones para evitar que el titanio actúe como cátodo reductor de oxígeno, cubriéndose para ello de un polímero sintético toda la cámara).

Una muestra más de la versatilidad en el diseño de cámaras bentónicas es la cámara bentónica Sandy, diseñada por el Instituto de Microbiología Marina de Bremen, Alemania. Sandy es una cámara bentónica que se ha desarrollado específicamente para el estudio del flujo de solutos en sedimentos arenosos y porosos, donde el transporte advectivo en el agua intersticial puede ser dominante en el intercambio de solutos a través de la interfase agua-sedimento (Janssen et al, 2005).

En la Universidad de Cádiz, en el departamento de Química-Física ya se han desarrollado con anterioridad distintas cámaras bentónicas para sistemas costeros (Forja, 1991; Ferrón, 2009). En primer lugar se diseñaron dos cámaras de pequeñas dimensiones (con capacidades de 78.3 y 89.8 L) que permitían muestreos en sistemas costeros, pero que no estaban automatizadas por lo que las muestras eran aspiradas desde la superficie mediante un dispositivo que no produce su desgasificación (Gómez-Parra et al, 1987). Posteriormente, se diseñó una nueva cámara automatizada de mayores dimensiones (90 cm de diámetro interno y 28,5 cm de altura) y con una capacidad de 155 L, aunque por su tamaño presentaba una limitación. Debido a su peso (~ 250 kg) para fondearlas se debían utilizar embarcaciones grandes provistas de grúa, lo que impedía por ejemplo, el acceso a puntos de muestreo someros. Es por este motivo por lo que se ha diseñado una nueva cámara bentónica automatizada y de pequeñas dimensiones (capacidad de 47 L y aprox.~ 60 kg de peso), que permite el muestreo en sistemas costeros de poca profundidad (figura 1).



Figura 1: Cámara bentónica diseñada por el Departamento de Química-Física de la Universidad de Cádiz, para el estudio de sistemas costeros.

2. OBJETIVOS

El principal objetivo del estudio es diseñar y caracterizar una cámara bentónica autónoma de pequeñas dimensiones capaz de realizar mediciones en sistemas costeros de poca profundidad (hasta 10 m aprox.), y que nos pueda suministrar información a tiempo real de los procesos de transferencia que tienen lugar en la interfase agua-sedimento. Para alcanzar dicho objetivo es necesario, a su vez, llevar acabo otros objetivos secundarios:

- Desarrollar un sistema de agitación sumergible basado en tres bombas centrífugas cuyo caudal pueda regularse en tiempo real desde la superficie.
- Acoplar la señal de salida de los instrumentos sumergidos a un sistema de telemetría que permita la adquisición de datos en tiempo real e interactuar con la cámara durante la incubación.
- Determinar el volumen real de la cámara bentónica y caracterizar su grado de estanqueidad mediante incubaciones realizadas en el laboratorio.
- Establecer la dependencia entre los caudales de las bombas de agitación y el espesor de la interfase agua-sedimento.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha llevado a cabo el diseño, construcción y puesta a punto en laboratorio de una cámara bentónica autónoma de pequeñas dimensiones, para la cuantificación de flujos a través de la interfase-agua sedimento en sistemas costeros.

3.1. Descripción del equipo

Los diferentes componentes de la cámara bentónica están dispuestos en una estructura exterior de acero inoxidable anclada sobre una base de PVC que se ha agujereado para facilitar el desplazamiento de la cámara en la columna de agua (figura 1). Para la incubación del agua y sedimento el equipo consta de una estructura cilíndrica de PVC de 48,6 cm de diámetro interno y 25 cm de altura (figura 2) provista de una tapa superior de PVC donde están alojados varios sensores (temperatura, oxígeno disuelto (OD) y pH), un sistema de compensación y un muestreador. Para facilitar el anclaje de la cámara en el sedimento esta consta de una pestaña en su parte inferior de 4 cm de longitud (figura 2), que asegura la fijación de la cámara en el fondo.

Sobre la estructura exterior van fijadas dos cajas estancas conectadas entre sí por conexiones submarinas (figura 1) y que contienen dos baterías para suministrar energía al sistema y un datalogger para la adquisición de datos. La cámara está conectada con un sistema de telemetría mediante un cable electromecánico.



Figura 2: Esquema y medidas de la base de PVC de la cámara bentónica (a). Esquema de la estructura cilíndrica de PVC que contendrá el agua incubada y de la pestaña inferior que permitirá un buen anclaje de la cámara bentónica al sedimento (b).

La superficie ocupada por la cámara bentónica es de 0,186 m², y el volumen incubado 46,4 L, de forma que la relación superficie/volumen es de 4 m⁻¹.

El sistema de compensación consiste en un orificio en la parte superior de la cámara bentónica en el que se coloca un globo. El objetivo de este sistema es compensar el volumen de agua desplazado durante la inmersión de la cámara en el agua.

El muestreador es una estructura cilíndrica que incluye doce jeringas de 50ml (figura 3) y que está conectado a un ordenador lo que permite programar los tiempos de toma de muestras antes del muestreo. Este sistema se utilizará para la obtención de muestras de las distintas variables (gases invernadero, alcalinidad total, nutrientes, calcio y carbono orgánico disuelto) a lo largo del tiempo de incubación de la cámara.



Figura 3: Muestreador provisto de doce jeringas de 50 ml que permitirá la toma de muestras del interior de la cámara durante el fondeo en los tiempos programados.

En la cámara bentónica van incorporados tres sensores oceanográficos para la medida en tiempo real de los parámetros pH, Temperatura y Oxígeno disuelto durante los fondeos (figura 4):

- 1. Sensor de pH: Sea-Bird Electronics-18 (SBE-18)
- 2. Sensor de Temperatura: Temperature probes Campbell Scientific 108
- 3. Sensor de Oxígeno disuelto: Sea-Bird Electronics-43 (SBE-43)



Figura 4: Sensores de pH (a), Temperatura (b) y Oxígeno disuelto (c).

Fijado en la estructura cilíndrica de PVC, la cámara dispone de un sistema de agitación que evita la estratificación del agua en su interior y que reproduce las corrientes naturales cerca del fondo. De esta forma, las medidas realizadas mediante los sensores y las muestras de agua tomadas con el muestreador serán representativas de todo el volumen. Este sistema de agitación está formado por tres bombas centrífugas (LVM105 12 Volt DC 4.5 Amp) sumergibles (figura 5), cuyo caudal puede regularse por un potenciómetro conectado dentro del datalogger.



Figura 5: Muestra una de las bombas utilizadas para el sistema de agitación.

En una de las cajas estancas situadas sobre la estructura se encuentra un datalogger (CR10X Campbell Scientific datalogger), que permite el control y almacenamiento de datos a tiempo real (figura 6). Desde el datalogger salen 7 conexiones eléctricas unidas a conectores situados en la tapa superior de la caja estanca y que corresponden a: los sensores, el sistema de agitación, el muestreador, la fuente de alimentación, y la salida de comunicaciones que permite la visualización en tiempo real de las señales de los sensores, así como el control de la toma de muestras. Los detalles de las conexiones se muestran en el anexo I.





b



Figura 6: Esquema de las posiciones del datalogger donde van las conexiones eléctricas (a) y fotografía del datalogger, fuera de la caja estanca, en la que se aprecia el sistema interno de cableado (b).

Todo el sistema eléctrico de la cámara bentónica se encuentra alimentado por dos baterías de Litio 12V20A/h, situadas en una segunda caja estanca. La duración de las mismas es lo que va a determinar el tiempo que puede durar el fondeo, por ello es importante controlar el consumo de los distintos elementos para poder planificar nuestro muestreo. No obstante, el estado de la batería puede controlarse en todo momento a través del datalogger.

Para comprobar el estado final del anclaje de la cámara sobre el sedimento, será necesario el apoyo de buzos, lo que no resulta problemático ya que las profundidades de muestreo son entorno a 6-8 metros.

Durante el fondeo de la cámara bentónica, la tapa de la misma debe ir abierta para que el agua que se incube sea la que está en contacto con el sedimento, y no agua del resto de columna de agua. Para ello se ha diseñado y montado sobre la estructura de acero inoxidable un sistema (figura 7) que permite que la cámara baje con una apertura de 15 mm (aprox.). Una vez fondeada la cámara, la tapa se puede cerrar desde la superficie por medio de la liberación de una pieza central que desplaza la tapa hasta dejar la cámara herméticamente sellada.



Figura 7. Sistema de apertura y cierre de la cámara bentónica, que permite la incubación del agua en contacto con el sedimento del fondo.

3.2. Aplicación informática

Para poder tener el control de la cámara bentónica en todo momento, desde superficie, se ha diseñado un programa informático a partir del software comercial científico Campbell.

El ordenador conecta con el datalogger para transmitir las órdenes de adquisición de muestras, de comienzo/final de recepción de las señales de los diferentes sensores y de selección del voltaje aplicado a las bombas de recirculación (figura 8).

Por otra parte, el programa visualiza a tiempo real la señal instantánea de los sensores (tanto de forma numérica como gráfica), realiza un volcado de la información almacenada en la memoria del datalogger y recibe la señal de confirmación de la aplicación del voltaje de los distintos sistemas, así como el estado en que se encuentran las baterías.



Figura 8: Esquema de las conexiones entre el datalogger y los principales componentes de la cámara bentónica: sensores, muestreador, bombas de recirculación, baterías y ordenador.

3.3. Métodos analíticos para la estimación de Calcio (Ca²⁺)

La concentración de Ca²⁺ fue determinada en el laboratorio utilizando una adaptación del método propuesto por Lebel y Poisson (1976). Dicho método consiste en una valoración potenciométrica llevada a cabo utilizando un electrodo selectivo de calcio (Metrohm, 6.0510.100). Se utilizó como agente valorante ácido etilenglicol-bis-(2-aminoetileter)-N,N,N',N' tetracético (EGTA), que reduce sensiblemente la interferencia de otros iones alcalinotérreos, especialmente magnesio y estroncio. Se tomaron 5 mL de muestra a las que se le añadió 10 mL de Borax 0.1 M para tamponarlas a un pH

próximo a 9. Posteriormente se procedió a la valoración con EGTA 2 mM, por medio de una valoración dinámica (Metrohm 905). La precisión del método es de \pm 5,7 μ M.

3.4. Método analítico para la estimación del nitrito (NO₂).

El nitrito se midió por medio de un método espectrofotométrico (Grasshoff et al., 1983) basado en la formación de un diazocompuesto con la sulfanilamida que posteriormente con la N-1-Nafiletilendiamina da lugar a un azocompuesto intensamente coloreado, cuya absorbancia se mide a 540 nm. El método es válido para concentraciones de nitrito comprendidas entre 0 y 10 μ M. La precisión de este método es ± 0.02 μ M (Grasshoff, 1983).

3.5. Metodología para la determinación espesor de la interfase (DBL)

Para caracterizar el régimen hidrodinámico impuesto en el interior de la cámara y asegurar que no afectará a las medidas de flujo, es necesario estimar el espesor de la DBL en el interior de la cámara. El cálculo de la DBL puede realizarse con microelectrodos (Glud et al., 1995) o calculando la disolución del alabastro (Santshi et al., 1983; Buchholtz-ten Brink et al., 1989; Tengberg et al., 2004, 2005, Ferrón, 2009).

En este estudio, el espesor de la DBL en el interior de la cámara se ha estimado utilizando datos de pérdida de peso de placas de alabastro durante fondeos (Santschi et al., 1983). Con esta finalidad, se pesaron las placas antes y después de cada fondeo (y después de haber sido secados en una estufa a 60°C durante al menos 2 horas). Se colocaron 10 placas de alabastro de 30x30x10 mm sobre una superficie de neopreno de 1 mm de espesor (esta a su vez se ha colocado sobre una placa de metraquilato de 8 mm de espesor para darle estabilidad). Las placas se pintaron, por los lados y una de las caras, con pintura de poliuretano para prevenir la disolución de la parte no expuesta a la superficie (Tengberg, 2005; Ferrón, 2009). Se dispusieron cubriendo un sector completo de la simetría de 120° (figura 9). Dado que la estructura es simétrica y las tres bombas atienden a las mismas características, asumimos que lo que ocurra en este sector, será representativo de toda la superficie de la cámara.

Durante el fondeo de la cámara se tomaron 30 ml de muestra del agua incubada de forma manual con una jeringa de 50 ml a diferentes intervalos de tiempo. Posteriormente las muestras se filtraron utilizando un filtro GF/F 0,45 μ m, para calcular la evolución de la concentración del calcio en el interior de la cámara.



Figura 9: Distribución de las placas de alabastro sobre la superficie de neopreno

El espesor de la interfase se estimó a partir de la siguiente ecuación (Santchi et al., 1993):

$$Z = \frac{D_{Ca^{2+}}(C_{sat} - C_{0})At}{0.2328 \text{ wt loss}}$$
 Ec (2)

Donde z (µm) es el espesor de la DBL, A (cm²) es la superficie de la placa de alabastro, t (s) es el tiempo de exposición del alabastro, wt loss (g) es la pérdida de peso del alabastro, 0.2328 es el peso relativo del alabastro que tiene un valor constante (Santchi et al., 1993), D_{Ca2+} (cm² s⁻¹) es el coeficiente de difusión molecular del calcio, C_{sat} (g cm⁻³) es la concentración de saturación de calcio y C₀ (g cm⁻³) es la concentración inicial de calcio. Los datos de D_{Ca2+} y C_{sat} han sido tomados de Buchholtz-ten Brink et al (1989).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez completado el diseño y construcción de la cámara bentónica, se llevaron a cabo una serie de pruebas en el laboratorio para optimizar el funcionamiento del equipo. Estas pruebas se realizaron en el CACYTMAR, utilizando un tanque de unos 600 L de capacidad (1 m x 1 m x 0,6 m) lleno con agua dulce. Ya que la cámara bentónica dispone de una pestaña de 4 cm que debe penetrar por completo en el sedimento para asegurar su estanqueidad, el fondo del tanque se cubrió con 0,08 m³ de arena de playa lavada, equivalente a unos 8 cm de espesor.

4.1. Autonomía de funcionamiento

Para la medida de los flujos bentónicos en sistemas litorales, las cámaras deben estar fondeadas durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 6 horas (Forja Y Gómez-Parra, 1998; Ortega et al., 2008; Ferron et al., 2008). Durante este tiempo, los distintos dispositivos conectados van consumiendo las baterías. El datalogger, los sensores y muestreador automático tienen un consumo eléctrico muy reducido, de forma que la autonomía de la cámara bentónica está fundamentalmente controlada por el consumo de las 3 bombas que forman parte del sistema de agitación.

Las bombas centrífugas empleadas pueden funcionar en un amplio intervalo de voltaje, entre 3 y 12 V, que determina tanto el caudal que suministran como el consumo eléctrico. Para regular el voltaje suministrado a las bombas, se dispuso un potenciómetro variable capaz de regular la corriente de salida entre 3,0 y 5,8 V. El objetivo de estas pruebas era determinar el voltaje adecuado que se debe suministrar a las bombas para que la autonomía mínima de funcionamiento de unas 6 horas. Para ello se realizaron distintas pruebas en el laboratorio a voltajes de: 3,5 V, 4,0 V, 4,5 V, 5,0 V y 5,8 V, siguiendo la siguiente metodología. Con las baterías totalmente cargadas, se reguló el potenciómetro al voltaje deseado para el funcionamiento de las bombas. Durante 7 horas, se fue comprobando que el voltaje de las baterías se mantenía próximo a 12 voltios (figura 10). Puede observarse como a voltajes comprendidos entre 3,5 y 5,0 V, la tensión de las baterías permanece relativamente constante, mientras que para un voltaje de 5,8 V, existe una importante disminución del voltaje de las baterías durante la incubación.



Figura 10: Evolución del voltaje de salida de las batería con el tiempo para diferentes voltajes aplicados a las bombas del sistema de agitación.

Simultáneamente se tomaron medidas del caudal proporcionado por cada bomba (cada 60-90 minutos). En la figura 11 se observa como el caudal proporcionado por las bombas presentan una variación lineal con el voltaje aplicado a las bombas.



Figura11. Evolución del caudal de las bombas en función del voltaje aplicado.

Durante las incubaciones de la cámara bentónica realizadas para estudiar su autonomía, también se ha caracterizado el consumo eléctrico en función de los voltajes aplicados a las bombas de recirculación. En la figura 12 se muestra el consumo obtenido para 3 voltajes diferentes (3,5, 4,0 y 4,5 V).



Figura 12: Evolución del consumo frente al tiempo de incubación de la cámara, a distintos voltajes de funcionamiento de las bombas.

Se observa que el consumo permanece relativamente estable durante los periodos de incubación. Además, como cabía esperar, a medida que aumenta el voltaje de funcionamiento de las bombas también aumenta el consumo eléctrico del sistema.

4.2. Determinación del volumen real de la cámara bentónica

La cámara se diseñó para que tuviera un volumen aproximado de 46,4 L, pero este puede haber cambiado durante la construcción, debido entre otras causas a las dimensiones de los materiales empleados.

Para cuantificar su volumen real, se inyectaron 11,7 mL de una disolución de nitrito 10 mM en el interior de la cámara bentónica, durante una de las incubaciones realizadas en el tanque. Posteriormente se han tomado muestras del agua incubada cada dos horas durante un periodo de unas 19 horas y se ha analizado la concentración de nitrito en el interior de la cámara (tabla 1).

El volumen de la cámara se puede cuantificar a partir de la siguiente ecuación:

$$Vreal \cdot [NO_{2^{-}}]_{correc} = (V_{NO_{2^{-}}} \cdot [NO_{2^{-}}])_{inyectado} \qquad \text{Ec (3)}$$

Donde $V_{real}(L)$ es el volumen real de la cámara, $[NO_2^-]$ correc (μM) es el promedio de la concentración del nitrito en el interior de la cámara una vez que se ha restado la concentración inicial antes de la inyección, V_{NO2}^- es el volumen de nitrito inyectado y $[NO_2^-]_{inyectado}$ (μM) la concentración de nitrito inyectada.

Muestra	Tiempo (min)	Promedio Abs	[NO ₂ ⁻] (uM)	[NO ₂ ⁻]correc (uM)
M1	0	0,2405	3,903	0
M2	115	0,332	5,957	2,054
M3	240	0,332	5,957	2,054
M4	364	0,3385	6,103	2,200
M5	483	0,368	6,766	2,862
M6	1180	0,384	7,125	3,222
			Promedio	2,478

Tabla 1: Evolución temporal de la concentración de nitrito en el interior de la cámara bentónica.

Durante el tiempo de incubación el valor promediado de concentración de nitrito, aplicando la corrección, es de 2,478 (μ M). A partir de este valor podemos calcular el volumen real de la cámara bentónica utilizando la Ec. 3.

El volumen real obtenido es de 47,21 L, superior al que en un principio se estimó durante el diseño de la cámara bentónica (46,4 L). Al cambiar el volumen, también cambia la relación superficie volumen de la cámara bentónica, cuyo valor real es de $3,93 \text{ m}^{-1}$.

4.3. Determinación de la estanqueidad de la cámara bentónica

Existen distintos métodos que nos permiten comprobar la estanqueidad de la cámara bentónica. Se podría inyectar alguna sustancia colorante y medir la evolución en el tiempo de su concentración en el interior de la cámara bentónica. A este respecto, Ferrón et al. (2008) verifican la estanqueidad de sus cámaras bentónicas mediante la adición de eosina, que se cuantifica directamente por espectrofotometría. No obstante, en este estudio se ha optado por determinar la estanqueidad utilizando los datos de evolución de la concentración de nitrito en el interior de la cámara frente al tiempo de incubación (figura 13), ya que constituye una sustancia cuya concentración puede medirse de forma fácil y precisa.



Figura 13: Evolución con el tiempo de la concentración de nitrito en el interior de la cámara bentónica durante la incubación. El primer dato corresponde al estado inicial antes de la inyección de nitrito.

Si se observan los datos obtenidos se puede afirmar que efectivamente la cámara bentónica es estanca. Si no fuera estanca, la concentración del nitrito disminuiría con el tiempo en el interior de la cámara. Sin embargo, lo que se aprecia es que la concentración de nitrito se mantiene estable durante aproximadamente las 6 primeras horas de incubación y después tiende a aumentar con el tiempo. Este aumento de la concentración puede deberse a la liberación de nitrito desde el sedimento, puesto que el sedimento fue tomado en un medio natural.

La hermeticidad de la cámara bentónica se ha conseguido mediante el uso de juntas tóricas en los diferentes sensores y en la tornillería empleada, así como mediante una junta de goma de 1,5 cm de diámetro que sella la tapa superior de la cámara.

4.4. Estabilidad del sistema de agitación durante las incubaciones

La técnica de disolución de placas de alabastro, además de proporcionar una herramienta para la estimación de los espesores de la interfase sedimento-agua, permite verificar la estabilidad del sistema de agitación. La disolución de las placas de alabastro depende de la diferencia entre la concentración de saturación y la concentración de Ca²⁺ en el agua en contacto con el alabastro. A medida que aumenta la velocidad de corriente cerca de la interfase, aumenta el grado de renovación del agua en las proximidades de las placas de alabastro, y se favorece su disolución. De esta forma, analizando la evolución de la concentración de Ca^{2+} puede constatarse si el proceso de disolución es homogéneo a lo largo del tiempo de incubación, lo cual es una evidencia experimental de que el caudal suministrado por las bombas de agitación es constante, y por lo tanto, también permanece constante el espesor de la interfase. En la figura 14 se muestra la evolución de la concentración de Ca^{2+} con el tiempo en 2 de los experimentos realizados con placas de alabastro (4.0 y 4.5 V). Como puede observarse, la linealidad de las variaciones temporales de la concentración de Ca^{2+} es elevada (r² superior a 0,99), lo que indica que el proceso de disolución del alabastro es constante a lo largo de la incubación, y por tanto, también lo es la velocidad de corriente cerca de la interfase.



Figura 14: Representación de la evolución temporal del calcio, cuando las bombas funcionan a 4 voltios (a) y 4,5 voltios (b)

Adicionalmente, se puede calcular el flujo de Ca^{2+} a través de la interfase sedimentoagua en el interior de la cámara bentónica. Para ello, se ha utilizado la Ec.1 donde el valor de $(dC/dt)_{t=0}$ se obtiene de la pendiente de las variaciones de la concentración de calcio frente al tiempo.

Los flujos de calcio que se han obtenido varían entre 128,65 mmol $m^{-2} d^{-1} y$ 158,62 mmol $m^{-2} d^{-1}$ para voltajes de 4,0 y 4,5 voltios, respectivamente. Con estos resultados se puede afirmar que el aumento del voltaje, provoca un aumento del flujo, lo que a su vez es consecuencia del aumento de velocidad de corriente cerca de la interfase.

4.5. Estimación del espesor de la DBL

En este apartado se muestran los resultados del cálculo de la DBL a partir de la pérdida de peso del alabastro, utilizando la Ec.2. Los valores de espesor de la interfase sedimento-agua varían entre 190 y 564 μ m, si se consideran de forma independiente los resultados obtenidos para todas las placas de alabastro. Los valores promedio de espesor de la DBL calculados para los voltajes de 3,5 V, 4,0 V y 4,5 V son, respectivamente, 357 μ m, 260 μ m, y 248 μ m, respectivamente (figura 15).



Figura 15: Variación de la DBL con el voltaje aplicado a las bombas de agitación.

Como se observa en la gráfica anterior, el espesor de la DBL disminuye exponencialmente con el voltaje debido al aumento de la disolución de las placas de alabastro al aumentar la velocidad de corriente cerca de la interfase.

Estos resultados son coherentes con los obtenidos por otros autores en trabajos anteriores. Forja y Gómez-Parra (1998) publicaron valores de espesor de la DBL en la Bahía de Cádiz de 360-710 µm. Los datos calculados por Tengberg et al. (2004) a partir del incremento de calcio con el tiempo muestran espesores de la DBL de 40-361 µm, y a partir de la pérdida de peso del alabastro valores comprendidos entre 48 a 335 µm. Tengberg et al. (2005) realiza un estudio comparativo de 14 cámaras bentónicas de distintas dimensiones y con distintos sistemas de agitación, y obtiene espesores de DBL entre 230 y 1029 µm, medidos a partir del método de disolución del alabastro. Datos más recientes de Ferrón et al. (2009) muestran valores promedio, tomados por ambas metodologías, entre 125 a 279 µm dependiendo de la intensidad de la agitación en el interior de las cámaras bentónicas.

Otra forma de medir la DBL es a partir de la variación del régimen de velocidades dentro de la cámara. Utilizando esta metodología, Buchholtz-ten Brink et al. (1989) encontraron un intervalo de variación de la DBL de 180-500 μ m. Los valores obtenidos varían desde 75 μ m en ambientes costeros de alta energía hasta 2000 μ m en ambientes lacustres, dependiendo de la velocidad de corriente.

Los valores de DBL obtenido en este trabajo se encuentran dentro del intervalo de variación descritos para otras cámaras bentónicas, lo que constituye una evidencia de la adecuación del sistema de agitación empleado para la cuantificación de flujos bentónicos.

5. CONCLUSIONES

- Se ha desarrollado una cámara bentónica autónoma para el estudio en sistemas costeros, capaz de registrar y transmitir en tiempo real la información sobre las variaciones de oxígeno, pH y temperatura, en el interior de la cámara.
- Durante las pruebas de laboratorio se ha caracterizado el régimen hidrodinámico en el interior de la cámara. Además se ha verificado la estanqueidad de la misma y se ha calculado el volumen real incubado, 47,21 L, a partir del estudio de la evolución de nitrito su interior.
- Se ha estudiado la relación entre el voltaje aplicado a las bombas de agitación, el flujo de Ca²⁺ por disolución de alabastro y el espesor de la interfase-sedimento. Los resultados obtenidos muestran que al aumentar el voltaje suministrado al sistema, el espesor de la DBL disminuirá favoreciendo el flujo de sustancias a través de la interfase sedimento-agua. Los valores de flujo de calcio obtenidos han sido de 128,65 mmol m⁻² d⁻¹ y 158,62 mmol m⁻² d⁻¹ para un voltaje de 4,0 y 4,5 voltios respectivamente y los espesores medios de la DBL están comprendidos entre 248 y 357 μm.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aller, R.C. y Yingst, J.Y., 1980. Relationships between microbial distributions and the anaerobic decomposition of organic matter in surface sediments of Long Island Sound, USA. Mar. Biol., 56: 29-42.
- Anderson, L.G., Hall, P.O.J., Iverfeldt, A., Rutgers van der Loeff, M.M., Sundby, B. y Westerlund, S.F.G., 1986. Benthic respiration measured by total carbonate production. Limnol. Oceanogr., 31: 319-329.
- Boudreau and B. B. Jørgensen. 2001. The benthic boundary layer. Oxford Univ. Press
- Buchholtztenbrink, M. R., G. Gust, D. Chavis. 1989. Calibration and performance of stirred benthic chamber. Deep-Sea Res., A, Oceanogr. Res. Pap. 36 (7), 1083-1101
- Cai, W.-J., Zhao, P. y Wang, Y., 2000. pH and pCO₂ microelectrode measurements and the diffusive behavior of carbon dioxide species in coastal marine sediments. Mar. Chem., 70: 133-148.
- Callender, E. y Hammond, D.E., 1982. Nutrient exchange across the sediment-water interface in the Potomac River estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci., 15: 395-413.
- Doering, P.H., Kelly, J.R., Oviatt, C.A. y Sowers, T., 1987. Effect of the hard clam *Mercenaria mercenaria* on benthic fluxes of inorganic nutrients and gases. Mar. Biol., 94: 377-383.
- Ferguson, A., B. Eyre, J. Gay, N. Emtage, y L. Brooks. 2007. Benthic metabolism and nitrogen cycling in a sub-tropical coastal embayment: spatial and seasonal variation controlling factors. Aquat. Microb. Ecol. 48:175-195
- Ferrón S., F. Alonso-Pérez, C. G. Castro, T. Ortega, Fiz F. Pérez, A. F. Ríos, A. Gómez-Parra, y J. M. Forja. 2008. Hydrodynamisc characterization and performance of an autonomous benthic chamber for use in coastal systems. Limnol. Oceanogr. Methods 6:558-571
- Forja, J.M., 1991. Regeneración bentónica de nutrientes en la Bahía de Cádiz. Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. 300 pp
- Forja, J.M. y Gómez-Parra, A., 1998. Measuring nutrient fluxes across the sedimentwater interface using benthic chambers. Mar. Ecol. Prog. Ser., 164: 95-105.

- Gattuso, J.P., Frankignoulle, M. y Wollast, R., 1998. Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. Annu. Rev. Ecol. Syst., 29: 405-434.
- Gibbs, R.J., 1981. Sites of the rivers derived sedimentation in the ocean. Geology, 9: 77-80.
- Glud, R.N., Jensen, K. y Revsbech, N.P., 1995. Diffusivity in surficial sediments and benthic mats determined by use of a combined N₂O-O₂ microsensor. Geochim. Cosmochim. Acta, 59: 231-237.
- Glud, R.N., Foster, S. y Huettel, M., 1996a. Influence of radial pressure gradients on solute exchange in stirred benthis chambers. Mar. Ecol. Prog. Ser., 141: 303-311
- Glud, R., y N. Blackburn. 2002. The effects of chamber size on benthic oxygen uptake measurements: a simulation study. Ophelia 56:23-31
- Glud, P. Berg, H. Fossing, y B. B. Jørgensen. 2007. Effect of the diffusive boundary layer on benthic mineralization and O2 distribution: A theoretical model analysis. Limnol. Oceanogr. 52:547-557
- Gómez-Parra, A. y Frutos, M.D., 1987. Representatividad de los valores de materia orgánica obtenidos en el estudio de sedimentos costeros. Inv. Pesq., 51: 107-120.
- Grasshoff, K., Ehrhardt, M. y Kremling, K., 1983. Methods of seawater analysis, 2nd, rev. and extended ed. Verlag-Chemie, Weinheim. Germany. 419 pp.
- Janknhe, R., M. Richards, J. Nelson, C. Robertson, A. Rao, D. Jahnke. 2005. Organic matter remineralization and porewater exchange rates in permeable South Atlantic Bight continental shelf sediments. Cont. Shelf Res. 25:1433-1452
- Janssen, F., P. Faerber, M. Huettel, V. Meyer, y J. Witte. 2005. Pore-water advection and solute fluxes in permeable marine sediments (I): Calibration and performance of the novel benthic chamber system Sandy. Limnol. Oceanogr. 50:768-778.
- Jørgensen y D. J. Des Marais. 1990. The diffusive boundary layer of sediments: Oxygen microgradients over a microbial mat. Limnol. Oceangr. 35:1343-1355.
- Jørgensen, B.B., 1998. Material flux in the Sediment. En: Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems (B.B. Jørgensen y K. Richardson, Eds.) Coastal and Estuarine Estudies. American Geophysical Union, Washintong, DC, pp: 115-136
- López, P., Vidal, M., Lluch, X. y Morguí, J.A., 1995. Sediment metabolism in a

Transitional Continental/ Marine Area: The Albufera of Majorca (Balearic Islands, Spain). Mar. Freshwater Res., 46: 45-53.

- Mantoura, R.F.C., J. M. Martin, R. Wollas. 1991. Ocean Margin Processes in Global Change, Wiley-Interscience, 469 pp
- Ortega, T., R. Ponce, J. M. Forja, y A. Gómez-Parra. 2005. Fluxes of disolved inorganic carbon in three estuarine systems of the Cantabrian Sea (north of Spain). J. Mar. Syst. 53:125-142
- Ortega, T., R. Ponce, J. M. Forja, y A. Gómez-Parra. 2008. Benthic fluxes of dissolved inorganic carbon in the Tinto-Odiel system (SW of Spain). Cont. Shelf Res. 28:458-469
- Ponce R. 2002. Regeneración bentónica y dinámica de nutrientes en sistemas litorales de la península ibérica. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz.
- Santshi, P., P. Bower, U.P. Nyffeler, A. Azevedo, y S. Broecker. 1983. Estimates of the resistance to chemical transport posed by the deep-sea boundary layer. Limnol. Oceanogr. 28:899-912
- Tengberg, H. Stahl, G.Gust, V. Müller, U. Arning, H. Andersson, y P. Hall. 2004. Intercalibration of benthic flux chambers I. Accuracy of flux measurements and influence of chamber hydrodynamics. Prog. Oceanogr. 60:1-28
- Tengberg A., P.O.J. Hall, U. Anderson, B. Lindén, O. Styrenius, G. Boland, F. de Bovee, B. Carlsson, S.Cerandini, A.Devol, G.Duineveld, J-U. Friemann, P.Santschi, P. de Wilde, U.Witte. 2005. Intercalibration of benthic flux chambers II. Hydrodynamic characterization and flux comparisons of 14 different desings. Marine Chemestry. 94: 147-173.
- Viaroli, P., Bartoli, M., Bondavalli, C., Christian, R.R., Giordani, G. y Naldi, M., 1996. Macrophyte communities and their impact on benthic fluxes of oxygen, sulphide and nutrients in shallow eutrophic environments. Hydrobiologia, 329: 105-119.
- Viollier, E., and other. 2003. Benthic biogeochemistry: state of the art technologies and guidelines for the future of in situ survey. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 285-286:5-31
- Wollast, R. 1998. Evaluation and comparison of the global carbon cycle in the coastal zone and in the open ocean. En: The Sea (K.H. Brink y A.R. Robinson, Eds.).Wiley & Sons, New York, pp: 213-252

ANEXO



PWR ≈12 V ← Negro (4)



(1) Marrón -> NC

(no conscitate)





6) COMUNICACIONES



