

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**Unidad Mérida
DEPARTAMENTO DE FÍSICA APLICADA**

**“Física del gas metano: Elementos para su cuantificación
en bobino alojados en cámaras de respiración”**

TESIS

Que presenta

Jeyder Israel Arceo Castillo

Para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

En

Fisicoquímica

Directores de Tesis:

**Dra. Patricia Quintana Owen
Dr. Juan Carlos Ku Vera**

Mérida, Yucatán, México

Agosto de 2018

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, Felipe Alberto Arceo Hernández y Ligia Elena Castillo Grajales, quienes han sido mi mayor inspiración para seguir adelante y luchar día a día por alcanzar mis metas.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al **Centro de Investigación de Estudios Avanzados de IPN y al Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY)** en especial al Departamento de Nutrición Animal.

A mis directores de tesis, **Dra. Patricia Quintana Owen** y **Dr. Juan Carlos Ku Vera**, por hacerme parte de su trabajo científico.

Al **Dr. Rodrigo Patiño** por su tiempo y sus comentarios.

A **Srta. Zhirnnay** por su trato cortés y servicial durante la realización de los trámites académicos.

A **mi familia** la cual siempre me ha brindado su apoyo en cada una de mis decisiones. De manera especial a mi madre y a mi hermana, por comprender mi ausencia.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	4
Objetivos específicos	4
Capítulo 1	
MARCO TEÓRICO	
1.1 Gases de efecto invernadero	5
1.2 Población y producción de gases de efecto invernadero	8
1.3 Producción de metano, dióxido de carbono entérico y consumo de oxígeno	9
1.3.1 Dióxido de carbono entérico y consumo de oxígeno	9
1.3.2 Metano Entérico	10
1.4 Metodologías para la medición de gases de efecto invernadero en rumiantes	11
1.4.1 Técnica de fermentación in vitro	12
1.4.2 Rumen artificial (RUSITEC)	12
1.4.3 Ecuaciones de predicción	13
1.4.4 Técnicas con trazadores	14
1.4.5 Calorimetría indirecta	14
1.5 Cámaras de respiración	15
1.5.1 Cámaras en serie	16
1.5.1.1 Pequeñas especies	17
1.5.1.2 Cámaras para grandes especies	17
1.6 línea base	19
1.7 Analizadores de gases	20
1.7.1 Analizadores Paramagnéticos de Oxígeno	20

1.7.2 Analizadores de Metano y dióxido de carbono	21
1.8 Vapor de agua	24
1.8.1 Desecadores químicos	24
1.8.1.1 Drierite	24
1.8.1.2 Silica gel	25
1.8.1.3 Perclorato de magnesio	25
1.8.2 Analizadores de vapor de agua	26
1.8.3 Bombas de extracción de aire	27
1.8.3.1 Bombas volumétricas	27
1.8.3.2 Medidores de flujo de masa	28
1.9 Cálculos y correcciones para el oxígeno dióxido de carbono y metano	28
Capítulo 2	
Materiales y métodos	
2.1 Sistema de las cámaras de respiración.	31
2.1.1 Cámaras de respiración	31
2.1.2 Unidad de muestreo y análisis de gases	33
2.1.3 Unidad de captura y análisis de datos	34
2.2 Calibración y validación del analizador de metano infrarrojo.....	35
2.3 Validación del sistema de cámaras de respiración.....	36
2.3.1 Eficiencia de analizador de metano	37
2.3.2 Prueba de eficiencias de los ductos de aire y de las cámaras de respiración	38
2.3.3 Eficiencia del sistema simulando el volumen de un bobino.....	40
2.3.4 Eficiencia del sistema aumentando la infusión del metano ultrapuro dentro de las cámaras de respiración.....	41
2.4 Cuantificación del CH ₄ entérico	42
2.4.1 Adaptación de los animales al confinamiento	42
2.4.2 Proceso de la medición de metano entérico	42
Capítulo 3	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1 Calibración del analizador de metano infrarrojo	43
3.2 Eficiencia del ducto	45
3.3 Eficiencia de las cámaras.....	47

3.4 Eficiencia del sistema de las cámaras de respiración.....	49
3.4.1 Eficiencia del sistema interferido con un volumen conocido.....	50
3.5 Respuesta del sistema a diferentes tasas de inyección del metano de alta pureza	51
3.6 Mediciones del metano entérico.....	56
RESULTADOS.....	63
REFERENCIAS.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Población de bovinos en México.	9
Figura 2. Fermentación de los carbohidratos y de la proteína en el rumen	11
Figura 3. Influencia del pH ruminal sobre la tasa de producción de CH ₄ entérico	11
Figura 4. Técnicas usadas en la medición gases de efecto invernadero en rumiantes.....	12
Figura 5. Técnica de fermentación in vitro.....	13
Figura 6. Técnica del Rumen artificial (RUSITEC)	13
Figura 7. Técnicas con trazadores	15
Figura 8. Cámaras de respiración para bovinos	15
Figura 9. Esquema simplificado de una cámara de respiración de circuito abierto para bovinos.....	16
Figura 10. Cámaras conectadas en serie para pequeñas especies.	17
Figura 11. Cámaras conectadas en serie para grandes especies.	18
Figura 12. Muestra radiada con luz infrarroja	21
Figura 13. Curva de calibración.....	22
Figura 14. Divisiones de la región infrarroja.	24
Figura 15. Vista trasera con un corte transversal y longitudinal de la cámara de respiración ensamblada y equipada en el departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, México, con un volumen interior de 9,97 m ³	33
Figura 16. Esquema de las cámaras de respiración de circuito abierto para las mediciones de metano en el ganado de la Universidad de Yucatán, Mérida, México	35
Figura 17. Analizador de metano infrarrojo	36
Figura 18. Esquema del sistema de suministro de los gases para la calibración del analizador de metano con Nitrógeno y el gas de referencia de Metano.....	36
Figura 19. Esquema del sistema para la evaluación del analizador del metano inyectando el aire ambiente y el gas de referencia de metano.....	38

Figura 20. Esquema del sistema de suministro de gas utilizado para probar la respuesta del analizador de metano	38
Figura 21. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro utilizado para probar la eficiencia en el ducto de extracción de aire	39
Figura 22. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro para probar la eficiencia de la cámara de respiración y del sistema	39
Figura 23. Vista de la vaca inerte de fibra de vidrio dentro de la cámara de respiración para mediciones del efecto del volumen dentro de una cámara.....	41
Figura 24. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro para probar la eficiencia del sistema de cámaras de respiración con una vaca inerte de fibra de vidrio introducido.	41
Figura 25. Grafica de una corrida de la respuesta del analizador de metano al aire ambiente y al gas de referencia (metano) registrado cada 10 s. Los cuadros negros es la infusión del aire ambiente, los puntos negros es el gas de referencia (metano), La línea continua azul muestra el nivel de lectura de meseta lecturas de meseta, la línea punteada muestra el valor del 90% de la lectura de meseta.....	43
Figura 26. Grafica de una corrida de la respuesta de un analizador de metano al inyectar el gas de referencia (metano) registrado cada 10 s en el Reino Unido reportado por Gardiner et al.[28]	44
Figura 27. Grafica de una corrida de la respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza directamente en el conducto desde el minuto 5 hasta el 40 continuamente. La línea continua muestra las lecturas en meseta, y la línea discontinua representa los valores en el 90% de las lecturas en la meseta.	45
Figura 28. Resultados de la eficiencia del ducto en la 6 instalaciones instaladas de reino unido reportadas por Gardiner et al.[28].....	47
Figura 29. Registro de la bomba de extracción del aire de la cámara 1	49
Figura 30. Registro de la bomba de extracción del aire de la cámara 2.....	49
Figura 31. Eficiencia de las 22 cámara instaladas en el reino unido reportadas por Gardiner et al. [28].....	50
Figura 32. Graficas de las lecturas de respuesta de una corrida por cada tasa de liberación de volúmenes crecientes de metano de alta pureza en las cámaras de	

respiración a un flujo de extracción del aire a 300 L/min (volúmenes de CH ₄ : ● 160.23, ● 187.28, ●231.98, ●262.52, ● 300.39, ● 345.25, ● 381.72 L/día en cámara 1)	52
Figura 33. Lecturas de respuesta de una corrida por cada tasa de liberación de volúmenes crecientes de metano de alta pureza en las cámaras de respiración a un flujo de extracción del aire a 300 L/min (volúmenes de CH ₄ : ● 176.73, ● 202.53, ● 293.77, ● 267.22, ● 301.58, ● 334.41, ● 369.61 L/día en la cámara 2) a una tasa de extracción de 300 l/min.....	52
Figura 34. Correlación entre el Metano recuperado y liberado de ambas cámaras	54
Figura 35. Registro del metano producido por un borrego de 25 Kilogramos	56
Figura 36. registro del metano entérico en cada cámara	57
Figura 37. Graficas de las lecturas de respuesta de una entre la cámara 1, cámara 2 y el aire ambiente con un tiempo de purga de 1 minuto	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estimativos de las principales fuentes naturales y antropogénicas de CH ₄ a nivel global (millones de toneladas por año).	6
Tabla 2. Estimaciones de la producción de metano en bovinos [40-43]	7
Tabla 3. Número de publicaciones relacionadas con producción de metano entérico en rumiantes por país [5]	7
Tabla 4. Ejemplos de algunas reacciones de la producción de CO ₂ . y consumo de oxígeno	9
Tabla 5. Reacciones de la glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₆) para producir metano.....	10
Tabla 6. Ejemplos de modelos de simulación utilizados para la predicción de la producción de CH ₄ [19, 57].....	14
Tabla 7. Reacciones el analizadores full cell para la cuantificación del oxígeno...	20
Tabla 8. Longitudes de onda.....	23
Tabla 9. Fórmulas de corrección por vapor de agua.....	29
Tabla 10. Resultados de la calibración de los analizador de metano en las 6 instalaciones del Reino Unido reportado por Gardiner et al. [28]	44
Tabla 11. Respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza en el ducto de cada cámara	46
Tabla 12. Respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza cada cámara.....	48
Tabla 13. Resultados de las cámaras de respiración a diferentes tasas de liberación con un flujo de extracción de 300 L/min.....	53
Tabla 14. Resultados de la medición con bovinos introducido en las cámara	61

RESUMEN

El metano (CH_4) pertenece al grupo de los llamados gases de efecto invernadero (GEI) y es el segundo gas que contribuye en mayor proporción al calentamiento global pues es 23 veces mas potente que el dióxido de carbono (CO_2) y tiene un tiempo de vida media en la atmósfera de 10 años. En la producción ganadera, las emisiones de CH_4 de los rumiantes son un subproducto de la fermentación de los carbohidratos en el rumen que en términos de energía constituyen una pérdida entre el 2 y el 12% de la energía bruta consumida la cual es convertida a metano y en términos ambientales contribuye al calentamiento global entre el 18 y el 33%.

En el Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) se validó la técnica de cámaras de respiración, considerado la más precisa para la medición del metano eructado por los animales, siendo las primeras en México y las segundas en Latinoamérica.

Se llevó a cabo un conjunto de experimentos que involucraron la liberación gravimétrica de metano de alta pureza para validarlas, considerando tres componentes principales: analizador de metano, sistema de extracción de aire y ductos y la cámara misma, al evaluar la linealidad y el tiempo de respuesta del analizador y la estabilidad de la meseta, los factores de calibración fueron de 0.95 ± 0.05 y 1.03 ± 0.03 con una incertidumbre de 4.87 y 2.49% para la cámara uno y dos respectivamente.

En la calibración del sistema, se inficionó el metano de alta pureza dentro de las cámaras a flujos crecientes de 168.5, 194.9, 234.9, 264.9, 301.0, 339.8 y 375.7 L/día para simular los volúmenes de metano eructado por ganado de diferentes pesos. Los porcentajes de recuperación fluctuaron, entre 103.7% a 18.3% y 102.7% a 31.6 % para la cámara uno y dos respectivamente teniendo un comportamiento lineal, al realizar las regresiones de cada cámara (cámara 1: $y = 1.59x - 240.52$; $R^2 = 0.981$ y cámara 2: $y = 1.66x - 248.71$; $R^2 = 0.990$) podrían corregir predecir las emisiones de CH_4 en el ganado de bajo peso.

Las pruebas con animales se realizaron con 4 animales de la raza Holstein, alimentados con 49% de forraje, 28% de Maíz, 14% de pasta de soya, 8.19% de melaza y 0.81% de minerales (Calcio y Fósforo), por periodos de dos días de 24 horas por animal, los resultados son similares a los calculados con las fórmulas de Yan et al., (2006), Shibada et al., (2010), y las de Grenger (2007).

Se concluyó que las cámaras de respiración para mediciones de metano entérico de ganado en la Universidad de Yucatán, México, funcionan con precisión y se pueden usar para establecer inventarios de metano y estrategias de mitigación de metano en ganado alimentado con pastos tropicales.

Palabras clave: metano; cámara de respiración; factor de calibración; porcentaje de recuperación

ABSTRACT

Methane (CH₄) belongs to the group of the so-called greenhouse gases (GHG) and is the second gas that contributes more to global warming because it has 23 times greater global warming potential than carbon dioxide (CO₂) and has an average lifetime of 10 years in the atmosphere. In livestock production, CH₄ emissions from ruminants are a byproduct of the fermentation of carbohydrates in the rumen and it terms of energy constitute a loss between 2 and 12% of the gross energy consumed which is converted to methane and environmentally contributes to global warming between 18 and 33%.

In the Campus of Biological and Agricultural Sciences of the Autonomous University of Yucatan (UADY), the respiration chamber technique was validated, considered the most accurate for the measurement of methane belched by animals, being the first in Mexico and the second in Latin America.

A set of experiments was carried out that involved the gravimetric release of high purity methane to validate them, considering three main components: methane analyzer, air extraction system and ducts and the chamber itself, when evaluating the linearity and time of Analyzer response and stability of the plateau, the calibration factors were 0.95 ± 0.05 and 1.03 ± 0.03 with an uncertainty of 4.87 and 2.49% for chamber one and two respectively.

In the calibration of the system, methane of high purity was infected within the chambers at increasing flows of 168.5, 194.9, 234.9, 264.9, 301.0, 339.8 and 375.7 L / day to simulate the volumes of methane belched by cattle of different weights. The percentages of recovery fluctuated, between 103.7% to 18.3% and 102.7% to 31.6% for chamber one and two respectively having a linear behavior, when performing the regressions of each chamber (chamber 1: $y = 1.59x - 240.52$; $R^2 = 0.981$ and chamber 2: $y = 1.66x - 248.71$; $R^2 = 0.990$) could correct predicting CH₄ emissions in low-weight cattle.

The animal tests were performed with 4 animals of the Holstein breed, fed with 49% forage, 28% corn, 14% soybean meal, 8.19% molasses and 0.81% minerals (Calcium and Phosphorus), for periods of two days of 24 hours per animal, the results are similar to those calculated with the formulas of Yan et al., (2006), Shibada et al., (2010), and those of Grenger (2007).

It was concluded that the respiration chambers for enteric methane measurements of cattle at the University of Yucatan, Mexico, work accurately and can be used to establish methane inventories and methane mitigation strategies in cattle fed tropical grasses.

Keywords: methane; respiration chamber; calibration factor; recovery percentage

INTRODUCCIÓN

El metano (CH_4) es un potente gas de efecto invernadero con un potencial de calentamiento global 25 veces superior al del dióxido de carbono [1] entre los que se encuentran también el óxido nitroso (N_2O), hidrofluorocarbonos (HFC), perfluorocarbonos, (PFC) y el hexafluoruro de azufre (SF_6) [2], estos gases tienen moléculas con dos o más átomos que se mantienen unidos con suficiente espacio entre sí para poder vibrar cuando absorben calor, eventualmente la molécula libera radiación y ésta será posiblemente absorbida por otra molécula de GEI [3], a este proceso de mantener el calor cerca de la superficie de la tierra se le conoce como efecto invernadero, aumentando el calentamiento global y el adelgazamiento de la capa de la capa de ozono [4].

Las especies rumiantes eructan diariamente grandes volúmenes de metano, que son un subproducto de la fermentación que sufren los carbohidratos en el rumen [5]. La comunidad microbiana ruminal fermenta el alimento y produce ácidos grasos volátiles (AGV) que el animal utiliza como fuente de energía. En el proceso también se genera dióxido de carbono (CO_2) e hidrógeno (H_2), que sirven de sustrato a microorganismos del dominio *Archaea* para producir metano (CH_4) y obtener la energía necesaria para el crecimiento del bovino. La generación de este gas mantiene una baja presión de H_2 y estimula la fermentación ruminal [6] y está influenciada por factores tales como composición de la dieta, frecuencia de alimentación, consumo, digestibilidad y procesamiento previo del alimento, [7-10].

En términos de energía constituye una pérdida que representa entre el 2 y el 12% de la energía bruta consumida lo cual es convertida a metano y en términos

ambientales contribuyen al calentamiento global entre el 18 a 33% [11-13]

Un factor que influye en la producción de metano en el sector ganadero es la población internacional que es de aproximadamente 7 billones de personas y probablemente alcanzará 9 billones en el año 2050. [14, 15], por lo tanto, la demanda de carne aumentará de 229 a 465 millones de toneladas, del año 2000 hasta el 2050; algo similar ocurrirá con la leche, pasando de 580 a 1,045 millones de toneladas [13]. Se espera un incremento en la producción de ganado y como consecuencia un aumento en las emisiones de metano [16].

En la región de América Latina, la producción ganadera es un contribuyente significativo a las emisiones de metano [17], en México son muy pocos los estudios realizados [18] en condiciones *in vivo* en el ganado. Castelán-Ortega et al. [19] estimó que 23.3 millones de cabezas de ganado vacuno, fue aproximadamente de 2.02 Tg al año en 2007, utilizando un enfoque de modelado basado en el IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) para estimar inventarios de metano nacionales en México. [5, 20, 21]

Debido a lo anterior, existe un interés creciente por mitigar las emisiones de metano derivadas de la producción de rumiantes a nivel mundial [22, 23], por lo tanto existen diferentes metodologías *in vivo* e *in vitro* para cuantificarlo [24, 25].

El método de referencia más preciso para cuantificar la producción de metano entérico y el dióxido de carbono en rumiantes *in vivo*, es la técnica de cámaras respiración. [26], que involucra alojar en su interior un animal por uno o varios días, para realizar las mediciones de las concentraciones de metano y dióxido de carbono entre el aire entrante y saliente extraído de las cámaras [27].

La calibración de las cámaras de respiración es un requisito necesario para

la medición precisa del metano emitido por el ganado [28], con el fin de minimizar las subestimaciones o sobreestimaciones que pueden confundir los resultados y sesgar los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero [29].

. En Australia, Charmley et al. [30] señalaron que las emisiones de CH₄ del ganado que consumía forrajes tropicales [7] habían sido sobreestimadas en un 30% debido al uso de un algoritmo que introducía un volumen de cámara incorrecto [29]. Por lo tanto, después de una corrección, los autores volvieron a analizar los inventarios australianos de metano entérico del ganado, lo que dio lugar a una revisión significativa a la baja de las emisiones derivadas del ganado que pastaba en los pastos tropicales [30].

Por lo anterior las pruebas de recuperación se consideran un requisito previo para los informes apropiados de la producción de metano en los rumiantes (Gerrits [31]. Las pruebas de recuperación de CH₄ y CO₂ deben realizarse antes o inmediatamente después de las mediciones experimentales. Hay una serie de posibles factores técnicos que afectan la recuperación precisa de los volúmenes de gas exhalados por ganado alojado en cámaras de respiración, dos de los más críticos son: 1) la tasa de extracción de flujo de aire necesario para una recuperación completa de los gases emitidos por el bobino contenidos en el aire espirado [32, 33] y 2) el sistema de conductos de las cámaras [28].

OBJETIVO GENERAL

Validar las cámaras de respiración de circuito abierto en el Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) para cuantificar las emisiones de metano producido por los bovinos con precisión y exactitud.

Objetivos específicos

- Estimar la eficiencia del sistema cámaras de respiración considerando tres componentes principales: analizador de metano, sistema de extracción de aire (ductos) y la cámara misma, evaluado la linealidad, el tiempo de respuesta, la estabilidad de la meseta y las recuperaciones de metano de referencia.
- Determinar la incertidumbre del sistema.
- Evaluar la correlación entre el gas de referencia liberado dentro de cada cámara y el recuperado por el sistema de medición.
- Determinar las ecuaciones de predicción de cada cámara del sistema para corregir las mediciones del metano entérico producido por bovinos
- Realizar mediciones precisas del metano eructado por bovinos alimentados con 49% de forraje, 28% de Maíz, 14% de pasta de soya, 8.19% de melaza y 0.81% de minerales (Calcio y Fósforo) y compararlos con fórmulas de predicción previamente establecidas de diferentes autores.

Capítulo 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Gases de efecto invernadero

Entre 1970 y 2004, las emisiones mundiales de el bióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O), hidrofluorocarbonos (HFC), perfluorocarbonos (PFC) y el hexafluoruro de azufre (SF_6) se han incrementado en un 70%, pasando de 28,7 a 49 gigatoneladas de dióxido de carbono equivalente ($\text{GtCO}_2\text{-eq}$) [34]. En cuestión del metano y dióxido de carbono aumento un 40% y 70% respectivamente en el mismo periodo [35].

El CO_2 , y el CH_4 son químicamente estables y persisten en la atmósfera durante escalas de tiempo desde décadas hasta siglos, de modo que sus emisiones ejercen su influencia en el clima a largo plazo, debido a su larga vida, estos gases se mezclan bien en la atmósfera mucho más rápido de lo que se eliminan. El dióxido de carbono no tiene un período específico de vida porque está en ciclo continuo con la atmósfera, los océanos y la biosfera terrestre y su eliminación neta de la atmósfera involucra una gama de procesos con escalas de tiempo diferentes [36].

La mayoría de las personas, incluidos muchos ambientalistas, asumen que el transporte es el principal contribuyente a las emisiones de gases de efecto invernadero, sin embargo, el ganado es responsable de una mayor proporción de gases de efecto invernadero con un 18%, superando a la industria del transporte. Las granjas ganaderas intensivas generalmente crían animales en el interior, usan gran cantidad de energía para calentar, enfriar y ventilar, así como para la producción y el transporte de alimentos, por lo tanto genera incluso más emisiones

de dióxido de carbono que la fabricación de fertilizantes químicos para la alimentación animal [37]

El metano es liberado en la atmósfera aproximadamente 500 millones de toneladas métricas por año debido a actividades antropogénicas y fenómenos naturales. A esta tasa se espera que el metano cause cerca del 15-17% del calentamiento global. Actualmente se tienen definidas las fuentes de metano causantes de este efecto (Tabla 1), pero el grado de incidencia y la proporción exacta de muchas de estas fuentes no son claras [11].

Tabla 1. Estimativos de las principales fuentes naturales y antropogénicas de CH ₄ a nivel global (millones de toneladas por año).					
Natural		Energía/desechos		Agricultura	
Pantanos	115	Gas y petróleo	50	Cultivos de Arroz	60
Océanos	15	Carbón mineral	40	Animales domésticos	80
Termitas	20	Carbón vegetal	10	Abonos orgánicos	10
Combustión	10	Rellenos sanitarios	30	Combustión	5
		Aguas residuales	25		
Total	160		155		155

Las emisiones de gas CH₄ por el ganado bovino, están estimadas en 58 millones de toneladas por año, lo que representa el 73% del total de emisiones (80 millones) de todas la especies domésticas [11, 13]. En la tabla 2 se mencionan estimaciones de metano de algunos países. En Nueva Zelanda existe la urgente necesidad de que los ganaderos tengan acceso a tecnologías que les permitan reducir estas emisiones de una manera segura y costo-efectivo [38, 39]

Tabla 2. Estimaciones de la producción de metano en bovinos [40-43]	
País	Características
<i>Camboya</i>	Se reportó para 2000 una emisión de 6,244 Gg, en CO ₂ eq.
<i>Colombia</i>	representó el 70% de la participación de los GEI, correspondiendo a un 95% las emisiones entéricas del ganado lechero y productor de carne
China	contribuyen con aproximadamente el 7.2% de la producción mundial total estimada de CH ₄
Japón	La emisión total derivada de fermentación entérica fue de 0.375 millones de toneladas anuales
Nueva Zelanda	Represento el 31.8 % del total de los GEI emitidos en ese país

En la región de América Latina, la producción ganadera es un contribuyente significativo a las emisiones de metano [17].

En México son pocos los estudios en comparación con otros países, como lo demuestra en la tabla 3 publicado en el artículo realizada por Armado et al. en 2012 [5]

Tabla 3. Número de publicaciones relacionadas con producción de metano entérico en rumiantes por país [5]					
País	Núm. Pub.	País	Núm. Pub.	País	Núm. Pub.
U.S.A.	45	India	9	Argentina	3
Canadá	37	España	8	Colombia	3
Nueva Zelanda	25	Escocia	7	Alemania	3
Japón	24	China	6	Italia	2
Australia	21	Irlanda	6	Bulgaria	2
Inglaterra	17	Francia	5	Países Bajos	1
Suiza	14	México	4	Ucrania	1
Brazil	10	Perú	4		

Num, Pub. = Numero de publicaciones

Castelán et al.[19] estimaron que la emisión total de CH₄ producido por los 23.3 millones de cabezas de bovinos en México con el inventario realizado por el INEGI 2007, fue de aproximadamente de 2.02 Tg por año. En su análisis formaron dos grupos: el primer grupo (7.8 millones) representa al ganado vacuno del trópico y subtrópico y el segundo grupo (15.5 millones), el ganado vacuno del clima templado en donde un animal del primer grupo produjo 319.1 g/d y en las regiones

templadas 283 g/d, esta diferencia podría explicarse por la mayor proporción de celulosa en forrajes tropicales, esto quiere decir con mayor proporción de celulosa en los forrajes mayor es la emisión de CH₄.

1.2 Población y producción de gases de efecto invernadero

Un factor que influye en la producción de metano y dióxido de carbono en el sector ganadero es la población internacional que es de aproximadamente 7 billones de personas y probablemente alcanzará 9 billones en el año 2050. [14, 15], por lo tanto, la demanda de carne aumentará de 229 a 465 millones de toneladas, del año 2000 hasta el 2050; algo similar ocurrirá con la leche, pasando de 580 a 1,045 millones de toneladas [13]. Se espera un incremento en la producción de ganado y como consecuencia un aumento en las emisiones de metano y Co₂ [16]. Es decir que la producción de estos gases solo se ve agravado por el aumento número de animales criados para el consumo humano.

En México la población entre 1910 y 1940 se mantuvo constante, a partir de 1950 aumento pasando de 25,791,017 hasta 119,938,473 en 2015 [44]. La CONAPO (Consejo nacional de población) [45] proyecta que para el 2020 y el 2050 aumentara de 127 a 151 millones de habitantes [46], por lo tanto la población de bovinos aumentara como lo muestra la figura 1, que entre 2006 y 2015 se acrecentó por la demanda de leche y carne para consumo humano [47]. Los estados que aportan una mayor, contribución en cuanto a la emisión de CH₄ y CO₂ entérico provenientes de los rumiantes son los estados de Veracruz, Chihuahua y Jalisco, en donde la ganadería constituye parte del sistema de la economía familiar y base sociocultural de los campesinos. El estado de Yucatán ocupa la posición 19.

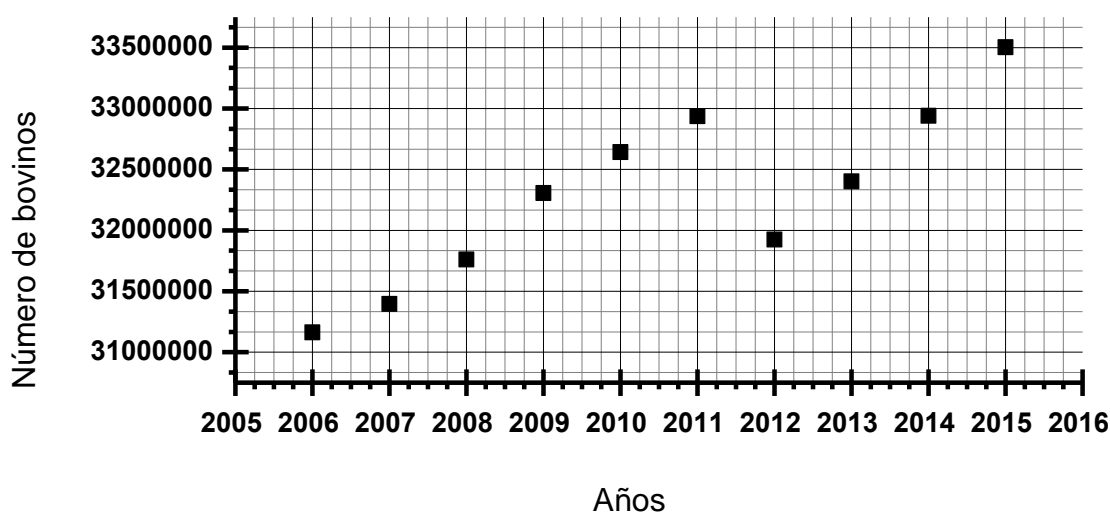


Figura 1. Población de bovinos en México.

1.3 Producción de metano, dióxido de carbono entérico y consumo de oxígeno

1.3.1 Dióxido de carbono entérico y consumo de oxígeno.

Los pulmones y el sistema respiratorio permiten la entrada del oxígeno del aire en el cuerpo, así como la expulsión de dióxido de carbono al espirar, como parte del proceso de obtención de energía que se produce en las células. El organismo de los rumiantes oxida tres clases principales de compuestos químicos: carbohidratos, grasas (ácidos grasos) y proteínas, que también producen dióxido de carbono como se muestran en la tabla 4, el nitrógeno en la proteína no se oxida por completo y es excretado en forma de urea [48]

Tabla 4. Ejemplos de algunas reacciones de la producción de CO ₂ . y consumo de oxígeno	
Glucosa	$C_2H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$
Ácido Palmítico	$CH_3(CH_2)_{14}COOH + 23O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$
Alanina	$4CH_3CH(NH_2)COOH + 12O_2 \rightarrow 10CO_2 + 10H_2O + 2CO(NH_2)_2$
Acido Glutámico	$4COOHCH_2CH_2CH(NH_2)COOH + 20O_2 \rightarrow 18CO_2 + 14H_2O + 2CO(NH_2)_2$
Alanina	$4CH_3CH(NH_2)COOH + 15O_2 \rightarrow 12CO_2 + 14H_2O + 2N_2$
Urea	$2CO(NH_2)_2 + 3O_2 \rightarrow 2CO_2 + 4H_2O + 2N_2$

1.3.2 Metano Entérico

El 95% de la producción de CH₄ en rumiantes ocurre en el rumen y el 5% en el tracto digestivo posterior, de este último, aproximadamente el 89% es absorbido hacia la sangre y expirado a través de los pulmones. Esto indica que cerca del 98% del total de metano producido por los rumiantes puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales [49].

El CH₄ entérico es producto de la fermentación anaerobia de los carbohidratos resultado de un complejo sistema simbiótico entre diferentes grupos de microorganismos presentes en el rumen [50]. Los microorganismos del rumen metabolizan los carbohidratos de la dieta convirtiéndolos principalmente en ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato). En el proceso de síntesis del acetato y butirato se producen moléculas de hidrógeno las cuales deben ser removidas para mantener la eficiencia energética durante los procesos de fermentación anaerobia [51] (Tabla 5). Las principales vías de remoción del hidrógeno metabólico se hacen a través de la biohidrogenación de ácidos grasos insaturados, la formación del ácido propiónico y la síntesis del CH₄ [9] (Figuras 2).

Tabla 5. Reacciones de la glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₆) para producir metano
C ₆ H ₁₂ O ₆ + 2H ₂ O → 2C ₂ H ₄ O ₂ (ACETATO) + 2CO ₂ + 8H
C ₆ H ₁₂ O ₆ + 4H → 2C ₃ H ₆ O ₂ (PROPIONATO) + 2H ₂ O
C ₆ H ₁₂ O ₆ → C ₄ H ₈ O ₂ (BUTIRATO) + 2CO ₂ + 4H
CO ₂ + 8H → CH ₄ + 2H ₂ O

La dependencia de las bacterias metanógenas, aporta un factor importante para la predicción de la producción de metano. Dietas con forrajes de baja calidad no causan una disminución significativa en el pH ruminal y están asociadas a una alta

producción de metano. Mientras que dietas con altos contenidos de alimentos concentrados, generalmente disminuyen la producción de metano, pero sólo si el consumo es lo suficientemente alto para causar una reducción en el pH ruminal [51], en dietas basadas en forrajes, pero con bajo pH, disminuye la metanogénesis, independientemente de la formación del propionato [52].

Las bacterias provenientes del rumen de las vacas alimentadas con forraje fueron incubadas en un medio basal que contenía 100 mM de acetato (pH 7.0), el hidrógeno y el dióxido de carbono se convirtieron en metano, pero la tasa de producción de este fue dependiente del pH. La producción de metano disminuyó drásticamente a pH menores a 6.5, y virtualmente no se produjo a pH menores a 6.0 (Figura 3) [53].

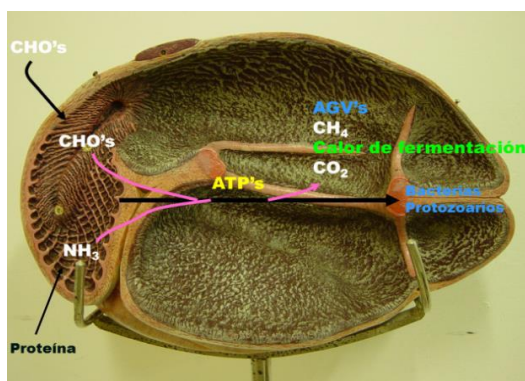


Figura 2. Fermentación de los carbohidratos y de la proteína en el rumen

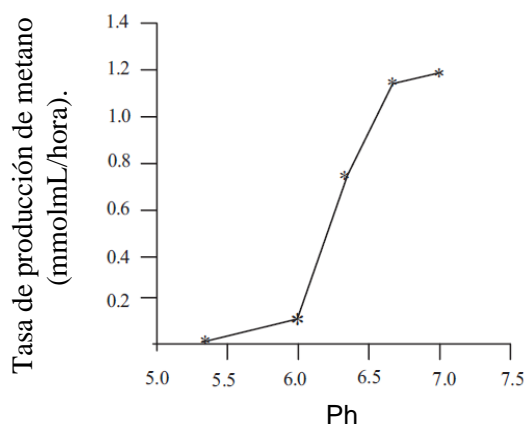


Figura 3. Influencia del pH ruminal sobre la tasa de producción de CH₄ entérico

1.4 Metodologías para la medición de gases de efecto invernadero en rumiantes

En la figura 4 se muestran las técnicas más frecuentemente usadas para la medición gases de efecto invernadero en rumiantes y a continuación una breve descripción de su funcionamiento con sus ventajas y desventajas.

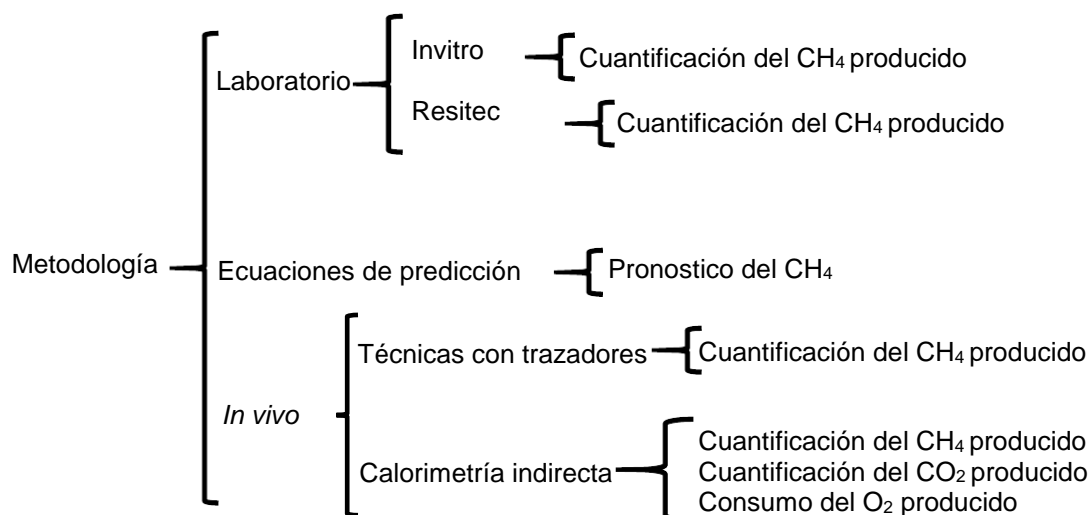


Figura 4. Técnicas usadas en la medición gases de efecto invernadero en rumiantes

1.4.1 Técnica de fermentación in vitro

Esta metodología es desarrollada para simular el ecosistema ruminal, la producción de CH₄ es determinada por cromatografía de gases. Algunas de las desventajas es el largo tiempo requerido para realizar un análisis, la gran cantidad de pasos y que la muestra no tenga flujo de recambio. Las ventajas de este método es el bajo costo de operación, efectiva y eficiente por su rapidez (figura 5)[41, 54].

1.4.2 Rumen artificial (RUSITEC)

Es una técnica in vitro, con modificaciones que permiten una mayor similitud a las características del ecosistema ruminal. El objetivo es mantener la comunidad microbiana bajo condiciones estrictamente controladas en un largo periodo de

tiempo. La producción de CH_4 se determina por diferentes métodos, siendo la cromatografía de gases el más utilizado. Entre las ventajas como ya se mencionó, se encuentran: mayor rapidez y menor costo, además de una mayor independencia de animales canulados. La desventaja de esta técnica es que no existe un manual unificado, debido a que su principal restricción está en que no es un equipo comercialmente disponible (Figura 6) [55, 56].



Figura 5. Técnica de fermentación in vitro



Figura 6. Técnica del Rumen artificial (RUSITEC)

1.4.3 Ecuaciones de predicción.

Permite calcular las emisiones de CH_4 , pero requiere la información de consumo de materia seca, composición química de la dieta (incluyendo solubilidad y tasa de degradabilidad) y otras variables como la tasa de pasaje de las fracciones sólida y líquida del rumen, volumen ruminal y pH del fluido ruminal [56]. Es poco probable que una ecuación simple basada en las características del alimento resulte en una predicción exacta de la producción de metano bajo condiciones de campo pero es útil para propósitos comparativos [11]. Este método es menos costoso fue desarrollado desde los años 30's y se ha ido corrigiendo con el tiempo (Tabla 6).

Tabla 6. Ejemplos de modelos de simulación utilizados para la predicción de la producción de CH ₄ [19, 57]		
No. ecuación	Autor	Ecuación
1	Moe y Tirrell	CH ₄ (MJ d ⁻¹) = 3.38 + 0.51 NFC (Kg/día) + 2.65 C
2	Mills et al.	CH ₄ (MJ d ⁻¹) = 5.93 * 0.92 CMS
3	Kurijara et al.	CH ₄ (g d ⁻¹) = 41.5 * CMS – 36.2

NFC= Carbohidrato sin fibra, HC=Hemicelulosa, C=celulosa y CMS= Consumo de material seca

1.4.4 Técnicas con trazadores

Se refiere a uso de trazadores isotópicos y no isotópicos, esta técnica se fundamenta en la liberación de una cantidad conocida del gas trazador (el gas trazador comúnmente empleado es el hexafluoruro de azufre) contenido en un tubo precalibrado permeable colocado en el rumen, el gas eructado es continuamente obtenido a través de un tubo capilar, conectado a un colector localizado en el cuello del animal, después de la recolección de la muestra, es presurizado con nitrógeno (N₂) y por cromatografía de gases se determina el CH₄ y el hexafluoruro de azufre (SF₆) [58]. La mayor limitación con trazadores isótopicos es la dificultad en la preparación de la solución por la baja solubilidad del CH₄ y la dependencia de animales canulados, la ventaja con esta técnica es que no limita al animal en su comportamiento normal en pastoreo (Figura 7) [11, 59].

1.4.5 Calorimetría indirecta.

Las cámaras de respiración han sido usadas con efectividad para la determinación de las emisiones de metano, CO₂ y consumo de oxígeno [11, 58, 60]. Los cuales son determinadas por la medición del flujo total de aire por el sistema y la diferencia en la concentración entre el aire inspirado y el expirado (para fines de este trabajo se detallará en la siguiente sección). En las cámaras, la mayor ventaja

radica en las mediciones de metano tanto proveniente de la fermentación ruminal como de la fermentación del tracto posterior. Las desventajas de esta técnica involucran: los costos de construcción y de mantenimiento, la restricción de movimiento de los animales y la elevada mano de obra requerida para su operación (figura 8)



Figura 7. Técnicas con trazadores



Figura 8. Cámaras de respiración para bovinos

1.5 Cámaras de respiración

El principio de las cámaras de respiración es recolectar todo el aire exhalado por los animales, por tanto, el CH_4 producido. Los sistemas calorimétricos para animales, donde se mide la composición del aire, se dividen en dos tipos principales: El de circuito cerrado y el de circuito abierto, siendo este último el más común [61].

En la Figura 9 se muestra un esquema simple de un sistema de circuito abierto. Una bomba extrae el aire desde la cámara a través de un medidor de flujo y a diferentes sensores de gas (infrarrojo para el CH_4 y el CO_2 y paramagnético para el O_2) [62], el aire fresco para el animal procede del exterior. En algunos sistemas

el aire fresco es aspirado a través de un sistema de aire acondicionado para controlar la humedad, la temperatura y la mezcla de aire en la cámara, pero puede también simplemente ser tomada desde el exterior de la cámara. La emisión de metano, dióxido de carbono y el consumo de oxígeno se calcula a partir del flujo y la concentración de los gases en la entrada y salida de aire de la cámara, pero los cálculos más complejos se han desarrollado tomando en cuenta las pequeñas diferencias en las entradas y salidas y los cambios en la concentración en la cámara de los gases [63]. Esta técnica es considerada como el método preferido para la estimación de las emisiones de CH_4 de los rumiantes, debido a que el medio ambiente puede ser controlado[61]. Las investigaciones han demostrado que las cámaras de respiración dan estimaciones más precisas de las emisiones de metano que la técnica de trazador SF_6 [10].

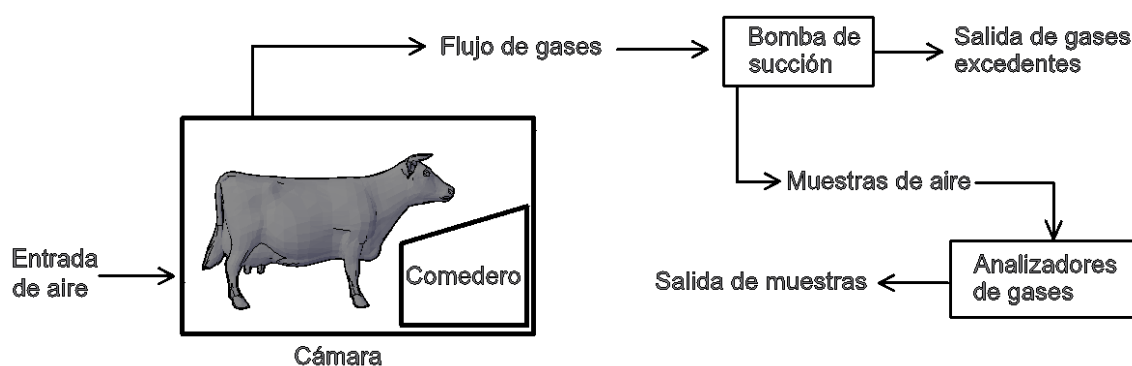


Figura 9. Esquema simplificado de una cámara de respiración de circuito abierto para bovinos

1.5.1 Cámaras en serie

El multiplexor permite el monitoreo múltiples animales de cada cámara para la medición de los gases y las concentraciones basales en el aire ambiente

seleccionando eléctricamente con una señal analógica programada desde la computadora, para suministrar el flujo de las muestras de aire hacia los analizadores de los gases para cuantificarlos.

1.5.1.1 Pequeñas especies

Las cámaras de respiración para animales pequeños (insectos, ratas, etc.), al conectarlos en serie se encuentran selladas, considerando el tiempo suficiente para que la concentración de oxígeno disminuye y el dióxido de carbono aumente sin sofocar el animal (figura 10). El multiplexor previamente programado permite el flujo de aire recambiándolo entre las cámaras, llevando la muestra hasta los analizadores para cuantificar los gases, la concentración basal del aire ambiente se utiliza una cámara vacía.

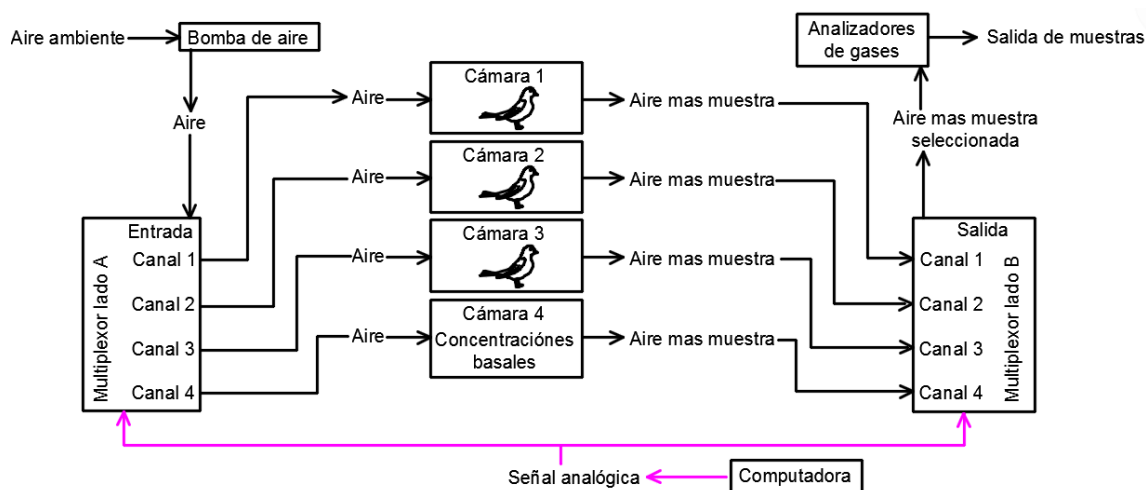


Figura 10. Cámaras conectadas en serie para pequeñas especies.

1.5.1.2 Cámaras para grandes especies

La técnica descrita anteriormente no funcionará bien, en animales grandes, el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono y metano en caso de

los rumiantes, ocurre en volúmenes grandes. Si ese flujo se detiene, el animal puede asfixiarse y morir en cuestión de minutos. Incluso si el animal sobrevive, pasarán muchos minutos antes de que se alcancen los valores de equilibrio de los gases.

Para este tipo de estudios es necesario que el aire ambiente entre a la cámara de forma continua y lo extraiga junto con los gases producidos por el animal a través de una bomba de succión (este funcionamiento está descrito en la sección 1.5).

En el monitoreo en serie, es preciso instalar una bomba de succión por cada cámara, aumentando los costos, sin embargo, brinda una mayor precisión y una mayor facilidad de uso, el multiplexor determina el paso de muestra de los gases de los animales programados anteriormente en la computadora entre las cámaras y el aire ambiente (Concentraciones basales) (Figura 11).

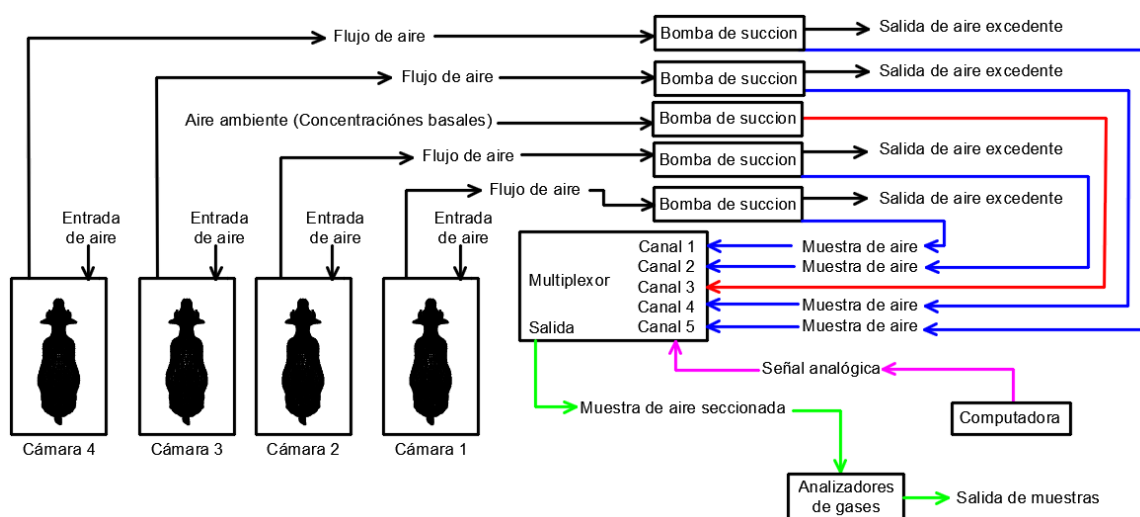


Figura 11. Cámaras conectadas en serie para grandes especies.

1.6 línea base

La línea base es la medición de las concentraciones del flujo de aire ambiente antes que entre a la cámara de respiración (Concentraciones basales), al atravesarla, interactúa con él con el metabolismo del animal y cambia las concentraciones de metano, dióxido de carbono y oxígeno

Para el cálculo neto de los gases antes mencionados, se deben conocer con precisión las concentraciones del aire entrante y saliente.

El objetivo, es obtener una secuencia de datos del intercambio de gases de uno o más animales. En las cámaras en serie, las muestras se envían a los analizadores de gases de forma independiente, las concentraciones basales se deben medir antes de la interacción del animal, por ejemplo, para 4 cámara se debe configurar el paso de muestra en la siguiente secuencia línea base, cámara 1, línea base, cámara 2, línea base, cámara 3, línea base, cámara 4 desde el multiplexor, la interrupción de las mediciones es inevitable y se recomienda ser lo más breve posibles y que no sobrepase de una hora por cada ciclo para minimizar su efecto perturbador.

Se tiene que determinar el tiempo de purga para limpiar el sistema de la muestra anterior medida, asegurando que los datos registrado no contenga residuos de las cámaras o del aire ambiente previamente medido.

1.7 Analizadores de gases

1.7.1 Analizadores Paramagnéticos de Oxígeno

En la tabla 7 se observan las reacciones que ocurren en los analizadores full cell para la cuantificación de O₂, utilizando celdas electroquímicas reemplazables. El oxígeno se difunde a través de la membrana frontal de Teflon y hasta el electrolito que oxida un ánodo de plomo.

Tabla 7. Reacciones el analizadores full cell para la cuantificación del oxígeno	
Reacción de cátodo	$O_2 + 2H_2O + 4e^- \rightarrow 4OH^-$
Reacción del ánodo	$2Pb + 4OH^- \rightarrow 2PbO + 2H_2O + 4e^-$
La reacción general	$O_2 + 2Pb \rightarrow 2PbO$

Por lo tanto, cada molécula de O₂ libera cuatro electrones. Esta pequeña corriente se detecta y se amplifica en los circuitos del analizador. Este analizador es sensible a la temperatura que contiene una matriz de compensación térmica basada en termistor para hacer que la salida de la celda sea nominalmente constante sobre la temperatura.

Algunas ventajas son que no se calienta a una temperatura alta y no contiene componentes que pueden ser perturbados por el flujo, se puede utilizar en un rango muy amplio de tasas de flujo, generalmente 10-2000 ml/min. Las desventajas son que las celdas de combustible tienen una duración aproximada de 2 a tres años, sin embargo no es difícil reemplazarlo, el tiempo de respuesta es muy lento a muy baja o muy alta concentraciones, por lo que usarlas por debajo del 1% o por encima del 95% no son recomendables pero es suficiente para grandes especies.

1.7.2 Analizadores de Metano y dióxido de carbono

Estos analizadores utilizan tecnología infrarroja, conocida como espectroscopia, la cuantificación se realiza utilizando las medidas de absorbancia, transmitancia y reflectancia definidas por la ley de Beer-Lambert que postula que la absorción de radiación a una longitud de onda determinada es directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente y al espesor de la muestra a analizar, esto permite determinar la concentración de los gases de metano y de dióxido de carbono (figura 12) [64, 65].

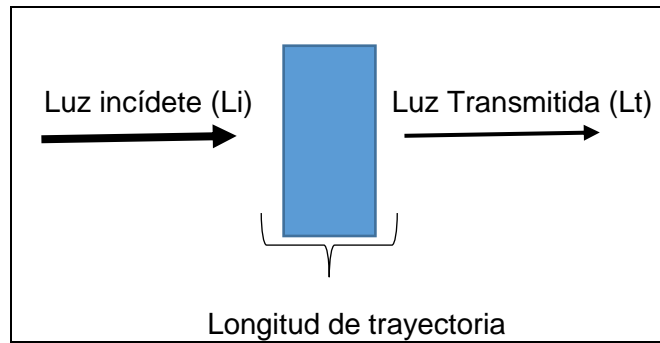


Figura 12. Muestra radiada con luz infrarroja

Esta ley se define por la ecuación:

$$A = \epsilon bc \quad \text{Ec 1}$$

dónde: A es la absorbancia, ϵ es el coeficiente de absortividad, b es la distancia que la luz debe pasar a través de la muestra, c es la cantidad de material de absorción en su trayectoria (concentración).

Los espectrómetros permiten medir la relación de intensidad de luz incidente y la luz transmitida se le conoce como transmitancia.

$$T = (I_T / I_i) \quad \text{Ec 2}$$

La absorbancia se relaciona con la transmitancia como se muestra en la siguiente ecuación:

$$A = -\log (T) \quad \text{Ec 3}$$

El procedimiento experimental para el análisis cuantitativo utilizando la ley de Beer-Lambert implica la preparación de una recta de calibrado que permita relacionar el valor de la absorbancia para determinar su concentración (Figura 13). Despejando $\epsilon \times b$ de la Ec.1 y se mide la absorbancia con concentraciones crecientes y conocidas por el instrumento.

$$\epsilon b = A/c \quad \text{Ec. 4}$$

A/c representa la pendiente de la curva de calibración y se representa con la siguiente ecuación:

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad \text{Ec. 5}$$

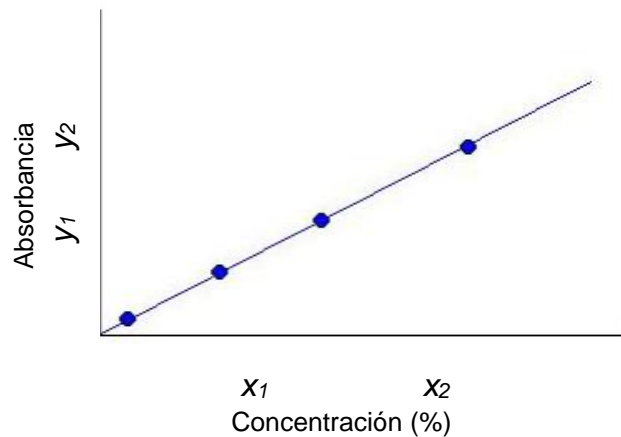


Figura 13. Curva de calibración

conociendo el valor de la pendiente se despeja y_2 .

$$y_2 = m (x_2 - x_1) + y_1 \quad \text{Ec. 6}$$

donde x_1 y y_1 es cero porque la recta de la ley de Beer - Lambert pasa por el origen, despejando x_2 . se obtiene:

$$x_2 = \frac{y_2}{m} \quad \text{Ec. 7}$$

donde y_2 es la rango de la diferencia de la absorbancia y x_2 es la concentración.

sustituyendo en la Ec. 5 en la Ec. 4

$$\epsilon \times b = m \quad \text{Ec. 8}$$

Sustituyendo en la Ec. 1

$$A = m \cdot c \quad \text{Ec. 9}$$

Despejando c

$$c = A/m \quad \text{Ec. 10}$$

La Ec. 7 y la Ec. 10 son la misma con términos diferentes donde: $x_2 = C$ y $y_2 = A$

El metano y dióxido de carbono se detectan en tres longitudes de onda (Tabla 8), la señal de vibración de las moléculas más intensa se presenta en una longitud de onda de 3002 y 2335 cm^{-1} respectivamente, que se encuentra en la región del infrarrojo medio (NIR) (Figura 12) [66-68] para cuantificarlo (Figura 14).

Tabla 8. Longitudes de onda.	
Molécula	Longitud de onda (Vibraciones) $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$
CO ₂	2235, 1313, 663 (2)
CH ₄	2898, 1512 (2), 3002 (3)

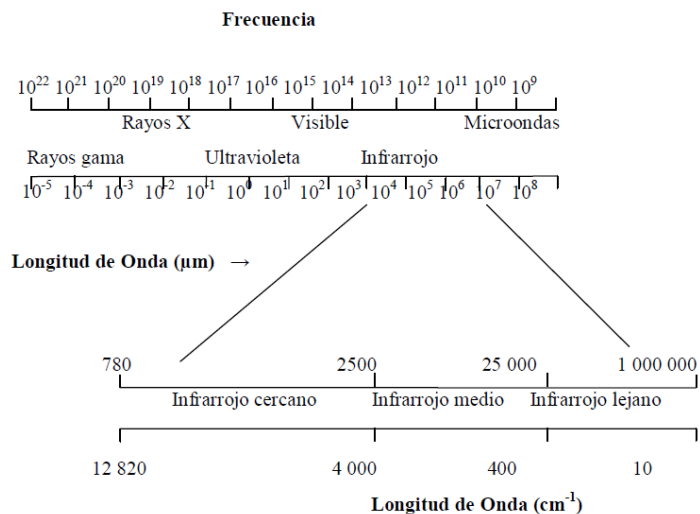


Figura 14. Divisiones de la región infrarroja.

1.8 Vapor de agua

El vapor de agua está presente en el aire ambiente y en la cámara de respiración producida por el animal aumentándola (explicada en la sección 1.3.1), por lo tanto, es necesario eliminar su contribución al caudal total del flujo de aire extraído, el efecto de dilución en el oxígeno y la interferencia que tiene este en toda la región del infrarrojo medio para el metano y dióxido de carbono.

Para este objetivo, existen dos opciones los desecantes químicos, para eliminar la humedad en la muestra y los analizadores basadas en la humedad relativa y la presión barométrica para cuantificarlo y posteriormente corregir los datos.

1.8.1 Desecadores químicos

1.8.1.1 Drierite

Drierite es el nombre comercial del sulfato de calcio granular. Es un excelente desecante a bajas tasas de flujo, se recomienda usar a un tamaño de grano 8 Mesh, cambia de azul a rosa cuando esta hidratado por la mezcla del cloruro de cobalto y se regenera calentándola en 2 horas entre 200 y 220 ° C., sin embargo, tiende a adsorber CO₂ de forma reversible, en conclusión, si en la medición se tiene que cuantificar el gas anteriormente mencionado, la drierita debe evitarse, sin embargo en muchos laboratorios lo utilizan.

1.8.1.2 Silica gel

La silica gel se forma cuando se agrega ácido sulfúrico al silicato de sodio. El coloide se lava, seca y formado en gránulos vidriosos, puede absorber mucha agua (hasta 40% de su peso), no es muy efectivo para reducir vapor de agua en las muestras, además, su eficiencia cae rápidamente a temperaturas mayores de 25 ° C y funciona más eficientemente a altas humedades, por lo que la capacidad de secado de una columna de gel de sílice disminuye rápidamente mientras el gas se vuelve más seco. Cuando está completamente saturado puede requerir hasta 6 h para secarse por completo. Por lo anterior no es recomendable para este tipo de medición.

1.8.1.3 Perclorato de magnesio

El perclorato de magnesio es un desecante eficaz y puede ser regenerado como lo describe Willard y Smith (1922) [69] pero el proceso no es muy recomendado para uso de laboratorio contante. Sin embargo no absorbe el dióxido de carbono.

La principal desventaja es que es extremadamente oxidante y por lo tanto reacciona vigorosamente con muchos materiales comunes, incluyendo la piel y no está disponible comercialmente. Durante el uso regular, una columna de perclorato de magnesio lentamente comienza degradarse, convirtiéndose en polvo y dañara los analizadores de gases, este desecador tiene una alta capacidad de captación de vapor de agua. Se debe desecharse de acuerdo con las normas locales regulaciones; no tirarlo a la basura porque el ion perclorato se considera contaminante ambiental significativo y persistente.

1.8.2 Analizadores de vapor de agua

Estos funcionan bajo la ley de Dalton de presiones parciales establece que la presión total ejercida por una mezcla de gases es igual a la suma de las presiones parciales de los gases como resultado de la presión total de la mezcla de ellos [70]

$$P_T = P_1 + P_2 + P_3 + P_{\dots\dots\dots} \quad \text{Ec. 11}$$

Bajo esta ley, el efecto de dilución del vapor se puede compensar el efecto de la dilución del vapor del agua, conociendo la presión parcial del gas antes mencionado y la presión total de todas las especies gaseosas presentes, también conocida como presión barométrica [71]

En la actualidad hay instrumentación que puede medir la presión parcial del vapor de agua con suficiente precisión para hacer que esta técnica sea factible, y de hecho, mejorar la precisión de las técnicas tradicionales [72].

La presión del vapor de agua se mide con buena precisión que cuantifica simultáneamente la humedad relativa y la temperatura del sensor de humedad relativa. Al calcular la presión de vapor de agua saturada correspondiente a la temperatura del sensor y al multiplicar esa cifra por la actividad del vapor de agua (= humedad relativa / 100), la presión parcial del vapor de agua puede medirse con buena precisión.

La calibración de este tipo de sensor se puede establecer con la ayuda del analizador de oxígeno, inficionando el aire ambiente con un desecador químico permitiendo que la presión de vapor de agua se situé en cero y la concentración registrado sea de 20.95 que es muy constante en el ambiente (Oxígeno seco) [60, 71, 73], después de unos minutos se retira el desecante, accediendo la humedad y como consecuencia el oxígeno disminuye por la dilución, lo anterior permite calcular la presión de vapor de agua ambiente por la siguiente fórmula:

$$WVP = BP \frac{Fi'O_2 - FiO_2}{Fi'O_2} \quad Ec\ 12$$

donde WVP es la presión de vapor de agua (KPa), BP es la presión barométrica (KPa), $Fi'O_2$ y FiO_2 son las contracciones del oxígeno seco y húmedo (%) respectivamente.

1.8.3 Bombas de extracción de aire

1.8.3.1 Bombas volumétricas

En este tipo de instrumentos, es necesario que los caudales volumétricos se conviertan en tasa de flujo molar corrigiendo a volumen y presión estándar con la siguiente fórmula:

$$STPFR = FR \left(\frac{BP}{BPS} \right) \left(\frac{TS}{T} \right) \quad EC 13$$

STPFR es el flujo corregido a STP (Precio y temperatura estándar), FR es el flujo no corregido, BP y T es la presión barométrica (KPa) y la temperatura dentro de la cámara de respiración que tiene que ser registrado contantemente, BPS y TS es la presión barométrica estándar (101.325 KPa) y la temperatura estándar (273,15 K) [71].

1.8.3.2 Medidores de flujo de masa

Estas bombas cuantifican la masa molar del aire que pasa a través de ellos, midiendo las velocidades de flujo en volúmenes corregidos a temperatura y presión estándar de 273.15 K y 101.325 kPa (STP), básicamente no se ven afectados por fluctuaciones de temperatura o presión, registrando el flujo corregido (STPFR), este tipo de instrumentos contienen una salida analógica o digital que se puede grabar junto con otros datos [74].

1.9 Cálculos y correcciones para el oxígeno dióxido de carbono y metano

Para calcular las cantidades de gases consumidos o producidos por el animal, es necesario utilizar los registros del aire ambiente éntrate (concentraciones basales) y el saliente de las cámaras de reparación, si el sistema tiene conectado un analizador de vapor de agua es necesario es necesario corregirlo para que el vapor de agua no perturbe los datos con la fórmula 12 (Tabla 9) en caso de utilizar un desecador químico lo anterior no es necesario porque las muestras ya se

registraron en seco es decir que la presión de vapor de agua es cero (WPB), lo mismo ocurre con el flujo de la extracción de aire (Ec 20)

Tabla 9. Fórmulas de corrección por vapor de agua			
Gases entrantes	Ec	Gases Salientes	Ec
$F_E O_2 = F_{EH} O_2 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	14	$F_S O_2 = F_{SH} O_2 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	15
$F_E CO_2 = F_{EH} CO_2 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	16	$F_S CO_2 = F_{SH} CO_2 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	17
$F_E CH_4 = F_{EH} CH_4 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	18	$F_S CH_4 = F_{SH} CH_4 \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right)$	19

Donde F_E son las Fracciones Entrada secas, F_{EH} son las fracciones de entrada en presencia de vapor de agua, F_S las fracciones de salida secas y F_{SH} son las fracciones de salidas en presencia de vapor de agua

de cada gas.

$$FR = FR_H \left(\frac{PB-WVP}{PB} \right) \quad Ec\ 20$$

Donde FR es la velocidad del flujo seco, y FR_H es la velocidad de flujo en presencia de vapor de agua

Para calcular los gases dentro de las cámaras VO_2 , VCO_2 y VCH_4 se utilizan las formulas del 21 al 24

$$VO_2 = -FR \left[\Delta O_2 + \frac{F_E O_2 (\Delta O_2 + \Delta CO_2 + \Delta CH_4)}{F_E N} \right] \quad Ec\ 21$$

$$VCO_2 = FR \left[\Delta CO_2 + \frac{F_E CO_2 (\Delta O_2 + \Delta CO_2 + \Delta CH_4)}{F_E N} \right] \quad Ec\ 22$$

$$VCH_4 = FR(F_S CH_4 - F_E CH_4) \quad Ec\ 23$$

Si $F_E CH_4$ es cero

$$VCH_4 = FR F_S CH_4 \quad Ec\ 24$$

Donde:

$$\Delta O_2 = F_S O_2 - F_E O_2 \quad \text{Ec 35}$$

$$\Delta CO_2 = F_S CO_2 - F_E CO_2 \quad \text{Ec 36}$$

$$\Delta CH_4 = F_S CH_4 - F_E CH_4 \quad \text{Ec 27}$$

Capítulo 2

Materiales y métodos

2.1 Sistema de las cámaras de respiración.

Los experimentos realizados para este trabajo se ejecutaron en 2 cámaras de respiración, construidas en los corrales del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, México y diseñadas bajo el principio de la calorimetría indirecta de circuito abierto (Lighton, 2008; Pinares y Waghorn, 2012) para albergar bovinos con un peso máximo de 350 Kg., que brinda confort en términos de espacio, humedad relativa y temperatura, que cumplen con las normas del bienestar animal para el tratamiento experimentación en México, donde se permite la entrada del aire externo a la cámara donde se mezcla con los gases que exhala el animal y luego se extrae mediante una bomba de extracción de aire a través de una salida hacia el analizador de gases donde se cuantifica. Este sistema consiste en tres partes principales: 1) cámaras de respiración, 2) unidades de muestreo y análisis de gases y 3) captura y análisis de datos.

2.1.1 Cámaras de respiración

Las 2 cámaras fueron con paneles térmicos de 300 mm, (hojas de poliuretano forradas con láminas de 3mm), con dimensiones de 300 cm de longitud, 214 cm de altura, 144 cm de ancho y un volumen interno 9,97 m³, ensamblado con tornillos troz de cabeza hexagonal de 10 x 25 mm (diam. y largo) y selladas con pasta de poliuretano (Construflex®, Multiaccesorios Monterrey SA De CV), La puerta delantera y trasera se montaron con bisagras plegables de acero inoxidable(Calce-

Laminite®), en los laterales frontales se situaron ventanas de acrílico de 6 mm de espesor de 1670 x 1026 mm (largo y ancho) para facilitar la observación del animal. En el interior de cada cámara se dispone de una jaula de contención con espacio suficiente para permitir el confort del animal, un comedero portátil, una lámpara de ahorro de energía de 20 Watts (MOD: FH-E20, High Power, China), un bebedero de tazón con un sistema automático de suministro de agua, para homogenizar el aire entrante y los gases exhalados por el animal o liberados desde un cilindro para la calibración, se instaló un ventilador de 30 cm de diámetro en la parte superior delantera izquierda, un aire acondicionado de 12000 unidades térmicas británicas (Mirage EXF121D, Bristol International SA de CV) y un deshumificador (Green Soleusa Air, Excell Industries-Miami Florida USA) que ayudan en la mezcla de dichos gases, un manómetro (Heavy Duty Series 407910, Extech Instruments Corporation, USA), un sensor de temperatura (Steren, Ter-100), , en la parte trasera inferior contiene un drenaje para la recolección de heces y orina.

El suministro de aire y la presión dentro de la cámara fue controlada con un tubo y una llave de media vuelta de PVC (cloruro de polivinilo) de 75 mm de diámetro, ubicado en la pared superior frontal, el aire se extrajo a través de una manguera industrial flexible (50 mm de diámetro) situado en la parte trasera del techo hasta la unidad de muestreo, forrada con Aislaflex (Proflex®, Armacell USA) para aislarlo de los factores de estrés ambiental e introducido en un tubo de PVC de 100 mm de diámetro para mantenerlo rígido (Figura 15)

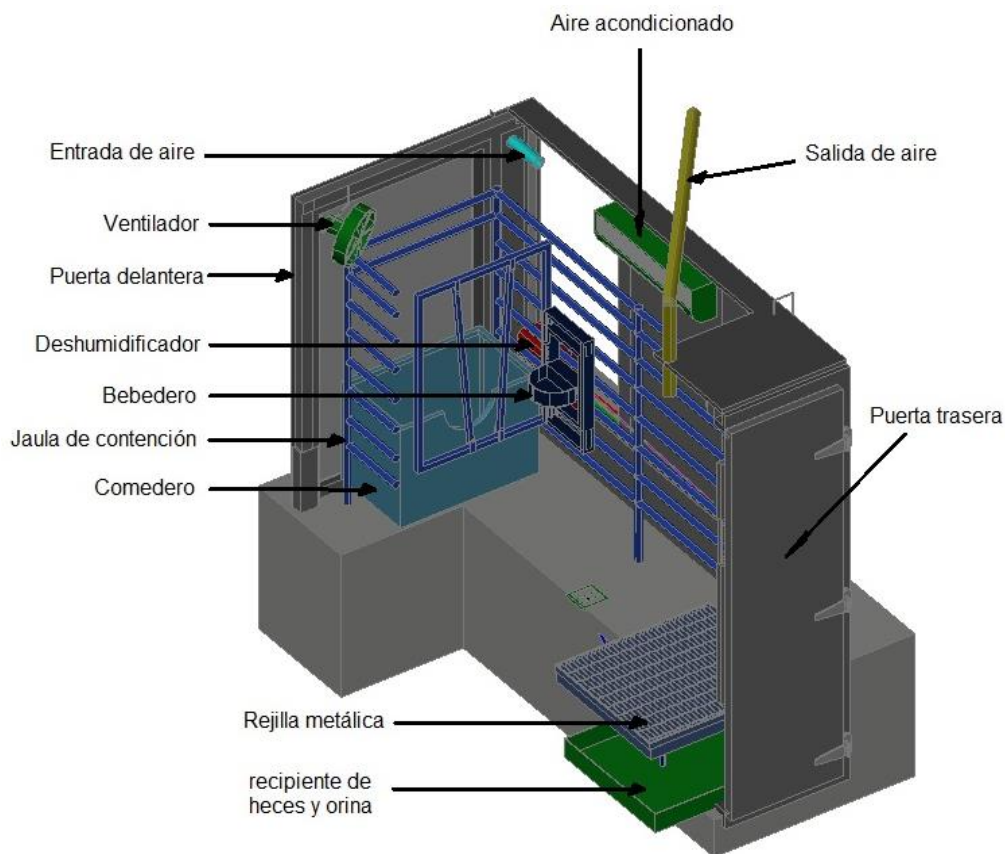


Figura 15. Vista trasera con un corte transversal y longitudinal de la cámara de respiración ensamblada y equipada en el departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, México, con un volumen interior de 9,97 m³

2.1.2 Unidad de muestreo y análisis de gases

Cada cámara esta provista de una salida de aire como se mencionó en la sección anterior y fue extraído continuamente por una bomba rotatoria sellada conectada a un regulador de flujo de masa (modelo FlowKit FK-500, Sable Systems International, Las Vegas, NV, EE. UU.) pasando por un filtro (Sable System International, Las Vegas, NV) para evitar el paso de partículas de alimento y polvo, las dos cámaras compartieron un sistema en común de la unidad de muestreo y análisis de gases, El paso de muestra de cada cámara y del aire ambiente fue

controlado por un multiplexor (RM8 Intelligent Multiplexer, Sable Systems International, Las Vegas, NV) explicado en la previamente programado, que fueron obtenida en el medidor flujo de masa (el aire excedente fue enviado a la atmosfera) y con una bomba de submuestreo de diafragma (SS-4 Sub-Sampler Pump) respectivamente, a una tasa continua controlada por un rotámetro (Omega, FC-2011) a 0.2 LPM y son enviadas hasta el analizador de metano que funciona bajo el principio infrarrojo (MA-10 Methane Analyzer, Sable System International Las Vegas, NV) con un rango de lectura de 0.001 a 5% con tubo semirrígido de nylon de alta resistencia (Parker Parflex PE ¼ O.D x .040 wall, NSF-51 type 1), cada línea de muestra pasa por un filtro de humedad (Laboratory gas drying, No. 26800) con drierite de 8 mesh de tamaño de partícula con indicador de color (W.A. Hammond Drierite Company, LTD), los cilindros de calibración de nitrógeno ultra puro (Praxair, EE.UU) y el gas de referencia de metano con $991 \pm 0.30 \mu\text{mol/mol}$ diluido en nitrógeno (Praxair, EE.UU, con un factor de confiabilidad de $K=2$) se utilizaron para velicar y corregir la calibración del sensor de metano, cada cilindro fue conectado a un regulador de presión (Concoa, 109-6504) y las muestras se envían hasta el analizador de metano pasando por el multiplexor (figura 16).

2.1.3 Unidad de captura y análisis de datos

En esta sección el interfaz recibe las señales de la unidad de muestreo, provenientes los medidores de flujo de masas y del analizador de metano, para después enviarlos a la computadora, para registrar el flujo de extracción de aire en L/min y del metano de las líneas de muestras de cada cámara, el aire ambiente y de los cilindros de calibración en porcentaje, en tiempo real para analizar los datos

en el programa ExpeData, este software también permite establecer el tiempo de paso de la muestra de cada línea y el tiempo de purga, enviando los comandos hasta el multiplexer,

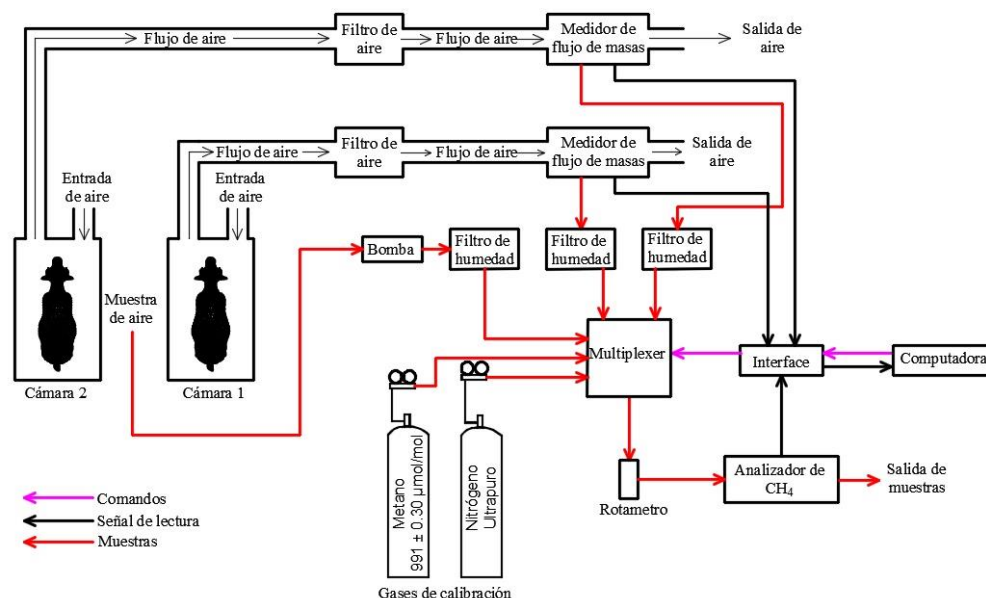


Figura 16. Esquema de las cámaras de respiración de circuito abierto para las mediciones de metano en el ganado de la Universidad de Yucatán, Mérida, México

2.2 Calibración y validación del analizador de metano infrarrojo

Antes de cada experimento se verifico y/o calibro el analizador de metano (figura 17) realizando los siguientes pasos.

- 1 Se inyectó nitrógeno ultrapuro a través del analizador del metano a una presión máxima 200 Pa y a un flujo entre 0.2 y 0.4 L/min, hasta que la lectura se mantenga estable.
- 2 Girar la perilla “mode” hasta que aparezca “[ENTER] = cero CH₄” en la pantalla y pulsar “enter” 2 veces.

3. Después se Inyectó el gas estándar de calibración de metano, a través del analizador con las mismas condiciones del nitrógeno hasta que la lectura en la pantalla aumente hasta que se estabilice.
4. Girar el botón “mode” hasta que aparezca "ADJUST CH4 SPAN" en la pantalla.
5. Girar la perilla “adjust” hasta que el valor de la segunda línea coincida con la concentración del gas del gas de referreincia de metano registrado en la etiqueta en porcentaje, para este trabajo fue de $991 \pm 0.30 \mu\text{mol/mol}$ ($0.0991 \pm 0.003 \%$)
6. Se presiona “enter”.

El paso de las muestras pasa a través del multiplexor controlándolo manualmente desde la Unidad de captura y análisis de datos (figura 18).



Figura 17. Analizador de metano infrarrojo

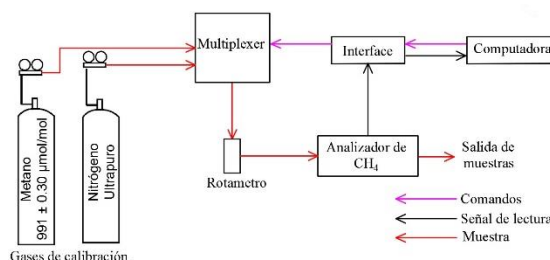


Figura 18. Esquema del sistema de suministro de los gases para la calibración del analizador de metano con Nitrógeno y el gas de referencia de Metano.

2.3 Validación del sistema de cámaras de respiración

Para la calibración del sistema de las cámaras de respiración, se tomó como referencia el artículo de Gardiner et al. (2015) [28], poniendo a prueba el tiempo de respuesta, la precisión y la estabilidad de la meseta donde se consideraron tres

componentes principales: el analizador de metano, el sistema de flujo de extracción de la conducción de aire (ducto) y la propia cámara.

2.3.1 Eficiencia de analizador de metano

El analizador de metano se evaluó inyectando alternadamente el aire ambiente y el gas de referencia de calibración ($991 \pm 0.30 \mu\text{mol/mol}$), intercambiando el paso de las muestras a través del multiplexor previamente programado en la Unidad de captura y análisis de datos, regulando el caudal 0.2 L/min y la presión a 0.5 bar (Figura 19) esto permitió que el analizador las registre cada 10 segundos sin interrumpir el flujo en el programa ExpeData.

La inyección del gas de referencia se inició a los 3 minutos y terminó a los 10 minutos, la concentración basal se determinó con infusión del aire ambiente tomando las lecturas de los primeros 3 minutos. El tiempo de respuesta T_{90} se definió como “el tiempo necesario para alcanzar el 90% de la lectura estable (meseta) cuando la muestra se cambió del aire ambiente al gas de referencia” y el T_{100} como “el tiempo del retorno a la concentración basal cuando se cierra la inyección del gas de referencia” de acuerdo con EN 15267-3 [75], la estabilidad de la meseta se obtuvo como el porcentaje del nivel de ruido 1σ de la lectura estable durante el periodo de 1 min y el factor de calibración se calculó con el promedio de la meseta de 5 minutos y el gas de referencia, tomando las lecturas después de $3 \times T_{90}$. La linealidad de la respuesta del analizador en el rango de medición está dado por el valor R^2 de una regresión lineal ajustado a los datos de calibración variando el patrón de referencias utilizando un total de 4 cilindros con concentraciones

diferentes de $991 \pm 0,30$, 2508 ± 75 , 5036 ± 151 y 7495 ± 225 $\mu\text{mol} / \text{mol}$ (Praxair, México) con trazabilidad certificada con una incertidumbre del 0,3% (factor de cobertura de $k = 2$,) (Figura 20), intercalado con el aire ambiente

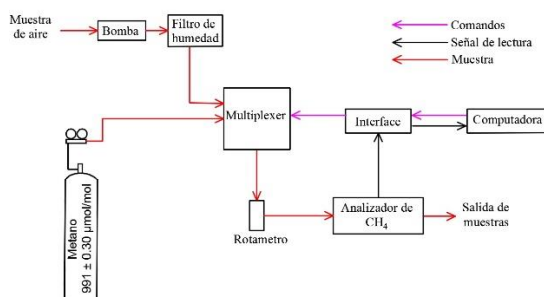


Figura 19. Esquema del sistema para la evaluación del analizador del metano inyectando el aire ambiente y el gas de referencia de metano

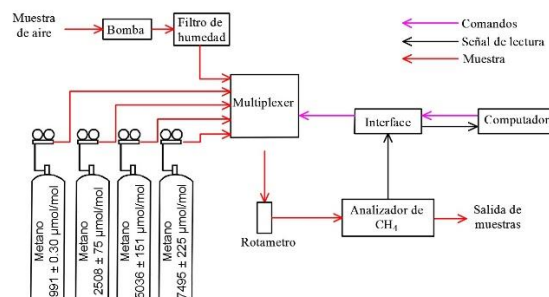


Figura 20. Esquema del sistema de suministro de gas utilizado para probar la respuesta del analizador de metano

2.3.2 Prueba de eficiencias de los ductos de aire y de las cámaras de respiración

La eficiencia de la conducción del aire y de la cámara, se determinó liberando el gas de referencia de grado 3.7 ultrapuro con $99.97 \mu\text{mol/mol}$ de metano, nitrógeno, (Praxair, EE.UU), ajustándolo a una presión con un regulador a 60 Kpa y el flujo con un rotámetro 0.25 L/min (Prostar, PRS403223) para simular el intercambio del metano producido por el animal.

Los factores de calibración se calcularon con la cantidad de metano (g) liberado por gravimetría, considerando una densidad de metano de $0.7162 \text{ g} / \text{L}$ [63] y la detectada por el sistema de medición (analizador) explicado en la. Las condiciones durante las pruebas de recuperación se mantuvieron constantes a una temperatura de 25°C , humedad relativa de 55%, caudal de extracción de aire

desde la cámara de 450 L / min y una ligera presión negativa de entre de 137.9 y 551.9 Pa por debajo de la presión ambiental, lo que se considera apropiado para ganado adulto.

La conducción de aire se puso a prueba mediante la liberación del metano ultrapuro a la salida del ducto aislándolo de la cámara (figura 21). El factor de calibración fue calculado después de descartar las pérdidas del analizador de metano. Para el último componente (cámara), se liberó metano de alta pureza dentro de la cámara a una altura similar a la cabeza de una vaca. La cantidad del gas de referencia del metano ultrapuro liberado en la cámara fue capturado por el sistema de muestreo, el factor de calibración se calculó para cada cámara, después de descartar pérdidas del analizador y en la conducción de aire extraído (errores acumulativos) (figura 22). Esto permitió la evaluación de la eficiencia de la recuperación de metano de la cámara de respiración en forma aislada de otros factores. En esta etapa, también se logró el cálculo del factor de calibración del sistema completo.

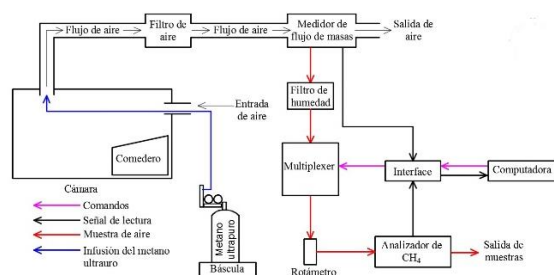


Figura 21. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro utilizado para probar la eficiencia en el ducto de extracción de aire

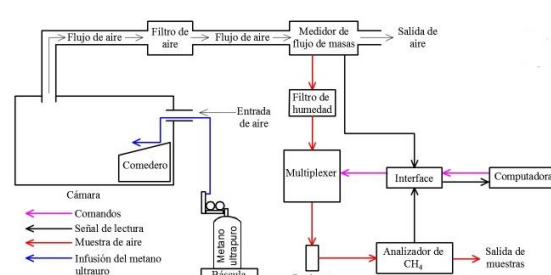


Figura 22. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro para probar la eficiencia de la cámara de respiración y del sistema

Para los procedimientos de recuperación de metano tanto de conductos como de cámara, se determinó la concentración basal antes de comenzar la liberación de metano de alta pureza, el tiempo de respuesta T_{90} definido como “el tiempo necesario para alcanzar el 90% de las lecturas estables, cuando se liberó metano de alta pureza” y el T_{100} como “el tiempo necesario para que las lecturas vuelvan a la concentración basal cuando se detuvo la infusión del metano de alta pureza (cierre del cilindro). La estabilidad de la meseta se consideró como el porcentaje del nivel de ruido 1σ de las lecturas estables durante el período de 10 min para la conducción de aire ambiente y de 30 min para la cámara, tomando las lecturas después del período $3 \times T_{90}$.

2.3.3 Eficiencia del sistema simulando el volumen de un bobino

Para verificar un posible efecto de la presencia de vacas (es decir, el volumen) dentro de una cámara de respiración, se puso a prueba el sistema introduciendo una vaca de fibra de vidrio con un volumen de 778.1 L (0.7781 m^3), forrado con plástico delgado (nylon) e inficionando el gas de referencia de metano ultrapuro para determinar la eficiencia, con las mismas condiciones que en la sección anterior (figura 23 y 24).



Figura 23. Vista de la vaca inerte de fibra de vidrio dentro de la cámara de respiración para mediciones del efecto del volumen dentro de una cámara.

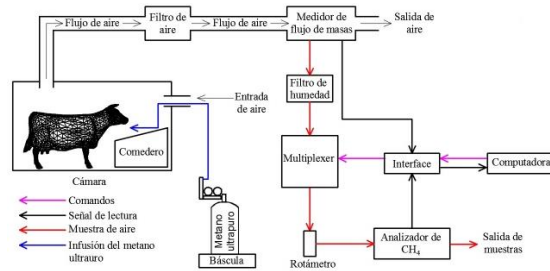


Figura 24. Esquema del sistema de suministro de gas metano ultrapuro para probar la eficiencia del sistema de cámaras de respiración con una vaca inerte de fibra de vidrio introducido.

2.3.4 Eficiencia del sistema aumentando la infusión del metano ultrapuro dentro de las cámaras de respiración

En cada cámara de respiración de circuito abierto se liberó el metano ultrapuro a volúmenes aproximados de: 168.5, 194.9, 234.9, 264.9, 301.0, 339.8 y 375.7 L de CH₄/día con tres réplicas. Cada corrida duró un promedio de 5 horas con las mismas condiciones que en la sección 2.3.2 con una tasa de extracción de aire de 300 L/min y con una ligera presión negativa previamente mencionada

En el registro de las recuperaciones del sistema se definieron los tiempos de respuesta que es el efecto dinámico físico al liberar metano de alta pureza dentro cada cámara, desde el inicio de la infusión hasta que se estabilice el metano recuperado (meseta) y al terminar la inyección, especificándolos detalladamente en tres: T_{on} “se define como el tiempo desde el inicio de la liberación del gas de referencia hasta el registro de la primera lectura en min”; T₁₀₀ “es el tiempo transcurrido desde la primera lectura hasta alcanzar la estabilidad de la meseta en min”. y T_{off} “es el tiempo necesario para regresar de la meseta a la concentración

de fondo después de detener la liberación de metano puro del cilindro de gas en min”.

2.4 Cuantificación del CH₄ entérico

2.4.1 Adaptación de los animales al confinamiento

Los dos toros de la raza Nelore con un peso de 305 y 350 kg, se introdujeron en los corrales y se les colocó un bozal para poder manejarlos fácilmente, después se trasladaron a las jaulas de contención externas con las mismas características que de las cámaras. Posteriormente, se trasladaron a las cámaras de respiración con las puertas abiertas y finalmente con puertas cerradas, en cada etapa se alimenta con 30 kg de materia fresca (pasto Taiwán) y se reubican hasta que su consumo fue del 3% del peso vivo de cada animal, este proceso duró 90 días

2.4.2 Proceso de la medición de metano entérico

El proceso se realizó con 4 animales de la raza Holstein en periodos de 2 días por 23 horas de 9:00 de la mañana a 8:00 del día siguiente alimentados con 49% de forraje, 28% de Maíz, 14% de pasta de soya, 8.19% de melaza y 0.81% de minerales (Calcio y Fósforo).

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Calibración del analizador de metano infrarrojo

En la figura 25 se muestra la respuesta del analizador de metano de una corrida al inyectar el gas de referencia de $991 \pm 0.30 \mu\text{mol/mol}$ metano y el aire ambiente.

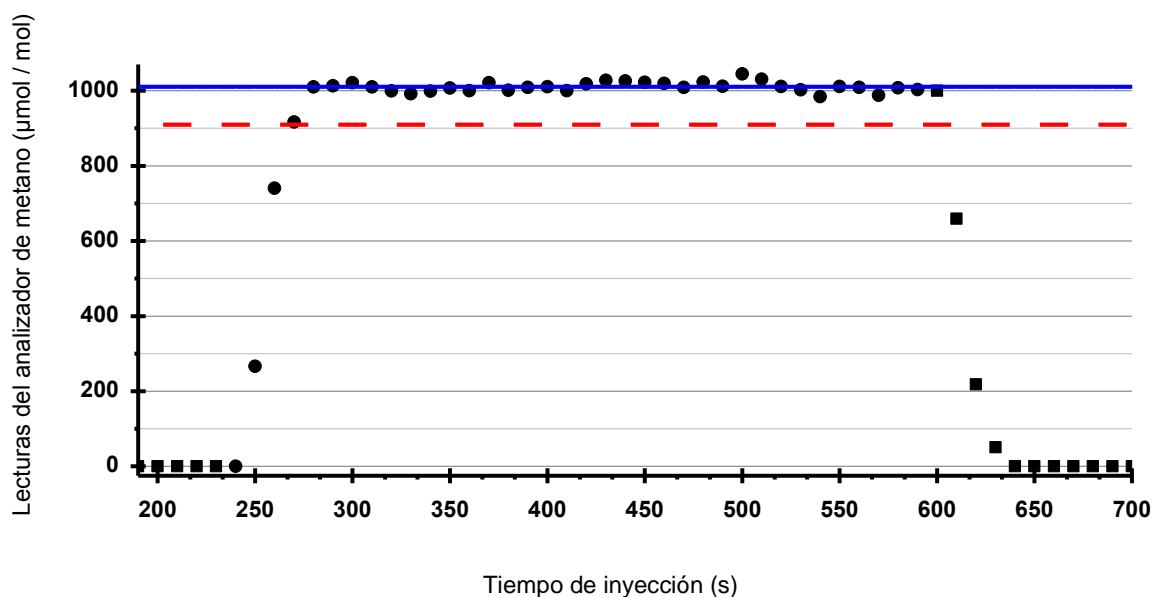


Figura 25. Grafica de una corrida de la respuesta del analizador de metano al aire ambiente y al gas de referencia (metano) registrado cada 10 s. Los cuadros negros es la infusión del aire ambiente, los puntos negros es el gas de referencia (metano), La línea continua azul muestra el nivel de lectura de meseta lecturas de meseta, la línea punteada muestra el valor del 90% de la lectura de meseta.

El factor de calibración del analizador de metano para este experimento después de 12 repeticiones, fue de 1.022 ± 0.014 , con una estabilidad de 1.48%, el tiempo de respuesta T_{90} fue de 39.33 ± 3.85 segundos, mientras que el tiempo de retorno T_{100} fue 50 segundos. En el rango de medición del analizador de metano inficionado con las diferentes concentraciones (991 ± 0.30 , 2508 ± 75 , 5036 ± 151

y $7495 \pm 225 \text{ } \mu\text{mol} / \text{mol}$), teniendo una la respuesta con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.995 en todas las pruebas. Estos resultados son similares a los descritos por Gardiner et al. [28] en sus 6 instalaciones en el Reino Unido (Tabla 10), excepto en la estabilidad de meseta como se muestra en la figura 26.

Tabla 10. Resultados de la calibración de los analizador de metano en las 6 instalaciones del Reino Unido reportado por Gardiner et al. [28]					
Instalaciones	Concentración del gas inyectado	Factor de calibración	Estabilidad de la meseta	Tiempo de respuesta (T_{90})	R^2
	($\mu\text{mol} / \text{mol}$)	(%)	(%)	(s)	
A	500	0.987 ± 0.018	0.11	37	0.9999
B	100	1.040 ± 0.040	0.93	34	0.9999
C	50	0.978 ± 0.166	0.34	38	0.9999
D	100	1.086 ± 0.150	0.63	35	0.9965
E	200	1.008 ± 0.048	0.57	29	0.9995
F	500	0.995 ± 0.026	1.01	26	0.9999

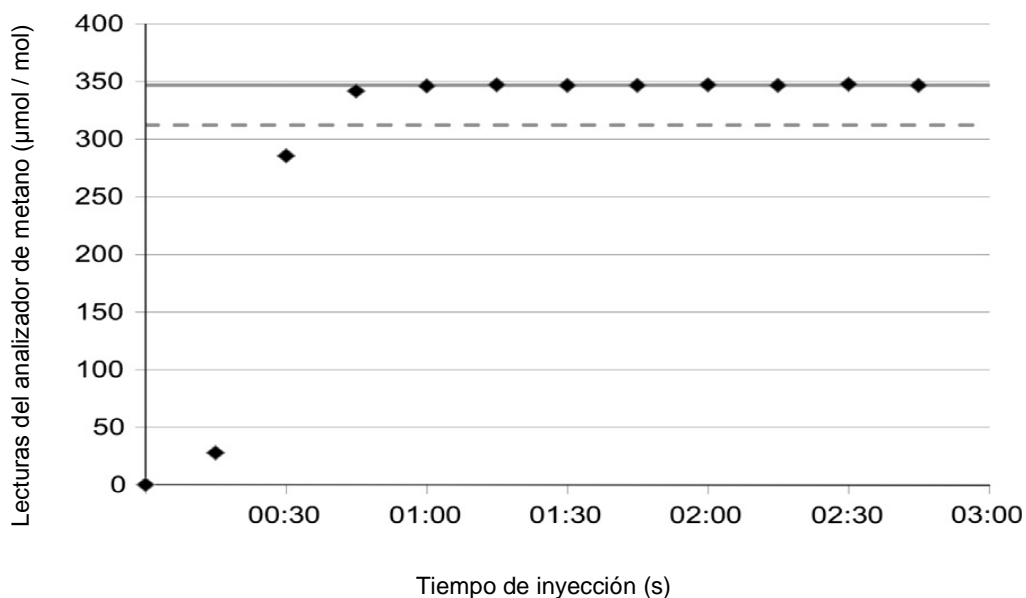


Figura 26. Grafica de una corrida de la respuesta de un analizador de metano al inyectar el gas de referencia (metano) registrado cada 10 s en el Reino Unido reportado por Gardiner et al.[28]

Esto probablemente fue porque los cilindros de gas metano utilizados en este estudio tuvieron una mayor variabilidad en la concentración (incertidumbre) que los cilindros utilizados en los seis laboratorios evaluados en el Reino Unido, estos datos de calibración respaldan las especificaciones de precisión y exactitud del analizador de metano declaradas por el fabricante, que tiene suficiente sensibilidad para la medición precisa de las muestras provenientes de cada cámara y del aire ambiente.

3.2 Eficiencia del ducto

En la figura 27 se muestra la curva de registros de metano cada 20 segundos y en la tabla 11 los resultados de la eficiencia de los conductos con 5 repeticiones para cada cámara.

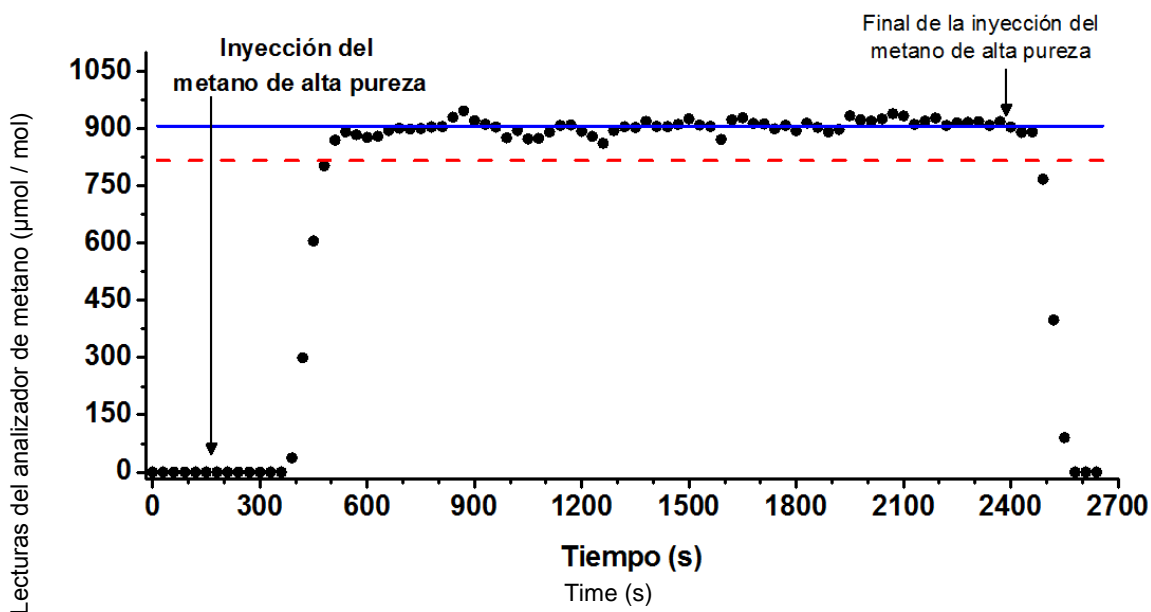


Figura 27. Grafica de una corrida de la respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza directamente en el conducto desde el minuto 5 hasta el 40 continuamente. La línea continua muestra las lecturas en meseta, y la línea discontinua representa los valores en el 90% de las lecturas en la meseta.

La estabilidad de la meseta representa el nivel de ruido en la lectura estable de la meseta (como porcentaje del valor de meseta), el tiempo de respuesta T_{90} representa el tiempo desde la concentración basal hasta alcanzar hasta el 90% de la meseta y T_{100} es el tiempo para volver de la estabilidad de la meseta a la concentración basal después de detener la inyección de metano de alta pureza desde el cilindro.

Tabla 11. Respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza en el ducto de cada cámara

	Factor de calibración	Estabilidad de la meseta (%)	T_{90} Respuesta (s)	T_{100} Respuesta (s)
Ducto cámara 1	0.90 ± 0.04	2.09	96.15	240.55
Ducto cámara 2	1.02 ± 0.05	2.01	153.35	260.35

Los resultados de los factores de calibración están influenciados por las pérdidas en la conducción del flujo de aire a través de filtros de polvo, curvas del conducto y el posible efecto de la longitud (metros) del conducto (distancia desde la cámara al analizador), diámetro del conducto y la aspereza de la superficie del conducto en sí. Estos factores restringen la mezcla homogénea del metano de alta pureza inyectado y el aire extraído. El generador de flujo másico permitió el ajuste del flujo, el muestreo del aire y la inyección de metano de alta pureza en el interior del conducto, aislándolo de la propia cámara, restando importancia a la corrección de densidad, temperatura y humedad relativa de la muestra de aire, [71]. Los resultados de la eficiencia de los conductos muestran que la mayor fuente de incertidumbre en el sistema radica en la medición del flujo y el conducto de la muestra desde las cámaras hasta el analizador de metano. Esto concuerda con los

resultados previamente reportados por Gardiner et al. [28]. Como se muestra en la figura 28 en donde la eficiencia del ducto de la instalación D no fue posible medirlo.

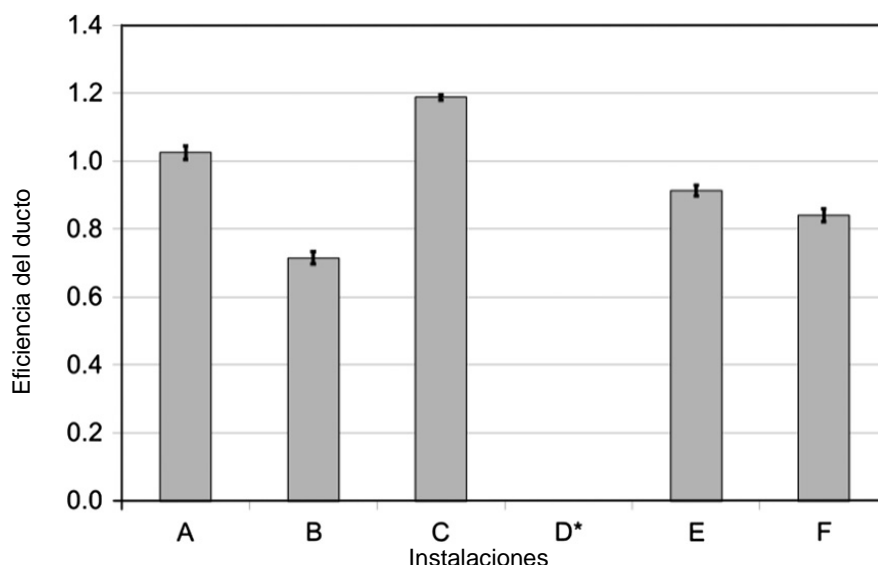


Figura 28. Resultados de la eficiencia del ducto en la 6 instalaciones instaladas de reino unido reportadas por Gardiner et al.[28]

3.3 Eficiencia de las cámaras

En la tabla 12 se muestran los resultados para cada cámara a la inyección del gas de referencia registrado cada 5 minutos. La estabilidad de meseta indica el nivel de ruido en las lecturas de la meseta estable (como porcentaje del valor de meseta), el tiempo de respuesta T_{90} es el tiempo transcurrido desde la concentración basal hasta alcanzar el 90% de la meseta estable, y T_{100} es el tiempo necesario para regresar de la meseta volver a la concentración basal después de detener la inyección de metano de alta pureza en el sistema.

El volumen de cámara y el flujo de aire de intercambio mostraron un tiempo de respuesta T_{90} y T_{100} más lento que en el ducto de extracción de aire, permitiendo

que cualquier perturbación tendera a suavizarse, es decir que existe una variación significativa entre el volumen de la cámara y los flujos de intercambio de los gases liberados en las cámaras. que impulsa los tiempos de respuesta permitiendo una meseta más estable.

Tabla 12. Respuesta del analizador de metano a la inyección de metano de alta pureza cada cámara				
	Factor de calibración	Estabilidad de la meseta (%)	T ₉₀ Respuesta (min)	T ₁₀₀ Respuesta (min)
Cámara 1	1.03 ± 0.05	2.01	58.27	37.46
Cámara 2	0.99 ± 0.02	2.16	64.31	48.52

Las estabilidades de las mesetas de los ductos y de las cámaras, están influenciadas por el funcionamiento del aire acondicionado y deshumificador, su funcionamiento no es continuo, teniendo un tiempo de descanso o pausa para mantener la temperatura y la humedad previamente programada respectivamente, al activarse, la velocidad del aire dentro de las cámaras que ingresa en los aparatos es mayor que la que expulsa aumentando la presión negativa a 551.9 Pa. y al desactivarse disminuye a 137.9 Pa., esta variación es reflejado en el registro del aire extraído de las cámaras que fue de 299.98 ± 7.58 y 298.47 ± 7.40 L/min (2.53 y 2.48%) para la cámara uno y cámara dos e influye en la lectura en la lectura del analizador, produciendo ruido adicional a la sensibilidad del sensor de metano como se muestra en las figuras de abajo (Figura 29 y 30). (La pausa no desactiva los ventiladores, permitiendo que el aire que ingresa y el metano de alta pureza liberado dentro de las cámaras se mezclen continuamente).

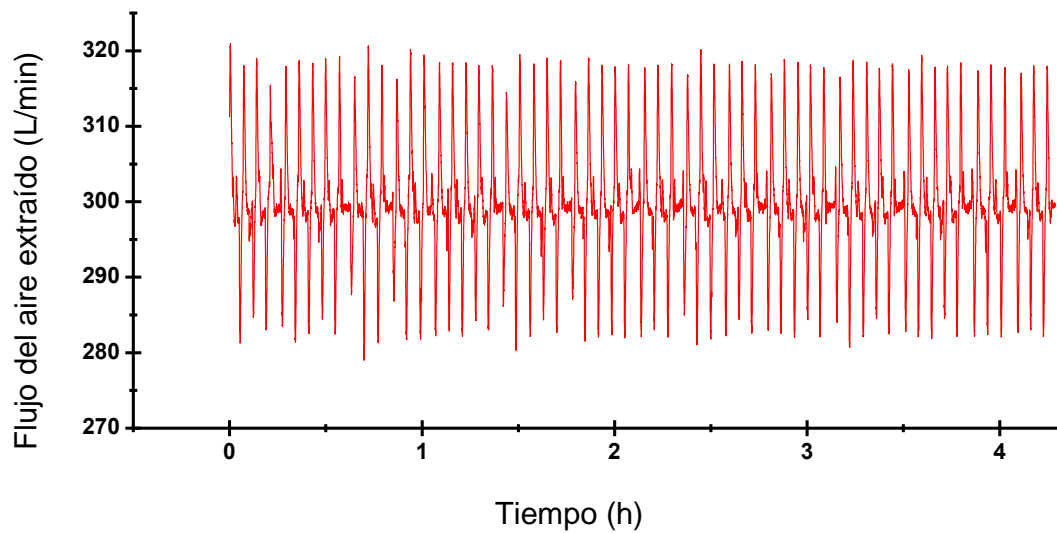


Figura 29. Registro de la bomba de extracción del aire de la cámara 1

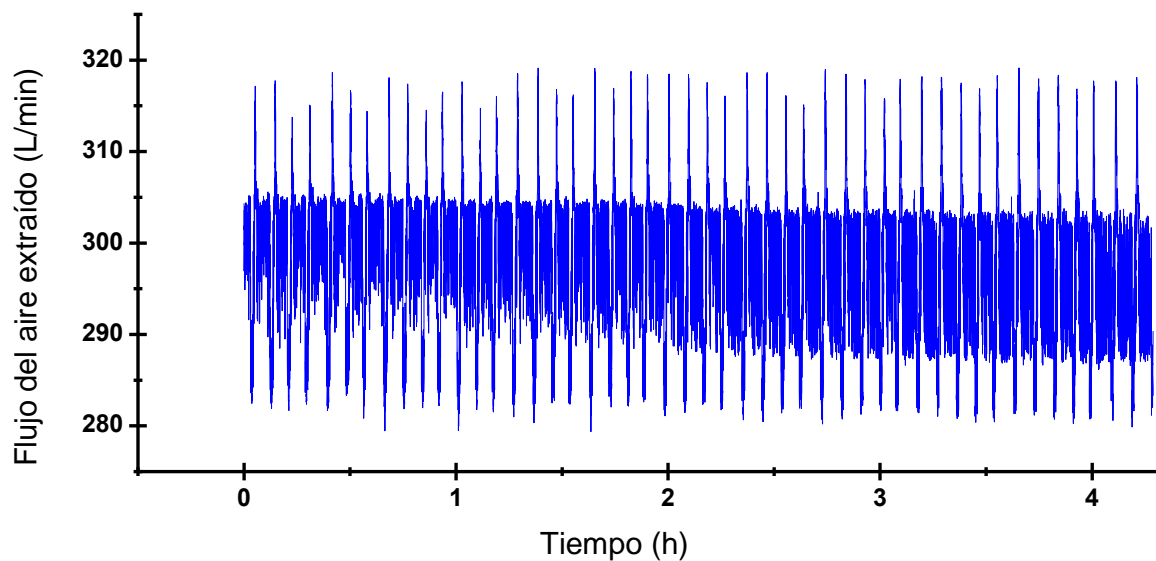


Figura 30. Registro de la bomba de extracción del aire de la cámara 2

3.4 Eficiencia del sistema de las cámaras de respiración.

Los factores de calibración en la cámara uno con 7 repeticiones y la cámara dos 5 repeticiones después de liberar metano de alta pureza fueron 0.95 ± 0.05 y 1.03 ± 0.03 , con incertidumbres de 4.87 y 2.49% respectivamente, con un nivel de

confianza de 95 %. Los factores de calibración para estas cámaras son comparables a las de Hua Li et al. [76], Murray et al. [77] y Helling et al. [62] en cámaras con volúmenes de 0.78, 2.4 y 17 m³ y factores de recuperación de 99.7, 92.6 y 98.5% respectivamente y a los reportados por Gardiner et al. [28] en las 22 cámaras en sus 6 instalaciones en el Reino Unido diseñadas para contener ovejas y ganado de hasta 550 kg de peso vivo Figura 31, que variaron en los volúmenes, lo que afectó el tiempo de respuesta y la estabilidad de la meseta.

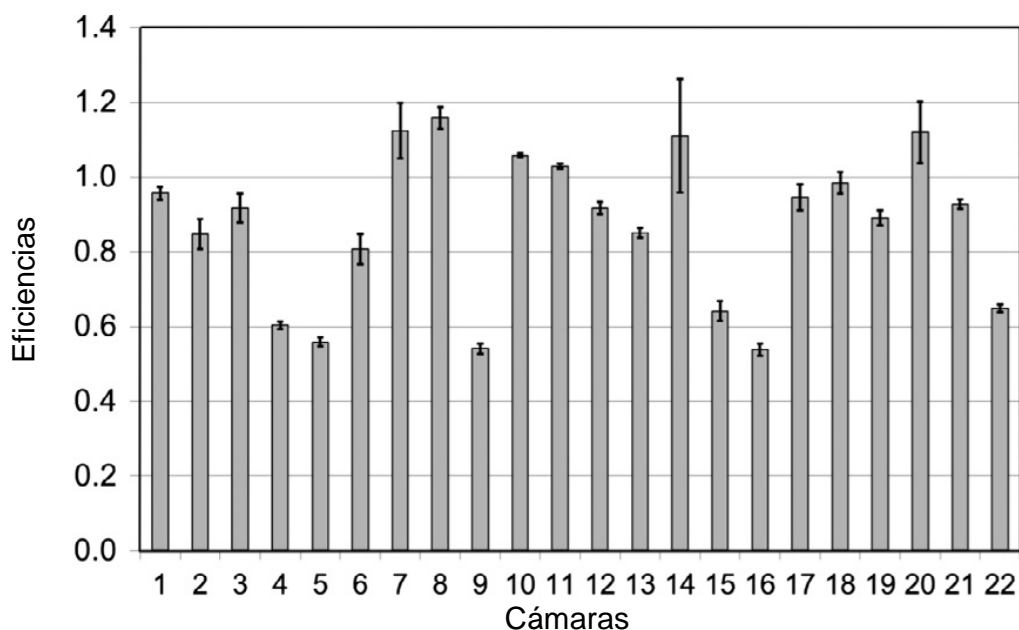


Figura 31. Eficiencia de las 22 cámara instaladas en el reino unido reportadas por Gardiner et al. [28]

3.4.1 Eficiencia del sistema interferido con un volumen conocido.

Se ha afirmado que la presencia de una vaca dentro de una cámara de respiración puede influir potencialmente en los resultados debido a la mezcla no homogénea del aire dentro de la cámara [28, 60]. Para abordar este problema, se introdujo en las cámaras una vaca de fibra de vidrio simulando a un bobino Holstein

de 350 Kg para las pruebas de recuperación de metano. Los resultados de estas pruebas mostraron que el volumen ocupado por la vaca ficticia no evitó que el gas metano de alta pureza se homogenizara de manera eficiente, dando un factor de calibración promedio de 1.05 ± 0.02 , con una estabilidad meseta de 1.99% y una incertidumbre de 2.31% después de tres corridas. Parece que el pequeño ventilador instalado dentro de la cámara (en la esquina izquierda superior ejerce suficiente fuerza de viento para inducir una buena circulación del aire dentro de las cámaras de respiración. La prueba de la vaca de fibra de vidrio mostró que un cuerpo inerte dentro de la cámara no tiene ningún efecto sobre los valores de recuperación de metano y aumenta la confianza en los resultados obtenidos en esta instalación.

3.5 Respuesta del sistema a diferentes tasas de inyección del metano de alta pureza

En las figuras 32 y 33 se muestran las curvas de respuesta de cada cámara a la inyección del metano de alta pureza a diferentes tasas, registrado cada segundo, simulando la emisión de metano por el ganado de diferentes pesos vivos y por lo tanto la ingesta de materia seca.

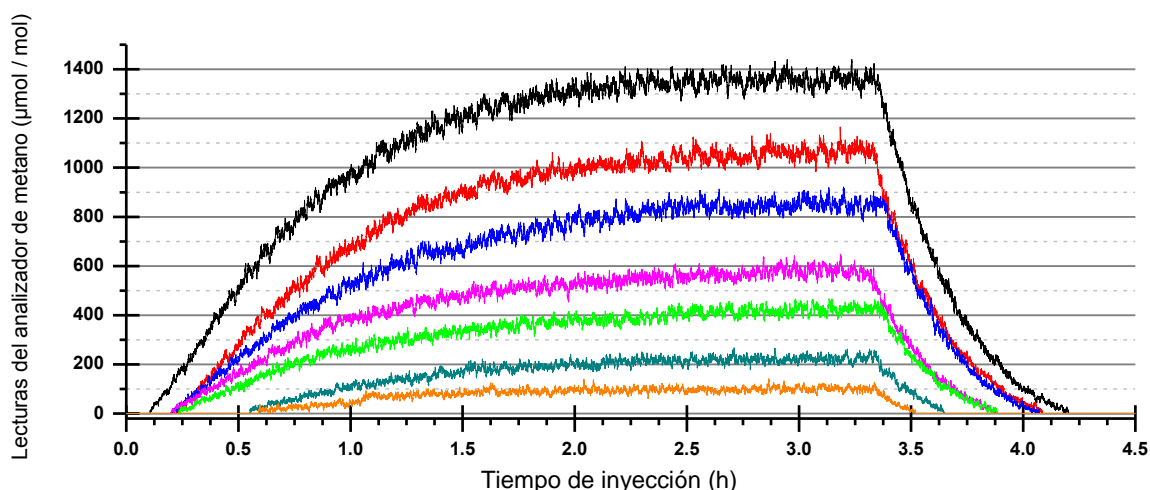


Figura 32. Graficas de las lecturas de respuesta de una corrida por cada tasa de liberación de volúmenes crecientes de metano de alta pureza en las cámaras de respiración a un flujo de extracción del aire a 300 L/min (volúmenes de CH₄: ● 160.23, ● 187.28, ● 231.98, ● 262.52, ● 300.39, ● 345.25, ● 381.72 L/día en cámara 1)

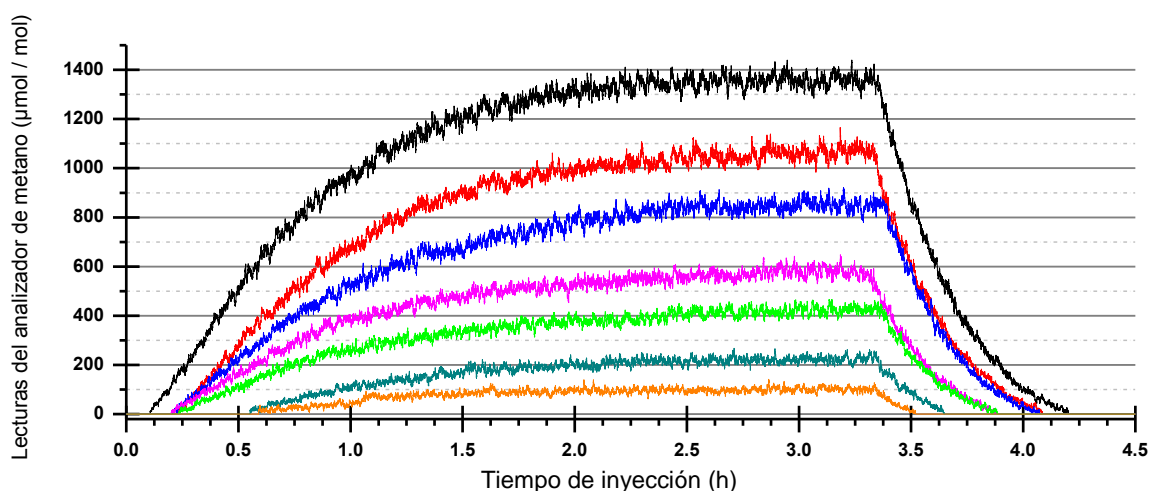


Figura 33. Lecturas de respuesta de una corrida por cada tasa de liberación de volúmenes crecientes de metano de alta pureza en las cámaras de respiración a un flujo de extracción del aire a 300 L/min (volúmenes de CH₄: ● 176.73, ● 202.53, ● 293.77, ● 267.22, ● 301.58, ● 334.41, ● 369.61 L/día en la cámara 2) a una tasa de extracción de 300 l/min

En la tabla 13 se muestran los resultados de cada cámara con tres repeticiones, en donde se indica la tasa de liberación de metano de alta pureza, el porcentaje de recuperación del sistema, y los tiempo de respuesta T_{on} , T_{100} y T_{off} definidas como “el tiempo desde el inicio de la liberación del gas de referencia hasta el registro de la primera lectura en min”; “ el tiempo transcurrido desde la primera lectura hasta alcanzar la estabilidad de la meseta en min” y “el tiempo necesario para regresar de la meseta a la concentración de fondo después de detener la liberación de metano puro del cilindro de gas en min” respectivamente.

Tabla 13. Resultados de las cámaras de respiración a diferentes tasas de liberación con un flujo de extracción de 300 L/min					
	Tasa de Liberación de metano de alta pureza del cilindro	Porcentajes de recuperación de metano en las cámaras	T_{on}	T_{100}	T_{off}
Cámara 1	L CH ₄ /run	%	Min	Min	Min
	160.23	18.33 ± 0.6	35.8	46.4	14.3
	187.28	33.11 ± 0.15	26	83.2	26.9
	231.98	51.22 ± 2.20	16.8	109.8	34.4
	262.52	62.08 ± 0.97	13.4	122.6	39.5
	300.39	78.69 ± 0.62	12.4	124.6	46.4
	345.25	85.39 ± 1.72	11.9	132.0	50.7
	381.72	103.17 ± 0.60	7.6	138.2	55.0
Cámara 2	176.73	31.61± 1.31	29.4	71.4	27.2
	202.53	45.03±1.18	21.6	84.6	33.3
	237.77	59.79± 0.19	16.2	99.0	39.2
	267.22	68.47± 2.33	14.2	109.2	45.1
	301.58	81.04± 1.76	13.6	115.2	50.2
	334.41	91.95± 1.60	13.4	124.8	57.3
	369.6	102.75± 2.45	10.4	135.0	63.3

Las recuperaciones fluctuaron, entre 18.3% a 103.7% y 31.6 % a 102.7% para la cámara uno y dos respectivamente. Esto se debe a que la concentración del metano se dentro de las cámaras de respiración con un volumen de 9.8 m³ junto con el aire

extraído de 300 l/min, se incrementa al aumentar la liberación de metano de alta pureza lo cual las recuperaciones se acrecentan y los tiempos de respuesta cambian drásticamente. En el caso del T_{on} se puede especular que el tiempo se redujo porque le toma menos tiempo el metano en expandirse hasta que tenga una concentración suficiente para que lo registre, para el T_{off} y T_{100} se comporta de forma contraria porque le toma más tiempo propagarse hasta alcanzar la meseta y para el segundo caso el tiempo desde que se cierra el cilindro y regrese a la concentración basal se incrementa como se observa en las figuras 26 y 27. Estos resultados muestran que cuando el metano liberado del cilindro disminuyó, las recuperaciones de metano en el analizador también decrecieron siguiendo una tendencia lineal en ambas cámaras como se muestran en la figura 34, donde los cuadrados negros representan la cámara 1 los círculos rojos corresponden a la cámara 2.

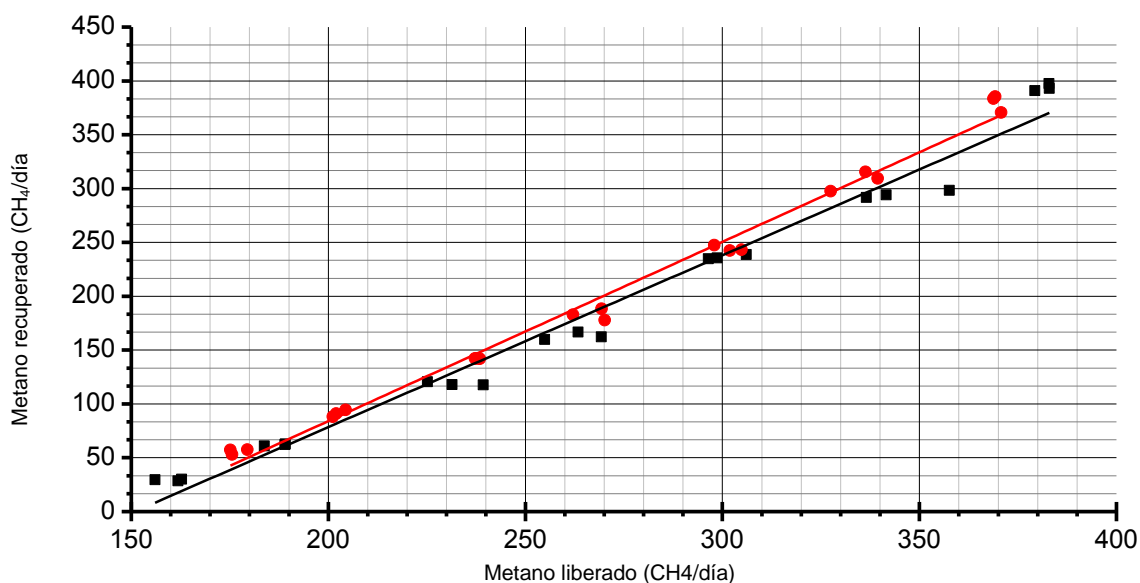


Figura 34. Correlación entre el Metano recuperado y liberado de ambas cámaras

Las correlaciones deberían coincidir en ambas cámaras sin embargo se observa un corrimiento a la derecha y al incrementarse se desfasa a la izquierda con respecto a la cámara uno, esto se debe a las perdidas en el ducto de la extracción de aire que tiene una longitud mayor, (discutida en la sección 3.2) al tener una separación de 10 metros se descarta la posibilidad, ya que ambas cámaras se presurizaron negativamente. Cuando se aplicó el análisis de regresión a los datos, se obtuvo un coeficiente de determinación de 0.98 ($y = 1.59x - 240.52$) para la cámara uno y de 0.99 ($y = 1.66x - 248.71$) para la cámara dos que son similares a los reportados por Gardiner et al. [28] en el Reino Unido con 22 cámaras (en seis laboratorios) diseñadas para albergar tanto ovejas como ganado de hasta 550 kg de peso vivo.

El alto coeficiente de determinación de la regresión del metano liberado (cilindro) contra el recuperado sugieren la posibilidad de predecir la emisión de metano con la ecuación propuesta para cada cámara

Para las mediciones en condiciones in vivo, las mediciones diarias de metano deben estar dentro de los rangos (capacidades) de recuperación de gas de cada cámara para aplicar las ecuaciones de regresión, con el objetivo de corregir dichos valores.

Para mediciones arriba del rango superior sería necesario realizar mediciones para determinar su eficiencia, en este caso sobreestimándola, sin embargo estas cámaras fueron diseñadas para introducir bovinos con un peso máximo de 350 Kg con una producción de metano entérico entre 160 y 200 litros por día comiendo pasto, para animales de mayor peso no sería práctico, porque su

movimiento estaría muy limitado estresándolos perturbando la medición y no se cumplirían con las normas del bienestar animal para los experimentos con animales vivos en México, por debajo del rango se realizaron pruebas preliminares introduciendo un borrego de 25 kilogramos y registrándolo en un periodo de 24 horas con una tasa de extracción de 300 L/min, como se observa en la figura 35 no se detectó el metano producido por el animal por estar muy diluido.

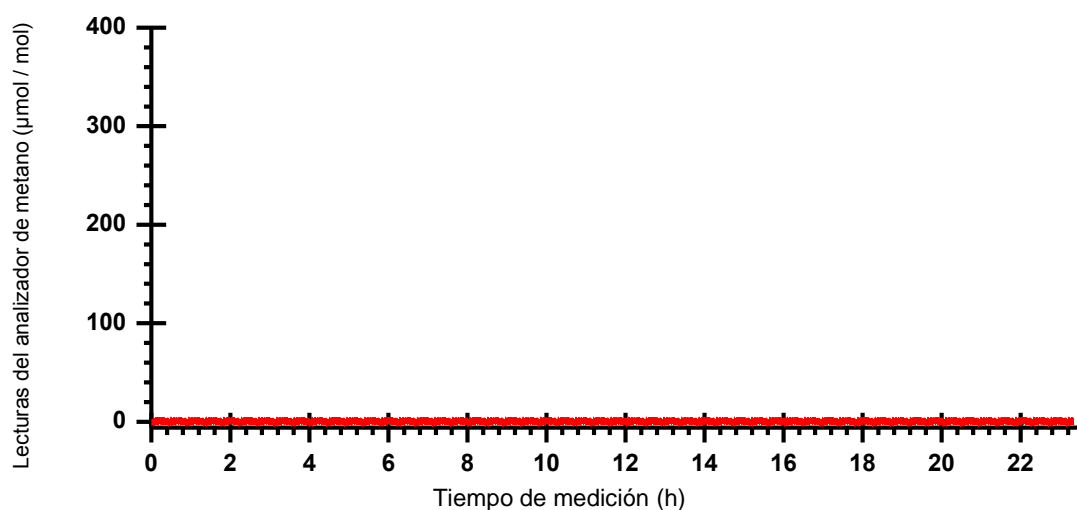


Figura 35. Registro del metano producido por un borrego de 25 Kilogramos

3.6 Mediciones del metano entérico

En bovinos, la producción de metano varía a lo largo de las 24 h, registrándose un pico alrededor de las 6 h posprandiales [78] comportamiento que sigue la cinética de la fermentación ruminal del carbohidrato consumido [79], En la figura 36 se muestra la gráfica de una corrida en cada cámara con animales de la raza Holstein de 350 Kg. como se observa el sensor de metano tiene la capacidad de registrar el metano entérico con animales que es variable en un tiempo de medición de 24 horas

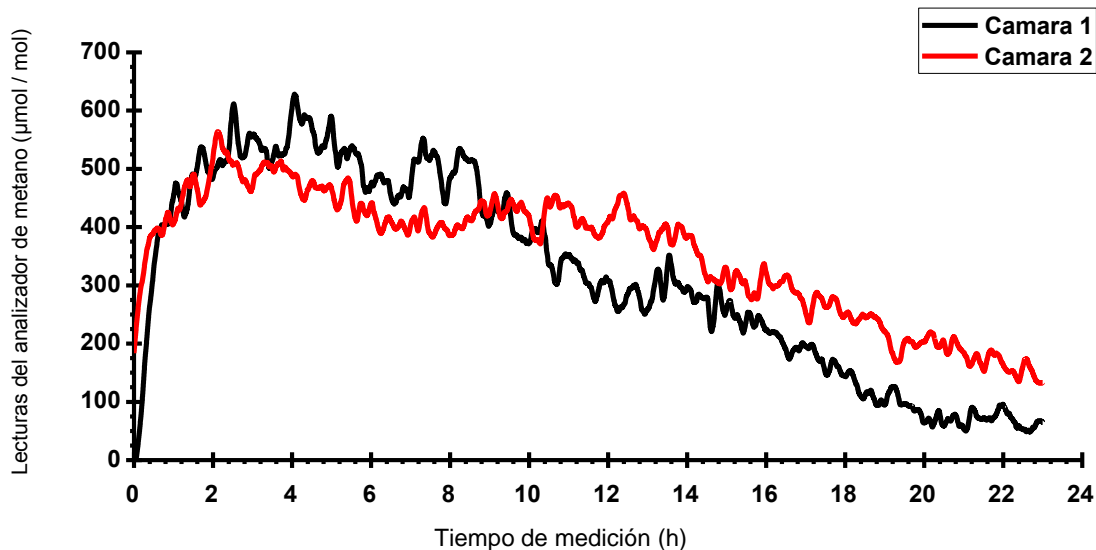


Figura 36. registro del metano entérico en cada cámara

En las mediciones con animales la secuencia de paso de muestra fue de 25 min en la cámara 1, 25 minutos para la cámara 2 y 5 minutos para el aire ambiente, con un tiempo de purga de 5 minutos programado desde el multiplexer, asegurando que el sistema de medición se limpie antes de registrar los datos

Para las mediciones en serie se determinó el tiempo de purga entre la cámara dos que es la más alejada del sistema de medición y el aire ambiente, que fue de pasando por un solo filtro de humedad para cada línea, donde se aseguró que no contenga residuos de las muestras anteriores para que no perturbe los datos, sin embargo, si el operador utiliza un filtro de humedad para todas las muestras el tiempo de purga aumenta a 8 minutos, donde el volumen del mismo requiere más tiempo para la limpieza del sistema.

En las mediciones con animales la secuencia de paso de muestra fue de 25 min en la cámara 1, 25 minutos para la cámara 2 y 1 minuto para el aire ambiente, con un tiempo de purga de 1 minutos programado desde el multiplexer, asegurando que el

sistema de medición se limpie antes de registrar los datos (Figura 37) y en la tabla 14 se muestran los resultados de los 4 animales comparadas con las fórmulas de Yan et al. ($\text{CH}_4(\text{l d-1}) = 034 * \text{PV (kg)} + 19,7 * \text{CMS(Kg d-1)} + 12$), Shibata et al. ($\text{CH}_4(\text{l d-1}) = 17,766 + 42,993 (\text{CMS(Kg d-1)} - 0,849 (\text{CMS}^2))$) y Granger et al. ($\text{CH}_4(\text{g d-1}) = 18,5 * \text{CMS (Kg d-1)} - 9,3$)

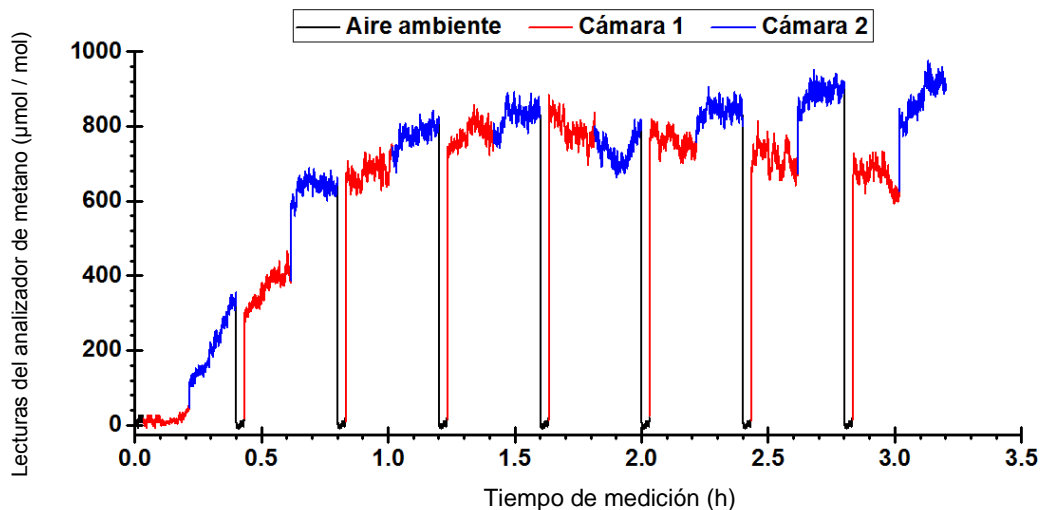


Figura 37. Graficas de las lecturas de respuesta de una entre la cámara 1, cámara 2 y el aire ambiente con un tiempo de purga de 1 minuto

Tabla 14. Resultados de la medición con bovinos introducido en las cámara								
						Metano calculad con formulas de predicción		
Cámara	Animal	Analizador de metano	Metano corregido	Consumo de Ms	Peso vivo	Yan et al.	Shibata et al.	Granger et al.
		L CH4/día	L CH4/día	Kg	Kg	L CH4/día	L CH4/día	L CH4/día
1	C1	132.7	234.6	7.4	310.0	236	236	235
		122.7	228.5	7.4	310.0	220	219	240
	Promedio	127.7	231.5					
	Variación	7.5	2.6					
	C3	115.4	223.9	7.3	292.0	237	237	236
		118.4	225.8	7.3	292.0	240	240	240
	Promedio	116.9	224.9					
	Variación	2.6	0.8					
2	C2	162.6	247.4	7.5	305.0	229	229	228
		135.7	231.4	7.3	305.0	220	230	215
	Promedio	149.2	239.4					
	Variación	16.5	6.5					
	C4	141.5	234.8	7.7	308.0	233	233	232
		142.8	235.6	7.7	308.0	240	240	241
	Promedio	142.2	235.2					
	Variación	0.9	0.3					

Ms = materua seca, Yan et al. (CH4(l d-1) = 034* PV (kg) + 19,7 * CMS(Kg d-1) +12), Shibata et al. (CH4(l d-1) = 17,766 + 42,993 (CMS(Kg d-1)-0,849 (CMS2)) y Granger et al. CH4(g d-1) = 18,5*CMS (Kg d-1) -9,3)

Con la tabla anterior se concluye que los litros de metano entérico producido por los bobino y corregidos por las fórmulas de predicción de cada cámara son muy cercanas a las fórmulas de los autores antes mencionados esto que se podría corregir las emisiones de metano dentro del rango disminuyendo el sesgo.

La tasa de extracción de aire de las cámaras también puede influir en las tasas de recuperación debido al control necesario de la concentración de CO₂ dentro del recinto, dentro de las cámaras no debe aumentar por encima del 1% [73] para no afectar las constantes fisiológicas en los animales que se mantienen dentro. Sin embargo, esto se puede controlar fácilmente dentro de niveles de concentración razonables (<1%) manteniendo la tasa de extracción de aire alta a 1-1.3 L / minuto por kg de peso vivo para vacas secas y lactantes, respectivamente.

RESULTADOS

Esta serie de pruebas de calibración y recuperación de gases para el analizador de metano, el sistema de ductos y las cámaras de respiración han demostrado que el sistema de cámara es completamente a prueba de fugas y el analizador de metano tiene un tiempo de respuesta rápido como lo demuestran los valores de las recuperaciones de metano.

Basándose en los resultados de las ejecuciones experimentales descritas, se puede concluir que a medida que se reducía el volumen de CH₄ liberado en las cámaras de respiración el porcentaje de recuperaciones de CH₄ en el analizador infrarrojo concomitantemente reducido. El metano puro liberado en las cámaras respiratorias se recuperó pobremente (18.3 y 31.6%) en ambas cámaras a la tasa de liberación más baja (168.5 L / día) sin embargo la ecuación de regresión derivada de esta prueba puede ser una salida para corregir un rendimiento de la cámara tan pobre (a una tasa baja de liberación de CH₄). Este enfoque tiene potencial para corregir las tasas de recuperación de los datos de la cámara de respiración para eliminar el sesgo en los valores de emisión de CH₄ del ganado de diferentes pesos vivos (y por lo tanto volúmenes de emisión de metano), reduciendo así el error experimental y mejorando la precisión de las mediciones.

La metodología de la cámara de respiración es un procedimiento preciso para cuantificar las emisiones de metano entérico in vivo del ganado

TRABAJOS FUTUROS

- Se realizarán estudios con diferentes tipos de alimentos y bovinos de diferentes razas y pesos, para determinar las emisiones de CH₄ entérico debido a raza (componente genético).
- Con la adquisición e instalación de analizadores de CO₂ y O₂, las cámaras de respiración se convertirán en cámaras calorimétricas indirectas para estudios de la eficiencia energética de la producción de leche y de carne.
- Se realizará la calibración gravimétrica para determinar la eficiencia (%) del metano y dióxido de carbono en las cámaras y corroborar la exactitud en las mediciones.

REFERENCIAS:

1. Intergovernmental Panel on Climate Change, I.P.C.C., *Climate Change 2007. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the IPCC. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. and New York, NY. USA. 2007.*
2. Naciones-Unidas, *Protocolo de Kyoto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. 1998.*
3. National Council for Agricultural Education, N.C.A.E., *Global climate change and environmental stewardship by ruminant livestock producers. Student reference. Agricultural Education and University of Missouri. 1998.*

4. Food and Agriculture Organization of the United Nations, F.A.O., *Livestock a major threat to environment*. 2006. p. 103.
5. Armando, J., B. Cardenas, and C.L. Flores, *Enteric methane emission by ruminants and its contribution to global climate change. Review*. Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias, 2012. **3**(2): p. 215-246.
6. Ramírez, J.F., S. Posada, and R. Noguera, *Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación*. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia 2014. **9**(2): p. 307-323.
7. Kurihara, M., et al., *Methane production and energy partition of cattle in the tropics*. British Journal of Nutrition, 1999. **81**(3): p. 227-234.
8. Moss, A.R., J.P. Jouany, and J. Newbold, *Methane production by ruminants: its contribution to global warming*. Annales de zootechnie, 2000. **49**(3): p. 231-253.
9. Van-Soest, P.J., *Nutritional Ecology of the Ruminant. Second Edition*. Cornell University Press 1994: p. 476.
10. Pinares-Patiño, C., et al., *Is rumen retention time implicated in sheep differences in methane emission?* Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 2011. **71**: p. 219-222.
11. Johnson, K.A. and D.E. Johnson, *Methane emissions from cattle*. Journal of Animal Science, 1995. **73**(8): p. 2483-92.

12. Wuebbles, D.J. and K. Hayhoe, *Atmospheric methane and global change*. Earth-Science Reviews, 2002. **57**(3-4): p. 177-210.
13. Eckard, R.J., C. Grainger, and C.A.M. de Klein, *Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review*. Livestock Science, 2010. **130**: p. 47-56.
14. Food and Agriculture Organization of the United Nations, F.A.O., *El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo*. 2008.
15. Godfray, H.C., et al., *Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People*. Science, 2010. **327**: p. 812-818.
16. Smith, J.A., et al., *Beyond milk, meat, and eggs: Role of livestock in food and nutrition security*. Animal Frontiers, 2012. **3**: p. 6-13.
17. Castelán-Ortega, O.A., et al., *Enteric fermentation in ruminants. In: Progress and Opportunities for Reducing Short-lived Climate Pollutants across Latin America and the Caribbean*. L.T. Molina (Editor). United Nations Environment Programme-Climate & Clean Air Coalition. Technical Report, 2017: p. 98-111.
18. Pineiro-Vazquez, A.T., et al., *Energy utilization, nitrogen balance and microbial protein supply in cattle fed Pennisetum purpureum and condensed tannins*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2017. **101**(1): p. 159-169.

19. Castelán-Ortega, O.A., J.C. Ku-Vera, and J.G. Estrada-Flores, *Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico*. Atmosfera, 2014. **27**(2): p. 185-191.
20. Rendon-Huerta, J.A., et al., *Trends in greenhouse gas emissions from dairy cattle in Mexico between 1970 and 2010*. Animal Production Science, 2014. **54**(3): p. 292-298.
21. Beltran-Santoyo, M.A., et al., *Methane Emission from Dairy Cattle Production Systems in San Luis Potosi Valley, Mexico*. Agrociencia, 2016. **50**(3): p. 297-305.
22. Patra, A.K. and Z.T. Yu, *Combinations of nitrate, saponin, and sulfate additively reduce methane production by rumen cultures in vitro while not adversely affecting feed digestion, fermentation or microbial communities*. Bioresource Technology, 2014. **155**: p. 129-135.
23. Leng, R.A., *Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shift in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation*. Animal Production Science, 2014. **54**(5): p. 519-543.
24. Goopy J, P., C. Chang, and A. Tomkins N, *Comparison of methodologies for measuring methane emissions from ruminants*, in *Methods for Measuring Greenhouse Gas Balances and Evaluating Mitigation Options in Smallholder Agriculture* R. Todd S, et al., Editors. 2016: Switzerland p. 97-117.

25. Storm, I.M.L.D., et al., *Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants*. Animals : an Open Access Journal from MDPI, 2012. **2**(2): p. 160-183.
26. Makkar, H.P.S. and P.E. Vercoe, in *Measuring Methane Production from Ruminants*. 2007: The Netherlands. p.p. 109.
27. Gerrits, W. and E. Labussiere, *Indirect Calorimetry. Techniques, Computations and Applications*. 2015, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers. The Netherlands.
28. Gardiner, T.D., et al., *Determination of the absolute accuracy of UK chamber facilities used in measuring methane emissions from livestock*. Measurement, 2015. **66**: p. 272-279.
29. Hunter, R.A., *Methane production by cattle in the tropics*. British Journal of Nutrition, 2007(98): p. 657.
30. Charmley, E., et al., *A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia*. Animal Production Science, 2016. **56**(3): p. 169-180.
31. Gerrits, W., et al., *Letter to the Editor: Recovery test results as a prerequisite for publication of gaseous exchange measurements*. Journal of Animal Science, 2017. **95**: p. 5175.

32. Schoffelen, P.F.M. and G. Plasqui, *Classical experiments in whole-body metabolism: open-circuit respirometry—diluted flow chamber, hood, or facemask systems*. European Journal of Applied Physiology, 2018. **118**: p. 33-49.
33. Gunter, S.A., J.A. Bradford, and C.A. Moffet *Effects of mass airflow rate through an open-circuit gas quantification system when measuring carbon emissions*. Journal of Animal Science, 2017. **95**(1): p. 475-484.
34. Intergovernmental Panel on Climate Change, I.P.C.C., *IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007*. 2007.
35. Intergovernmental Panel on Climate Change, I.P.C.C., *Revised 1996 IPCC guidelines for greenhouse gas inventories. Reference manual*. 2010.
36. Intergovernmental Panel on Climate Change, I.P.C.C., *Informe del Grupo de Trabajo I - Base de las Ciencias Físicas*. 2007.
37. Ilea, R.C., *Intensive Livestock Farming: Global Trends, Increased Environmental Concerns, and Ethical Solutions*. Journal of Agricultural & Environmental Ethics, 2009. **22**: p. 153-167.
38. Takenaka, A., et al. *Methane and hydrogen concentrations in the breath of sheep*. in *Proceedings Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture*. 2007. New Zealand: lxxxvi-lxxxvii.

39. Knight, T.W., et al. *Effects of BLCS supplements on methane emissions from lactating dairy cows*. in *Proceedings Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture*. 2007. New Zealand: lviii-lix.
40. Smith, M.T.S., *Greenhouse gases and agriculture in Cambodia –initial perspective*. 2007, New Zeland. GGAAC: lxxxi-lxxxii.
- .
41. Carmona, C.J., M.D. Bolívar, and A.L. Giraldo, *El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2005. **18**:: p. 49-63.
42. Takahashi, J. *Emission of GHG from livestock production in Japan. Greenhouse gases and animal agriculture: An update. Proceedings of the 2nd International Conference on Greenhouse Gases and Animal Agriculture*. 2006. Zurich, Switzerland.
43. Wang, C.J., S.P. Wang, and H. Zhou, *Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep*. *Animal Feed Science and Technology*, 2009. **148**(2): p. 157-166.
44. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, I.N.E.G.I., *Población total*. 2015.

45. Consejo Nacional de Población, C.O.N.A.P.O., *Datos de proyecciones*. 2017: México.

46. Guerrero, V.M.G., *Pronóstico estocástico de la población mexicana utilizando modelos de datos funcionales*, in *Realidad Datos y Espacio. Revisya Internacional de Estadistic y Geografica*, INEGI, Editor. 2014: México. p. 18-33.

47. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, S.A.G.A.R.P.A., *Bovino carne y leche Población ganadera 2006 - 2015 Cabezas*. 2018.

48. Blaxter, K.L., *Metabolismo energético de los rumiantes*. 1964, Zaragoza (España).

49. Hungate Robert, E., *The Rumen and its Microbes*. 1966, Academy Press: San Francisco. USA: 246. 246.

50. Solomon, S.D., et al., *Technical Summary.*, in *Climate Change 2007. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the 4th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, S. Solomon, et al., Editors. 2007: Cambridge University Press. Cambridge, UK
Solomon

51. Beauchemin, K. and S. McGinn, *Effects of various feed additives on the methane emissions from beef cattle*. International Congress Series, 2006. **1293**: p. 152-155.

52. Moss, A.R. and D.I. Givens, *The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep*. Animal Feed Science and Technology, 2002. **97**(3): p. 127-143.
53. Van Kessel, J.A.S. and J.B. Russell, *The effect of pH on ruminal methanogenesis*. FEMS Microbiology Ecology, 1996. **20**(4): p. 205-210.
54. Tejido, M.L., M.J. Ranilla, and M.D. Carro, *In vitro digestibility of forages as influenced by source of inoculum (sheep rumen versus Rusitec fermenters) and diet of the donor sheep*. Animal Feed Science and Technology, 2002. **97**: p. 41-51.
55. Kajikawa, H., et al., *Operation and characteristics of newly improved and marketable artificial rumen (Rusitec)*, in *Memoirs of National Institute of Livestock and Grassland Science*. Nº 2. 2003.
56. Abreu, A., et al., *Efecto del fruto, del pericarpio y del extracto semipurificado de saponinas de Sapindus saponaria sobre la fermentación ruminal y la metanogénesis in vitro en un sistema RUSITEC*. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2003. **16**(2): p. 147-152.
57. Moe, P.W. and H.F. Tyrrell, *Methane Production in Dairy Cows*. Journal of Dairy Science, 1979. **62**(10): p. 1583-1586.

58. DeRamus, H.A., et al., *Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems*. Journal Environmental Quality, 2003. **32**: p. 269-277.
59. McCaughey, W., K. Wittenberg, and D. Corrigan, *Impact of pasture type on methane production by lacting beef cows*. Canadian Journal of Animal Science, 1999. **79**: p. 221-226.
60. McLean, J.A. and G. Tobin, *Animal and Human Calorimetry*. 1987, Cambridge University Press: Cambridge, UK
61. McLean, J.A., *On the calculation of heat production from open-circuit calorimetric measurements*. British Journal of Nutrition, 1972. **27**(3): p. 597-600.
62. Hellwing, A.L.F., et al., *Technical note: Test of a low-cost and animal-friendly system for measuring methane emissions from dairy cows*. Journal of Dairy Science, 2012. **95**: p. 6077-6085.
63. Rodríguez, N.M., et al., *A calorimetry system for metabolism trials*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, 2012. **59**(2): p. 495-500.
64. Skoong, D.A., F.J. Holler, and T.A. Nieman, *Principios de análisis instrumental*. Quinta ed. 1992.

65. Itz Chiquil, R.B., *Análisis cuantitativos por espectrometría del infrarrojo cercano y la transformada de Fourier en disoluciones acuosas de Glucosa y Sacarosa*, in *Ingeniería química*. 2012, Tesis profesional del Instituto Tecnológico de Yucatán: Mexico: 3-7. p. 3-7.
66. McQuarrie, D.A. and J.D. Simon, *Molecular Thermodynamics*. University Science Books ed. 1999, Sausalito, California: 24.
67. *Infrared Spectrum Methane*.
68. *Infrared Spectrum Carbon Dioxide*.
69. Willard, H.H. and G.F. Smith, *the preparation and properies of magnesium perchlorate and its use as a drying agent*. Journal of the American Chemical Society, 1992. **44**: p. 2255-2259.
70. Luna, R.C., *Fundamento científico de la oxígeno terapia hiperbárica en el tratamiento del pie diabético infectado grave en medicina basada en evidencias*. Medicina Interna de México, 2010. **29**(4): p. 374-382.
71. Lighton, J.R.B., *Measuring metabolic rates: a manual for scientists*. 2008, Oxford University Press: New York, NY, USA.
72. Melanson, E.L., et al., *A new approach for flow-through respirometry measuremens in humans*. American Journal of Physiology, 2010. **298**: p. R157-R1579.

73. Machado, F.S., et al., *Technical note: A facility for respiration measurements in cattle*. Journal of Dairy Science, 2016. **99**(6): p. 4899-4906.
74. Lighton, J.R.B., *Metabolic measurement techniques: baselining, mathematical correction of water vapour dilution and response correction, in Indirect Calorimetry. Techniques, Computations and Applications.*, W. Gerrits and E. Labussiere, Editors. 2015, Wageningen Academic Publishers. The Netherlands: The Netherlands. p. 57-72.
75. EN15267-3, *Air Quality – Certification of Automated Measuring Systems, in Part 3: Performance Criteria and Test Procedures for Automated Measuring Systems for Monitoring Emissions from Stationary Sources*. 2007, Comité Européen de Normalisation.
76. Dong Hua Li, Beob Gyun Kim, and Sang Rak Lee, *A respiration-metabolism chamber system for measuring gas emission and nutrient digestibility in small ruminant animals*. Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias, 2010. **23**: p. 444-450.
77. Murray, P.J., et al., *A comparison of systems for measuring methane emissions from sheep*. Journal of Agricultural Science, 1999. **133**: p. 439-444.
78. Derno, M., et al., *A new facility of continuous respiration measurements in lactating cows*. Journal of Dairy Science, 2009. **92**: p. 2804-2808.
79. Cavalcanti, L.F.L., et al., *A continuous approach to assess methane production rate in ruminants using respiration chambers*, in *Energy and*

Protein Metabolism and Nutrition in Sustainable Animal Production, J.W. Oltjen, K. E., and H. Lapierre, Editors. 2013: Wageningen. p. 249-250.