



REPORTES CIENTÍFICOS

D E L A F A C E N

ISSN 2078-399X (impreso)

ISSN 2222-145X (online)

Volumen 8

Número 1

2017

Apuestas de la FACEN al desarrollo del conocimiento y la investigación científica.

Distribución de productos y mecanismo en fase gaseosa de reacciones de ozono con compuestos insaturados oxigenados.

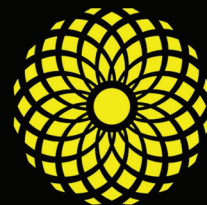
Evaluación de procesos fisicoquímicos de adsorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS).

Diseños observacionales: una aplicación en estudios clínicos.

Estudio de las emisiones de monóxido de carbono en motores de combustión interna (según Ciclo Otto).

Biodegradation of the Benzophenone-3 in agricultural soils amended with compost from urban wastewater treatment plants.

A block-sensitivity lower bound for quantum testing Hamming Distance.



FACEN

Facultad de Ciencias
Exactas y Naturales

PUBLICACIÓN CIENTÍFICA
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN-PARAGUAY

REPORTES CIENTÍFICO DE LA FACEN



Reportes Científicos de la FACEN, es una revista de libre acceso y publicación científica oficial de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Es emitida semestralmente y publica artículos originales, artículos de revisión, tópicos actuales, reportes de casos, comunicaciones cortas y cartas al editor, en las áreas de Biología, Química, Física, Matemática Pura, Matemática Estadística, Geología, Biotecnología y Tecnología de Producción. Los trabajos y opiniones publicados en la revista son de exclusiva responsabilidad de los autores.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN

Prof. Lic. Abel Bernal Castillo M.Sc.
Rector

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Prof. Constantino Nicolás Guefos Kapsalis, MAE
Decano

Dirección Web

www.facen.una.py

REPORTES CIENTÍFICOS DE LA FACEN

Dirección postal

Reportes Científicos de la FACEN, Dirección de Investigación de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Campus Universitario, Casilla de Correo 1039, San Lorenzo, Paraguay.

Teléfono/Fax

595 21 585600 interno 237

E-mail

reportescientificos@gmail.com

Dirección web

<http://www.facen.una.py/es/news/revistacientifica>

Revista indexada a:

Latindex y SciELOParaguay

Editor en Jefe

Lic. Fernando José Méndez Gaona, FACEN-UNA

Comité Editorial

Dr. Bolívar Rafael Garcete Barrett, FACEN-UNA

Lic. Nery López, FACEN-UNA

M. Sc. Andrea Weiler de Albertini, FACEN-UNA

M. Sc. Fredy Julián Gómez Grance, FACEN-UNA

Dra. Celeste Vega, CEDIC

Dra. Miriam Rolon, CEDIC

Dra. Antonieta Rojas de Arias, OPS-PY

Dra. Ana Honfi, UNAM-Argentina

Dr. Julio Daviña, UNAM-Argentina

Dra. María Paula Badenes, INIFTA-UNLP-Argentina

Dr. Robert Owen, TTU-USA

Dr. Anselmo Mc Donald, IGC-Panamá

Dr. José Seguinot, UPR-Puerto Rico

Dr. Ángel Vara Vela, IAG-USP-Brasil

Dr. Fábio Luis Teixeira Gonçalves, IAG-USP-Brasil

Dr. Sebastián Simondi, FCEN-UNC-Argentina

Dr. Víctor Velázquez, EACH-USP-Brasil

Dr. Nicolás Niveiro, IBN-UNNE_Arentina

M. Sc. Miguel Ángel Martínez Cabrera, FACEN-UNA

M. Sc. Danilo Fernández Ríos, FACEN-UNA

M.Sc. César Manuel Benítez Torres, FACEN-UNA

Diseño de tapa

César Arce

Rep. cient. FACEN	San Lorenzo (Paraguay)	Vol. 8, Nº 1	enero-junio de 2017	ISSN 2078-399X (versión impresa) ISSN 2222-145X (versión online)
-------------------	------------------------	--------------	---------------------	---

REPORTES CIENTÍFICOS

DE LA FACEN

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Rep. cient. FACEN	San Lorenzo (Paraguay)	Vol.8, Nº 1	enero-junio de 2017	ISSN 2078-399X (versión impresa) ISSN 2222-145X (versión online)
-------------------	------------------------	-------------	---------------------	---

EDITORIAL

- 3-4 **Andrea Weiler.** Apuestas de la FACEN al desarrollo del conocimiento y la investigación científica.

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 5-11 **Elizabeth Gaona Colmán, María B. Blanco, Ian Barnes & Mariano A. Teruel.** Distribución de productos y mecanismo en fase gaseosa de reacciones de ozono con compuestos insaturados oxigenados.
- 12-25 **María Carolina Samudio Perez.** Evaluación de procesos fisicoquímicos de adsorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS).
- 26-49 **Fernando Giménez Sena.** Diseños observacionales: una aplicación en estudios clínicos.
- 50-78 **Alfredo Ramón Leguizamón Ortiz.** Estudio de las emisiones de monóxido de carbono en motores de combustión interna (según Ciclo Otto).
- 79-88 **Julio César Benítez-Villalba, Alberto Zafra-Gómez, María José Belén Juárez-Jimenez, Noemi Dorival-García, Sergio Rodríguez-Bonet, Francisco Paulo Ferreira-Benítez & José Luis Vilchez.** Biodegradation of the Benzophenone-3 in agricultural soils amended with compost from urban wastewater treatment plants.

COMUNICACIÓN CORTA

- 89-90 **Marcos Villagra.** A block-sensitivity lower bound for quantum testing Hamming Distance.



APUESTAS DE LA FACEN AL DESARROLLO DEL CONOCIMIENTO Y LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

INVESTMENTS OF THE FACEN TO THE DEVELOPMENT OF KNOWLEDGE AND SCIENTIFIC RESEARCH

Jacques Delors, en el documento “Los Cuatro Pilares de la Educación” (Delors, 1996) discute como una educación integral, para la vida, se basa en cuatro pilares: aprender a conocer, aprender a hacer, aprender a vivir juntos, aprender a ser. A partir de estos pilares se construyen procesos educativos que llevan a la formación de individuos autónomos, responsables y éticos. Esta concepción engloba una educación que, basada en competencias, capacita al individuo para hacer frente a nuevos desafíos a lo largo de su vida, reconociendo que el proceso educativo es continuo, sobrepasando las barreras áulicas.

El desarrollo de profesionales que no solo posean conocimientos teóricos sino valores éticos y que en su desempeño busquen el beneficio social es un desafío que enfrenta la Universidad. La FACEN, no ajena a ello, ha implementado a lo largo de los años estrategias educativas basadas en clases teóricas, actividades prácticas y servicios a la comunidad. Cumpliendo con su compromiso de formación de profesionales de calidad, este año, la FACEN ha asumido el desafío de revisar los planes curriculares de sus 13 carreras migrando de un sistema educativo basado en objetivos a uno basado en competencias.

Como Facultad de Ciencias, la FACEN ha asumido desde sus inicios el desafío de formar investigadores, ofreciendo y sosteniendo carreras de índole científicas como las Licenciaturas en Biología, Biotecnología, Geología, Química, Matemática Pura y Estadística. Asimismo, posee un plantel de docentes e investigadores encargados del desarrollo de las líneas de investigación institucionales cuya última actualización se encuentra en la Resolución 0364/2016 (FACEN 2016a). Ante la necesidad de fortalecer el vínculo entre docencia e investigación, la FACEN ha desarrollado el Programa de Iniciación Científica, el cual ofrece Tutores que participan en la formación científica personalizada de estudiantes y egresados. Este programa fue formalizado recientemente, mediante la Resolución 0511/2016 (FACEN 2016b).

Además de formar investigadores, la FACEN, ha asumido en compromiso de contribuir con la construcción del conocimiento científico en el Paraguay, promoviendo, financiando y ejecutando Proyectos de Investigación. Actualmente la institución posee 28 proyectos de investigación financiados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 5 con financiación del Rectorado de la Universidad Nacional de Asunción, sin contar con aquellos de financiación propia.

Como institución reconocemos que la contribución científica se lega de generación en generación a través de las publicaciones, y que estas son las bases para nuevos descubrimientos. Es por ello, que la FACEN cuenta con dos revistas científicas, Reportes Científicos de la FACEN y Steviana, las cuales contribuyen al fortalecimiento de la ciencia a nivel nacional. Contar con Revistas Científicas locales, que cumplan con los estándares de la ciencia moderna, implica recorrer un arduo camino de mejora continua. Por otro lado, representa el desafío de sostener la periodicidad a pesar de la falta de incentivos y valoración a la que son sujetas las publicaciones locales. Sin embargo, el

premio para aquellas revistas que lo logran, es el orgullo de mantener e incrementar el patrimonio científico nacional.

Felicito a Reportes Científicos de la FACEN, por este nuevo logro, insto a los investigadores a colaborar con el crecimiento de nuestra revista y al comité editorial a continuar con empeño en la búsqueda de la excelencia.

PROF. MSc. ANDREA WEILER
Directora del Departamento de Biología
FACEN - UNA

LITERATURA CITADA

- Delors, J. (1994). Los cuatro pilares de la educación. Pp. 91-103 *in* Mufti, I.A., Amagi, I., Carneiro, R. Chung, F., Geremek, B., Gorham, W., Kornhauser, A., Manley, M., Padrón Quero, M., Savané, M.A., Singh, K., Stavenhagen, R., Suhr, M.W. & Nanzhao, Z. (editores). La Educación encierra un tesoro: “Informe de la UNESCO de la Comisión Internacional sobre la educación para el siglo XXI . Madrid: Santillana. 318 pp.
- FaCEN (2016a). Resolución 0364/2016. Líneas y Políticas de Investigación de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Consejo Directivo de la FACEN.
- FaCEN (2016b). Resolución 0511/2016. Programa de iniciación Científica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Consejo Directivo de la FACEN.

DISTRIBUCIÓN DE PRODUCTOS Y MECANISMO EN FASE GASEOSA DE REACCIONES DE OZONO CON COMPUESTOS INSATURADOS OXIGENADOS

PRODUCTS AND MECHANISM OF THE REACTION OF OZONE WITH UNSATURATED AND OXYGENATED COMPOUNDS IN THE GAS PHASE

ELIZABETH GAONA COLMÁN^{1,2}, MARÍA B. BLANCO¹, IAN BARNES³ & MARIANO A. TERUEL¹

¹Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba (I.N.F.I.Q.C.), Dpto. de Fisicoquímica. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina. Email: mteruel@fcq.unc.edu.ar

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay. Email: eligaona64@gmail.com

³Physikalische Chemie/FBC, Bergische Universitaet Wuppertal, Wuppertal, Germany.

Resumen: Las reacciones en fase gaseosa de las moléculas de ozono con 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-metil-2-pentenal y crotonato de etilo han sido investigadas a 298 K y 760 Torr de aire sintético utilizando cámaras de simulación atmosféricas. Los productos principales observados en la reacción de O₃ con 6-metil-5-hepten-2-ona fueron acetona, 4-oxopentanal y metil glioxal. Propanal y metil glioxal fueron observados en la reacción de O₃ con 2-metil-2-pentenal; glioxilato de etilo y acetaldehído fueron determinados como productos de las reacciones del crotonato de etilo con O₃. Los resultados fueron utilizados para postular los mecanismos de degradación de estos compuestos orgánicos en la atmósfera.

Palabras clave: *mecanismos de ozonólisis, COVs insaturados y oxigenados, FTIR, fotoreactores atmosféricos de paso múltiple.*

Abstract: Product distributions of the gas-phase reactions of O₃ molecules with 6-methyl-5-hepten-2-one, 2-methyl-2-pentenal and ethyl crotonate have been investigated at 298 K and 760 Torr of synthetic air using an atmospheric simulation chamber. The main products observed in the 6-methyl-5-hepten-2-one with O₃ reaction were acetone, 4-oxopentanal and methyl glyoxal. Propanal and methyl glyoxal were observed in the reaction of O₃ with 2-methyl-2-pentenal and ethyl glyoxylate and acetaldehyde were determined as products for the reactions of ethyl crotonate with O₃; the results are used to postulate atmospheric chemical mechanisms of the VOCs studied.

Key words: *ozonolysis mechanisms, oxygenated and unsaturated VOCs, FTIR, multiple-pass atmospheric photoreactor.*

INTRODUCCIÓN

Las cetonas, aldehídos y ésteres insaturados son compuestos orgánicos volátiles (COVs) oxigenados emitidos a la atmósfera por una variedad de fuentes antropogénicas y biogénicas, como las industrias y la vegetación (Atkinson, 2000), los cuales una vez en la atmósfera pueden degradarse por los distintos oxidantes troposféricos como los radicales OH, radicales NO₃, átomos de Cl y moléculas de O₃. En este trabajo, se presenta el estudio de los productos de las reacciones de moléculas de O₃ con 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-metil-2-pentenal y crotonato de etilo a 298 K y 1 atm de presión. El mecanismo de reacción de los compuestos insaturados con ozono tiene como paso inicial la formación de un aducto denominado

ozónido primario, formado por la adición del ozono al doble enlace >C=C< del compuesto insaturado, este ozónido es inestable y se fragmenta originando compuestos carbonílicos y los birradicales intermedarios denominados “birradicales de Criegee” (Finlayson y Pitts, 2000).

Las degradaciones atmosféricas de los COVs insaturados iniciadas con ozono en áreas contaminadas se espera que resulte en la formación principalmente de ácidos, aldehídos, anhídridos y otros compuestos dicarbonílicos, los cuales estarán expuestos a reacciones subsecuentes con los radicales OH presentes en la tropósfera y a procesos fotolíticos iniciados por la luz solar (Johnson y Marston, 2008; Gai *et al.*, 2009; Bernard *et al.*, 2010). De esta manera, la

elevada reactividad de estos compuestos insaturados y también de sus productos primarios, implicaría la formación del smog fotoquímico y aerosoles orgánicos secundarios (AOS) en la atmósfera, si son emitidos en grandes cantidades. Los resultados fueron utilizados para postular mecanismos atmosféricos los cuales pueden ser incorporados dentro de los modelos de transporte químico para obtener estimaciones de las contribuciones de las emisiones de este tipo de compuestos con ozono y la formación de otros fotooxidantes en la tropósfera.

MÉTODOS

Los experimentos fueron llevados a cabo en una cámara de simulación de paso múltiple de 480 L con detección por espectroscopía infrarroja con “transformada de Fourier” (FTIR) “in situ” a 298 ± 3 K y 760 Torr en aire sintético; una descripción detallada del reactor puede encontrarse en Barnes *et al.*, 1993 y 1994. Por lo tanto solo se proporciona una breve descripción la cámara, la cual está constituida por un cilindro de vidrio de 3 m de longitud, con un paso óptico de 48,11 m, sellado en ambos extremos por un recubrimiento de teflón-aluminio. El sistema puede ser evacuado por una bomba turbomolecular equipado dentro del reactor con un ventilador de teflon magnético que permite la homogeneización de los reactantes. Un sistema de espejos tipo “White” está ubicado dentro del reactor, acoplados a un FTIR Nicolet Magna 550 que permite monitorear “in situ” los reactantes y productos en el intervalo de $4000 - 700 \text{ cm}^{-1}$, registrando los espectros

infrarrojos con una resolución de 1 cm^{-1} .

El ozono fue generado a través de una descarga eléctrica en un flujo de oxígeno puro. De manera complementaria, los productos de reacción fueron identificados a través de espectrometría de masas con transferencia protónica (PTR-TOF-MS). Los experimentos fueron realizados por duplicado para cada compuesto insaturado en presencia de un exceso de monóxido de carbono como captador de los radicales OH para evitar las interferencias de los mismos. Las concentraciones iniciales de los reactantes en ppmV ($1 \text{ ppmV} = 2.46 \times 10^{13} \text{ molécula cm}^{-3}$ at 298 K) fueron: 6-metil-5-hepten-2-ona (16-17), 2-metil-2-pentalenal (10-11), crotonato de etilo (10-12), ozono (1-2), monóxido de carbono (34-41). Los productos de la reacción en fase gaseosa fueron monitoreados y asignados por espectroscopía FTIR utilizando los espectros de referencia disponibles. Los reactantes fueron analizados en las siguientes frecuencias infrarrojas (en cm^{-1}): 6-metil-5-hepten-2-ona 2928; 2-metil-2-pentalenal 2983; crotonato de etilo 1186.

Los compuestos insaturados 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-metil-2-pentalenal y crotonato de etilo fueron provistos por Sigma Aldrich con una pureza de 99%, 97% y 99% respectivamente. El monóxido de carbono fue provisto por Messer Griesheim, 99% y el aire sintético fue obtenido de Air Liquide, 99.999%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los productos de la reacción de O_3 con 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-metil-2-pentalenal y crotonato

Tabla 1. Rendimientos de los productos de oxidación de las reacciones de 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-metil-2-pentalenal y crotonato de etilo iniciadas por moléculas de O_3 , con detección por FTIR “in situ”.

COV insaturado	Productos identificados	Rendimiento (%)
$\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ (6-metil-5-hepten-2-ona)	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{H}$	-----
	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$	39 ± 4
	$\text{CH}_2(\text{O})$	25 ± 3
	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{H}$	-----
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{O})\text{H}$ (2-metil-2-pentalenal)	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{H}$	-----
	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{H}$	40 ± 3
	$\text{CH}_2(\text{O})$	7 ± 2
$\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (Crotonato de etilo)	$\text{HC}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$	49 ± 6
	$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{H}$	16 ± 4
	$\text{CH}_2(\text{O})$	5 ± 3

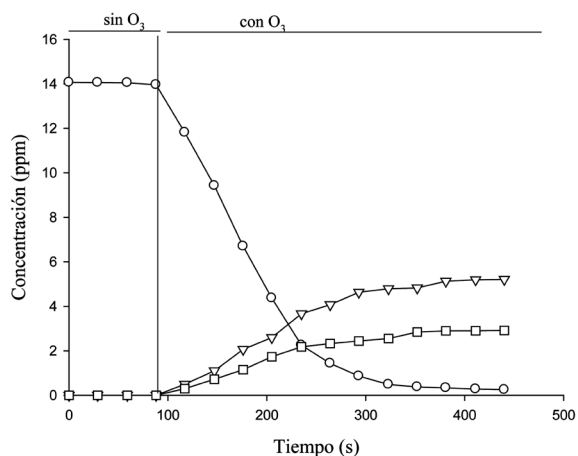


Figura 1. Concentración vs. Tiempo de $\circ$ 6-metil-5-hepten-2-ona y sus productos de reacción, ∇ acetona y $\square$ formaldehído.

de etilo y sus rendimientos son presentados en la Tabla 1.

Reacción 6-metil-5-hepten-2-ona + O_3

Se observaron 4-oxopentanal, acetona, formaldehído y metil glyoxal como productos de reacción, de los cuales fueron cuantificados la acetona y el formaldehído (véase Tabla 1).

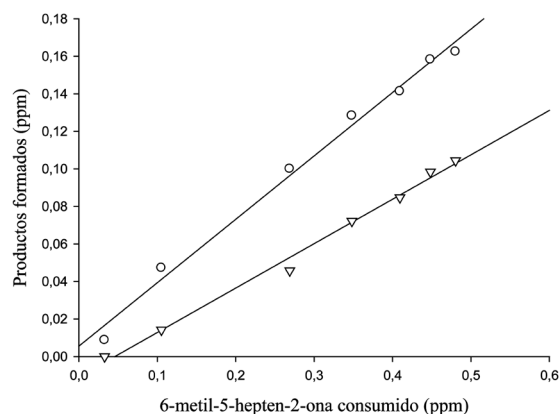


Figura 2. Gráfico de la concentración de productos de reacción $\circ$ acetona y ∇ formaldehído en función de la concentración del 6-metil-5-hepten-2-ona consumido en la reacción con O_3 .

Los compuestos carbonílicos 4-oxopentanal y metil glyoxal han sido identificados simultáneamente por FTIR y por PTR-TOF-MS. En las Figuras 1 y 2 se muestran respectivamente la variación de concentración del reactante y de los productos respecto al tiempo de reacción y los productos formados respecto al reactante consumido, de cuyas pendientes se obtuvieron los rendimientos

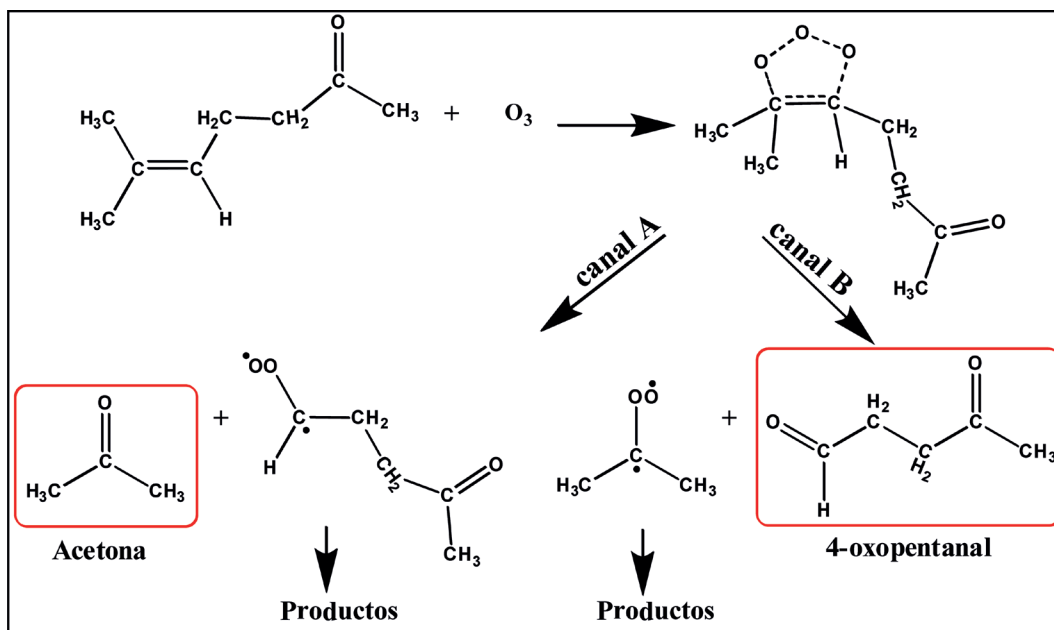


Figura 3. Mecanismo propuesto para la reacción: 6-metil-5-hepten-2-ona + O_3 (en los recuadros rojos se muestran los productos de reacción identificados).

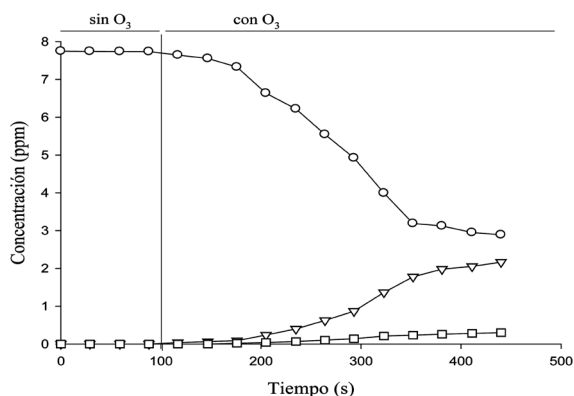


Figura 4. Concentración vs. Tiempo de $\circ$ 2-metil-2-pentenal y sus productos de reacción, $\square$ formaldehído, ∇ propanal.

de los productos de reacción. El formaldehído se originaría por los birradicales de Criegee $\text{CH}\bullet(\text{OO}\bullet)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ y $(\text{CH}_3)_2\text{C}\bullet\text{OO}\bullet$ a través del canal hidropéroxido. El mecanismo de degradación propuesto se muestra en la Figura 3.

El rendimiento de la acetona de $(39 \pm 4) \%$ implica que la fragmentación del ozónido primario formado de este alqueno tri-sustituído es

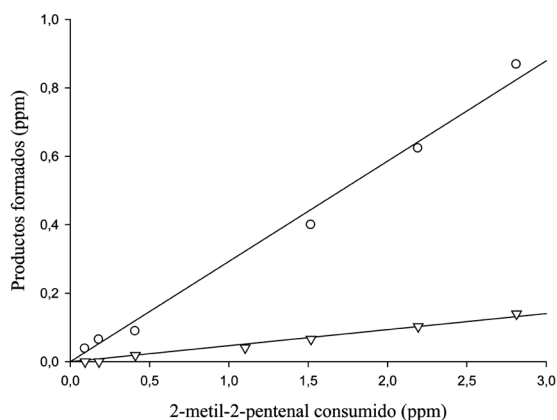


Figura 5. Gráfico de la concentración de productos de reacción $\circ$ Propanal, ∇ formaldehído en función de la concentración del 2-metil-2-pentenal consumido en la reacción con O_3 .

ligeramente favorecido hacia la formación del birradical más sustituido $(\text{CH}_3)_2\text{C}\bullet\text{OO}\bullet$. Smith *et al.* (1996) cuantificaron la acetona $(0,302 \pm 0,048)$ y 4-oxopentanal $(0,82 \pm 0,21)$ para la ozonólisis del 6-metil-5-hepten-2-ona a través de CG-FID y CG-IR e indicaron la preferencia para la forma-

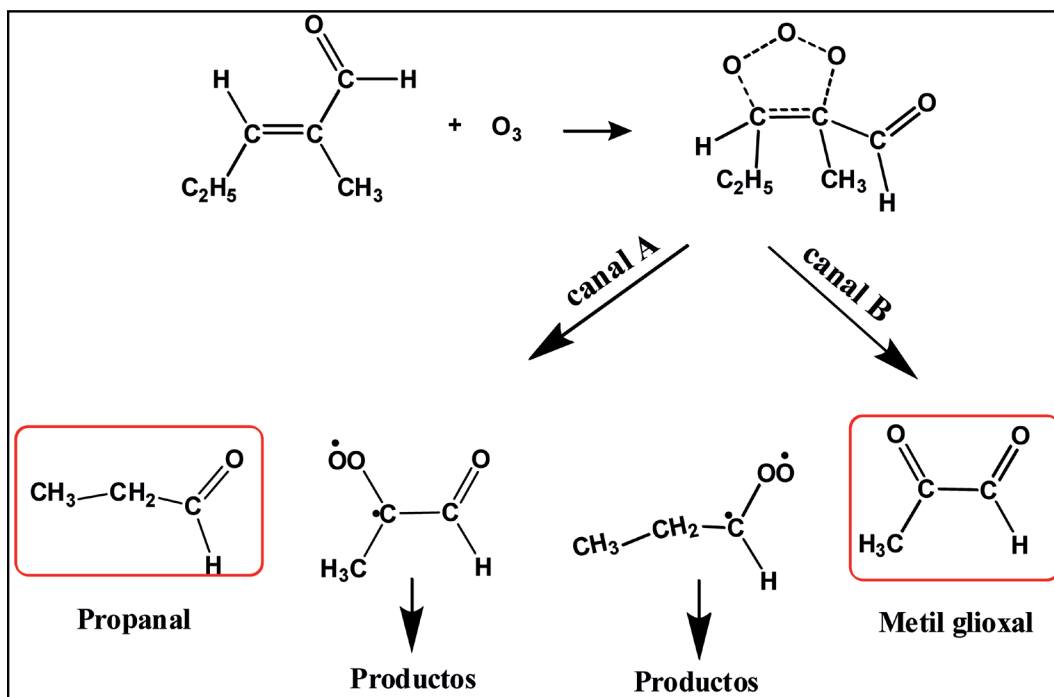


Figura 6. Mecanismo propuesto para la reacción: 2-metil-2-pentenal + O_3 (en los recuadros rojos se muestran los productos de reacción identificados).

ción del birradical más sustituido $(\text{CH}_3)_2\text{C}\bullet\text{OO}\bullet$. También Grosjean *et al.* (1996) cuantificaron como producto acetona (0.2822 ± 0.023) en la reacción de la ozonólisis del 6-metil-5-hepten-2-ona, a través de cromatografía líquida con sistema de detección ultravioleta, sin embargo, no cuantificaron el 4-oxopentanal. Así los resultados obtenidos indican un buen acuerdo con los obtenidos por Smith *et al.* (1996) y Grosjean *et al.* (1996), indicando la preferencia en la fragmentación del ozónido para formar el birradical más sustituido $(\text{CH}_3)_2\text{C}\bullet\text{OO}\bullet$ y el producto 4-oxopentanal.

Reacción del 2-metil-2-pentenal + O_3

En las Figuras 4 y 5 se muestran respectivamente la variación de concentración del reactante y de los productos respecto al tiempo de reacción y los productos formados respecto al reactante consumido, de cuyas pendientes se obtuvieron los rendimientos de los productos de reacción. Los principales productos encontrados fueron propanal y metil glioxal (véase Tabla 1), que de acuerdo al mecanismo propuesto en la Figura 6 son originados por la fragmentación del ozónido mediante los canales A y B. El metil glioxal fue identificado mediante FTIR y PTR-TOF-MS, pero no fue cuantificado ya que no se disponía del espectro de referencia infrarrojo calibrado. El formaldehído puede formarse a través de

reacciones por el canal hidroperóxido del birradical $\text{CH}_3\text{C}\bullet(\text{OO}\bullet)\text{C}(\text{O})\text{H}$ y $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}\bullet(\text{OO}\bullet)$.

El rendimiento de propanal de $(40 \pm 3) \%$ sugiere que para este alqueno tri-sustituido existe una ligera preferencia por la fragmentación del ozónido que generará el birradical más sustituido, obteniéndose el birradical de Criegee di-sustituido $(\text{CH}_3)\text{HC}(\text{O})\text{C}\bullet\text{OO}\bullet$, en tanto, que Grosjean *et al.* (1996) en su estudio utilizando cromatografía líquida con sistema de detección ultravioleta, midieron aproximadamente rendimientos iguales para los productos carbonilos primarios, butanal (0.527 ± 0.055) y glioxal (0.559 ± 0.037) de la reacción $\text{O}_3 + \text{trans-2-hexenal}$, indicando que para este alqueno di-sustituido no existen preferencias para la formación de un birradical particular.

Reacción crotonato de etilo + O_3

En las Figuras 7 y 8 se muestran respectivamente la variación de concentración del reactante y de los productos respecto al tiempo de reacción y los productos formados respecto al reactante consumido, de cuyas pendientes se obtuvieron los rendimientos de los productos. La suma de los rendimientos de los carbonilos primarios, glioxilato de etilo y acetaldehído es alrededor de 65%, el mecanismo propuesto de la degradación del crotonato de etilo ante el ozono

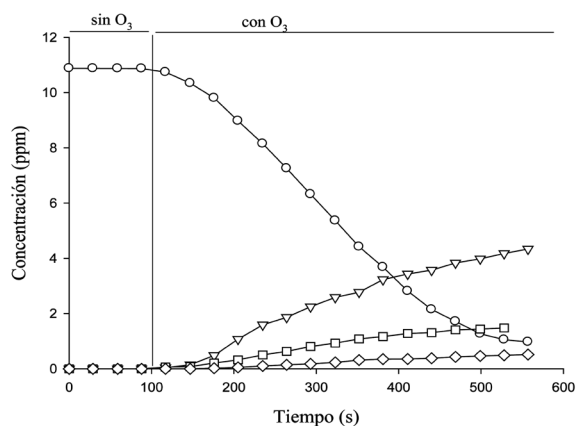


Figura 7. Concentración vs. Tiempo de $\circ$ crotonato de etilo y sus productos de reacción ∇ glioxilato de etilo, $\square$ acetaldehído y $\diamond$ formaldehído.

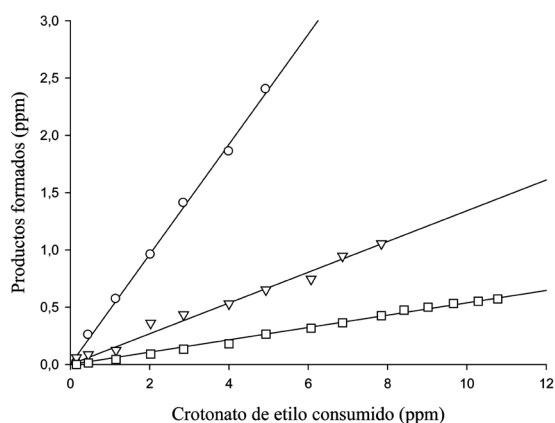


Figura 8. Gráfico de la concentración de productos de reacción $\circ$ glioxilato de etilo, ∇ acetaldehído y $\square$ formaldehído en función de la concentración del crotonato de etilo consumido en la reacción con O_3 .

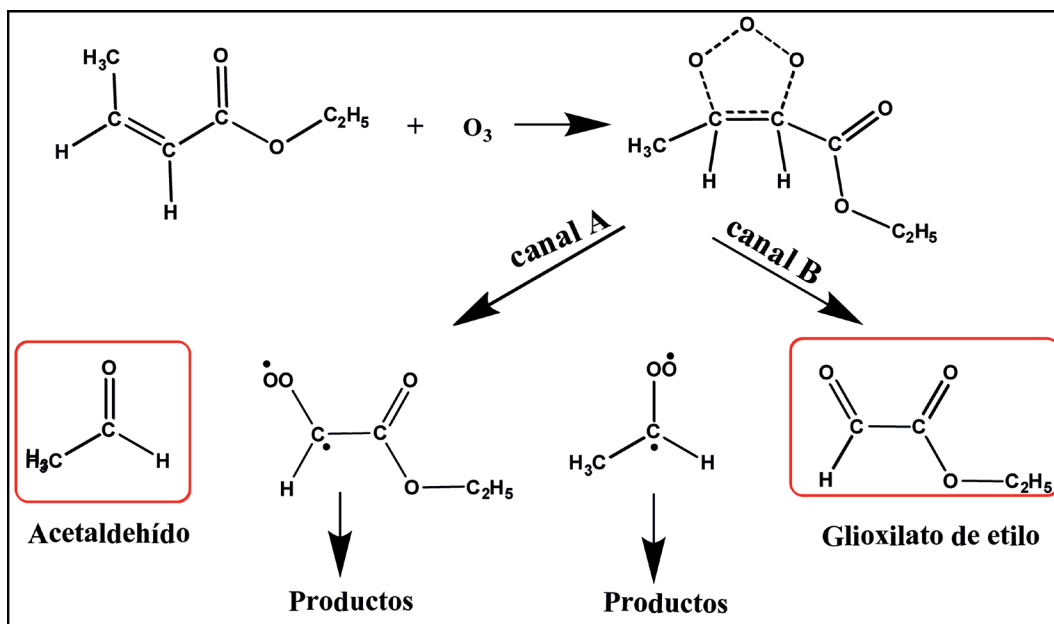


Figura 9. Mecanismo propuesto para la reacción: Crotonato de etilo + O_3 (en los recuadros rojos se muestran los productos de reacción identificados).

se indica en la Figura 9. En la Tabla 1 se indican los productos formados para esta reacción. La formación del formaldehído es atribuido a la reacción del birradical de Criegee $CH_3CH(OO\bullet)$ a través del canal hidroperóxido. Basado en el rendimiento no hay evidencia de la preferencia en la descomposición del ozonido primario de este alqueno di-sustituido para formar el birradical con el sustituyente mas voluminoso ($C_2H_5OC(O)(H)C\bullet OO\bullet$).

En el estudio de mecanismos de reacción de ozonólisis de otros ésteres como acetato de *trans*-2-hexenilo, estudiado a través de cromatografía líquida con sistema de detección ultravioleta por Grosjean *et al.* (1996), los autores indicaron que son favorecidas ambos canales de fragmentación del ozonido, formando como productos butanal y acetato de 1-oxoetilo con rendimientos de (0.473 ± 0.023) y (0.583 ± 0.141) respectivamente. Así también, en el estudio de reacciones de ozonólisis a través FTIR realizado por Bernard *et al.* (2010) del acrilato de metilo con productos glioxilato de metilo (0.30 ± 0.06) y formaldehído (0.43 ± 0.01) y acrilato de etilo con productos glioxilato de etilo (0.53 ± 0.08) y formaldehído (0.45 ± 0.07) no indican preferencia en la formación de ningún birradical

en particular proveniente de la fragmentación del ozonido.

CONCLUSIÓN

Las reacciones de ozonólisis estudiadas indican que la fragmentación del ozonido primario esta influenciada por la estructura de los birradicales que han de formarse. De acuerdo con los resultados de rendimientos de los productos de reacción obtenidos en este trabajo, se favorece ligeramente la formación del birradical menos voluminoso. Aunque esta tendencia no predomina en la ozonólisis del éster, como se ha demostrado en estudios previos para la ozonólisis de los ésteres, la fragmentación del ozonido no favorece la formación de ningún birradical en particular (Grosjean *et al.* 1996; Bernard *et al.* 2010). En cuanto al destino atmosférico, los productos de las reacciones de ozonólisis de los compuestos estudiados en base a su estructura son compuestos carbonílicos, que podrían reaccionar con los radicales OH o degradarse a través de la fotólisis en la atmósfera, o bien en algunos casos como los productos muy oxigenados podrían formar

núcleos de condensación contribuyendo así a la formación de aerosoles orgánicos secundarios.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), al proyecto de la EU EU-ROCHAMP-2, CONACYT (Paraguay), DAAD (Alemania)-MINCyT (Argentina) por los aportes financieros para llevar a cabo la investigación.

REFERENCIAS

- Atkinson, R. (2000). Atmospheric chemistry of VOCs y NO_x. *Atmospheric Environment*, 34(12-14): 2063-2101.
- Bernard, F., Eyglunent, G., Daële, V. & Mellouki, A. (2010). *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(32): 8376-8383.
- Finlayson-Pitts, B.J. & Pitts, J.N. (1999). *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere: Theory, Experiments, and Applications*. Elsevier Science.
- Gai, Y., Ge, M.Y & Wang, W. (2009). Rate constants for the gas phase reaction of ozone with n-butyl acrylate and ethyl methacrylate. *Chemical Physics Letters*, 473(1-3): 57-60.
- Grosjean, E., Grosjean, D., Seinfeld, J. H. (1996). Gas-phase reaction of ozone with trans-2-hexenal, trans-2-hexenyl acetate, ethylvinyl ketone, and 6-methyl-5-hepten-2-one. *International Journal of Chemical Kinetics*, 28(5): 373-382.
- Barnes, I., Becker, K.H. & T. Zhou. (1993). Near UV Absorption-Spectra and Photolysis Products of Difunctional Organic Nitrates - Possible Importance as NO_x Reservoirs. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 17: 353-373.
- Barnes, I., Becker, K.H. & Mihalopoulos, N. (1994). FT-IR product study of the photo-oxidation of dimethyl disulfide. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 18: 267-289.
- Johnson, D. & Marston, G. (2008). The gas-phase ozonolysis of unsaturated volatile organic compounds in the troposphere. *Chemical Society Reviews*, 37(4): 699.
- Smith, A. M., Rigler, E., Kwok, E. S. C. & Atkinson, R. (1996). Kinetics and Products of the Gas-Phase Reactions of 6-Methyl-5-hepten-2-one and trans-Cinnamaldehyde with OH and NO₃ Radicals and O₃ at 296 ± 2 K. *Environmental Science and Technology*, 30(5): 1781-1785.

EVALUACIÓN DE PROCESOS FÍSICOQUÍMICOS DE ADSORCIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs)

EVALUATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROCESSES OF ADSORPTION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs)

MARÍA CAROLINA SAMUDIO PEREZ*

*Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN), Universidad Nacional de Asunción. Email: carolsamudio2@gmail.com

Resumen: Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son componentes tóxicos y cancerígenos, cuya fuente principal son de combustibles fósiles. Requieren largo tiempo para biodegradarse. Se consideró la adsorción para disminuir la infiltración y la contaminación de las aguas subterráneas por los HAPs proveniente de tanques subterráneos. Los estudios de adsorción se realizaron en Batch para determinar las isotermas de adsorción, la capacidad de adsorción y de retención, para adsorbentes como carbón activado, alúmina activada y tierra de diatomea utilizando, acenafteno, fluoranteno, antraceno y fenantreno. Se han realizado estudios de la cinética de adsorción para cada uno de ellos, comparando con modelos matemáticos. La mayoría de los HAPs estudiados con los distintos adsorbentes se han adaptado mejor al modelo de Langmuir y el adsorbente que presentó mayor capacidad de adsorción y de retención fue el carbón activado y todos ellos siguen una cinética de pseudo segundo orden.

Palabras clave: contaminantes, cinética de adsorción, HAPs, aguas subterráneas.

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are toxic and carcinogenic components, whose main source is fossil fuel. They require long time to biodegrade. Adsorption was considered to reduce infiltration and groundwater contamination by PAHs from underground tanks. Adsorption studies were carried out in batch to determine the adsorption isotherms, adsorption capacity and retention to adsorbents such as activated carbon, activated alumina and diatomaceous earth using, acenaphthene, fluoranthene, anthracene and phenanthrene. Adsorption kinetics studies have been performed for each of them, comparing with mathematical models. Most of the HAPs studied with the different adsorbents have been better adapted to the Langmuir model and the activated carbon was the adsorbent that presented greater capacity of adsorption and retention and all of them follow a pseudo second order kinetics.

Key words: contaminants, adsorption kinetics, PAHs, groundwater.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son considerados como los componentes más tóxicos de los productos del petróleo, asociados a efectos crónicos y cancerígenos. A menudo, son distinguidos por el número de anillos que poseen, y se conocen más de cien compuestos diferentes. La familia de los HAPs, son un grupo de hidrocarburos con moléculas que contienen dos o más anillos aromáticos de seis carbonos fusionados a través de dos o más átomos de carbono (Figura 1), pero algunos de ellos contienen también anillos de cinco carbonos como el acenaftileno y el benzo (b) fluoranteno.

Una definición estricta de los HAPs, es aquella que los define como compuestos formados por dos

o más anillos aromáticos unidos. Estos pueden ser divididos en dos grupos según su peso molecular: los de bajo peso molecular formados por los de 2 a 3 anillos y los de alto peso molecular formado por aquellos que contienen en su estructura más de 3 anillos. Los HAP derivados incluyen a los HAPs que tiene un alquilo u otro radical unido a un anillo; también se encuentran los compuestos aromáticos heterocíclicos (HAC), que incluyen a los HAP en los cuales cualquier átomo de carbono en un anillo está sustituido por un átomo de nitrógeno, oxígeno, o un átomo de azufre (Roy, 1997). Se caracterizan por que suelen ser sólidos, transparentes, blancos o amarillos verdosos pálido y pueden tener un débil y agradable olor.

Algunos estudios recientes muestran que algunos HAPs, principalmente los más pesados, presentan toxicidad en aguas a niveles bajos de solubilidad. La mayoría de los peligros en los sistemas acuáticos, resultan de la toxicidad fotoinducida causada por la excitación de los estados de los HAPs, debido a la radiación UV (Roy, 1997).

La solubilidad de los HAPs en agua disminuye al ir aumentando el peso molecular y el tamaño de la molécula, con el consiguiente aumento del carácter lipofílico. Los HAPs identificados por su significación medioambiental, presentan todos ellos carácter

lipofílico, y son potencialmente bioacumulados y concentrados en suelos y sedimentos tanto más cuanto mayor sea su persistencia en cada medio. (Botello, 2005).

En la Figura 1 se observan las estructuras de los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos declarados en 1976 por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.S. EPA) como contaminantes prioritarios, debido a sus efectos cancerígenos, mutágenos y teratógenos para los organismos acuáticos e incluso para el hombre (Sbarato et al., 2002).

El benzo[a]pireno es el hidrocarburo aromático

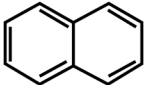
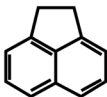
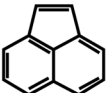
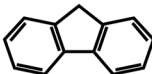
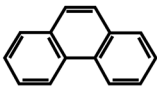
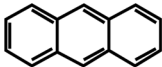
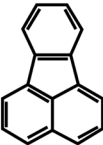
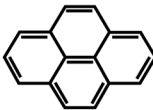
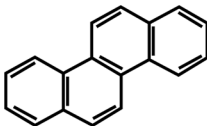
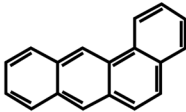
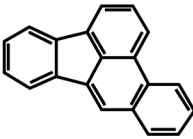
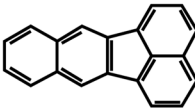
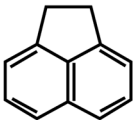
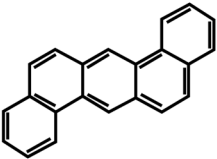
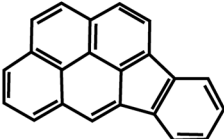
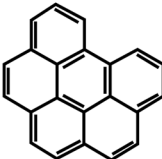
Naftaleno	Acenafteno	Acenaftileno	Fluoreno
			
Fenantreno	Antraceno	Fluoranteno	Pireno
			
Criseno	Benzo (a) antraceno	Benzo (b) fluoranteno	Benzo (k) fluoranteno
			
Acenaftileno	Dibenzo (a, h) antraceno	Indeno (1,2,3 - c, d) Pireno	Benzo (g,h,i) - perileno
			

Figura 1. Los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos considerados como contaminantes prioritarios por la Agencia Americana de la Protección del Medio Ambiente (EPA) y la Unión Europea (Directiva 2000/60/EC). Adaptado de Nadal *et al.* (2004).

policíclico más estudiado y es considerado como el más representativo de los compuestos de este grupo, se acostumbra expresar los impactos ocasionados por los HAPs en términos de equivalencia con el benzo[a] pireno. Si bien, es un contaminante con efecto carcinógeno, apenas sí existen hasta el presente valores límite y estándares ambientales. (Rodríguez Suárez, 2011).

La infiltración, afecta en menor grado a las aguas subterráneas, debido a que el suelo posee una capacidad de atenuación, lo que prolonga el problema en el tiempo y en el espacio (Núñez, 2002).

Por lo general, los tanques de combustibles y tuberías están sometidos a la corrosión y a fallas estructurales que crean fugas y escapes introduciendo una variedad de contaminantes en el agua subterránea. Las fugas son muy frecuentes en los tanques de acero pelados que no fueron protegidos contra la corrosión o bien los tanques que poseen muchos años bajo tierra, almacenando derivados del petróleo. Un litro de gasolina es suficiente para producir un millón de litros de agua subterránea inutilizable (Sophocleous, 2002).

En la actualidad en el Paraguay, existen denuncias de hechos de contaminación de suelos y aguas subterráneas por combustibles principalmente gasoil, provenientes de tanques subterráneos deteriorados (Méndez, 2009). En este trabajo de investigación nos interesa la fuente de contaminación del agua subterránea por los HAPs, debido a la fuga de tanques de almacenamiento y de derrames de combustibles derivados de petróleo.

METODOLOGÍA

Se utilizaron materiales de vidrio para preparación de soluciones de concentración conocida. Se realizaron análisis con un Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible de la marca GENESYS 10S UV-Vis, con un software de procesamiento de datos llamado VISIONlite Scan Version 5.0. Se realizaron estudios de Batch a 20 °C, para determinar las isothermas de adsorción para cada uno de adsorbentes carbón activado, alúmina activada y tierra de diatomea con los cuatro HAPs estudiados (acenafteno, fluoranteno, antraceno y fenantreno). Con este

método seleccionamos el material adsorbente que presentó mayor efectividad para retener los HAPs.

Caracterización de los HAPs

Los HAPs contienen anillos aromáticos en su estructura, los cuales son capaces de absorber radiación UV. Esta absorbancia es función de la longitud de onda de la radiación incidente, de manera que el espectro que relaciona estas dos variables es característico para cada compuesto.

Obtención del Límite de Detección y Cuantificación

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis de un método analítico en unas condiciones de mayor sensibilidad que permite el sistema informático. Definen la sensibilidad, o la mínima cantidad de analito que puede producir una señal significativa.

El límite de detección (CL) se define como la mínima concentración de analito en una muestra que se puede detectar en un proceso de análisis con un nivel aceptable de confianza, pero no necesariamente cuantificada.

El límite de cuantificación (LQ) es la concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión.

Es el límite inferior para medidas cuantitativas precisas, como opuesto a la detección cualitativa. Se puede definir como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, más diez veces la desviación estándar del blanco. (Compañó Beltrán y Ríos Castro, 2002)

Para la obtención de los límites de detección y cuantificación se prepararon una disolución del blanco de cada uno de los HAPs usando como solvente 40% de metanol en agua de cada uno de los HAPs, con los adsorbentes. A partir de ésta se deja por un tiempo de 24 horas, para alcanzar el equilibrio.

Obtención de recta de calibrado

Para la obtención de la recta de calibrado se ha realizado una serie de diluciones adecuadas a partir de la solución madre de 100 ppm de cada uno de los

HAPs y se ha medido su absorbancia a la longitud de onda escogida anteriormente.

Tratamiento previo de los adsorbentes

Se realizó un recubrimiento de los adsorbentes, carbón activado, tierra de diatomea y alúmina activada con ácido clorhídrico diluido. Pasado unos minutos se realizó un segundo baño con etanol, dejando una capa fina de recubrimiento, para luego dejar en la estufa a 60°C por un tiempo de 24 horas, en que los adsorbentes deben mostrar un aspecto seco, de no ser así se prolonga el tiempo de estancia en la estufa.

Obtención de Curvas de Carga: Isotermas de Adsorción

La experiencia consistió en hacer variar la masa de adsorbente para una concentración determinada de HAPs. Se utilizaron 100 ppm de cada HAPs para la alúmina, la tierra de diatomea y para el carbón activado.

Se introdujo en cada tubo entre 10 a 20 ml de cada solución de HAPs de una concentración determinada y masa del adsorbente variable agitándolo durante un tiempo necesario y luego se dejó 24 horas, tiempo estimado para alcanzar el equilibrio.

Pasado este período, se analizaron las muestras realizando las lecturas de las absorbancias con el espectrofotómetro.

Equilibrio de adsorción

Los resultados experimentales obtenidos con cada adsorbente se utilizaron para determinar los parámetros de equilibrio de ambas isotermas de adsorción, modelos de Langmuir y de Freundlich. Estos modelos, permitirían conocer la cantidad máxima de HAPs susceptible de ser fijada sobre el adsorbente para una concentración en disolución dada, buscando una relación teórica entre estos dos valores: C_{eq} y Q .

Modelo de Langmuir

Para comparar el modelo con los resultados experimentales se representa C_{eq}/Q en función de C_e , dando la pendiente b y la ordenada en el origen el valor de K .

Modelo de Freundlich

Para cada HAPs con los adsorbentes, se realiza el estudio comparativo de las isotermas de adsorción con el modelo de Freundlich y se representaran como $\log Q$ en función a C_{eq} .

Influencia del solvente en la preparación de disoluciones.

Las disoluciones se realizaron con agua, pero debido a que son poco solubles se ha añadido metanol para favorecer su disolución.

Para ver el efecto del solvente añadido en la lectura de absorbancia, se realizaron las lecturas de las diferentes absorbancias de diferentes disoluciones de concentraciones conocidas para cada HAPs con diferentes porcentajes del solvente.

Estudio de las cinéticas de adsorción de cada HAPs

Para el estudio experimental de la cinética de adsorción se ha dispuesto de una masa conocida del adsorbente en 500 ml de una disolución de 100 ppm de concentración de cada HAPs. A intervalos de tiempo se ha tomado una muestra que ha sido estudiada con el espectrofotómetro analizando su concentración, para determinar la evolución decreciente de la misma en función del tiempo. Se les aplicaron los modelos de cinética de orden cero, primero y segundo orden, así como las específicas para cinética de adsorción de pseudo primer orden y pseudo segundo orden.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los HAPs

Se han obtenido los espectros de absorción experimentalmente utilizando el espectrofotómetro GENESYS 10S UV-Vis, con un software de procesamiento de datos VISIONlite Scan Version 5.0, empleando una solución con una concentración determinada para cada HAPs. Se ha tenido en cuenta el pico que presenta la mayor absorbancia a la concentración dada para determinar la variación de la absorbancia con la concentración.

La Tabla 1 muestra el resumen de las longitudes de

Tabla 1. Longitud de onda característica de cada HAPs.

HAPs	Longitud de onda (nm)
Acenafteno	226
Fluoranteno	286
Antraceno	376
Fenantreno	250

onda características de cada hidrocarburo aromático policíclico que se han seleccionado para el análisis.

Los cuatros HAPs estudiados presentan una absorción entre 200 nm y 500 nm, lo que corresponde a absorciones debidas a transiciones electrónicas entre orbitales $\pi \rightarrow \pi^*$, los cuales se encuentran presentes las estructuras moleculares, ya que se trata de moléculas heterocíclicas aromáticas (Skoog et al., 2008).

Obtención de la recta de calibrado

Las rectas de calibrado se han obtenido elaborando las gráficas de Absorbancia vs. Concentración para cada hidrocarburo aromático poli aromático, con los valores obtenidos experimentalmente.

Acenafteno ($\lambda = 226$ nm)

La Tabla 2 muestra las concentraciones de Acenafteno y sus respectivos valores de absorbancia que serán utilizados para el gráfico de la concentración con respecto a la absorbancia.

Tabla 2. Datos de Concentración de Acenafteno, absorbancias, pendiente, intercepto, coeficiente de correlación.

Concentración (ppm)	Abs	Resultados	
0	0	Pendiente	0,5211
0,198	0,105	Intercepto	-0,0029
0,395	0,199	R^2	0,9997
0,790	0,400		
1,220	0,633		
1,580	0,825		

Fluoranteno ($\lambda = 286$ nm)

La Tabla 3 muestra las concentraciones de fluoranteno y sus respectivos valores de absorbancia que serán utilizados para el gráfico de la concentración con respecto a la absorbancia.

Tabla 3. Datos de Concentración de Fluoranteno, absorbancias, pendiente, intercepto, coeficiente de correlación.

Concentración (ppm)	Abs	Resultados	
0	0	Pendiente	0,1601
1,25	0,147	Intercepto	-0,0238
2,50	0,308	R^2	0,9986
4,00	0,597		
7,00	1,088		
10,00	1,589		

Antraceno ($\lambda = 376$ nm)

La Tabla 4 muestra las concentraciones de antraceno y sus respectivos valores de absorbancia que serán utilizados para el gráfico de la concentración con respecto a la absorbancia.

Tabla 4. Datos de Concentración de Antraceno, absorbancias, pendiente, intercepto, coeficiente de correlación.

Concentración (ppm)	Abs	Resultados	
0	0	Pendiente	0,0246
1,785	0,045	Intercepto	0,0045
2,550	0,064	R^2	0,9996
5,101	0,128		
10,201	0,265		
25,511	0,643		
40,801	0,997		

Fenantreno ($\lambda = 250$ nm)

La Tabla 5 muestra las concentraciones de fenantreno y sus respectivos valores de absorbancia que serán utilizados para el gráfico de la concentración con respecto a la absorbancia.

Tabla 5. Datos de Concentración de Fenantreno, absorbancias, pendiente, intercepto y el coeficiente de correlación.

Concentración (ppm)	Abs	Resultados	
0	0	Pendiente	0,3146
0,437	0,181	Intercepto	0,0334
0,875	0,324	R^2	0,9986
1,750	0,606		
3,501	1,123		
4.220	1.350		

Obtención de Curvas de Carga: Isotermas de Adsorción

Se determinan la concentración en equilibrio de los HAPs (C_{eq}) después de 24 horas y la cantidad en miligramos del HAPs adsorbido por gramo de carbón activado (Q). Los resultados se presentan en la Tabla 6.

Mediante los mismos se observa que el carbón activado presenta un mayor valor de carga de masa adsorbida Q que los demás adsorbentes con cada uno de los HAPs evaluados, con mayor valor con el antraceno y el menor valor el acenafteno.

Los valores de la carga de masa adsorbida Q en orden decreciente son del antraceno, fluoranteno, fenantreno al acenafteno con el carbón activado.

El comportamiento de los tres primeros HAPs en la secuencia señalada, se relacionan por la accesibilidad de las mismas a la superficie del carbono, ya que todas poseen un número de enlaces π conjugados iguales (7), siendo el de mayor carga de masa adsorbida Q el del antraceno, debido a que posee

Tabla 6. Resumen de los valores de la carga de masa de HAPs en miligramos adsorbida por cada gramo de adsorbente utilizado.

HAPs	Carbón Activado	Alúmina	Tierra Diatomea
Acenafteno	30,8	11,0	15,85
Fluoranteno	74,3	15,6	38,20
Antraceno	82,8	30,3	25,47
Fenantreno	44,4	33,6	19,11

una estructura de disposición lineal de sus anillos aromáticos lo que facilita la adsorción.

En cuanto a que el acenafteno tenga menor carga de masa adsorbida Q , se relaciona con su grado de aromaticidad menor (menos enlaces π conjugados) con respecto a los demás HAPs mencionados, además de la estructura molecular.

Modelización del equilibrio de adsorción

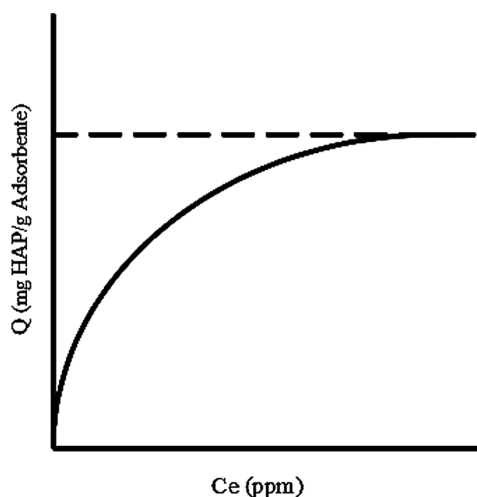
Los resultados anteriores obtenidos se utilizarán para determinar los parámetros de equilibrio, empleando los modelos de Langmuir y de Freundlich, de manera a conocer cuál de los modelos es el que se adapta mejor para cada HAPs, y determinar cuál de ellos posee mayor capacidad de adsorción.

Modelo de Langmuir

El modelo de Langmuir (Ecuación 1), se utilizó para cada uno de los HAPs con sus adsorbentes.

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{k_c C_e} + \frac{1}{b} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde b (mg/g) y K_b (l/mg) son constantes relacionadas con la capacidad de adsorción y entalpía de adsorción que es la cantidad de calor involucrado en el proceso de adsorción de un mol de sustancia respectivamente, C_e (ppm) es la concentración de la

**Figura 2.** Representación del comportamiento de la adsorción según Langmuir.

disolución en el equilibrio y Q (mg/g) la capacidad de retención del adsorbente. La Figura 2 representa el comportamiento de la adsorción según Langmuir. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

En la Tabla 7 se presenta un resumen de los valores de las constantes K_b de las isothermas de Langmuir, observándose que todos los HAPs presentan un valor mayor con el carbón activado que con los demás adsorbentes, con lo que todos los HAPs con el carbón activado poseen mayor entalpía de adsorción.

Tabla 7. Las constantes (K_b) de las isothermas de Langmuir para cada uno de los HAPs con los adsorbentes estudiados.

K_b (Langmuir)	Carbón Activado (l/mg)	Alúmina Activada (l/mg)	Tierra Diatomea (l/mg)
Acenafteno	0,0051	0,0006	0,0003
Fluoranteno	0,0044	0,0002	0,0047
Antraceno	0,0095	0,0070	0,0032
Fenantreno	0,0220	0,0033	0,0250

En la Tabla 8 se presentan los valores de la capacidad de adsorción según las isothermas de Langmuir (b), observándose que todos los HAPs presentan un valor mayor con el carbón activado que con los demás adsorbentes.

El segundo adsorbente de mayor capacidad de adsorción es la tierra diatomea y por último la alúmina activada.

Tabla 8. Las constantes b de las isothermas de Langmuir para cada uno de los HAPs con los adsorbentes estudiados.

b (Langmuir)	Carbón Activado (mg/g)	Alúmina Activada (mg/g)	Tierra Diatomea (mg/g)
Acenafteno	42,0	15,20	31,4
Fluoranteno	117,6	14,99	43,9
Antraceno	117,6	31,14	32,2
Fenantreno	47,8	43,86	19,3

Modelo de Freundlich

El modelo de Freundlich (Ecuación 2), se utilizó para cada uno de los HAPs con sus adsorbentes.

$$\text{Log } q_e - \log k + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Ecuación 2}$$

donde b y $1/n$ son dependientes de la temperatura, y q_{sat} puede ser tomado como función o no de la misma. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

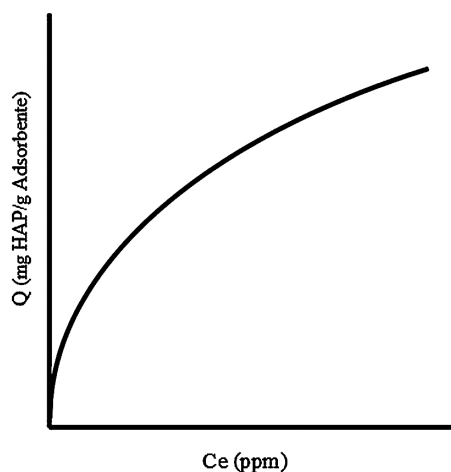


Figura 3. Representación del comportamiento de la adsorción según Freundlich.

En la Tabla 9 se presentan los valores de coeficiente de correlación lineal de cada HAPs, obtenida de los modelos evaluados según las de Langmuir y de Freundlich, observándose que para todos los HAPs adsorbidos en carbón activado, el modelo que mejor se ha adaptado al comportamiento experimental es el de Langmuir por el valor mayor de R^2 ; mientras que para la alúmina activada, el modelo que mejor se ha adaptado al comportamiento experimental es el del Langmuir para la mayoría de los HAPs a excepción del Fluoranteno que se adapta mejor al modelo de Freundlich.

En cuanto que para la Tierra diatomea, el modelo que mejor se ha adaptado al comportamiento experimental de Langmuir es con el Fluoranteno, el Antraceno y el fenantreno, mientras que el Acenafteno se adapta mejor al modelo de Freundlich.

Tabla 9. Valores de coeficiente de correlación lineal de cada uno de los HAPs para las isothermas de Langmuir y Freundlich.

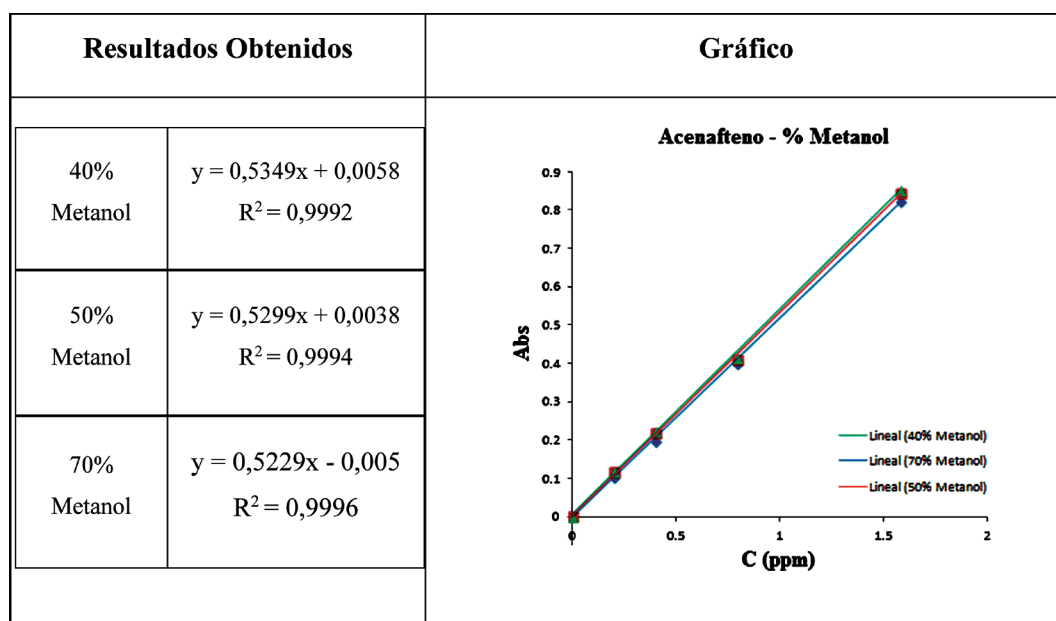
HAPs	Carbón Activado		Alúmina Activada		Tierra Diatomea	
	Langmuir	Freundlich	Langmuir	Freundlich	Langmuir	Freundlich
Acenafteno	0,9319	0,8589	0,9129	0,7846	0,7062	0,9005
Fluoranteno	0,8856	0,8439	0,6130	0,8274	0,7476	0,6741
Antraceno	0,9816	0,9369	0,9775	0,7192	0,9007	0,7809
Fenantreno	0,9931	0,8917	0,8411	0,5574	0,9862	0,4739

Estudio de la influencia de la utilización del solvente en la preparación de disoluciones

Se han obtenido las rectas de calibración para cada porcentaje de metanol utilizado, siendo los resultados y gráficos obtenidos los siguientes.

Acenafteno

En la Figura 4 se observan los gráficos realizados con igual concentración de acenafteno, utilizando metanol en distintos porcentajes 40%, 50% y 70 %, se observa que las gráficas son muy parecidas dando una pendiente bastante similar.

**Figura 4.** Influencia en la recta de calibrado de la cantidad de metanol en la preparación de las disoluciones de Acenafteno. Absorbancia versus concentración.

Fluoranteno

En la Figura 5 se observan los gráficos realizados con igual concentración de fluoranteno, utilizando

metanol en distintos porcentajes 40%, 50% y 70 %, se observa que las gráficas son muy parecidas dando una pendiente bastante similar.

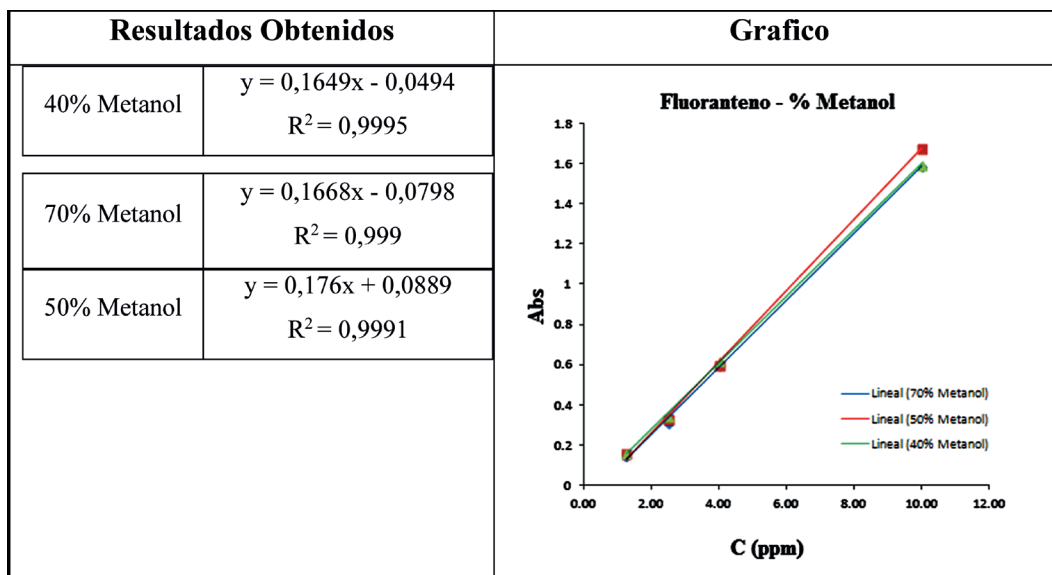


Figura 5. Influencia en la recta de calibrado de la cantidad de metanol en la preparación de las disoluciones de Fluoranteno. Absorbancia versus concentración.

Antraceno

En la Figura 6 se observan los gráficos realizados con igual concentración de antraceno, utilizando

metanol en distintos porcentajes 40%, 50% y 70 %, se observa que las gráficas son muy parecidas dando una pendiente bastante similar.

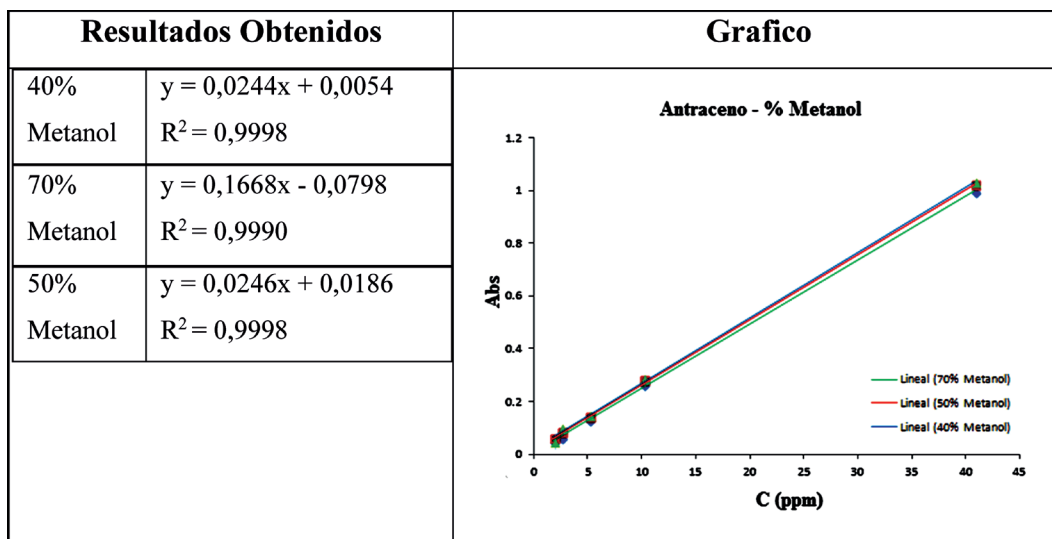


Figura 6. Influencia en la recta de calibrado de la cantidad de metanol en la preparación de las disoluciones de Antraceno. Absorbancia versus concentración.

Fenantreno

En la Figura 7 se observan los gráficos realizados con igual concentración de fenantreno, utilizando metanol en distintos porcentajes 40%, 50% y 70

%, se observa que las gráficas son muy parecidas dando una pendiente bastante similar.

El estudio de la influencia del uso del metanol se ha realizado para los cuatro HAPs, obteniéndose

las rectas para diferentes porcentajes de metanol, los que han mostrado pendientes similares, verificando de esta manera que la cantidad de metanol

añadido en la disolución para la preparación de los HAPs, no afecta significativamente a la lectura de las absorbancias.

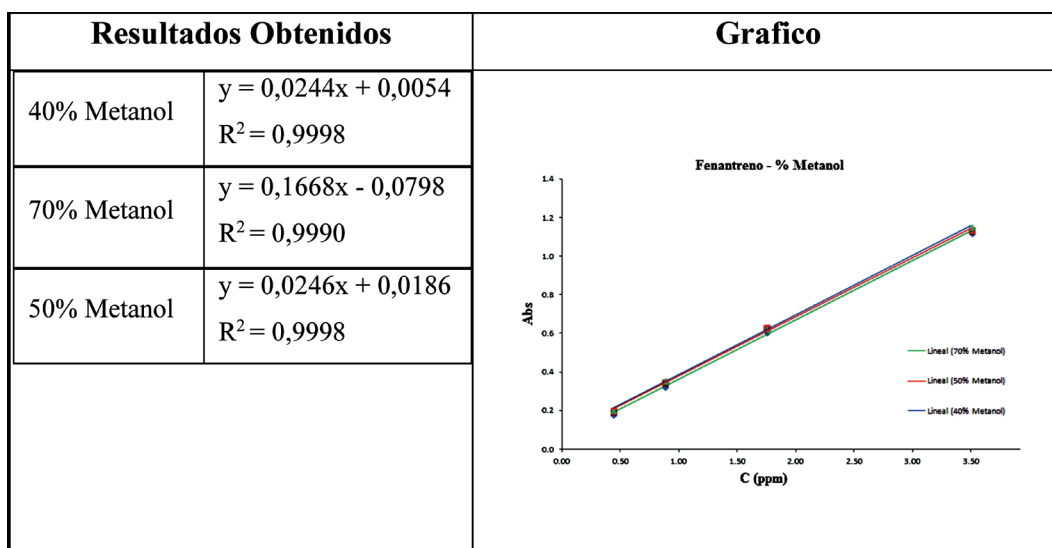


Figura 7. Influencia en la recta de calibrado de la cantidad de metanol en la preparación de las disoluciones de Fenantreno. Absorbancia versus concentración.

Estudio de las cinéticas de adsorción de cada HAPs

La cinética se ha seguido con el carbón activado de adsorbente considerando que este es el que ha presentando mayor capacidad de adsorción, con respecto a los otros estudiados.

En la Figura 8 se observa el decaimiento cinético de los cuatro HAPs estudiados en función del tiempo. (ver tablas 10 y 11). En las mismas se observan

un comportamiento similar en todos los casos de un decaimiento rápido al principio de la adsorción disminuyendo lentamente a tiempos más largos.

Tabla 10. Modelos Cinéticos aplicados al acenafteno y al fluoranteno.

	Acenafteno	Fluoranteno	Unidades
Orden Cero	$k = 0,0032$	$0,0106$	ppm/min
	$C_o = 1,2956$	$5,1274$	Ppm
	$R^2 = 0,6300$	$0,5462$	
Primer Orden	$k = 0,0029$	$0,0023$	min ⁻¹
	$C_o = 12,8379$	$25,2973$	Ppm
	$R^2 = 0,7271$	$0,6114$	
Segundo Orden	$k = 0,0003$	$0,0001$	Ppm ⁻¹ /min
	$C_o = 12,7714$	$25,0000$	Ppm
	$R^2 = 0,8141$	$0,6733$	
Pseudo 1° Orden	$k = 0,0188$	$0,0298$	min ⁻¹
	$Q_e = 14,9423$	$24,3858$	mg.g ⁻¹
	$R^2 = 0,9788$	$0,9821$	
Pseudo 2° Orden	$Q_e = 28,1690$	$40,1606$	mg.g ⁻¹
	$k_2 = 1,9311.10^{-3}$	$1,8636.10^{-3}$	g.mg ⁻¹ .min ⁻¹
	$R^2 = 0,9986$	$0,9991$	

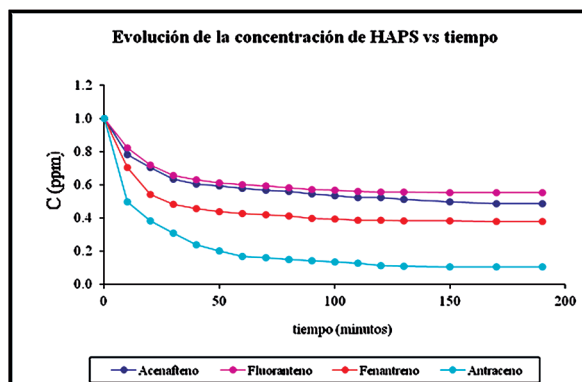


Figura 8. Cinética de Adsorción del Acenafteno, Fluoranteno, Antraceno y Fenantreno.

Tabla 11. Modelos Cinéticos aplicados al fenantreno y al antraceno.

	Fenantreno	Antraceno	Unidades
Orden Cero	k = 0,0068	0,0317	ppm/min
	C _o = 2,2274	5,3557	Ppm
	R ² = 0,4598	0,4856	
Primer Orden	k = 0,0035	0,0099	min ⁻¹
	Co = 21,3467	4,8211	Ppm
	R ² = 0,5635	0,7518	
Segundo Orden	k = 0,0002	0,0042	Ppm ⁻¹ /min
	C _o = 20,6185	5,0050	Ppm
	R ² = 0,6637	0,9104	
Pseudo 1° Orden	k = 0,0312	0,0315	min ⁻¹
	Q _e = 30,2471	15,1985	mg.g ⁻¹
	R ² = 0,9700	0,9867	
Pseudo 2° Orden	Q _e = 62,5000	29,0698	mg.g ⁻¹
	k ₂ = 1,8311.10 ⁻³	3,6911.10 ⁻³	g.mg ⁻¹ .min ⁻¹
	R ² = 0,9995	0,9996	

Por lo que, la velocidad al principio de la adsorción está gobernado por la difusión externa, que es el transporte de las moléculas del adsorbato desde el seno de la solución hasta la superficie externa de las partículas del adsorbente y la segunda parte por la difusión intraparticular, que es la adsorción desde la superficie externa del adsorbente hasta los centros activos de adsorción (entre los poros).

Todos los HAPs estudiados con el carbón activado, se ajustan mejor al modelo cinético de adsorción al de Pseudo segundo orden.

CONCLUSIONES

Los cuatros HAPs estudiados presentan una absorción entre 200 nm y 500 nm, que corresponde a absorciones debidas a transiciones electrónicas entre orbitales $\pi \rightarrow \pi^*$, los cuales se encuentran formando las estructuras moleculares de moléculas heterocíclicas aromáticas.

El carbón activado presenta mayor valor de carga de masa adsorbida (Q) que los demás adsorbentes; indicando esto que tiene una capacidad de retención mayor que los demás adsorbentes.

El mayor valor de carga de masa adsorbida (Q) lo presenta el carbón activado con el antraceno y

el menor valor con el Acenafteno.

Las proporciones de la carga de masa adsorbida (Q) con el carbón activado en orden decreciente es: antraceno, fluoranteno, fenantreno y acenafteno respectivamente.

El comportamiento del carbón activado con el antraceno, fluoranteno, fenantreno, se podría relacionar con la accesibilidad de las mismas a la superficie del carbono, ya que todas poseen siete enlaces pi (π) conjugados y el de mayor carga de masa adsorbida (Q) es del antraceno con la estructura de disposición lineal de sus anillos aromáticos.

El acenafteno tiene una menor carga de masa adsorbida (Q) de carbón activado con respecto a los demás HAPs, relacionada con su grado de aromaticidad menor, además de la accesibilidad disminuida debido a su estructura molecular.

La mayoría de los HAPs presentan un valor mayor en la capacidad de adsorción con el carbón activado que con los demás adsorbentes según el modelo de Langmuir, cuyos valores son 42 mg de acenafteno/g de carbón activado, 117,6 mg de fluoranteno/g de carbón activado, 117,6 mg de antraceno/g de carbón activado; 47,8 mg de fenantreno/g de carbón activado.

Para todos los HAPs adsorbidos en carbón activo, el modelo que mejor se ha adaptado al comportamiento experimental es el de Langmuir presentando ajustes de las funciones lineales iguales a R²= 0,9319 para el acenafteno; R²= 0,8856 para el fluoranteno; R²= 0,9816 para el antraceno; R²= 0,9931 para el fenantreno.

La adsorción con alúmina activada, se ha adaptado mejor al modelo de Langmuir para la mayoría de los HAPs ajustadas con una función lineal de R² = 0,9129 para el acenafteno; R²= 0,9775 para el antraceno; R²= 0,8411 para el fenantreno, a excepción del Fluoranteno que se adapta mejor al modelo de Freundlich ajustadas con una lineal con R² = 0,8274.

La Tierra diatomea, se ha adaptado mejor al modelo de Langmuir con el Fluoranteno, el Antraceno y el fenantreno, ajustadas a través de una función lineal con R² = 0,7476, R²= 0,9007 y R²= 0,9862 respectivamente, o mientras que con el acenafteno

se ajusta mejor al modelo de Freundlich a través de una función lineal con $R^2 = 0,9005$.

El uso del metanol como disolvente de los HAPs no afecta a las lecturas de las absorbancias.

Todos los HAPs con el carbón activado, se ajustan mejor al modelo cinético de adsorción al de Pseudo segundo orden ya que los valores de R^2 son de 0,9986; 0,9991; 0,9995; 0,9996 para el Acenafteno, Fluoranteno, Fenantreno y Antraceno respectivamente.

Se ha comprobado que los HAPs pueden ser retenidos utilizando los adsorbentes estudiados, siendo el carbón activado el mejor adsorbente de entre los tres, seguida de la tierra de diatomea según el modelo de Langmuir. Teniendo en cuenta la cantidad de HAPs que puede adsorber y retener, así como la concentración de HAPs que se pretende extraer del agua subterránea contaminada, se podría diseñar una barrera de retención de los HAPs a base de carbón activado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aas, E., Beyer, J. & Goksoyr, A. (1998). PAH in fish bile detected by fixed wavelength fluorescence. *Marine Environmental Research*, 46(1-5): 225-228.
- Al-Degs, Y., Khraisheh, M.A., & Tutunji, M. (2001). Sorption of lead ions on diatomite and manganese oxides modified diatomite. *Water Research*, 35(15): 3724-3728.
- Al-Ghouti, M.A., Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J. & Ahmad, M.N. (2003). The removal of dyes from textile wastewater: a study of the physical characteristics and adsorption mechanisms of diatomaceous earth. *Journal of Environmental Management*, 69(3): 229-238.
- Ball, D.W. (2004). *Fisicoquímica*. México: Thomson. 860 pp.
- Bansal, R.C. & Goyal, M. (2005). *Activated carbon adsorption*. Cleveland: CRC press. 250 pp.
- Barrow, G.M. (1975). *Química general*. Barcelona: Editorial Reverté. 404 pp.
- Bean, E.L., Campbell, S.J., Anspach, F.R., Ockershausen, R.W. & Peterman, C.J. (1964). Zeta Potential Measurements in the Control of Coagulation Chemical Doses [with Discussion]. *Journal (American Water Works Association)*, 56(2): 214-227.
- Botello, A.V. (2005). *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental : diagnóstico y tendencias*. Villahermosa: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 738 pp.
- Cabal Álvarez, M.B. (2012). *Depuración de efluentes contaminados por hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante carbones activados: evaluación del proceso de adsorción*. Universidad de Oviedo: Tesis doctoral. 139 pp.
- Chae, Y.S. & Hamidi, A. (2000). *Groundwater and surface water pollution*. Boca Raton: CRC Press. 139 pp.
- Chang, C.-F., Chang, C.-Y., Chen, K.-H., Tsai, W.-T., Shie, J.-L. & Chen, Y.-H. (2004). Adsorption of naphthalene on zeolite from aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 277(1): 29-34.
- Channel, I.W.O.M., Bonert, C., Pinto, L. & Estrada, R. (2010). Hidrocarburos aromáticos policíclicos dispersos/disueltos en agua. *Revista Ciencia y Tecnología del Mar*, 33(1): 95-99.
- Compañó Beltrán, R. & Ríos Castro, A. (2002). *Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos*. Madrid: Editorial Síntesis. 320 pp.
- Conte, P., Zena, A., Pilidis, G. & Piccolo, A. (2001). Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances. *Environmental pollution*, 112(1): 27-31.
- Coughlin, R.W. & Ezra, F.S. (1968). Role of surface acidity in the adsorption of organic pollutants on the surface of carbon. *Environmental Science y Technology*, 2(4): 291-297.
- Custodio, E. & Llamas, R. (2000). *Hidrología subterránea. Tomo I*. Barcelona: Ediciones Omega. 1194 pp.
- Ferreira, M. (2001). Polycyclic aromatic hydrocarbons: a QSPR study. *Chemosphere*, 44(2): 125-146.

- Giles, C.H., Macewan, T.H., Nakhwa, S.N. & Smith, D. (1960). 786. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1960(3): 3973–3993.
- Gispert, J.C. I (1996). *Estructura atómica y enlace químico*. Barcelona: Editorial Reverté. 426 pp.
- Hernández, M.Á., Velasco, J.A., Rojas, F., Campos Reales, E., Lara, V.H., Torres, J.A. & Salgado, M.A. (2011). Adsorción de Compuestos Orgánicos Volátiles en Arcillas del Estado de Puebla, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 19(4): 191-196.
- Hidalgo, A.G.A. (2006). *Evaluación de un método por espectroscopia UV-VIS para la detección de contaminantes orgánicos en agua*. Universidad de San Carlos de Guatemala: Tesis de grado. xx + 109 pp.
- Ho, Y.S. (2005). Adsorption characteristics of zinc-cyanide complexes by waste brewery biomass. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 11(3): 478–479.
- Mcnaught, A. & Wilkinson. (1997). *Compendium of chemical terminology, the gold book*. Second edition. Oxford: Blackwell Science. 464 pp.
- Krishnan, K.A., Sheela, A. & Anirudhan, T. (2003). Kinetic and equilibrium modeling of liquid-phase adsorption of lead and lead chelates on activated carbons. *Journal of Chemical Technology y Biotechnology*, 78(6): 642–653.
- Law, R.J. & Biscaya, J.L. (1994). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)—Problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Marine Pollution Bulletin*, 29(4): 235–241.
- Legorreta, T.A. & Morales, R.S. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de la Bahía de Chetumal. In: Botello, A.V., Osten, J.R.von, Gold-Boucjhut, G. & Agraz-Hernández, C (eds): *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche. Edición 2: 95-99.
- Leon Carrera, M.F., Montenegro, G. & Llamas Borrajo, J. (2009). Modelización del Desplazamiento de Btex en un Acuífero por la Ruptura de un Tanque de Gasolina en la Zona de Alicante. *Escuela Superior Politécnica del Litoral: Artículo de tesis de Grado*. 8 pp.
- Lesser, J.M. & Saval, S. (2001). Principales hidrocarburos contaminantes de suelos y acuíferos: identificación y características. *Facultad de Ingenieria, UNAM: Contaminación de Acuíferos Division de Educacion Continua*. 11 pp.
- Letzel, T., Rosenberg, E., Wissiack, R., Grasserbauer, M. & Niessner, R. (1999). Separation and identification of polar degradation products of benzo[a]pyrene with ozone by atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry after optimized column chromatographic clean-up. *Journal of Chromatography*, A 855(2): 501-514.
- Llamas, J.F., García, M. & Rodríguez, J. (2003). Evaluación y diseño de técnicas de bioremediación en tres lagos de la costa de Muxia. *Industria y Minería*, 351: 4-11.
- Logan, S.R. (1999). *Fundamentos de cinética química*. Madrid: Addison Wesley. 380 pp.
- Martínez-Rueda, T. & Cambra, K. (2002). Benzopireno y salud. *Medicina Clínica*, 118(1): 16–7.
- Mendez, N. (2009). Por contaminar pozos de agua, vecinos denuncian a servicentro. *Última Hora*, 27/05/2009.
- Nadal, M., Schuhmacher, M. & Domingo, J.L. (2004). Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. *Environmental pollution*, 132(1), 1-11.
- Neff, J.M. (1979). *Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Sources, fates and biological effects*. London: Applied Science Publishers. 274 pp.
- Núñez, M. (2002). Aplicación de modelos matemáticos de flujo y transporte de contaminantes para el diseño de sistemas de remediación. *Minerales (Santiago)*, 57: 361-370.

- Perry, R.H., Green, D.W. & Maloney, J.O. (2001). *Manual de ingeniero químico*. Edición 7. Madrid: McGraw-Hill. 816 pp.
- Rodríguez Suárez, M.M. (2011). *Cáncer de pulmón por hidrocarburos aromáticos policíclicos en la población del estudio CAPUA*. Universidad de Oviedo: Tesis de doctorado. 159 pp.
- Roy, I. (1997). Entry on Alkyl PAHS (Alkyl Homologs of PAHS). *Environmental Contaminants Encyclopedia* (<https://www.nature.nps.gov/water/ecencyclopedia/contents.cfm>).
- Rubio Armendáriz, C., Armendáriz, C.R., Marante, R.Á. & Torre, A.H. De La. (2006). Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en productos de la pesca: revisión. *Revista de Toxicología*, 23(1): 1-6.
- Sander, L.C. & Wise, S.A. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbon structure index. National Institute of Standards and Technology Special Publications, 922: 105 pp.
- Sarkar, M., Acharya, P.K. & Bhattacharya, B. (2003). Modeling the adsorption kinetics of some priority organic pollutants in water from diffusion and activation energy parameters. *Journal of Colloid and Interface Science*, 266(1): 28-32.
- Sbarato, V., Sbarato, D., Basan, R., Manzo, P., Emilio, O.J., Campos, M. & Rosa, S.M. (2002). *Análisis y caracterización del material particulado atmosférico*. Córdoba, Argentina. Maestría en Gestión para la Integración Regional y Centro de Información y Documentación Regional, Universidad Nacional de Córdoba. 27 pp.
- Skoog, D.A., Crouch, S.R. & Holler, F.J. (2008). *Principios de Análisis Instrumental*. México: Cengage Learning Editores. 1064 pp.
- Skoog, D.A., West, D.M. & Holler, F.J. (1997). *Fundamentos de química analítica*. Edición 4. Barcelona: Editorial Reverté. 608 pp.
- Sophocleous, M. 2002. Interactions between groundwater and surface water: the state of the science. *Hydrogeology Journal*, 10(1): 52-67.
- Valderrama, C., Cortina, J.L., Farran, A., Gamisans, X. & Lao, C. (2007). Kinetics of sorption of polyaromatic hydrocarbons onto granular activated carbon and Macronet hyper-cross-linked polymers (MN200). *Journal of Colloid and Interface Science*, 310(1): 35-46.
- Valderrama, C., Gamisans, X., De Las Heras, X., Farrán, A. & Cortina, J.L. (2008). Sorption kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons removal using granular activated carbon: Intraparticle diffusion coefficients. *Journal of Hazardous Materials*, 157(2-3): 386-396.
- Vives, I., Grimalt, J.O. & Guitart, R. (2001). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*, 3: 45-51.
- Walker Jr., P.L., Verma, S.K., Rivera-Utrilla, J. & Davis, A. (1988). Densities, porosities and surface areas of coal macerals as measured by their interaction with gases, vapours and liquids. *Fuel*, 67(12): 1615-1623.
- Weber, W.J. (1979). *Control de la calidad del agua: procesos fisicoquímicos*, Barcelona: Editorial Reverté: 688 pp.

DISEÑOS OBSERVACIONALES: UNA APLICACIÓN EN ESTUDIOS CLÍNICOS

OBSERVATIONAL DESIGNS: AN APPLICATION TO CLINICAL STUDIES

FERNANDO GIMÉNEZ SENA*

*Departamento de Estadística, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. Email: ferdisen@facen.una.py

Resumen: El diseño es una componente esencial en los estudios estadísticos. Los ensayos clínicos constituyen el estándar de oro pues utilizan el concepto de aleatorización para balancear efectos de variables observadas y no observadas sobre la respuesta de interés, aunque esto no siempre es posible. Una solución posible son los diseños observacionales, que buscan reproducir las condiciones de un estudio aleatorizado, sin la aleatorización. Aspectos principales son el matching y la sensibilidad. El primero busca balancear los posibles efectos de las variables observadas, y el segundo intenta cuantificar la magnitud causal necesaria para invalidar los resultados obtenidos. Estos conceptos son aplicados en un pequeño ensayo clínico exploratorio para evaluar sus cualidades bajo la perspectiva de un estudio observacional. Los resultados muestran que una elección de pares semejantes mejora la comparabilidad entre los grupos de tratamiento y de control. Las conclusiones son altamente sensibles a pequeños cambios que pueden originarse como efecto de variables no observadas.

Palabras claves: Estudios Observacionales, Matching, Pares semejantes, Análisis de Sensibilidad.

Summary: Design is a crucial component in statistical studies. In biostatistics, the clinical trials are the gold standard, because the use of randomization to balance either observed and non observed covariates effects on the response. But random assignment of treatment to subjects not always is possible. Observational studies is an alternative, but it lacks randomization. Two key concepts are, matching to balance effects of observed covariates, and sensitivity analysis to measure the amount of the hidden effect that would make conclusions invalid. These concepts are applied to a small exploratory clinical trial in order to evaluate its characteristics under the observational study framework. Results show that it is possible to improve comparability by matching pairs, and conclusions are highly sensitive to small changes due to unobserved covariates.

Keywords: Observational studies, Matching, Matching pairs, Sensitivity analysis.

INTRODUCCIÓN

Numerosas instituciones, públicas y privadas, como resultado de sus operaciones, generan una gran cantidad de datos que terminan almacenados en sus archivos, sin extraer la información útil que pueden proporcionar. Ejemplo de tales instituciones son los prestadores de salud, como los hospitales, sanatorios o centros especializados; en estos lugares, las historias clínicas de los pacientes registran numerosas variables relativas a su estado de salud, a los tratamientos que les fueron administrados y a los resultados obtenidos.

El análisis estadístico formal de estos datos suele presentar dificultades, porque no cumplen, en general, con el requisito de asignación aleatoria de tratamientos a los pacientes. Debido a esta falta de aleatoriedad, los grupos potencialmente pierden

comparabilidad; por esta razón, son necesarios ajustes para prevenir que las conclusiones se vean afectadas por sesgos ocultos que no han sido tenidos en cuenta. Esta asignación al azar es característica en los diseños experimentales, cuando esto no es posible, queda la posibilidad de realizar estudios observacionales o quasi-experimentos, en los que se intenta recuperar de algún modo las condiciones de un estudio experimental, incorporando además, procedimientos estadísticos para controlar y cuantificar el grado de distorsión de los resultados obtenidos, que pueden ocasionar las variables no observadas.

Por otra parte, si no se tienen en cuenta las limitaciones de los estudios observacionales, la única alternativa válida de análisis se reduce, en general, a los de tipo descriptivo, en los que la información es proporcionada en tablas, cuadros, gráficos y las

medidas descriptivas usuales. Esta situación es satisfactoria cuando no se tiene mayores pretensiones con relación al conocimiento obtenido; pero, si el interés está centrado en conclusiones que orienten la toma de decisiones o en estudiar asociaciones entre variables, factores y respuestas, con la expectativa de encontrar relaciones de causa-efecto, es fundamental contar con herramientas más potentes y adecuadas para obtener la información disponible en los datos.

El objetivo general de este trabajo es explorar las características generales de los estudios observacionales como alternativa válida a los diseños experimentales.

Más específicamente, el objetivo general es desagregado en los dos aspectos siguientes:

(a) Revisar los conceptos de matching y sensibilidad del análisis en un estudio observacional de pares semejantes y (b) Aplicar la teoría revisada para evaluar un estudio clínico piloto real.

El desarrollo es como sigue: Primero se revisa el marco de referencia proporcionado por los estudios experimentales; específicamente, se revisan aspectos relacionados con los diseños de pares semejantes. A continuación, se desarrolla el estudio observacional, junto con sus dos características esenciales, el Matching y la Sensibilidad del Diseño. Finalmente, la teoría de los estudios observacionales, que ha sido revisada, es aplicada para evaluar un estudio experimental piloto para comparar dos tratamientos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudios de Pares semejantes en general

Los conceptos que siguen han sido desarrollados en Bloom (2006), Greenland (2004), Pirrachio et al. (2012), Rosenbaum (1989), (2002), (2004), (2005 a, b), (2007) y (2010), Rosenbaum y Rubin (1983), en Rubin (2006 a, b) y (2008), Sobel (2006) y Zubizarreta et al. (2011).

El término diseño experimental abarca una gran cantidad de esquemas utilizados para la recopilación de datos. La elección de un esquema particular depende de factores como: el objetivo del estudio, la estructura de la población a estudiar, el tipo de

efecto estudiado y su variabilidad, la validez de los resultados obtenidos, aspectos financieros y consideraciones éticas, entre otros.

Si la respuesta estudiada se espera observar luego de un breve tiempo posterior a la intervención y tanto la enfermedad como el tratamiento tienen poca duración, el diseño pareado y aleatorizado ha demostrado ser un esquema eficiente, el cual es conceptualizado a continuación.

Concepto

En un estudio pareado se toma como unidad de estudio un par de individuos, cada uno identificado como (i, j) ; i denota al par, siendo $i = 1, 2, \dots, I$; similarmente, j identifica al individuo dentro del par, con $j = 1, 2$.

Si Z es la variable que identifica la aplicación, o no, del tratamiento; para el sujeto (i, j) resulta, $Z_{ij} = 1$ si la unidad (i, j) recibe el tratamiento; en caso que reciba el control, entonces $Z_{ij} = 0$; que expresando como un vector toma la forma, $\mathbf{Z} = (Z_{11}, Z_{12}, \dots, Z_{I1}, Z_{I2})^T$. Se observa que $Z_{i2} = 1 - Z_{i1}$.

Sea ahora $\mathbf{x}$, el vector de variables observadas. Identificando todos sus elementos, se escribe como $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_K)^T$. El elemento, x_k , denota la k -ésima variable observada en el vector, $k = 1, 2, \dots, K$. El vector de variables toma la forma $\mathbf{x}_{ij} = (x_{ij1}, x_{ij2}, \dots, x_{ijK})^T$ para indicar las variables asociadas con la unidad (i, j) ; la correspondiente k -ésima variable observada es $X_{i,j,k}$.

Sea R , la respuesta observada. En un par específico, R_{ij} indica la respuesta del (i, j) -ésimo individuo; todas las respuestas se presentan con el vector, $\mathbf{R} = (R_{11}, R_{12}, \dots, R_{I1}, R_{I2})^T$.

Cada respuesta puede representarse como,

$$Y_i = (Z_{i1} - Z_{i2})(R_{i1} - R_{i2}) \quad (1)$$

Por otra parte, además de las variables efectivamente observadas, es posible que existan otras no observadas.

Sea u_{ij} , la variable no observada asociada a la unidad (i, j) . Todas las unidades se representan como: $\mathbf{u} = (u_{11}, u_{12}, \dots, u_{I1}, u_{I2})$.

Sin perder generalidad, $j = 1$ identifica siempre

al individuo que recibe el tratamiento y $j = 2$ al individuo que recibe el control. En la práctica, esta asignación es aleatoria.

En un estudio experimental se requiere que los individuos dentro de cada par sean lo más similares posibles. Esta similitud es determinada por medio del matching basado en las variables observadas.

Estadísticos y su distribución aleatorizada

Dentro de cada par, un individuo recibe el tratamiento aleatoriamente. Bajo este esquema, un individuo en el par i tiene probabilidad de recibir tratamiento igual a,

$$\Pr(Z_{i1} = 1) = \Pr(Z_{i2} = 0) = 1/2.$$

Con I posibles pares, y como cada posición puede ocuparse de dos formas posibles, la probabilidad de ocurrir un par específico es entonces, $1/2^I$.

Dependiendo de la asignación del tratamiento a cada individuo, la ecuación 1 tendrá signo positivo o negativo; entonces, esta ecuación proporciona el sentido de la diferencia entre las respuestas de los individuos del par.

En un diseño pareado, cada individuo del par recibe aleatoriamente el tratamiento o el control. Para I pares, se tienen 2^I posibles asignaciones.

Para contrastar la plausibilidad de la hipótesis nula, es necesario un estadístico que proporcione una estimación del efecto del tratamiento, que junto con su distribución muestral, servirán de base para realizar la prueba.

Se consideran: (1) El promedio de las diferencias de respuestas en cada par y (2) el estadístico Rangos con Signo de Wilcoxon.

Distribución aleatorizada del promedio de las diferencias

Sean, $\mathcal{F}$ el conjunto de todos los valores de $(r_T, r_C, \mathbf{x}, \mathbf{u})$ para todos los sujetos y $\mathcal{Z}$ el conjunto de todos los s^I posibles valores que puede tomar $\mathbf{Z} = (Z_{11}, Z_{12}, \dots, Z_{I1}, Z_{I2})^T$.

Se define entonces, $\mathbf{A} = (\mathcal{F}, \mathcal{Z})$.

Suponiendo que la hipótesis nula es cierta, el

promedio de las diferencias,

$$\bar{Y} = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I Y_i$$

tiene distribución para una cola, $\Pr(\bar{Y} \geq y | \mathbf{A})$.

Para dos colas, la distribución del promedio de las diferencias tiene forma,

$$2 \Pr(\bar{Y} \geq y | \mathbf{A}) = \Pr(\bar{Y} \leq -y | \mathbf{A}) + \Pr(\bar{Y} \geq y | \mathbf{A}),$$

que es simétrica alrededor de cero.

Según R. A. Fisher, la aleatorización proporciona una base razonable para realizar inferencias causales.

Si los datos no tienen buen comportamiento, el promedio de las diferencias es uno de los estadísticos menos eficientes; un estadístico robusto alternativo para este caso, es el estadístico Rangos con Signo de Wilcoxon.

Rangos con Signo de Wilcoxon.

Este estadístico se define de la siguiente manera:

Se tienen $i = 1, 2, \dots, I$ pares de individuos.

Dentro de un par, cada individuo es identificado por $j = 1$ y $j = 2$. Entonces, (i, j) identifica al j -ésimo sujeto en el i -ésimo par.

El estadístico de prueba es,

$$T = \sum_{i=1}^I \text{sgn}(Y_i) q_i$$

donde $\text{sgn}(Y_i) = 1$ si $Y_i > 0$, mientras que $\text{gn}(Y_i) = 0$ si $Y_i \leq 0$; $q_i = \text{rango}|Y_i|$; tipificando el estadístico produce,

$$\frac{T - E(T | \mathbf{A})}{\sqrt{\text{var}(T | \mathbf{A})}} \rightarrow N(0, 1)$$

cuando la cantidad de pares $I \rightarrow \infty$.

Emparejamiento y Sensibilidad

Según Cochran (1965), un estudio observacional es una investigación empírica en el cual,

“... el objetivo es dilucidar relaciones de causa y efecto ... (y donde) no es factible utilizar el experimento controlado, en el sentido de

que, sea posible imponer los procedimientos o tratamientos cuyos efectos se desea descubrir, o asignar sujetos de forma aleatoria a los diferentes procedimientos”.

El parecido con un diseño experimental radica en que se trabaja con tratamientos, intervenciones o políticas y se evalúan los efectos que los mismos causan. Un estudio en el que no existe tratamiento, no es experimental ni observacional. En un estudio observacional, no hay control de la asignación de tratamiento a los individuos, por lo que no es posible asegurar que sujetos similares reciban distintos tratamientos, Rosenbaum (2002).

Por múltiples razones puede no ser posible controlar la asignación de tratamiento; por ejemplo, porque el tratamiento es perjudicial o costoso, o una intervención posiblemente está condicionada por motivos políticos o socioeconómicos, o existan restricciones éticas para su aplicación en forma aleatoria, etc.

Un estudio observacional es sesgado si los grupos de tratamiento y de control son diferentes antes del tratamiento, de forma que esta diferencia tiene importancia en la respuesta observada. El sesgo se llama abierto cuando es evidente en los datos recopilados; en contrario, el sesgo es oculto cuando los datos no lo evidencian, debido a que la información necesaria no ha sido observada o registrada.

El sesgo abierto es controlado recurriendo al matching o a la estratificación y se inicia antes de diseñar el estudio. Por otra parte, por medio del estudio de la sensibilidad del diseño se investigan los posibles efectos del sesgo oculto. Estos dos conceptos son revisados a continuación.

Matching

Concepto

Es una técnica utilizada para conseguir que dos o más grupos de estudio sean semejantes.

En el contexto de estudios clínicos, permite que los grupos experimental y control sean comparables. Esta comparabilidad es factible por medio de emparejamientos individuales, 1-a-1, alternatively son posibles utilizar, emparejamientos 1:n (1

tratamiento con n controles) o n:1 (n tratados con 1 control), o emparejamientos de relación variable y emparejamientos grupo a grupo de individuos.

Si es la única técnica utilizada para lograr la comparabilidad, puede resultar inadecuada para sustituir la aleatorización como medio de balance entre los individuos.

Emparejar los individuos del grupo tratado con individuos del grupo de comparación, significa igualarlos en base a la similitud de ciertas variables. La tarea es relativamente sencilla cuando la cantidad de variables es reducida.

Como los emparejamientos son factibles utilizando unas pocas variables, puede que no sea posible tener en cuenta todas las diferencias que potencialmente podrían distorsionar de manera significativa los resultados.

La ausencia de variables importantes en el análisis da lugar a dos tipos de distorsión. La forma más simple se denomina "confusión directa", que aparece cuando existe una variable subyacente que explica la variable y la respuesta al mismo tiempo. La segunda ocurre cuando la relación entre la variable y la respuesta es a través de una variable intermedia, Cox y Wermuth (2007).

Población antes del matching

Antes del matching existen en la población L individuos. Cada individuo l , tiene asociado una variable observada x_l y una variable no observada u_p con $l = 1, \dots, L$.

La variable indicadora Z_p con $Z_l = 1$ señala que la unidad l ha recibido el tratamiento de interés, con probabilidad π_p independiente de otros individuos. Cuando $Z_l = 0$, se indica que el sujeto recibe el tratamiento control con probabilidad de asignación igual a $1 - \pi_p$.

Se tiene también que r_{Ti} designa la respuesta que potencialmente se observaría en un individuo si recibiera tratamiento, mientras que r_{Ci} denota la respuesta potencial si el individuo hubiera recibido el control. La respuesta observada se designa por $R_i = Z_i \times r_{Ti} + (1 - Z_i) \times r_{Ci}$.

La probabilidad que un sujeto reciba el tratamiento de interés está dada por,

$$\pi_l = \Pr(Z_l | r_{TP}, r_{CP}, \mathbf{x}_l, \mathbf{u}_l).$$

Que resulta en,

$$\begin{aligned} \Pr(Z_1 = z_1, \dots, Z_L = z_L | r_{T1}, r_{C1}, \mathbf{x}_1, \mathbf{u}_1, \dots, r_{TL}, r_{CL}, \\ \mathbf{x}_L, \mathbf{u}_L) &= \pi_1^{z_1} (1 - \pi_1)^{1-z_1} \times \dots \times \pi_L^{z_L} (1 - \pi_L)^{1-z_L} \\ &= \prod_{l=1}^L \pi_l^{z_l} (1 - \pi_l)^{1-z_l}. \end{aligned}$$

Matching ideal

Si existen dos individuos k y l , uno de los cuales recibe el tratamiento, con $\pi_k = \pi_p$ se tiene que $Z_k + Z_l = 1$. La formación de un par semejante es complejo, pues $\mathbf{u}_k$ y $\mathbf{u}_l$ no son observables. Sólo se registra r_{Tk} o r_{Tl} y r_{Ck} o r_{Cl} por lo que únicamente es posible emparejar en base a las variables observadas $\mathbf{x}$, de forma que $\mathbf{X}_k = \mathbf{X}_l$. Finalmente se determina (Z_k, Z_l) por asignación aleatoria de los tratamientos.

Si la asignación aleatoria no es posible, como ocurre en los estudios observacionales, se evidencia el problema de encontrar pares de individuos que tengan la misma probabilidad de asignación de tratamientos. Se buscan entonces, condiciones en las que estas probabilidades sean aproximadamente iguales.

Si existen dos sujetos para los que $\pi_k = \pi_p$ Rosenbaum (2010) muestra que,

$$\begin{aligned} \Pr(Z_k = 1, Z_l = 0 | r_{Tk}, r_{Ck}, \mathbf{x}_k, \mathbf{u}_k, r_{Tl}, r_{Cl}, \mathbf{x}_l, \mathbf{u}_l) &= \\ \pi_k^{z_k} (1 - \pi_k)^{1-z_k} \times \pi_l^{z_l} (1 - \pi_l)^{1-z_l} &= \\ \pi_l^{z_k+z_l} \times (1 - \pi_l)^{(1-z_k)+(1-z_l)} \end{aligned}$$

y si además, exactamente uno de los individuos recibió el tratamiento de interés, (esto es $Z_k + Z_l = 1$), resulta,

$$\Pr(Z_k = 1, Z_l = 0 | r_{Tk}, r_{Ck}, \mathbf{x}_k, \mathbf{u}_k, r_{Tl}, r_{Cl}, \mathbf{x}_l, \mathbf{u}_l; Z_k + Z_l = 1) = \frac{1}{2}$$

es decir, si es posible encontrar en el conjunto de L individuos, un número de $2I$ sujetos diferentes y emparejados en I pares, entonces se podrá reconstruir la distribución de las asignaciones de tratamientos

Z . En consecuencia, será posible aplicar el análisis de un experimento aleatorizado.

El matching con una sola variable en general produce grupos de tratamientos y control que en conjunto están balanceados con relación a variables observadas. Puede ocurrir que pares individuales cercanos, difieran ampliamente en algunas variables específicas. Para la construcción de grupos más próximos se recurre a medidas que cuantifiquen las diferencias entre los individuos.

Estas medidas penalizan las diferencias grandes, y permiten la búsqueda de individuos que sean en cierto sentido cercanos. Los conjuntos similares, en particular pares similares, son construidos utilizando un algoritmo de optimización. El emparejamiento de los individuos de un par puede tener impacto en la distribución de las variables. Por ejemplo, conducir a la pérdida de información cuando la cantidad de unidades tratadas es diferente a la cantidad de controles utilizados.

Según Rubin (1973), hay un límite en el beneficio que puede conseguirse con el matching, aunque esto puede ser resuelto utilizando otros esquemas para hacer que los individuos sean semejantes.

El uso de la aleatorización para obtener el balance en las variables, es mucho más potente que el matching obtenido con las probabilidades de asignación de tratamientos. Esto se debe a que, el primero balancea tanto variables observadas y variables no observadas, mientras que el segundo sólo actúa sobre las observadas.

Puntaje de propensión

El puntaje de propensión es una herramienta para realizar el matching, es utilizado como una medida de la similitud entre dos individuos.

El puntaje asigna un número a cada individuo que servirá de criterio para construir los emparejamientos de sujetos. Las variables del estudio observacional son colapsadas en un único número que resume su asociación conjunta con las condiciones del tratamiento, Hansen (2008).

En general, el puntaje es aplicado a tratamientos de tipo binario. Hirano e Imbens (2004) hacen extensiones para el caso en que el tratamiento es

continuo.

Definición

Con una muestra de tamaño L de una población infinita, el Puntaje de Propensión es la probabilidad condicional de recibir el tratamiento dada las variables observadas, esto es:

$$e(\mathbf{x}) = Pr(Z_i = 1|\mathbf{x}) \quad (2)$$

En un ensayo aleatorio controlado, la probabilidad de asignación del tratamiento a un individuo es conocida. En contrario, en un estudio observacional, esta probabilidad es desconocida; además, su estimación es compleja pues depende del conjunto de variables observadas, así como de las variables no observadas.

Propiedades

1) Balance

Individuos tratados e individuos de control que tienen el mismo puntaje de propensión, tienen la misma distribución en las variables observables $\mathbf{x}$.

$$Pr(Z = 1|\mathbf{x}; e(\mathbf{x})) = Pr(Z = 0|\mathbf{x}; e(\mathbf{x})).$$

2) Matching Ideal

Bajo ciertas condiciones, permite obtener un "matching ideal". Si el modelo en el cual se supone que los individuos son comparables, es efectivamente cierto, entonces el matching ideal puede conseguirse utilizando solamente un indicador, denotado por $e(\mathbf{x})$.

Por Matching Ideal se entiende que, los individuos se asemejan con respecto a la probabilidad de asignación del tratamiento a un individuo.

La estimación del puntaje de propensión, denotado por $\hat{e}(\mathbf{x})$, se basa en algún modelo que relaciona la probabilidad de asignación de tratamientos con las variables observadas. Un modelo común es el Logit, aunque es posible utilizar otros métodos. También es posible utilizar la estratificación como una alternativa al matching como herramienta para

asemejar.

Cochran (1965), afirma que utilizando cinco estratos, formados a partir de una variable continua, se puede remover el 90% del sesgo presente en una variable.

Matrices distancia

La Matriz Distancia es otra herramienta que sirve para determinar la similitud entre individuos. Cada fila de la matriz corresponde a un individuo que recibe el tratamiento y cada columna está asociada con un individuo que potencialmente es un control. Esta distancia se define como,

$$d_{ik} = [\hat{e}(\mathbf{x}_i) - \hat{e}(\mathbf{x}_k)]^2.$$

Para tomar en consideración las posibles diferencias en variables se utiliza un "calibrador", denotado por w , de tal modo que para dos individuos, k y l con $\mathbf{x}_k$ y $\mathbf{x}_l$ respectivamente, con el calibrador w se tiene que,

- si $|\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| > w$, entonces se fija la distancia entre ambos en ∞ .
- si $|\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| \leq w$, entonces se fija la distancia entre ambos en d_{ik} , que es una medida de la proximidad entre ambos individuos.

El calibrador es frecuentemente definido como un múltiplo de la desviación estándar del puntaje de propensión. Modificando los valores del multiplicador se obtienen diferentes calibraciones de la importancia relativa del puntaje de propensión y de las variables.

Un criterio sugerido por Rosenbaum (2010), consiste en iniciar con una amplitud de 20% del error estándar del puntaje de propensión e ir ajustando según la necesidad, hasta obtener un balance satisfactorio.

Gu y Rosenbaum (1993) expresan que, igualando con el puntaje de propensión en general es suficiente. Sin embargo, cada par individual puede ser muy distinto en términos de las variables.

Por otra parte, el matching dentro de intervalos de puntajes estrechos de calibración también tienden a balancear la distribución de variables, proporcionando el beneficio extra de pares indivi-

duales más cercanos.

La Distancia de Mahalanobis es una generalización de la distancia al caso de varias variables. La diferencia en desvío estándar pesa igual para cada variable en el vector $\mathbf{x}$. Además, toma en consideración la correlación entre variables, esto es, dos variables altamente correlacionadas son consideradas como una sola por la distancia de Mahalanobis.

Si $\hat{\Sigma}$ es la matriz de covarianzas muestrales de $\mathbf{x}$, entonces la distancia de Mahalanobis para un par de individuos k y l se define como,

$$D_{lk} = (\mathbf{x}_k - \mathbf{x}_l)^T \hat{\Sigma}^{-1} (\mathbf{x}_k - \mathbf{x}_l)$$

La Distancia de Mahalanobis fue diseñada para datos normales multivariados, por lo que su utilización con datos no normales puede producir resultados inconsistentes.

Una modificación para datos no normales recibe el nombre de Distancia de Mahalanobis basada en rangos.

Tipos básicos de matching

Según Rosenbaum (2010), el matching ideal es el más conveniente pues produce resultados equivalentes a un diseño aleatorizado, sin embargo, no es posible estar completamente seguros de que en la práctica se cumplan las condiciones necesarias para tal matching.

A continuación se describen brevemente los conceptos de: (a) matching óptimo de pares, (b) matching óptimo con múltiples controles y (c) matching óptimo completo.

Matching óptimo de pares

En este tipo de matching, cada individuo tratado es emparejado con un control distinto con el objeto de minimizar la distancia total dentro del par. Alternativamente, se utiliza una Función de Penalización que asigna un valor a los pares que violan la restricción determinada por el calibrador.

Rosenbaum (2010) propone,

$$1000 \times \max(0, |\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| - w)$$

por lo que si,

$$|\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| \leq w$$

entonces la penalización es cero.

Por otra parte, si

$$|\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| > w$$

entonces la penalización está dada por:

$$1000 \times (|\hat{e}(\mathbf{x}_k) - \hat{e}(\mathbf{x}_l)| - w).$$

La penalización es agregada a la distancia de Mahalanobis o a la distancia de Mahalanobis basada en rangos en el valor correspondiente al par.

Matching óptimo con múltiples controles

En este caso, cada sujeto tratado es emparejado con al menos un, posiblemente con varios, control. Emparejar con relación fija significa que cada individuo tratado tiene el mismo número de controles asociados; mientras que un matching con relación variable permite que cada sujeto tratado pueda ser emparejado con un número diferente de controles.

El matching con relación variable es ligeramente mas complejo, pues es necesario determinar quienes son emparejados y también cuantos serán en cada emparejamiento. Una estrategia útil es imponer restricciones en la elección de los controles.

Matching óptimo completo

Con este procedimiento, a diferencia de la asemejação con un número variable de controles, el esquema permite que un control sea emparejado con varios sujetos tratados. Este matching puede resultar mucho mejor que el matching óptimo de pares o el matching con un número variable de controles. Como el matching completo tiene como casos especiales los procedimientos previamente vistos, los conjunto similares serán al menos tan buenos como ellos.

Los conjuntos resultantes pueden tener distintos tamaños, por lo que es posible la existencia de ciertas ineficiencias.

En un sentido específico, este esquema es un diseño óptimo para los estudios observacionales. Define una estratificación que es una partición de los elementos en términos de las variables y con el requerimiento de que cada estrato debe contener, al menos, una persona tratada y un control.

Comprobación del balance

Una vez obtenido el grupo de controles para los emparejamientos, es importante verificar si se ha obtenido el balance en las variables observadas. En caso que algunas variables no hayan sido balanceadas, es posible realizar algunos ajustes para lograr el balance.

Rosenbaum (2010) señala tres procedimientos: el matching casi exacto, el matching exacto y el balance fino.

Una modificación de la diferencia absoluta estandarizada de las medias es utilizada como medida del desbalance en las variables. Los valores se calculan antes y después del matching, Rosenbaum y Rubin, (1985).

Sean:

- $\bar{x}_{tk}$ la media de la variable k en el grupo tratado, antes del matching.
- $\bar{x}_{ck}$ la media de la variable k en el grupo de control, antes del matching.
- $\bar{x}_{cmk}$ la media de la variable k en el grupo asemejado de control.

Sean entonces, la diferencia absoluta estandarizada antes del matching:

$$sd_{bk} = \frac{|\bar{x}_{tk} - \bar{x}_{ck}|}{\sqrt{(s_{tk}^2 + s_{ck}^2)/2}}$$

mientras que, la diferencia absoluta estandarizada después del matching es:

$$sd_{mk} = \frac{|\bar{x}_{tk} - \bar{x}_{cmk}|}{\sqrt{(s_{tk}^2 + s_{cmk}^2)/2}}.$$

La ventaja principal de la diferencia absoluta estandarizada sobre la diferencia no estandarizada es que las variables con escalas diferentes pueden ser mostrados en un mismo gráfico para su comparación.

El balance puede observarse gráficamente en un diagrama de cajas de las diferencias estandarizadas agrupadas en "antes del matching" y "después del matching". Otra representación útil es el gráfico

QQ de los valores-p comparados con la distribución uniforme.

Sensibilidad del diseño

La sensibilidad del diseño investiga el posible efecto del sesgo oculto en los resultados.

Los sesgos abiertos pueden ser controlados adecuadamente con una cuidadosa aplicación del emparejamiento, la estratificación y el ajuste basado en modelos. Sin embargo, la posible presencia de efectos asociados a variables no observadas requiere atención adicional. Dos posibilidades de control son, (a) el análisis de sensibilidad y (b) la elaboración de teorías.

El Análisis de Sensibilidad indica la magnitud de sesgo oculto que es necesario para alterar las conclusiones cualitativas del estudio. Los estudios observacionales pueden ser muy distintos en su sensibilidad al sesgo oculto, por tanto, es importante conocer si un estudio particular es sensible a pequeños sesgos o insensible a sesgos muy grandes.

Un Análisis de Sensibilidad para estudios observacionales intenta detectar en qué medida los sesgos ocultos de variada magnitud pueden alterar las conclusiones.

Se busca determinar cómo las conclusiones basadas en un conjunto de suposiciones son modificadas si este conjunto fuera alterado en diversos grados.

El marco de referencia esta dado por dos modelos que expresan en términos generales la semejanza de los individuos a ser estudiados. El modelo simple o "ingenuo", que afirma: "los individuos que parecen semejantes, efectivamente lo son", mientras que, el modelo realista que sostiene: "los individuos que parecen semejantes, en realidad podrían no serlo".

Modelo Simple para el análisis de sensibilidad

Se define un modelo "simple" como aquel que describe individuos que parecen semejantes y efectivamente lo son. Si el modelo simple es cierto, en un experimento de pares aleatorizados, la distribución del vector que representa las asignaciones de los tratamientos, $\mathbf{Z}$, puede reconstruirse por "matching"

para las variables observadas x .

La sensibilidad de un estudio observacional a los sesgos originados por variables no observadas, es la magnitud del alejamiento con relación al modelo simple, que debe estar presente para que se modifiquen las conclusiones del estudio.

Se entiende por Modelo Simple a la siguiente situación:

Dos individuos k y l con las mismas variables observadas x_k y x_l , tienen la misma probabilidad de recibir el tratamiento condicionado a (r_T, r_C, x, u) , esto es:

$$\begin{aligned}\pi_k &= \pi_l \\ \pi_k &= \Pr(Z_k = 1 | r_{Tk}, r_{Ck}, x_k, u_k) \\ \pi_l &= \Pr(Z_l = 1 | r_{Tl}, r_{Cl}, x_l, u_l)\end{aligned}$$

El modelo simple toma en consideración las mismas probabilidades pero bajo la suposición de que este modelo podría no ser el adecuado en un grado expresado por un parámetro $\Gamma \geq 1$.

Los odds para dos individuos que tienen el mismo conjunto de variables observadas es igual a,

$$\begin{aligned}\frac{\pi_k}{1 - \pi_k} &\text{ para el individuo } k, \\ \frac{\pi_l}{1 - \pi_l} &\text{ para el individuo } l.\end{aligned}$$

Ambos difieren a lo sumo en un múltiplo de Γ , en consecuencia:

$$\frac{1}{\Gamma} \leq \frac{\frac{\pi_k}{1 - \pi_k}}{\frac{\pi_l}{1 - \pi_l}} \leq \Gamma$$

siempre que $x_k = x_l$.

Cuando $\Gamma = 1$ entonces $\pi_k = \pi_l$, esto es, el modelo simple es cierto.

Cuando $\pi_k \rightarrow 0$ o $\pi_k \rightarrow 1$, entonces $\Gamma \rightarrow \infty$; en consecuencia resulta que $1 \leq \Gamma < \infty$.

Análisis de sensibilidad en un diseño observacional con pares semejantes

Si además, se cumple que exactamente un individuo

recibe el tratamiento y el otro recibe el control, es decir, $Z_k + Z_l = 1$, entonces la probabilidad de que k reciba tratamiento y l reciba el control esta dado por,

$$\begin{aligned}\Pr[Z_k = 1; Z_l = 0 | r_{Tk}, r_{Ck}, x_k, u_k; r_{Tl}, r_{Cl}, x_l, u_l] \\ = \frac{\pi_k}{\pi_k + \pi_l}.\end{aligned}$$

Si el modelo de sensibilidad es cierto, entonces se verifica que:

$$\frac{1}{1 + \Gamma} \leq \frac{\pi_k}{\pi_k + \pi_l} \leq \frac{\Gamma}{1 + \Gamma},$$

para los individuos emparejados, en el cual uno es tratado y el otro sirve como control.

Cuando $\Gamma \rightarrow \infty$, el límite inferior en la ecuación anterior tiende a cero, mientras que el límite superior tiende a uno.

En un estudio se emparejan $2I$ individuos del total L en toda la población.

Enumerando los individuos emparejados en I pares de dos individuos, donde $i = 1, 2, \dots, I$ y $j = 1, 2$ de modo que $x_{i1} = x_{i2}$ y $Z_{i1} = 1 - Z_{i2}$ en cada uno de los I pares.

Si las condiciones del modelo simple son ciertas, entonces la distribución de las asignaciones de los tratamientos en los I pares cumple,

Z_{i1} son mutuamente independientes, ... $i = 1, \dots, I$, (3)

$$Z_{i2} = 1 - Z_{i1}, \quad (4)$$

$$\frac{1}{1 + \Gamma} \leq \frac{\pi_{i1}}{\pi_{i1} + \pi_{i2}} \leq \frac{\Gamma}{1 + \Gamma}. \quad (5)$$

Esta distribución es similar a la distribución de asignaciones en un experimento de pares aleatorizados, la diferencia radica en que la probabilidad de asignación de tratamientos en el diseño experimental es $1/2$ para $i = 1, 2, \dots, I$, mientras que en las ecuaciones (1) a (3), las probabilidades de asignación de tratamientos a individuos pueden ser diferentes de un par a otro y son desconocidas, pero están acotadas por $1/(1 + \Gamma)$ y $\Gamma/(1 + \Gamma)$.

Se supone ahora, que ha sido calculado un valor- p para el diseño observacional emparejado en base a las variables observadas.

Si el modelo simple es cierto, esto es $\Gamma = 1$, las inferencias tendrían las propiedades usuales del diseño aleatorizado.

Si $\Gamma > 1$, es posible calcular como podrían cambiar estos valores- p , (es posible hacer lo mismo con las estimaciones puntuales y los intervalos de confianza), para un valor específico de Γ .

Todo estudio es sensible a un sesgo suficientemente grande. En consecuencia siempre existe algún valor de Γ tal que para ese valor y otros mayores, el intervalo de posibles p -valores incluye pequeños valores y al mismo tiempo valores grandes.

El análisis de sensibilidad muestra como la inferencia puede cambiar con Γ .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caso de Estudio

El estudio a evaluar se ha realizado en el lapso de un año y medio, entre 2010 y 2011. Fue conducido por un centro de tratamiento especializado de lesiones, usualmente en las extremidades inferiores, que presentan dificultades en su curación.

El diseño es experimental, exploratorio y comparativo, ciego simple, en el cual fueron seleccionados, según criterios de inclusión y exclusión especificados, 30 pacientes con ciertas características bien definidas, en particular, pacientes cuya cicatrización no ha sido superior a 1 mm² una vez transcurrido 30 días de tratamiento. La mitad de ellos recibe un tratamiento estándar (Tratamiento de Control, en lo que sigue simplemente Control), mientras que la otra mitad, recibe una terapia alternativa. El propósito del estudio fue comprobar si la terapia alternativa, (Tratamiento Nuevo, en lo que sigue simplemente Tratamiento), mejora los resultados obtenidos.

Una vez seleccionado el paciente, y luego de una evaluación para determinar su línea base, es asignado aleatoriamente a uno de los dos tratamientos. Debe notarse que por requerimientos del diseño, están fijados la cantidad de pacientes para cada grupo de tratamiento; esto es, 15 individuos

recibirán el control y 15 recibirán el tratamiento experimental.

El paciente es mantenido en el estudio durante tres meses, su estado clínico es controlado durante este período, y recibe, en intervalos regulares, la curación con el tratamiento designado. Un médico se encarga de la condición clínica, mientras que una enfermera especializada se ocupa de realizar las curaciones, además de evaluar y registrar la evolución de la lesión para su posterior estudio.

La respuesta de interés se define como la disminución del área de la úlcera durante el período de estudio, la cual se estima para cada paciente, como la diferencia entre el área de la lesión al inicio del estudio (AT1) y el área al final (ATMAX). En cada caso, el tiempo final de estudio puede ser distinto, un individuo puede culminar su tratamiento antes de los tres meses ya sea por curación de su lesión o por abandono del estudio. En este estudio no se presentaron casos de abandono, por lo que la culminación se ha debido únicamente por curación de la dolencia.

Edad(EDAD), sexo(SEX), residencia(COMUN), peso(PESO), talla(TALLA), índice de masa corporal(IMC), cantidad de antecedentes mórbidos(AMSUM), cantidad de medicamentos que recibe al momento de ingresar al estudio (MESUM), cantidad de antecedentes quirúrgicos relacionados con la herida(AQSUM), presión arterial sistólica(PASIS), presión arterial diastólica(PADIA), presión en el brazo (PBRAZO), presión en el tobillo(PTOBIL), índice tobillo-brazo(ITB), nivel de creatinina(CREA), nivel de hematocritos(HCTO), nivel de hemoglobina glicosilada(HCLI01), hemoglucotest(HGT), tiempo de evolución de la dolencia(EVOL) y área inicial (AT1).

El estudio es realizado en un marco experimental, el "entorno controlado" fijado por medio de los criterios de selección y exclusión que busca recoger una muestra relativamente homogénea de individuos con el objeto de que las diferencias observadas sean deducidas como debidas únicamente a los efectos originados por los distintos tratamientos. Su característica exploratoria justifica el pequeño

número de unidades seleccionadas y aún así, ha sido considerablemente difícil llegar al número de sujetos previsto. Una consecuencia importante del tamaño reducido de la muestra es la dificultad para controlar los efectos de la gran cantidad de variables asociadas con los individuos y que potencialmente podrían tener algún efecto no previsto sobre la evolución de la lesión.

Análisis estándar

En el grupo de control, la menor disminución del área de la lesión es de 0,18 mm², mientras que la máxima observada 14,13 mm², en promedio la disminución ha sido de 3,24 mm² con error típico igual a 0,94 mm², indicando que el valor real se encuentra dentro de los límites 1,23 mm² y 5,25 mm² del intervalo de confianza del 95%. La disminución promedio eliminando el 5% más extremo se reduce a 2,18 mm², unos 12% inferior, que sugiere valores extremos relativamente importantes. La mitad de las disminuciones es mayor a 2,27 mm².

Por otra parte, en el grupo de tratamiento se registra -0,39 mm² como valor mínimo, que en realidad significa un aumento de la superficie al final del tratamiento, siendo el máximo observado 15,74 mm², lo que indica un rango de 16,12 mm² que es mayor al observado en el grupo de control. El intervalo de confianza del 95% tiene límites 1,63 mm² y 7,06 mm² con centro en 4,35 mm² superior a la disminución promedio del grupo control; el promedio truncado es similar, aproximadamente 4 mm². Sin embargo, el 50% de los pacientes tiene una reducción menor o igual a 1,71 mm².

Estudiando la disminución del área de la lesión (DAREA=AT-ATMAX) se han encontrado los siguientes resultados.

En la Tabla 1 se ve la reducción media en cada grupo; la mayor disminución corresponde al grupo

Tabla 1. Disminución del área de la lesión por Grupo de tratamiento.

	Grupo	N	Media	Err. tip. media
Cambio en el área	TRAT	15	4.3467	1.26
	CONT	15	3.2417	0.94

Tabla 2. Prueba de igualdad de la disminución promedio del área en cada grupo.

Dif. media	gl	Sig (bilat.)	Err. tip. Dif.	L. inf. 95	L. sup. 95
1.105	28	0.488	1.57	-2.12	4.33

de interés, pero también presenta mayor variabilidad. El coeficiente de variación observado en el grupo de tratamiento es 12% mayor que en el grupo de control.

De la Tabla 2 en el que se muestra la diferencia de la disminución promedio del área de la lesión, por medio del estadístico de Student se concluye que la diferencia 1,1 mm² no puede asociarse con efectos sistemáticos y el valor es considerado como resultado de la variación aleatoria.

El procedimiento se desarrolla en cuatro etapas, (1) análisis de las variables, (2) descripción de la respuesta estudiada, (3) construcción de pares semejantes, y (4) evaluación de la sensibilidad. Se comparan los resultados de tres modelos.

1) Mod-1: Modelo 1

Incorpora todas las variables de interés, con las siguientes características: La variable IMC (índice de masa corporal) que es derivada de las variables PESO y TALLA; la variable ITB (índice tobillo-brazo) derivada de PTOBIL y PBRAZO; no incluye la variable AT1.

2) Mod-2: Modelo 2

Es el Modelo 1 del cual se eliminan las variables menos significativas.

3) Mod-3: Modelo 3

Es el Modelo 2 con el agregado de la variable AT1 (Área inicial de la lesión).

Los resultados se obtienen utilizando los programas estadísticos R y SPSS.

Matching

El matching consiste en seleccionar un grupo de

Tabla 3. Distribución de las covariables por Grupo.

Variable	Min	1Q	Mediana	3Q	Max
EDAD-cont	44.0	64.0	66.0	78.0	89.0
EDAD-trat	51.0	59.0	69.0	79.0	89.0
IMC-cont	19.7	22.6	27.77	27.8	34.3
IMC-trat	19.7	21.8	23.45	26.4	34.1
PASIS-cont	100.0	130.0	130.0	140.0	170.0
PASIS-trat	100.0	128.0	140.0	150.0	162.0
PADIA-cont	74.0	78.0	82.0	84.0	96.0
PADIA-trat	70.0	80.0	82.0	86.0	100.0
ITB-cont	0.57	0.63	0.69	0.75	0.79
ITB-trat	0.40	0.58	0.66	0.73	0.79
CREAT-cont	0.7	1.1	1.10	1.3	2.9
CREAT-trat	0.8	1.0	1.10	1.2	2.9
HCTO-cont	32.0	36.0	41.0	42.0	44.0
HCTO-trat	31.0	36.0	40.0	42.0	44.5
HGLI01-cont	5.5	6.0	7.10	8.3	11.6
HGLI01-trat	5.5	6.3	7.10	8.5	10.2
HGT-cont	72.0	135.0	142.0	209.0	433.0
HGT-trat	70.0	81.0	121.0	176.0	294.0
EVOL-cont	0.0	2.0	3.0	4.0	6.0
EVOL-trat	3.0	3.0	4.0	5.0	6.0
AT1-cont	0.3	0.8	2.55	5.3	14.4
AT1-trat	0.2	0.6	3.60	10.4	15.9

individuos, con características específicas, para aplicarles el tratamiento de interés. Similarmente, se elige otro grupo de forma tal que, sus individuos sean lo mas parecidos, en término de las características específicas, al grupo de tratamiento. A este grupo se administra el tratamiento de control.

El matching es válido bajo el siguiente principio: cuando las características observadas son balanceadas en los dos grupos, entonces están balanceadas con respecto a todas las características relevantes a la respuesta de interés. En consecuencia, cuanto mayor sea el número de variables utilizadas para el balance, mayor es el beneficio obtenido.

Una característica adicional necesaria es que exista una superposición de los valores de cada variable en el grupo de tratamiento y de control. A continuación se revisan gráficamente las distribuciones de variables en cada grupo.

En la Tabla 3 se muestran los estadísticos que identifican la distribución de las variables continuas observadas. Las variables IMC, PADIA, ITB, EVOL y HGT sugieren diferencias sistemáticas en sus distribuciones. Las variables IMC e ITB en el grupo tratamiento tienen valores consistentemente menores que en el grupo de control. Por otra parte, los cuartiles de las variables PADIA, HGT y EVOL tienen valores mayores en el grupo de tratamiento. En particular, el hemoglucotest (HGT) es mucho mayor para los individuos tratados; así mismo, el tiempo de evolución de la lesión en el grupo de tratamiento, es mayor que en el grupo control.

Las restantes variables no muestran patrones notables. Finalmente, en el caso del área inicial de la lesión, AT1, el punto de corte para el tercer cuartil es el doble en el grupo tratado comparado con el grupo control.

De la Tabla 4 se desprende que la distribución de la variable sexo es idéntica en ambos grupos, aunque hay una mayor cantidad de varones que

Tabla 4. Distribución de Sexo por Grupo.

Sexo	Control	Tratamiento
Femenino	3 (20%)	3 (20%)
Masculino	12 (80%)	12 (80%)

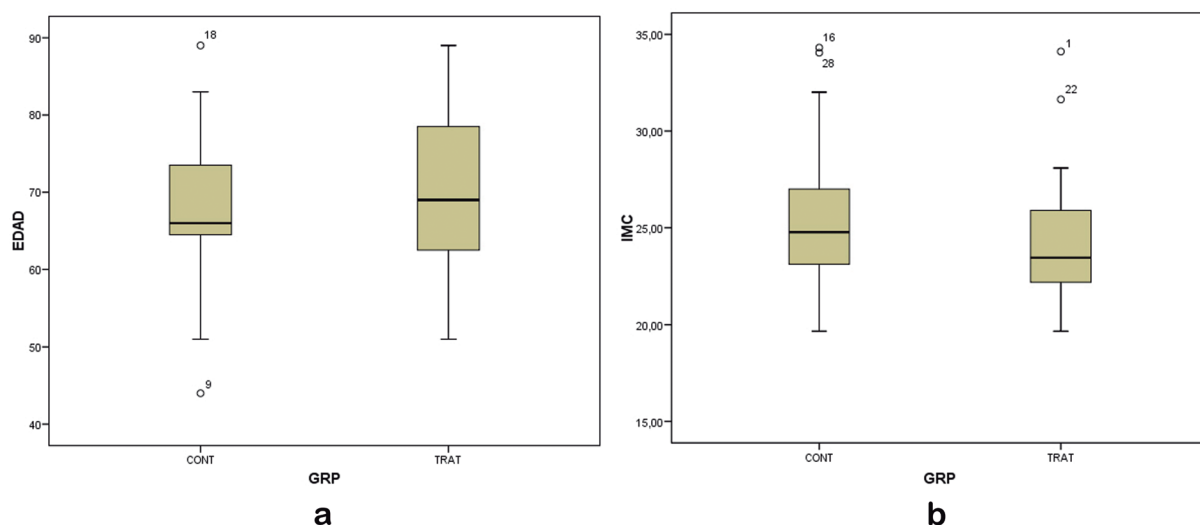


Gráfico 1. Diagrama de Cajas para Edad e IMC. **a)** Cajas para Edad por grupos. **b)** Cajas para IMC por grupos.

mujeres, esta distribución es consistente con la experiencia.

En los Gráficos 1a y 1b se muestran las distribuciones de la edad y del IMC, donde en líneas generales se observa que los valores respectivos son similares en los grupos de tratamiento y control.

Similares distribuciones presentan las variables que registran la presión arterial sistólica y diastólica, tal como se ve en los Gráficos 2a y 2b, aunque

puede notarse un desbalance mas importante en el comportamiento de la presión sistólica

Los diagramas de cajas y bigotes para la distribución de características asociadas con la presencia de azúcar en la sangre muestran valores que se superponen para ambos grupos, en el caso de la hemoglobina glicosilada la superposición es casi exacta, mientras que para la prueba de glucosa existe alta concentración en el rango comprendido

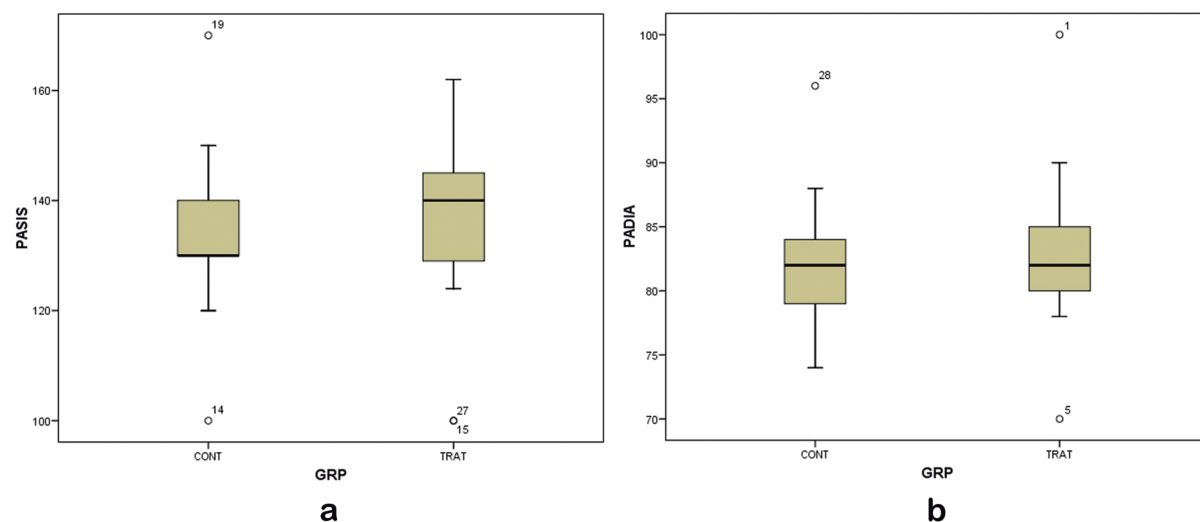


Gráfico 2. Distribución de la Presión Arterial Sistólica y Diastólica. **a)** Cajas para Presión Sistólica. **b)** Cajas para Presión Diastólica.

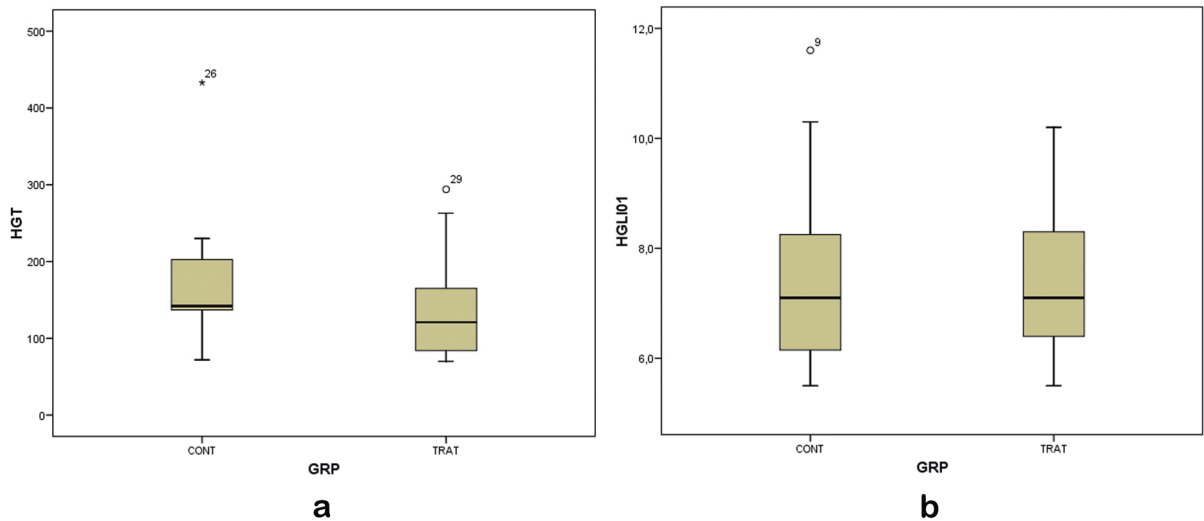


Gráfico 3. Distribución para Glucosa en sangre. **a)** Cajas para HemoGluco Test. **b)** Cajas para Hemoglobina Glicosilada.

entre el segundo y tercer cuartil, ver el Gráfico 3.

En las Tablas 5, 6 y 7, se observa que los valores de las variables se superponen en ambos grupos, aunque también pueden notarse desbalances para ciertos valores.

Tabla 5. Cantidad de Antecedentes Médicos por Grupo.

Cantidad	Control	Tratamiento
1	1 (06.7%)	2 (13.3%)
2	13 (86.6%)	12 (80.0%)
3	1 (06.7%)	1 (06.7%)

Al evaluar la distribución del tiempo de evolución de la lesión, Tabla 8, se nota que los pacientes que pertenecen al grupo de tratamiento tienen heridas que son más antiguas que las del grupo de

Tabla 6. Cantidad de Medicamentos por Grupo.

Cantidad	Control	Tratamiento
2	0 (00.0%)	3 (20.0%)
3	7 (46.7%)	2 (13.3%)
4	4 (26.7%)	4 (26.7%)
5	2 (13.3%)	1 (06.7%)
6	1 (06.7%)	3 (20.0%)
7	1 (06.7%)	1 (06.7%)
9	0 (06.7%)	1 (06.7%)

control. En este sentido, el 36% de los individuos de control con tiempo de evolución menor o igual a tres no tienen contraparte en el grupo que recibe el tratamiento experimental.

Tabla 7. Cantidad de Antecedentes Quirúrgicos por Grupo.

Cantidad	Control	Tratamiento
0	5 (33.3%)	7 (46.7%)
1	7 (46.7%)	4 (26.7%)
2	3 (20.0%)	3 (20.0%)
3	0 (00.0%)	1 (06.7%)

Finalmente, el Gráfico 4 que describe la distribución del área de la lesión al inicio del tratamiento muestra que existe una proporción de pacientes en el grupo de tratamiento que tienen áreas iniciales

Tabla 8. Evolución de la lesión por Grupo.

Evolución de la lesión	Control	Tratamiento
0 (perdido)	1 (06.7%)	0 (00.0%)
1 (<14 días)	1 (06.7%)	0 (00.0%)
2 (<1 mes)	3 (20.0%)	0 (00.0%)
3 (<3 meses)	5 (33.3%)	4 (26.7%)
4 (<5 meses)	2 (13.3%)	7 (46.7%)
5 (<1 año)	2 (13.3%)	3 (20.0%)
6 (≥ 1 año)	1 (06.7%)	1 (06.7%)

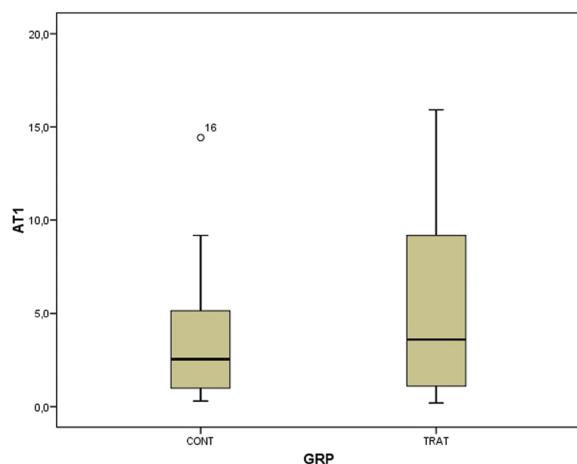


Gráfico 4. Distribución del Área inicial de la lesión.

que son mayores a los del grupo control. Esto es, el valor medio en el grupo de control es $3,07 \text{ mm}^2$ comparado con los $4,07 \text{ mm}^2$ del grupo tratamiento. Se observa también que el límite superior del intervalo de confianza para el grupo de control casi coincide con el límite inferior del intervalo para el grupo que recibe el tratamiento en estudio. Además, la evaluación del grado de superposición en los valores observados, indica que en el grupo control los valores mínimos y máximos son 0 y 6 respectivamente, mientras que en el grupo tratamiento el mínimo es 3 mm^2 y el máximo es igual al grupo control, esto significa que solo el cincuenta por ciento del soporte está superpuesto.

En términos generales, de las consideraciones hechas a las tablas y gráficos mostrados previamente, las variables muestran distintos grados de superposición en sus valores luego de observar sus distribuciones en cada grupo de tratamiento. En ciertos casos, las variables muestran desbalances entre pacientes que podrían ejercer un efecto modificador sobre los resultados observados.

Estimación del puntaje de propensión

El hecho que exista superposición en los valores de las covariables, permite en teoría concretar el matching. Sin embargo, la cantidad de variables disponibles hace que en la práctica sea muy difícil lograrlo separadamente para cada variable, esto es,

lograr un matching multivariado es extremadamente complicado, si no imposible, cuando la dimensión del problema es grande, y más aún si las variables son continuas.

No obstante la dificultad, y tal como se ha visto en la revisión de la teoría, es posible resolver el problema utilizando el puntaje de propensión, reduciendo el problema multivariado a otro unidimensional. El puntaje de propensión es la probabilidad estimada de asignar un individuo al tratamiento condicional al valor de la covariables observada.

Como se ha dicho, el problema de calcular el puntaje de propensión implica decidir (1) que modelo utilizar y (2) cuales variables serán incluidas en el modelo para encontrar la estimación. La primera cuestión es relativamente simple, usualmente son apropiados el modelo logístico o el modelo probit, y como ambos producen resultados similares su elección no representa una dificultad importante.

El segundo aspecto es más serio, pues la elección de las variables debe asegurar la suposición de que el sesgo de selección es eliminado condicionando en el puntaje de propensión. Con este propósito se consideran tres conjuntos, ver Tabla 9,

Tabla 9. Variables para estimar el Puntaje de Propensión.

Variable	Mod-1	Mod-2	Mod-3
EDAD	X	X	X
SEX	X	X	X
COMUN	X	--	--
IMC	X	X	X
AMSUM	X	X	X
MESUM	X	X	X
AQSUM	X	X	X
PASIS	X	--	--
PADIA	X	--	--
ITB	X	--	--
CREA	X	--	--
HCTO	X	--	--
HCGLI01	X	X	X
HGT	X	X	X
EVOL	X	X	X
AT1	--	--	X

de covariables utilizando el modelo logístico, se retienen aquellas variables que muestren significación mayor, aunque se han utilizado niveles relativamente bajos comparados con los niveles estándar utilizados en la literatura, como son los niveles comunes 0.05, 0.01 o 0,001. Esto se justifica por el hecho de que no se busca un modelo parsimonioso, sino que en lo posible se intenta retener aquellas variables que modifican los valores de la probabilidad de asignación.

El procedimiento requiere que inicialmente se realice la estimación de los puntajes de propensión para cada individuo, que en otras palabras es la probabilidad de que un individuo reciba el tratamiento de interés dado los valores de sus covariables.

Para obtener la estimación se recurre al modelo logístico expresado como:

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} \quad (6)$$

Se designa $\hat{\pi} = \hat{e}(\mathbf{x})$ al valor estimado del puntaje de propensión para cada individuo.

La probabilidad de asignación de tratamientos se calcula con los tres modelos previamente enunciados.

• Modelo 1

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \beta_0 + \beta_1 SEX + \beta_2 COMUN + \beta_3 EDAD + \beta_4 IMC + \beta_5 AMSUM + \beta_6 MESUM + \beta_7 AQSUM + \beta_8 PASIS + \beta_9 PADIA + \beta_{10} ITB + \beta_{11} CREAT + \beta_{12} HCTO + \beta_{13} HGLI01 + \beta_{14} HGT + \beta_{16} EVOL$$

Este modelo está fuertemente parametrizado. Como modelo alternativo se define el Modelo 2 en el cual se eliminan aquellas variables con menor nivel de significación.

• Modelo 2

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \beta_0 + \beta_1 SEX + \beta_2 EDAD + \beta_3 IMC + \beta_4 AMSUM + \beta_5 MESUM + \beta_6 AQSUM + \beta_7 HGLI01 + \beta_8 HGT + \beta_9 EVOL$$

A este modelo se le incorpora la variable AT1, que corresponde al área inicial de la lesión, resul-

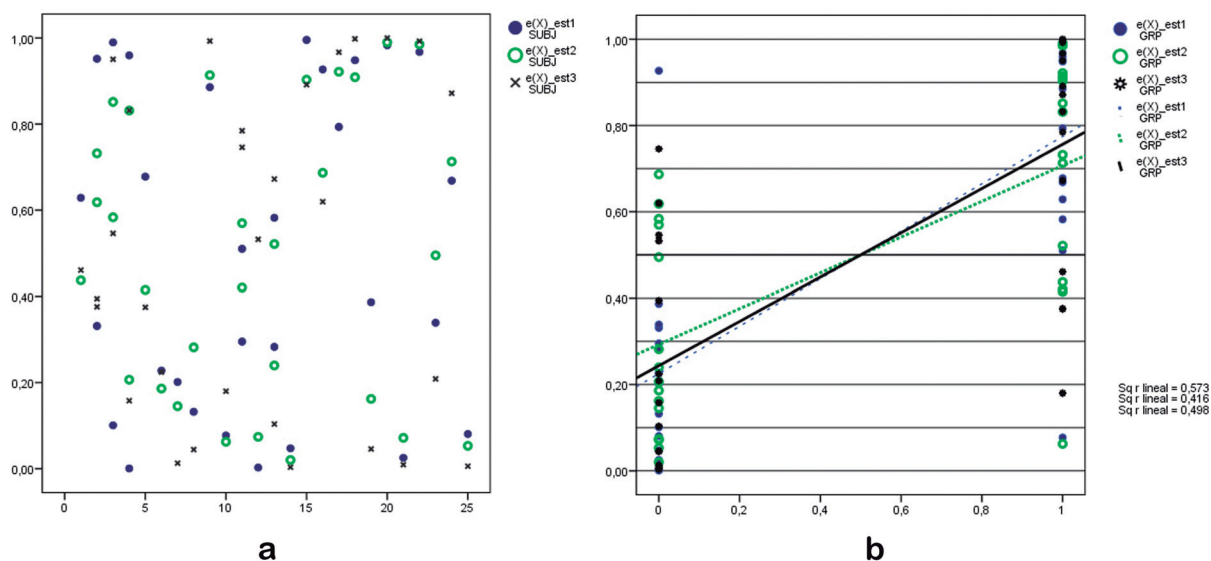


Gráfico 5. Puntajes de Propensión estimados. **a)** Propensión por individuos. **b)** Propensión por grupos.

tando el Modelo 3.

• Modelo 3

$$\log\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \beta_0 + \beta_1 SEX + \beta_2 EDAD + \beta_3 IMC + \beta_4 AMSUM + \beta_5 MESUM + \beta_6 AQSUM + \beta_7 HGLI01 + \beta_8 HGT + \beta_9 EVOL + \beta_{10} AT1$$

De la inspección de los resultados son notorios los siguientes aspectos:

- 1) El modelo logístico, Modelo 1, proporciona 93% de clasificaciones correctas para cada grupo, TRAT y CON, esto sugiere que están incorporadas las variables que efectivamente influyen la probabilidad de pertenecer a un grupo específico. En otras palabras, una baja cantidad de individuos correctamente clasificados hubiera sido un indicio de la existencia de factores adicionales que afectan el puntaje de propensión.
- 2) Es notable el efecto que tiene cada variable individual sobre el puntaje de propensión estimado para cada paciente; los Gráficos 5 y 6 no sugieren patrón alguno en el comportamiento; para ciertos sujetos el efecto resultante es un aumento en la probabilidad de recibir el tratamiento, mientras que en otros el efecto es totalmente opuesto. Quizás la inclusión de efectos aleatorios asociados con los pacientes brinde mayor visión, pero en este caso la cantidad de unidades disponibles no lo permite.
- 3) Desde el punto de vista de la construcción de modelos, la única variable que muestra significación estadística es EVOL (tiempo de evolución de la lesión). En este caso, la cantidad de unidades correctamente clasificadas es del 67% para los sujetos del grupo control, y del 73,3% en el grupo tratado, alcanzando un global de 70%. Este valor es apenas 3% inferior a la tasa global de clasificación correcta obtenida con el Modelo 2 y el Modelo 3 de la Tabla 9.
- 4) Si bien las tasas de clasificación correctas

son similares en los modelos intermedios y el modelo del punto tres anterior, los cambios en el valor de la probabilidad de recibir el tratamiento son muy importantes, y no parecen seguir un patrón determinado.

- 5) En el Gráfico 5b, se compara la distribución de $\hat{e}(x)$ por grupo. En la misma se evidencia que los puntajes asociados con el grupo de tratamiento son en promedio superiores que los correspondientes al grupo de control. Resulta importante señalar que existe apreciable superposición de las probabilidades observadas en ambos grupos, sin embargo la concentración es mayor hacia los valores inferiores en el grupo de control, y hacia el extremo opuesto en el grupo de tratamiento.
- 6) Los Gráficos en 6, particularmente 6b, muestran nuevamente que el puntaje de propensión es consistentemente superior en el grupo de tratamiento que en el grupo de control.

Matching de las unidades

Una vez calculadas las probabilidades de que un individuo reciba el tratamiento se procede a realizar los emparejamientos o matching. El procedimiento consiste en seleccionar un individuo del grupo de control y emparejarlo a uno que ha recibido el tratamiento. Existen numerosos algoritmos para concretar los emparejamientos, y difieren entre sí en la forma que definen un entorno del individuo que recibe el tratamiento y la ponderación que se le asigna. Entre los distintos métodos se tienen, (a) el matching por "vecino más próximo", con sus variantes matching con remplazo y sin remplazo, (b) matching por calibrador y una modificación llamada matching "circular", (c) el matching por estratificación, y (d) el matching del núcleo.

En este caso se utilizará el matching por calibrador, que consiste esencialmente en estimar las distancias entre individuos por medio del puntaje de propensión, las distancias tienen un margen de tolerancia que marca la máxima distancia tolerable

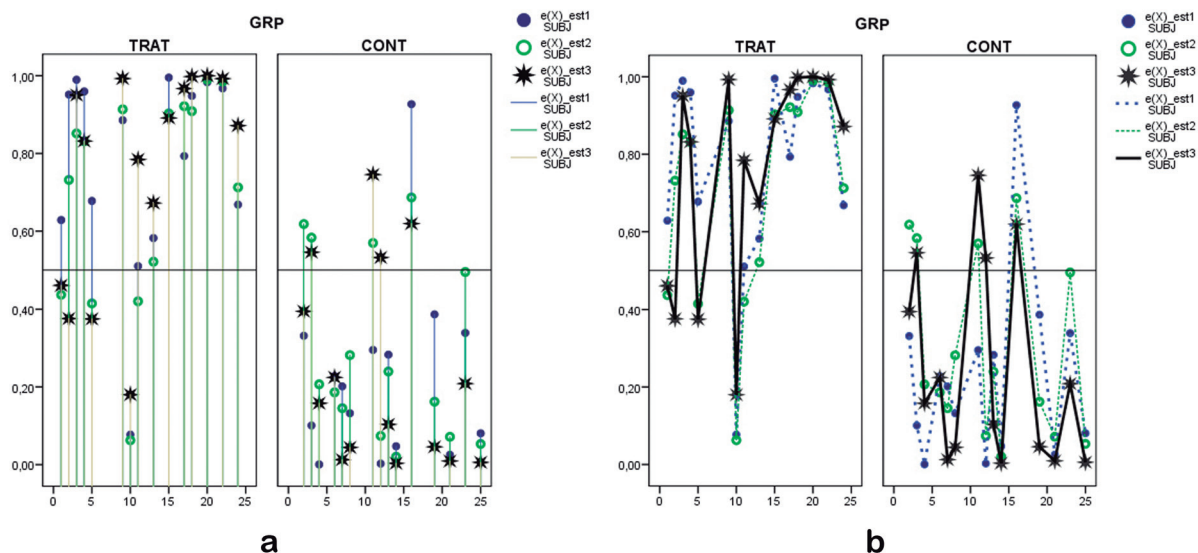


Gráfico 6. Comparación de Puntajes de Propensión estimados. a) Compara individuos. b) Compara grupos.

(el calibrador). El calibrador es similar a permitir que un control utilizado pueda nuevamente ser emparejado con otro, de esta forma se evitan emparejamientos de mala calidad, aunque podría ser al costo de aumentar la varianza de la estimación. El método elige un individuo del grupo control siempre que esté dentro del rango de distancia tolerada y es el más cercano en términos del puntaje de propensión. La modificación del matching circular significa que se empareja no solo el más cercano sino todos los individuos dentro del rango de tolerancia.

Inicialmente se construye la matriz distancia de Mahalanobis basada en rangos para cada modelo logístico estimado; posteriormente se comparan estas distancias con un calibrador, que en general deberá estar dentro del 20% de la desviación estándar del puntaje de propensión, en caso que las distancias entre individuos sea mayor, se impone una penalización. Los cálculos se realizan utilizando rutinas en R; una rutina útil es la llamada "fullmatch" que forma parte del paquete "optmatch".

El algoritmo aplicado a los resultados obtenidos con los modelos para estimar los puntajes de propensión producen los siguientes emparejamientos.

En la rutina se fuerza a que todos los individuos sean emparejados

Modelo 1

1m8, 2m1, 3m11, 4m2, 5m15, 6m12, 7m3, 8m10, 9m4, 10m5, 11m6, 12m5, 13m3, 14m7, 15m7, 16m8, 17m9, 18m9, 19m10, 20m14, 21m11, 22m2, 23m1, 24m12, 25m4, 26m13, 27m6, 28m14, 29m13, 30m15

Modelo 2

1m6, 2m1, 3m8, 4m2, 5m2, 6m3, 7m3, 8m5, 9m4, 10m5, 11m6, 12m12, 13m10, 14m7, 15m15, 16m8, 17m9, 18m9, 19m10, 20m11, 21m11, 22m14, 23m1, 24m12, 25m4, 26m13, 27m7, 28m14, 29m13, 30m15

Modelo 3

1m6, 2m1, 3m13, 4m2, 5m2, 6m3, 7m3, 8m5, 9m4, 10m5, 11m6, 12m8, 13m12, 14m7, 15m1, 16m8, 17m9, 18m9, 19m10, 20m11, 21m11, 22m14, 23m10, 24m12, 25m4, 26m13, 27m7, 28m14, 29m15, 30m15

Inspeccionando los patrones de emparejamientos obtenidos en cada modelo, resultan que son 17 los pares asemejados que aparecen en los tres modelos, a saber: (2,1), (4,2), (7,3), (9,4), (10,5), (11,6), (14,7), (16,8) (17,9) (18,9), (19,10), (21,11), (24,12), (25, 4), (26,13), (28,14) y (30,15).

Tabla 10. Sujetos emparejados en el grupo TRAT.

ID Paciente	Mod-1	Mod-2	Mod-3	Patrón
1	8	6	6	>(T:T,T,T)
3	11	8	13	(T:C,T,T)
5	15	2	2	(T:T,C,T)
6	12	3	3	>(T:T,T,T)
8	10	5	5	(T:C,T,T)
12	5	12	8	>(T:T,T,T)
13	3	10	12	(T:T,C,T)
15	7	15	1	(T:C,T,T)
17	9	9	9	(T:C,C,C)<
20	14	11	11	(T:C,C,C)<
22	2	14	14	(T:T,T,C)
23	1	1	10	(T:T,T,C)
25	4	4	4	(T:C,C,C)<
27	6	7	7	(T:T,C,C)
29	13	13	15	>(T:T,T,T)

Calidad del matching

Los tres conjuntos de emparejamientos, al ser comparados con relación a la pertenencia de los individuos a cada grupo de tratamiento, revelan aspectos interesantes del estudio realizado. En la Tabla 10, se muestra como los individuos del grupo tratamiento son emparejados en virtud del algoritmo de emparejamiento basado en el puntaje de propensión.

Los individuos señalados con ">" han sido consistentemente emparejados con otros pacientes del mismo grupo. Es decir, los valores de probabilidad estimados con el modelo indicado indican que los individuos son propensos a ser emparejados con otros individuos que han recibido el mismo tratamiento.

Por otra parte, los individuos señalados con "<" han sido emparejados sólo con individuos que pertenecen al grupo opuesto. Las otras agrupaciones muestran combinaciones de individuos tratados que según el modelo utilizado son emparejados con sujetos del grupo tratado o del grupo control.

En consecuencia, los pacientes 1, 6, 12 y 29 no tienen otros sujetos "ceranos" que hayan sido asignados al tratamiento de control, y bajo estas

condiciones no tienen posibles pares que hayan recibido el tratamiento estándar.

Sin embargo, tal como se verá a continuación, los resultados en el grupo de control han sido más homogéneos en el sentido de que los emparejamientos han sido consistentes con los tres modelos considerados; de hecho, no se ha observado que un paciente sea emparejado con sujetos del mismo grupo y también con sujetos de otro grupo, como se muestra en la Tabla 11.

En este caso, los pacientes 2, 7, 10, 11, 16, 24, 26, y 30 tienen únicamente pares del grupo tratamiento, mientras que los restantes 4, 9, 14, 18, 19, 21, y 28 han sido emparejados con individuos que recibieron el control; esto es, el algoritmo produce alrededor del 50% de los sujetos emparejados con pacientes del mismo grupo.

Resumiendo, el proceso de emparejar los pacientes por medio del uso del calibrador depende fuertemente del modelo utilizado para estimar las probabilidades de asignación de los tratamientos.

Como la técnica conduce a una selección de individuos con remplazo, resulta que la sucesión de pares no es única, por lo que una alternativa es forzar un emparejamiento que no permita seleccio-

Tabla 11. Sujetos emparejados en el grupo CON.

ID Paciente	Mod-1	Mod-2	Mod-3	Patrón
2	1	1	1	(C:T,T,T)<
4	2	2	2	>(C:C,C,C)
7	3	3	3	(C:T,T,T)<
9	4	4	4	>(C:C,C,C)
10	5	5	5	(C:T,T,T)<
11	6	6	6	(C:T,T,T)<
14	7	7	7	>(C:C,C,C)
16	8	8	8	(C:T,T,T)<
18	9	9	9	>(C:C,C,C)
19	10	10	10	>(C:C,C,C)
21	11	11	11	>(C:C,C,C)
24	12	12	12	(C:T,T,T)<
26	13	13	13	(C:T,T,T)<
28	14	14	14	>(C:C,C,C)
30	15	15	15	(C:T,T,T)<

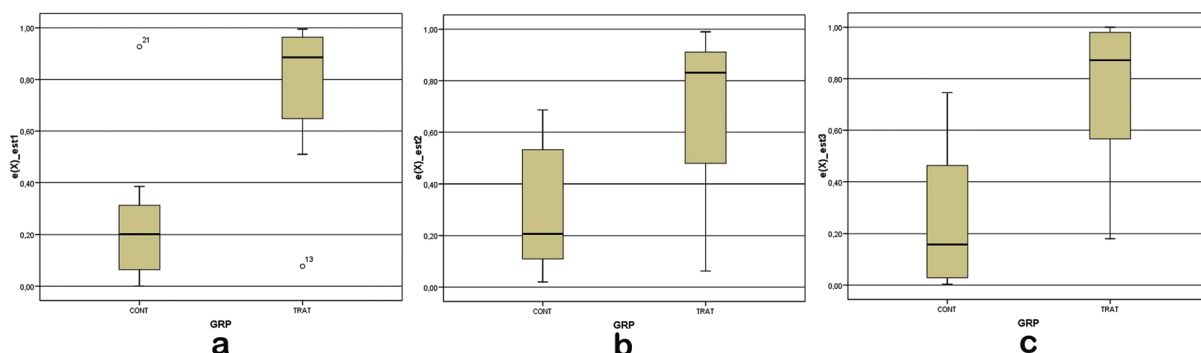


Gráfico 7. Puntaje de propensión estimado por grupo y para cada modelo. **a)** Modelo 1. **b)** Modelo 2. **c)** Modelo 3.

nes repetidas, esta alternativa tiene la desventaja de ser ineficiente cuando la cantidad de individuos disponibles para formar los pares es pequeña, como es este caso en estudio. Una inspección cuidadosa puede mejorar la selección de pares.

Alternativamente, para la comprobación de la calidad del matching se puede recurrir al análisis de la distribución de los puntajes de propensión individuales, tal como se ha visto en el Gráfico 6.

Una comprobación adicional lo da el Gráfico 7 en el cual se ven claramente las diferencias en las distribuciones de los puntajes de propensión según el modelo utilizado.

Un emparejamiento adecuado debe tener un soporte común, más aún, las distribuciones deberían ser similares. De los valores mínimos y máximos mostrados en la Tabla 12, se deduce que para el Modelo 1 un soporte común es el rango (0,08; 0,93), para el Modelo 2 el rango común está dado por (0,06; 0,69), y para el Modelo 3, los valores comprendidos entre 0,18 y 0,75 constituyen el soporte común para los grupos Control y Tratamiento.

Tabla 12. Puntajes de propensión por 100.

Modelo	Grupo	Min	Max
1	TRA	8	100
	CON	0	93
2	TRA	6	99
	CON	2	69
3	TRA	18	100
	CON	0	75

Habiendo determinado los emparejamientos, definidos los grupos de control y de tratamiento, y evaluado la calidad del matching, el paso siguiente consiste en realizar el cálculo del efecto promedio y determinar el error estándar asociado.

Este paso no se realiza en este trabajo, pues el interés está centrado fundamentalmente en los aspectos del diseño. Se incluye esta sección para completar la exposición.

Una posibilidad sencilla es calcular las medias muestrales en ambos grupos y compararlas utilizando un estadístico apropiado. La dificultad consiste en calcular la varianza del efecto de tratamiento ya que debe incluir la varianza asociada con la estimación del puntaje de propensión, la selección del soporte común y posiblemente el orden en que son elegidos los individuos para el emparejamiento. Lechner (2002) sugiere la utilización de la técnica del bootstrap, aunque Imbens (2004) sostiene que existe poca evidencia que lo justifique.

Sensibilidad

Tal como se ha visto, los pares semejantes tienen por objeto balancear las covariables observadas, esto es válido cuando efectivamente no existe sesgo oculto debido a covariables no observadas. El análisis de sensibilidad es la herramienta para evaluar la magnitud del efecto, debido a covariables no medidas, que es necesario para invalidar el resultado actualmente observado.

A los efectos del análisis de sensibilidad son utilizados modelos que describen el comportamiento

de la probabilidad de asignación de tratamientos a cada sujeto del estudio.

De acuerdo con Rosenbaum (2005a) y Rosenbaum (2010), uno de los modelos utilizados es expresado en términos de las covariables observadas y en este trabajo se identifican como Modelo-1, Modelo 2 y Modelo-3.

Con cada modelo se calcula el puntaje de propensión asociado a cada sujeto, el cual es, por definición, la probabilidad de recibir el tratamiento dependiendo de los valores de las covariables incorporadas en la ecuación. El valor $\Gamma = 1$ corresponde a un estudio libre de sesgo oculto, mientras que valores $\Gamma \geq 1$, indican que, para dos individuos cualquiera, las ventajas (odds) de recibir el tratamiento en estudio difieren cuando más, en un factor de Γ .

Un modelo alternativo para el análisis de sensibilidad se expresa en términos de las covariables no observadas u . Los resultados obtenidos son similares a los que producen los modelos del párrafo anterior.

Una vez obtenidos los pares semejantes, se han definido 15 estratos con 2 individuos cada uno; en cada estrato es calculado el puntaje de propensión, esto es, $\Pr(\mathbf{Z} = \mathbf{z}|\mathbf{x}_i)$.

Estos valores de probabilidad constituyen la distribución del puntaje de propensión para cada configuración de Γ y $\mathbf{u}$. El análisis muestra la sensibilidad de las inferencias para un conjunto de valores de Γ .

En éste trabajo, el estadístico Rangos con Signo de Wilcoxon, para el caso de pares semejantes, es

suma de 15 variables aleatorias independientes. La probabilidad asociada al valor del estadístico es desconocida debido a la potencial presencia de covariables no observadas, aunque están acotadas superiormente por $p^+ = \Gamma/(1 + \Gamma)$ e inferiormente por $p^- = \Gamma/(1 + \Gamma)$. Se define entonces T^+ , como suma de 15 variables independientes, donde cada una de las variables toma valores distintos de cero con probabilidad p^+ y valores iguales a cero con probabilidad $1 - p^+$. Similarmente se define T^- , reemplazando p^+ por p^- .

Si el tratamiento no tiene efecto, para cada $\Gamma \geq 0$ se tiene,

$$\Pr(T^+ \geq a) \geq \Pr(T \geq a|\mathbf{x}) \geq \Pr(T^- \geq a) \quad \forall a \text{ y } \forall \mathbf{u} \in \mathbf{U}$$

Esta expresión impone límites a los niveles de significación que serían apropiados si las covariables que potencialmente inducen sesgo han sido observadas. Estos límites son calculados para cada valor de Γ .

Utilizando el paquete "rbounds" de R se realizan los cálculos correspondientes, uno para cada modelo especificado previamente, Keele (2010).

Los resultados del análisis de sensibilidad del estudio para comprobar la hipótesis nula de que ambos tratamientos tienen igual efecto terapéutico sobre las lesiones.

En cada par, uno recibe el tratamiento experimental y el otro recibe el tratamiento control. Los emparejamientos se han realizado con respecto a las respectivas covariables incluidas en los modelos especificados.

Tabla 13. Límite inferior (Pmin) y superior (Pmax) de los valores-p.

Γ	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	$P_{\min}$	$P_{\max}$	$P_{\min}$	$P_{\max}$	$P_{\min}$	$P_{\max}$
1	0.2478	0.2478	0.3046	0.3046	0.2302	0.2302
2	0.0269	0.6851	0.0403	0.7462	0.0234	0.6634
3	0.0029	0.8811	0.0053	0.9158	0.0024	0.8676
4	0.0003	0.9558	0.0007	0.9724	0.0003	0.9488
5	< 0.001	0.9836	< 0.001	0.9909	< 0.001	0.9802
6	< 0.001	> 0.99	< 0.001	> 0.99	< 0.001	0.9923
7	< 0.001	> 0.99	< 0.001	> 0.99	< 0.001	> 0.99
8	< 0.001	> 0.99	< 0.001	> 0.99	< 0.001	> 0.99

En la Tabla 13 se consignan los límites inferiores y superiores de los valores-p correspondientes a desvíos con respecto a la asignación aleatoria para varias magnitudes de Γ , su interpretación es tal como se vio en el apartado "Sensibilidad del diseño" en el desarrollo del marco teórico.

Cuando $\Gamma = 1$ ambos límites son iguales y corresponde al valor de un diseño aleatorizado. Los límites acotan los posibles valores-p para la prueba de que no hay efectos de tratamientos.

Cuando el intervalo contiene valores pequeños (por ejemplo, 0,05 o menos) y valores grandes (por ejemplo, 0,10 o más) el estudio se vuelve sensible a los sesgos, y cuanto mayor es Γ mayor es el sesgo necesario para distorsionar los resultados.

En el caso del modelo 1, cuando $\Gamma = 2$, los posibles valores-p asociados con las diferencias entre las disminuciones promedio por grupo, están en el rango 0,03 y 0,68. Esto significa que, con éste conjunto de datos, ciertas diferencias son poco probables bajo la hipótesis nula de no tratamiento, mientras que otras diferencias no resultan suficientes para rechazarla.

Similar interpretación es aplicable para los modelos 2 y 3.

Como es de esperar con una muestra de pequeño tamaño, en todos los casos el estudio resulta sensible a los efectos del sesgo oculto de pequeña magnitud; de hecho, para el diseño aleatorizado cuando $\Gamma = 1$, los valores-p 0,24, 0,30 y 0,23 no alcanzan para afirmar la existencia de efectos de tratamientos, resultado que es consistente con lo obtenido en el estudio de base.

CONCLUSIONES

Los estudios observacionales constituyen una alternativa válida para realizar inferencias causales cuando el diseño aleatorizado no es factible por cuestiones prácticas o éticas. Las relaciones de causa y efecto son posibles de determinar siempre que se cumplan ciertas condiciones para su validez.

El primer requerimiento consiste en balancear las covariables observadas de forma tal que las unidades en estudio sean lo más similares posibles, de esta forma se evita introducir sesgos debidos a

las diferencias iniciales entre las covariables.

Una herramienta para lograr el balance es el puntaje de propensión que indica la probabilidad de que un individuo reciba el tratamiento de interés condicional a sus valores de covariables. Este puntaje, a su vez es base para construir un calibrador que permite identificar individuos que no son comparables. El desvío estándar de las estimaciones del puntaje de propensión es utilizado para determinar el rango de valores del calibrador. La aplicación de penalizaciones aplicadas a individuos que no satisfacen el calibrador permite mejorar la construcción de los grupos de tratamiento y de control.

El segundo requerimiento plantea la suposición de existencia de posibles sesgos asociados con variables importantes no medidas. El análisis de sensibilidad cuantifica la magnitud del sesgo que debe estar presente para que los resultados obtenidos sean invalidados. Con este análisis se pretende resolver el problema que encierra la falta de aleatorización.

Los conceptos de matching para emparejar individuos, y el análisis de sensibilidad son utilizados para evaluar un pequeño ensayo clínico para determinar el efecto de una nueva terapia para el tratamiento de úlceras crónicas. En este caso particular, la matriz distancia es calculada en base al estadístico Rangos con Signo de Wilcoxon, pues es más robusto que el estadístico basado en los promedios.

Como resultado del matching se ha obtenido un subconjunto de pares que se han comportado consistentemente con tres modelos de estimación del puntaje de propensión. Adicionalmente se ha constatado la extrema influencia de las covariables a nivel individual ya que los resultados no señalan algún patrón obvio de comportamiento de las probabilidades de asignación de tratamientos. Esto podría sugerir la necesidad de incorporar, además de los efectos fijos de las variables, los efectos aleatorios de las unidades en estudio.

De los resultados del análisis de sensibilidad aplicado a los tres modelos de prueba, se concluye que el diseño no tiene capacidad para discriminar la existencia de diferencias de efectos entre los dos grupos comparados. Los valores-p correspondientes

al diseño aleatorizado en todos los casos tienen valores cercanos a 0,20.

Una consecuencia adicional es que el estudio es muy sensible a pequeños sesgos que podrían alterar de manera significativa los resultados obtenidos. La evaluación del estudio se ha basado en asemejar pares de individuos en una relación 1:1. El esquema corresponde a un matching óptimo completo.

La teoría y aplicaciones de los estudios observacionales constituyen una área de la estadística que recibe mucha atención en la actualidad; particularmente, la utilización del matching por medio del puntaje de propensión. En consecuencia, existe una diversidad de caminos posibles.

Posteriores trabajos pueden orientarse a la investigación de la asignación por relaciones variables, e incluso aplicar las técnicas correctivas ante la presencia de desbalances en las covariables, como la técnica del balance fino. También resulta interesante explorar los emparejamientos de grupos de riesgo (risk set matching) o los emparejamientos tomando en cuenta las dosis de tratamiento administrado.

Adicionalmente, el estudio de los algoritmos de optimización y generación de rutinas en R constituyen líneas posibles de estudio.

Se discute también la posibilidad de que el puntaje de propensión se modifique a lo largo del tiempo, como resultado de la experiencia del investigador; ésta es una línea que presenta posibilidades de desarrollo futuro.

Finalmente, se encuentra en investigación las posibles aplicaciones de los estudios observacionales en grandes conjuntos de datos, como los que son originados en la internet.

LITERATURA CITADA

- Bloom, H. (2006). The core analytics of randomized experiments for social research. *MDRC Working paper on research methods*. www.mdrc.org.
- Cochran, W.G. (1965). The planning of observational studies of human populations (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society*, A 128: 134-155.
- Concato, J., Shah, N. & Horwitz, R. (2000). Randomized, controlled trials, observational studies, and the hierarchy of research designs. *The New England journal of medicine*, 242(25): 1887-92.
- Cox, D.R. & Wermuth, N. (2007). Some interpretation issues connected with observational studies. *Bulletin of the International Statistical Institute*, 62: 905-912.
- Gu, X.S. & Rosenbaum, P. (1993). Comparison of multivariate matching methods: Structures, distances, and algorithms. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 2: 405-420.
- Greeland, S. (2004). An overview of methods for causal inference from observational studies. In Gelman, A. & Meng, X.L. (eds): *Applied Bayesian modeling and causal inference from incomplete-data perspectives*. New Jersey: John Wiley and sons. 440 pp.
- Grimes, D.A. & Schultz, K.F. (2002). A overview of clinical research: the lay of the land. *The Lancet*, 359: 57-61.
- Hansen, B. (2008). The prognostic analogue of the propensity score. *Biometrika*, 95(2):481-488.
- Hirano, K., Imbens, G.W. (2004). The propensity score with continuous treatments in Missing data and Bayesian methods in practice. In Gelman, A. & Meng, X.L. (eds): *Applied Bayesian modeling and causal inference from incomplete-data perspectives*. New Jersey: John Wiley and sons. 440 pp.
- Imbens, G. (2004). Non parametric estimation of average treatment effects under exogeneity: A review. *The review of economics and statistics*, 86(1): 4-29.
- Jùni, P., Altmand, D., Egger, M., (2001). Assessing the quality of controlled clinical trials. *British Medical journal*, 323: 42-46.
- Keele, L. (2010). *An overview of rbounds: An R package for Rosenbaum bounds sensitivity analysis with matched data*. http://www.personal.psu.edu/ljk20/rbounds_vignette.pdf. 15 pp.
- Lechner, M. (2002). Some practical issues in the evaluation of heterogeneous labour market

- programmes by matching methods. *Statistics in Society*, A 165: 59-82.
- McKinlay, S. (1975). The design and analysis of observational studies-A review. *Journal of the American Statistical Association*, 70(351): 503-520.
- McNeil, D. (1996). *Epidemiological research methods*. New Jersey: John Wiley and sons. 316 pp.
- Pirrachio, R., Resche, M. & Chevret, M. (2012). Evaluation of the propensity score methods for estimating marginal odds ratios in case of small sample size. *BMC Medical Research Methodology*, 12: 70.
- Rosenbaum, P. (1989). Optimal matching for observational studies. *Journal of the American Statistical Association*, 84(408): 1024-1032.
- Rosenbaum, P. (2002). *Obsevational studies*. Edition 2. New York: Springer. 377 pp.
- Rosenbaum, P. (2004). *Randomized experiments and observational studies: Causal inference in statistics*. <http://www-stat.wharton.upenn.edu/~rosenbap/ExperAndObsHand.pdf>. 10 pp.
- Rosenbaum, P. (2005 a). Observational study. *Encyclopedia of Causal statistics in behavioral sciences*, 3: 1451-1462.
- Rosenbaum, P. (2005 b). Sensitivity analysis in Observational study. *Encyclopedia of Causal statistics in behavioral sciences*, 4: 1809-1814.
- Rosenbaum, P. (2007). Interference between units in randomized experiments. *Journal of the American Statistical Association*, 102(477): 191-200.
- Rosenbaum, P. (2010). *Design of observational studies*. New York: Springer. 384 pp.
- Rosenbaum, P. & Rubin, D. (1983). The central role of propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika*, 70(1): 41-55.
- Rosenbaum, P. & Rubin, D. (1985). Constructing a control group by multivariate matched sampling methods that incorporate the propensity score. *The American Statistician*, 39: 33-38.
- Rubin, D. (1973). Matching to remove bias in observational studies. *Biometrics*, 29: 159--183.
- Rubin, D. (2006a). *Matched sampling for causal effects*. New York: Cambridge University Press. 502 pp.
- Rubin, D. (2006b). The design versus the analysis of observational studies for causal effects: parallels with the design of randomized trials. *Statistics in medicine*, 26(1): 20-36.
- Rubin, D. (2008). For objective causal inference, design trumps analysis. *The annals of applied statistics*, 2(3): 808-840.
- Sobel, M. (2006). What do randomized studies of housing mobility demonstrate?: Causal inference in the face of interference. *Journal of the American Statistical Association*, 101(476): 1398-1407.
- Zubizarreta, J., Reinke, C., Kelz, R., Silber, J. & Rosenbaum, P. (2011). Matching for several sparse nominal variables in a case--control study of readmission following surgery. *The American Statistician*, 65(4): 229-238.

ESTUDIO DE LAS EMISIONES DE MONÓXIDO DE CARBONO EN MOTORES DE COMBUSTIÓN INTERNA (SEGÚN CICLO OTTO)**STUDY OF THE EMISSIONS OF CARBON MONOXIDE IN INTERNAL COMBUSTION ENGINES (ACCORDING TO OTTO CYCLE)**

ALFREDO RAMÓN LEGUIZAMÓN ORTIZ*

*Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UNA. Email: alfredorlo@yahoo.com.ar.

Resumen: Se ha evaluado la efectividad de la reacción del monóxido de carbono con el radical hidroxilo, en condiciones experimentales de funcionamiento de un motor de combustión interna, acoplado a la salida del caño de escape del motor, un filtro de aire, un sistema de inyección de peróxido de hidrógeno, una fuente de iluminación de la mezcla de gases y una cámara de reacción. A la salida del reactor, se han realizado las mediciones del monóxido de carbono mediante un analizador con sensor electroquímico estabilizado de respuesta rápida específico para CO. Estos valores se compararon con los obtenidos en determinaciones previas en donde las mediciones se han realizado a la salida del caño de escape del motor. Las mediciones se han realizado cambiando las condiciones de cada una de las partes señaladas y calculando para cada caso la efectividad de la reacción. Las variables que se han tenido en cuenta para la realización de las mediciones son: El tipo de fuente de luz, el material y el volumen de la cámara de reacción, el efecto de la temperatura del reactivo y la concentración del peróxido de hidrógeno. En todos los casos de las fuentes de luz utilizadas se ha obtenido una disminución en la concentración del monóxido de carbono, en mayor proporción con la lámpara de deuterio (λ : 185 ~ 400 nm). Con la concentración del peróxido de hidrógeno se ha encontrado que aumenta la eficiencia hasta la de 10 volúmenes, disminuyendo nuevamente a mayores concentraciones. La mayor eficiencia de la reacción del peróxido de hidrógeno con el monóxido de carbono fue de 58%, obtenida con una solución de H_2O_2 10 volúmenes, lámpara de deuterio, la iluminación dentro de la cámara de reacción de 5 litros y con dióxido de titanio (TiO_2) como catalizador.

Palabras clave: Motores de combustión interna, eficiencia, , CO, H_2O_2 , luz UV.

Abstract: The effectiveness of the reaction of the carbon monoxide with the hydroxyl radical under experimental operating conditions of an internal combustion engine has been evaluated by coupling to the output of the engine exhaust pipe, an air filter, an injection system of hydrogen peroxide, a source of illumination of the gas mixture and a reaction chamber. Measurements of carbon monoxide have been made at the exit of the reactor using an analyzer with stabilized electrochemical sensor of CO-specific rapid response. These values were compared with those obtained in previous determinations where the measurements were made at the exit of the engine exhaust. The measurements were made by changing the conditions of each of the listed parts, and calculating for each case the effectiveness of the reaction. Variables that were taken into account for performing the measurements are: The type of light source, the material and the volume of the reaction chamber, the effect of temperature and concentration of reactive hydrogen peroxide. In all cases of the light sources used, a decrease in the concentration of carbon monoxide were obtained, in greater proportion with the deuterium lamp (λ : 185 ~ 400 nm). With the concentration of hydrogen peroxide, efficiency increases to 10 volumes, decreasing again at higher concentrations. The highest efficiency of the reaction of hydrogen peroxide with carbon monoxide was 58%, obtained with a solution of H_2O_2 10 volumes, deuterium lamp, the lighting within the reaction chamber of 5 liters and titanium dioxide (TiO_2) as catalyst.

Key words: Internal combustion engines, efficiency, CO, H_2O_2 , UV light.

INTRODUCCIÓN

La historia del monóxido de carbono (CO), necesariamente tiene que ver con su reconocimiento como un compuesto tóxico presente en la polución

ambiental, considerado relativamente insignificante hasta el auge de la industrialización y el urbanismo. Es bien conocido por su toxicidad para el ser humano. Sus efectos tóxicos agudos incluida

la muerte, han sido estudiados ampliamente, sin embargo, sus potenciales efectos adversos a largo plazo, son poco conocidos. En los últimos años, los estudios e investigaciones experimentales en animales y epidemiológicos en humanos, han evidenciado relación entre la población expuesta en forma crónica a niveles medios y bajos de monóxido de carbono en aire respirable, y la aparición de efectos adversos en la salud humana, especialmente en órganos de alto consumo de oxígeno, como el cerebro y el corazón. Es considerado como uno de los mayores contaminantes de la atmósfera terrestre.

En el caso de Paraguay, no existen datos de monitoreo realizados in situ de la concentración de monóxido de carbono, que permitan establecer el grado de contaminación de las calles y las zonas cercanas a los cruces, donde generalmente se producen la mayor concentración de contaminantes, por el hecho de que gran cantidad de vehículos permanecen en la zona por más tiempo. A esto, se le suma el crecimiento del parque automotor en los últimos años, conformado por vehículos con más de diez años de antigüedad y con usos superiores a los 200.000 km (doscientos mil kilómetros).

En este trabajo, se estudia la posibilidad de implementar un mecanismo de mezcla de gases de combustión con aire puro y un catalizador adicional como el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), de modo a reducir las emisiones de monóxido de carbono, mitigar su efecto en el ambiente, evaluando su efectividad y rendimiento. La ventaja principal de este sistema de reducción del monóxido de carbono, radica en la sencillez de su fabricación, fácil mantenimiento e instalación.

El monóxido de carbono (CO) químicamente es un agente reductor, es un gas no irritante, incoloro, inodoro, insípido y tóxico. Tiene una densidad de 1,25 g/L a la temperatura y presión normal y la gravedad específica relativa al aire es de 0,967. Posee una molécula químicamente estable por su triple enlace covalente. Posee una solubilidad baja en agua (3,54 g/L). Necesita superar una elevada energía de activación para

poder reaccionar con agua u oxígeno (García Morán y García Cardona, 2008). La entalpía molar de formación del CO (g) es de $-110,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ y su Energía Libre de Gibbs es de $-137,3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Chang, 2008) a 298 K. Es un contaminante primario, su tiempo de vida en la atmósfera es de aproximadamente 2 meses en latitudes medias, debido a esto, se lo utiliza como trazador de la masa de aire, en la que el Monóxido de carbono (CO) mismo y los hidrocarburos, en presencia de los óxidos de nitrógeno y radiación solar, generan ozono (Mielnicki et al., 2004).

El monóxido de carbono es removido de la atmósfera al reaccionar con radicales hidroxilos. Se ha establecido un estándar primario y secundario para el monóxido de carbono de $10.000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (9 ppm como valor máximo aceptable para 8 horas), concentración que no debe exceder más de una vez al año (Alfaro, 2001).

Se estima que la concentración atmosférica del monóxido de carbono en las áreas residenciales es de 23 ppm, pudiendo alcanzar 115 ppm en lugares con mucho tráfico de vehículos (García Morán y García Cardona, 2008).

Los datos del relevamiento obtenido por una de las empresas verificadoras habilitadas (TAIVO SA), del parque automotor durante el periodo de un año (Febrero - 2012 a Marzo - 2013), arrojaron que de un total de 6.308 (seis mil trescientos ocho) vehículos verificados el 64,9% corresponden a vehículos que utilizan gasoil, 35,0% Nafta, solo 0,07% alcohol y 0,03% son movidos a gas.

Los vehículos movidos a nafta, en los que son analizados la concentración de monóxido de carbono, en cuanto a sus valores en función a los parámetros permitidos por la legislación mencionada, se han encontrado que, el 20% de los vehículos verificados (310 unidades) no cumplen con el valor máximo permitido de 1,5% en Volumen de concentración de monóxido de carbono durante la verificación, mientras que el 80% de los vehículos verificados (1.219 vehículos) cumplen con el valor máximo requerido para la habilitación y circulación por el territorio nacional (TAIVO S.A., 2013).

Motor según el ciclo OTTO

En general, la eficiencia de un motor de este tipo depende del grado de compresión, la proporción entre los volúmenes máximo y mínimo de la cámara de combustión. Esta proporción suele ser de 8 a 1 ó 10 a 1 en la mayoría de los motores Otto modernos. La eficiencia media de un buen motor Otto es de un 20 a un 25% (o sea, que sólo la cuarta parte de la energía calorífica se transforma en energía mecánica) (Cengel, 2011).

Oxidación química

Como los gases contaminantes a tratar son CO e hidrocarburos (HC), los tratamientos para la detoxificación por transformación química de sus componentes se realizarán mediante la adición de un agente oxidante ($\text{OH}\cdot$), para así tener compuestos menos tóxicos.

Fotólisis

En presencia de radiación UV se produce la fotólisis de un gran número de compuestos orgánicos. El proceso, que tiene lugar en el dominio del UV-C (210-230 nm), se basa en la formación de radicales C-centrados según la siguiente reacción:



El peróxido de hidrógeno es un potente agente oxidante no selectivo y una buena fuente de radicales libres. Es además un aditivo deseable ecológicamente, ya que genera en su descomposición únicamente agua y/o oxígeno, tiene una presión de vapor, a 20°C de 0,2 kPa de una solución al 90% y 0,1 kPa el de 70%.

El éxito del proceso de la foto oxidación con peróxido de hidrógeno radica en la formación estequiométrica de radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) a partir de la descomposición foto catalítica del H_2O_2 (La energía de enlace del O – O es de 142 kJ.mol⁻¹ (Chang, 2008)).



El rendimiento cuántico de este proceso es muy elevado, formándose como máximo dos radicales hidroxilo por cuanto absorbido, e invariable con la

longitud de onda aplicada (Garcés, 2004).

Dióxido de titanio

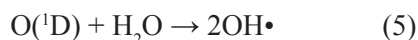
En el caso de la fotocatalisis heterogénea, existen referencias de aplicaciones con múltiples semiconductores como Al_2O_3 , ZnO , Fe_2O_3 y TiO_2 . Sin embargo, el más ampliamente utilizado es el dióxido de titanio, ya que presenta una mayor actividad fotocatalítica y no es tóxico (Fujishima Akira, 2000).

Oxidación del Monóxido de Carbono

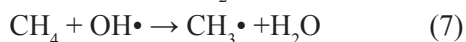
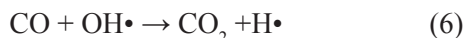
La atmósfera es un medio oxidante y muchos gases traza de importancia ambiental se eliminan en ella principalmente por oxidación, como los gases tóxicos de combustión como el CO y otros.

Los oxidantes más abundantes en la atmósfera de la Tierra son el O_2 y O_3 , que tienen energías de enlace elevadas y por lo tanto son relativamente no reactivos excepto hacia los radicales (Jacob, 1999).

Con algunas pocas excepciones, la oxidación de especies no radicales por O_2 atmosférico u O_3 es despreciable y lenta. En la década de 1950 fue identificado por primera vez el radical $\text{OH}\cdot$ como un oxidante fuerte en la estratosfera, que reacciona rápidamente con especies no-radicales, y es particularmente reactivo frente a moléculas-H debido a las reacciones de abstracción en la que realiza la conversión de $\text{OH}\cdot$ a H_2O . La producción de $\text{OH}\cdot$ es mediante la reacción de vapor de agua con $\text{O}(^1\text{D})$. Este último se genera en la atmósfera por fotólisis de O_3 a longitudes de onda menores que 315 nm.



Hasta 1970 se suponía que la producción de $\text{O}(^1\text{D})$ sería insignificante en la troposfera debido a la casi total absorción de la radiación UV por el O_3 en la estratosfera. Se pensó que la oxidación de las especies emitidas desde la superficie terrestre, tales como CO y CH_4 , requería el transporte de los mismos a la estratosfera para la reacción con $\text{OH}\cdot$:



Este mecanismo implica larga vida atmosférica de CO y CH₄ porque el aire tarda una media de 5-10 años en viajar desde la troposfera a la estratosfera. En la década de 1960, surgió la preocupación de que la acumulación de CO emitido por la combustión de combustibles fósiles pronto representaría un problema de contaminación global.

En la década de los años 1970, se ha descubierto que la cantidad de OH• producido en la troposfera por reacciones (3) - (5) es suficiente, para permitir la oxidación de las especies, tales como CO y CH₄ dentro de la tropósfera.

La producción troposférica de O(¹D) se lleva a cabo en una banda de longitud de onda estrecha menor al rango comprendido entre 300 y 320 nm; la radiación de menor longitud de onda (menor a 240 nm) no penetra en la troposfera, mientras que la radiación de mayor longitud de onda que 300-320 nm no es absorbida por el O₃. Aunque la producción de O(¹D) en la troposfera es considerablemente menor que en la estratosfera, esto se compensa en términos de la producción de OH• por las grandes proporciones de H₂O en la troposfera (10² a 10³ veces mayor que en la estratosfera). Los cálculos del modelo de la contabilidad de 1970 para la penetración de la radiación UV a 300-320 nm encontraron concentraciones troposféricas OH• del orden de 10⁶ moléculas.cm⁻³, lo que resulta en una vida media troposférica de CO de sólo unos pocos meses y con lo que se han disipado las preocupaciones de que el CO puede acumularse en el ambiente a niveles peligrosos (Jacob, 1999).

Sistema de medición

El sistema de medición consiste del equipamiento entre el punto de entrada del aire de muestreo hasta el punto de entrada al instrumento de medición.

Los componentes del sistema de toma de muestra son: Cabeza de toma de muestra, Tubo de entrada, Tubo de distribución de muestra (múltiple) desde el tubo de entrada a los instrumentos de medición individuales, Bomba o ventilador.

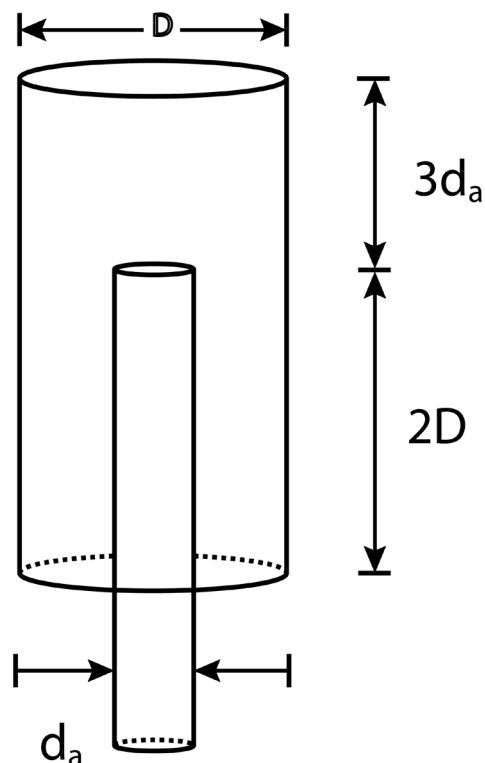


Figura 1. Cabeza muestreador para toma de muestra de contaminantes gaseosos. **D:** Diámetro interno del capuchón de la entrada del separador en cm. **d_a:** diámetro exterior del tubo de muestreo en cm. **Valores Típicos:** D= 14 cm; d_a= 4 cm.

La cabeza del sistema de toma de muestra debe ser diseñada como un pre-separador de partículas grandes, por ejemplo mayores de 50 μm, basado en un sistema inercial de cambio brusco de dirección (las partículas más pesadas tienden a seguir en la dirección original), como se indica en la Figura 1 (Moragues, 2011).

Selección del sitio de muestreo para motores alternativos

Se elige un sitio de muestreo ubicado por lo menos cinco veces el diámetro de la pila corriente abajo de cualquier escape del turbocompresor, empalme cruzado, o la recirculación despegues y corriente arriba de cualquier entrada de aire de dilución. Localizar el sitio de muestreo a no menos de un metro o tres diámetros de la pila (la que sea menor) corriente arriba de la descarga de gas a la atmósfera. Usar

un mínimo de tres puntos de muestreo situados en las posiciones de 16,7; 50 y 83,3% del diámetro de la chimenea. Alternativamente, el analizador puede elegir un lugar de muestreo alternativo y/o una muestra desde un solo punto en el centro del conducto si los datos anteriores de las pruebas demuestran que la concentración de gas de la pila no varían significativamente en el diámetro del conducto (EPA, 1997).

Fuente de Luz:

Tubo fluorescente de emisión UV

Son tubos fluorescentes de luz negra cuyo principio de funcionamiento es similar a los tubos fluorescentes normales excepto en que se utiliza fósforo que emite luz UV en lugar de luz blanca visible. Tiene una capa de filtro de color azul oscuro en el tubo, que filtra la luz más visible, por lo que los efectos de fluorescencia pueden ser observados. Estos tubos tienen un resplandor violeta tenue cuando se opera. El fósforo es usado típicamente para una longitud de onda de 368 a 371 nanómetros pico de emisión es borato de estroncio dopado con europio ($\text{SrB}_4\text{O}_7:\text{Eu}^{+2}$), mientras que el fósforo usado para producir un pico alrededor de 350 a 353 nanómetros es plomo dopado con silicato de bario ($\text{BaSi}_2\text{O}_5:\text{Pb}^{+}$). "Blacklight Blue" lámparas con pico a 365 nm (Spring, 2013).

Lámpara de Deuterio

Es una lámpara de deuterio de un espectrofotómetro de la Marca Hitachi, cuyo modelo es H4141SV. Fabricado en Japón. Patente de HAMAMATSU. La distribución espectral es de 185 a 400 nm. La estabilidad de la intensidad de la luz, tiene una fluctuación de $0,05\% \pm 0,3\%/h$.

Reactor Químico

Un reactor químico es una unidad procesadora diseñada para que en su interior se lleve a cabo una o varias reacciones químicas. Dicha unidad procesadora está constituida por un recipiente cerrado, el cual cuenta con líneas de entrada y salida.

El reactor continuo es aquella que mientras tiene lugar la reacción química en el interior del reac-

tor, éste se alimenta constantemente del material reactante, y también se retira ininterrumpidamente los productos de la reacción (Denbigh y Turner, 1990).

Análisis estadístico

Métodos no paramétricos

Las pruebas no paramétricas son aquellas en las que no existen supuestos sobre la distribución de los parámetros de la población. Se aplican con mayor frecuencia a los datos nominales y ordinales, si bien pueden emplearse también para analizar datos continuos transformados a una escala ordinal (Badii, M.H., 2012).

Prueba de Levene: homogeneidad de la varianza

El test de Levene (1960) se usa para contrastar si k muestras tienen la misma varianza, es decir, la homogeneidad de varianzas. Otros contrastes, como por ejemplo el análisis de la varianza, suponen que las varianzas son iguales para todos los grupos. De ahí la importancia de verificar con el test de Levene esa hipótesis.

Prueba de Wilcoxon

Este modelo estadístico corresponde a un equivalente de la prueba t de Student, pero se aplica en mediciones en escala ordinal para muestras dependientes.

Cuando el tipo de medición no cumpla con los requisitos que la prueba t de Student exige, la de Wilcoxon es una alternativa de aceptable eficacia para contrastar hipótesis. El método es aplicable a muestras pequeñas, siempre y cuando sean mayores que 6 y menores que 25. Las muestras grandes deben ser mayores a 25 y éste se debe transformar en valor de Z , para conocer la probabilidad de que aquella sea o no significativa.

Prueba de Friedman

En estadística la prueba de Friedman es una prueba no paramétrica que consiste en ordenar los datos por filas o bloques, reemplazándolos por su respectivo orden. Al ordenarlos, se debe considerar la existencia de datos idénticos (Corzo, 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

- Medidor portátil de Monóxido de carbono Extech CO10, de respuesta rápida con rango de medición de 0 a 1.000 ppm, resolución de 1 ppm y precisión: $\pm 5\%$ ó ± 10 ppm. Sensor electroquímico específico para el CO.
- Analizador de gases Clase O (Fotometría infrarroja no dispersiva) de la marca CAPA-LEC. Medición por fotometría infrarroja no dispersiva, que tiene un rango de detección de 0 a 5% en volumen de monóxido de carbono (CO).
- Peróxido de Hidrógeno comercial y para análisis de 100 Volúmenes (Solución al 30%), de la marca Cicarelli. Cas N°: 7722 – 84 – 1. Industria Argentina.
- Dióxido de Titanio - TiO_2 : Marca JT Baker. Calidad para análisis.
- Fuentes de luz:
 1. Lámpara con filamento de tungsteno, halogenado de 12 V - 55 W (Marca Narva. Alemania).
 2. Tubo fluorescente de mercurio con emisión de luz ultravioleta 15 W (Marca Philips - TUV T8).
 3. Lámpara de deuterio tipo L2D2, para uso en espectroscopia (Marca Hitachi – Modelo: H4141SV, Japón).
- Tubos de goma resistentes al calor, ajustados con abrazadera para las conexiones entre las partes principales.
- Motor de combustión interna – Ciclo Otto. Se ha utilizado un motor de automóvil de uso particular, de la marca Chevrolet 1600 cc, 16V, año 1999, sin catalizador.

Consideraciones previas a la realización del experimento

- Las mediciones se han realizado en un lugar semi cerrado, para evitar el efecto de vientos en el flujo de los gases de escape que pueda afectar las mediciones, con airea-

ciones suficientes de modo a evitar posibles intoxicaciones con el monóxido de carbono.

- Utilización de una máscara con filtros a base de carbón activado, para minimizar la inhalación de los gases productos de la combustión.
- La detección del equipo portátil es de un valor máximo de 1.000 ppm (mil partes por millón) de monóxido de carbono (CO) y para realizar las mediciones, se ha introducido aire puro del ambiente por medio de una sopladora, para la dilución del monóxido de carbono.

Partes variables del experimento (Dispositivo)

Se denomina así a cada una de las partes añadidas o utilizadas desde el caño de escape hasta el equipo de medición utilizado.

Filtro del gas a analizar

A base de espuma, con lo que se retienen todas las partículas sólidas, de modo a resguardar el sensor electroquímico del equipo de medición.

Cámara de mezclado, reacción y medición

Para obtener una mejor reacción de la mezcla de gases de escape y de radicales $\text{OH}^\bullet$ formados, se ha dirigido la mezcla a una cámara de mezclado para la medición.

Inyección de peróxido de Hidrógeno

La vaporización del peróxido de hidrógeno y posterior mezcla con los gases de combustión se han realizado de tres formas alternativas:

- 1- Por arrastre del vapor del peróxido de hidrógeno con aire por medio de la bomba de un equipo nebulizador conectado a un humidificador de 250 ml.
- 2- Por arrastre del vapor del peróxido de hidrógeno con aire por medio de la bomba de un equipo nebulizador conectado a un frasco tipo lavador de gases de 500 ml.
- 3- Por arrastre de vapor por el burbujeo de una porción del gas de escape en el peróxido de hidrógeno.

Inyección de aire puro

Para la inyección del aire puro se ha utilizado el aire expulsado por una aspiradora conectado al sistema de flujo del gas de escape, según las características definidas en cada experimento. El flujo de inyección de aire es regulado mediante una abertura lateral del caño de inyección, de modo a ajustar a valores en donde puedan observarse cambios en la concentración dentro de los valores del rango de detección.

Registro de datos

El equipo de medición portátil utilizado no posee una memoria de almacenamiento de datos o una forma de transmisión de los datos, por lo que se ha tenido la necesidad de filmar la pantalla del equipo de medición. Los datos fueron extraídos mediante un editor de video (Sony Sound Forge 7.0), separando las imágenes que componen el video, estableciéndose el copiado del dato cada 34 imágenes, lo que corresponde a aproximadamente un valor por segundo.

Métodos

La medición de la cantidad de monóxido de carbono emitida al ambiente en el presente trabajo, se realizó mediante un sensor portátil Extech C10, en las condiciones de funcionamiento de un motor de combustión interna, desde la salida del caño de escape del motor y a la salida del dispositivo de reacción. Las condiciones en las que se fueron desarrollando las mediciones se describen a continuación:

- En periodos de tiempo desde el inicio del funcionamiento del motor hasta llegar a valores constantes, sin reactivos y sin iluminación y con reactivos e iluminación.
- Con una determinada concentración establecida del peróxido de hidrógeno:
 - a- Con vaporización del H_2O_2
 - b- A diferentes valores de temperatura de vaporización del peróxido de hidrógeno.
 - c- A diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno, vaporizando el peróxido de hidrógeno e iluminado

con luz UV.

Generación de Radicales

La generación de los radicales hidroxilo $\text{OH}\cdot$ se realizó por medio de la fotólisis del H_2O_2 con lámpara de luz deuterio que emite radiación de luz dentro del rango ultravioleta a partir de 185 nm.



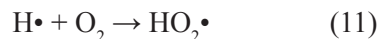
Los radicales $\text{OH}\cdot$ formados son introducidos en el mecanismo de escape del motor para el mezclado con los gases de combustión, para la reacción con el monóxido de carbono (CO), formándose un compuesto intermedio inestable radical hidrocarboxilo ($\text{HOCO}\cdot$), que se descompone en radical hidrógeno $\text{H}\cdot$ y dióxido de carbono (CO_2).



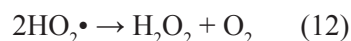
La ecuación neta es:



donde el radical hidrógeno puede reaccionar con el oxígeno del ambiente, dando radical hidroperóxido.



Se evalúa la efectividad de la reacción con la determinación de la disminución de la concentración de monóxido de carbono con la generación de radicales hidroxilo, que finalmente pueden volver a formar peróxido de hidrógeno, desprendiendo oxígeno.



Mediciones realizadas

Para cada una de las mediciones realizadas en cada experimento, se han realizado los ajustes de las lecturas de concentración del monóxido de carbono al rango de detección del equipo y realizado cada uno de los pasos descritos a continuación.

Valores de Base

Se ha realizado la medición del monóxido de carbono existente en el ambiente.

Con dispositivos

Se realizan todas las conexiones de los dispositivos

móviles mencionados a la salida del caño de escape del automóvil y se arranca el motor. Se realizan las mediciones desde el inicio hasta que la temperatura del motor llegue a la de funcionamiento estable, esto es teniendo en cuenta que en funcionamiento inicial a temperaturas bajas del motor pueden dar valores diferentes al de funcionamiento a temperatura normal máxima y luego se añade la fuente de luz y peróxido de hidrógeno y se realizan las lecturas en estas condiciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Valores de Base

Tabla 1. Concentración de CO (ppm) medidos en el ambiente de trabajo. **Valor Promedio:** 16 ppm. **Desviación Estándar:** 1 ppm. **N°:** Se refiere a la cantidad de mediciones realizadas.

N°	CO (ppm)	N°	CO (ppm)	N°	CO (ppm)	N°	CO (ppm)
1	16	11	17	21	17	31	15
2	15	12	16	22	16	32	15
3	15	13	16	23	16	33	15
4	15	14	15	24	16	34	15
5	15	15	15	25	15	35	16
6	16	16	15	26	15	36	16
7	16	17	16	27	16	37	16
8	15	18	16	28	15	38	15
9	16	19	15	29	15	39	16
10	16	20	16	30	16	40	16

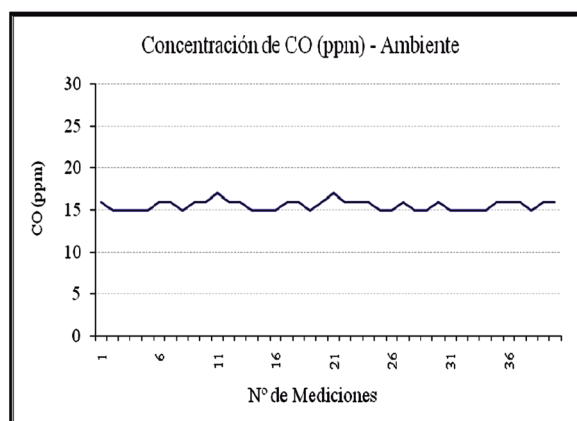


Figura 2. Valores de concentración de CO en función del tiempo medidos en el ambiente de trabajo.

Las mediciones se han realizado en el ambiente de trabajo antes de hacer funcionar el motor. En la Tabla 1 se dan los valores de la medición de CO en ppm realizada en el ambiente de trabajo, en donde se observan valores promedio de 16 ppm y una desviación estándar de 1 ppm.

En la Figura 2 se observan los valores de la concentración de CO (ppm) medidos en el ambiente de trabajo, en la que se observan valores con muy pequeñas fluctuaciones.

Medición de la concentración de CO (ppm) sin peróxido de hidrógeno y sin luz

Las mediciones de la concentración de CO del gas de escape se han realizado en las condiciones de funcionamiento normal, para tener los valores de CO iniciales. En la Tabla 2, se presentan los valores de CO (ppm) obtenidas con el tiempo.

Tabla 2. Concentración de CO (ppm) medidos del gas de escape, ajustados a valores de lectura dentro del rango de medida del equipo.

Medición	CO (ppm)	Medición	CO (ppm)	Medición	CO (ppm)
1	193	16	212	31	225
2	195	17	206	32	272
3	189	18	241	33	300
4	194	19	248	34	333
5	209	20	251	35	318
6	210	21	235	36	288
7	216	22	247	37	329
8	205	23	251	38	340
9	750	24	192	39	210
10	820	25	210	40	101
11	248	26	230	41	76
12	264	27	260	42	269
13	236	28	288	43	312
14	215	29	283		
15	218	30	254		

Mediciones de la concentración de CO en ppm con peróxido de hidrógeno y con luz

La medición se ha realizado de la mezcla del gas de escape con peróxido de hidrógeno comercial de 10

Tabla 3. Concentración de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H_2O_2 10 Vol, iluminado con lámpara de tungsteno halogenado. N°: Se refiere a la cantidad de mediciones realizadas.

N°	CO (ppm)	N°	CO (ppm)
1	202	11	123
2	215	12	98
3	144	13	201
4	83	14	204
5	72	15	364
6	64	16	170
7	63		
8	61		
9	64		
10	160		

Vol, vaporizado e iluminado con luz proveniente de una lámpara de tungsteno halogenado.

En la Tabla 3, se presentan los valores de CO (ppm) obtenidos con el tiempo de la mezcla resultante de los gases de escape y peróxido de hidrógeno (comercial) de 10 volúmenes de concentración.

En la Tabla 4, se presentan los valores promedio de CO (ppm), el número de mediciones, la varianza y la desviación estándar de las mediciones en el ambiente de trabajo (1.1), de las mediciones del gas de escape sin peróxido de hidrógeno ni luz (1.2) y de la concentración resultante de los gases de escape y peróxido de hidrógeno (comercial) de 10 volúmenes de concentración iluminado con lámpara de tungsteno halogenado (1.3). Se ha realizado además la comparación de los resultados obtenidos de las mediciones de los gases de escape y existe una disminución del 42% en la concentración de CO (ppm) al mezclarlo con peróxido de hidrógeno e iluminarlo con la luz de una lámpara de tungsteno

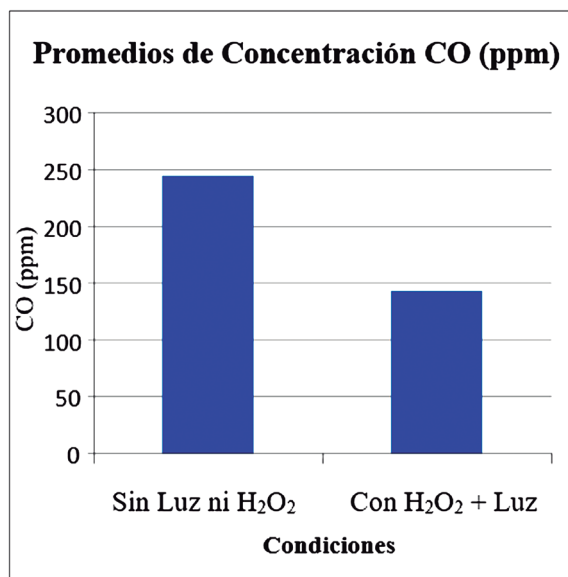


Figura 3. Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición. 1) Sin peróxido de hidrógeno, ni luz. 2) Con peróxido de Hidrógeno 10 Vol y luz de lámpara de tungsteno halogenado.

halogenado.

En las Figuras 3 y 4 se representan los valores promedios de la concentración de CO (ppm) medidos, según diferentes condiciones de determinación: 1.2) Mediciones realizadas del gas de escape sin el agregado del peróxido de hidrógeno ni luz que no sea la luz ambiental del día y la luz de un tubo fluorescente y 1.3) Mediciones realizadas de los gases de escape mezclados con peróxido de hidrógeno e iluminados con lámpara de tungsteno halogenado.

Con los resultados se ha observado una disminución de la concentración de monóxido de carbono (CO) con el agregado de la iluminación con lámpara de tungsteno halogenado a la mezcla de vapor de peróxido de hidrógeno 10 volúmenes con los gases de escape.

Tabla 4. Valores promedio de la concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición.

Experimento	Valor promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coefficiente de Variación	Desviación Estándar	% Disminución
1.1	16	40	4	1	
1.2	245	43	25	62	
1.3	143	16	58	83	43

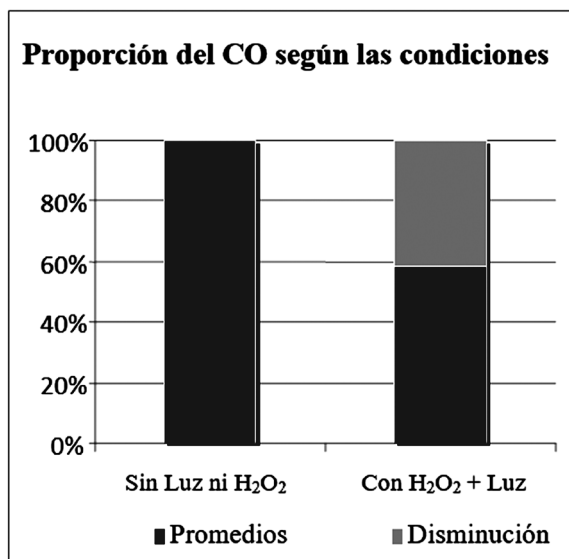


Figura 4. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición. 1) Sin peróxido de hidrógeno, ni luz. 2) Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz de lámpara de tungsteno halogenado.

Los resultados preliminares obtenidos dan valores esperados, no obstante, la lámpara de tungsteno halogenado utilizada, no tiene tanta intensidad de radiancia a longitudes de onda baja, para la generación de los radicales OH•, a partir del peróxido de hidrógeno (Gómez,2000).

Análisis Estadístico

En las Figuras 5, 6 y 7 se muestra el comportamiento de CO según las condiciones del experimento (1), como las medias, intervalos de confianza del 95%, detección de valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) y tamaños de las muestras (n). Se puede observar que la menor variabilidad corresponde al experimento realizado sin puesta en marcha el motor del vehículo y la mayor sin peróxido sin luz y con peróxido 10 Vol y luz respectivamente.

Figuras 5-7 (columna opuesta). Comportamiento del CO. 5) Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según las condiciones del experimento (1). 6) Gráfica de cajas y bigotes de CO (ppm), según la condición del experimento (1). 7) Gráfica de medias de CO, según la condición del experimento (1).

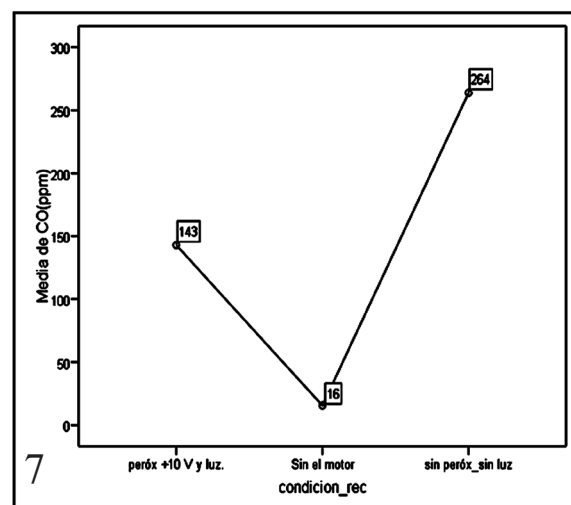
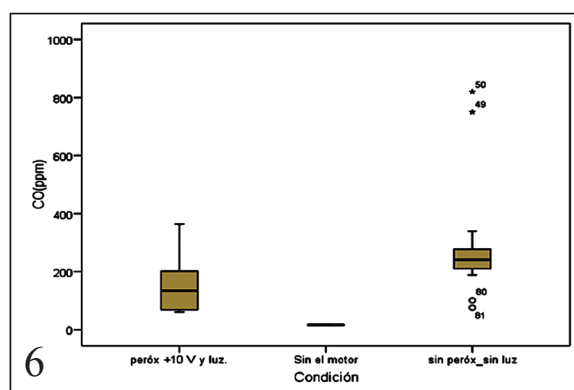
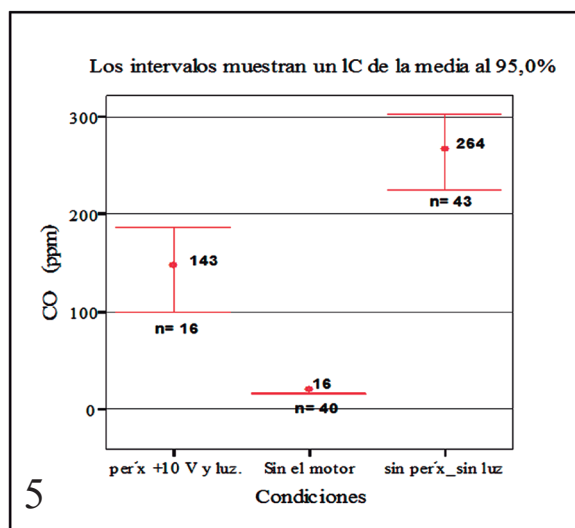


Tabla 5. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H₂O₂ 10 Vol e iluminado con tubo fluorescente de luz UV y tungsteno halogenado.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.1	Luz UV+Visible	90	21	36	32
2.2	Luz UV	91	48	22	31

Los datos no presentan homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene ($p < 0,05$). Presentan valores extremos inferiores y superiores (teniendo en cuenta la mediana) con las mediciones de sin peróxido de hidrógeno y sin luz (sin peróxido sin luz). Así mismo, presentan diferencias significativas entre cada una de las condiciones de mediciones de CO en sus valores de las medianas con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p < 0,05$), donde los mayores valores de CO se concentran en la medición de sin peróxido y sin luz y los menores sin puesta del motor en marcha.

Experimento 2

Se ha cambiado la fuente de luz visible, utilizando un tubo fluorescente de emisión en el rango UV colocado en el caño corrugado de flujo de la mezcla de gases de escape y peróxido de hidrógeno e incorporando la utilización de un soplador de aire, de modo a que los valores de concentración de monóxido de carbono no presenten mucha oscilación en el rango de lectura del equipo de medición.

Eficiencia de la generación de radicales OH• con la combinación de fuentes de luz

Las condiciones de funcionamiento, se detallan en la Tabla 5, en la que se dan los valores promedios, el número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las me-

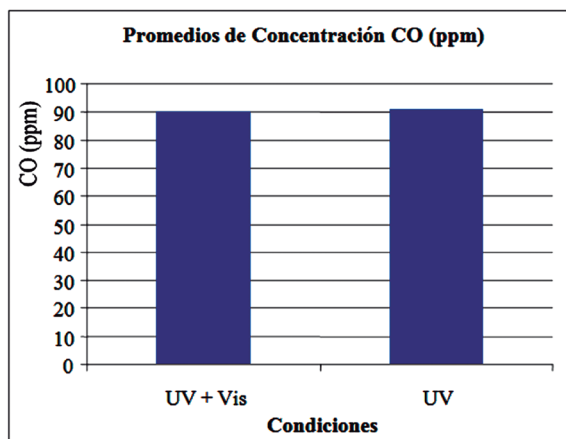


Figura 8. Promedios de la concentración de CO (ppm) en diferentes condiciones de medición. 1) Peróxido de hidrógeno con luz visible y luz UV. 2) Peróxido de hidrógeno con luz UV.

diciones realizadas del CO (ppm), en el Experimento 1: con Luz UV + Luz visible y peróxido de hidrógeno y en el Experimento 2: utilizando solamente luz UV.

Los resultados obtenidos son casi similares para ambas condiciones de medición, lo que puede ser un indicador de la casi nula producción de radicales OH• por medio de la lámpara de tungsteno halogenado.

En la Figura 8 se representan los valores promedios de la concentración de CO (ppm) medidos, con luz UV y visible y solamente con luz UV, donde los resultados presentan valores casi similares en ambas determinaciones sin una disminución apreciable

Tabla 6. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H₂O₂ 10 Vol, sin luz e iluminado con tubo fluorescente de luz UV.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.3	Sin luz UV	86	80	35	30
2.4	Con luz UV	66	47	29	20

con la combinación de lámparas.

Generación de radicales $\text{OH}\cdot$ a partir del peróxido de hidrógeno con luz UV

Las condiciones de funcionamiento, se detallan en la Tabla 6, en la que se dan los valores promedios, el número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), en el Experimento 2.3: Sin Luz UV y en el Experimento 2.4: utilizando luz UV.

El valor promedio de la concentración de CO medidos sin luz, fue de 86 ppm, mientras que al mezclar los gases de escape con vapor de peróxido de hidrógeno e iluminar con la luz UV se obtuvo un valor de 66 ppm en CO, lo que corresponde una disminución de 23% en la concentración de CO.

En las Figuras 9 y 10 se observan los valores promedio de la concentración de CO (ppm) medidos en las condiciones sin luz UV y con luz UV, donde los valores obtenidos sin luz UV, poseen valores promedio mayores (86 ppm) que

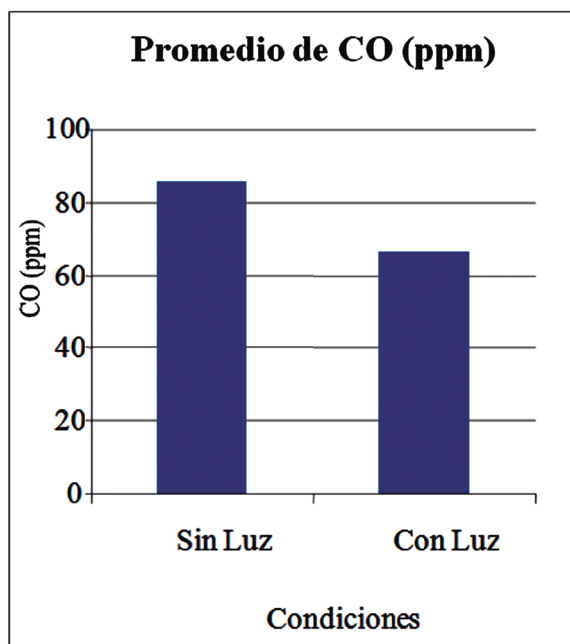


Figura 9. Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición. 1) Sin peróxido de hidrógeno, ni luz. 2) Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz de lámpara de tungsteno halogenado.

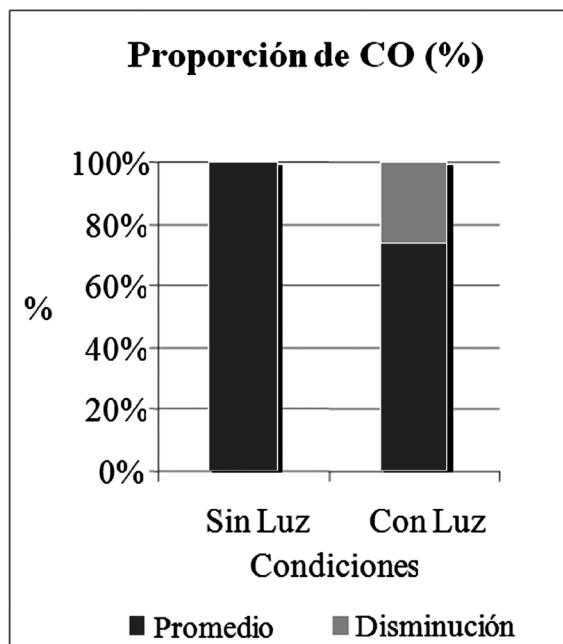


Figura 10. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: 1) Sin peróxido de hidrógeno, ni luz y 2) Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz de lámpara de tungsteno halogenado.

las mediciones obtenidas con luz UV (66 ppm), dando una proporción de disminución del 23,2% al utilizar el peróxido de hidrógeno de 10 volúmenes e iluminar con luz de lámpara de tungsteno halogenado.

Evaluación de la reproductibilidad de los resultados alternando las mediciones con iluminación y sin iluminación

En la Tabla 7, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar del CO (ppm) con nueva solución de peróxido de hidrógeno comercial de 10 Vol, utilizando otro humidificador. Los experimentos 2.5, 2.6, 2.7 se realizaron con luz UV y en los experimentos 2.8 y 2.9 sin luz UV.

Los valores promedio de la concentración de CO (ppm) de 45 ppm obtenidos al iluminar con luz UV, no refleja una disminución con respecto a los valores obtenidos sin iluminación de 43 ppm. La diferencia entre 43 y 45 ppm está dentro del error experimental (la desviación estándar es de 6 ppm

Tabla 7. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H_2O_2 10 Vol, sin luz e iluminado con tubo fluorescente de luz UV.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.5	Con luz UV	53		282	493	22
2.6	Con luz UV	38		182	51	7
2.7	Con luz UV	43	45	69	41	6
2.8	Sin luz UV	38		329	126	11
2.9	Sin luz UV	35	43	55	85	9

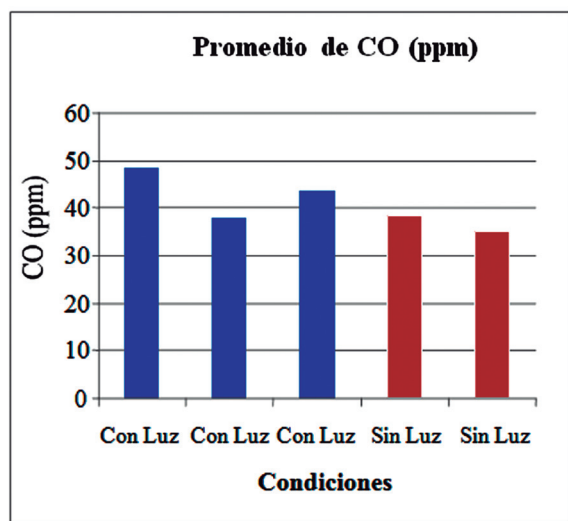


Figura 11. Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición de los gases de escape con H_2O_2 10 Vol. 1) Sin luz. 2) con luz UV.

en un caso y 9 ppm en el otro).

En las Figuras 11 y 12 se observan los valores promedio de la concentración de CO (ppm), medidos en las condiciones ambientales (2 repeticiones) y con luz UV (3 repeticiones), en donde no se reproduce la disminución con la adición de luz UV y H_2O_2 10Vol, sino que al contrario se observa un aumento (-6,6%), que puede ser influenciado por otros factores (soplador).

Dispositivo de producción del vapor de peróxido de hidrógeno con bomba de nebulizador y frasco de 500 ml

En la Tabla 8, se dan los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las medicio-

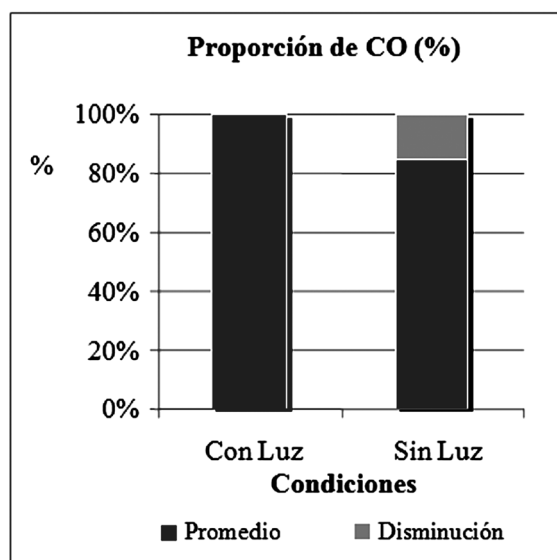


Figura 12. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Con peróxido de Hidrógeno 10 Vol y luz UV y sin peróxido de hidrógeno, ni luz.

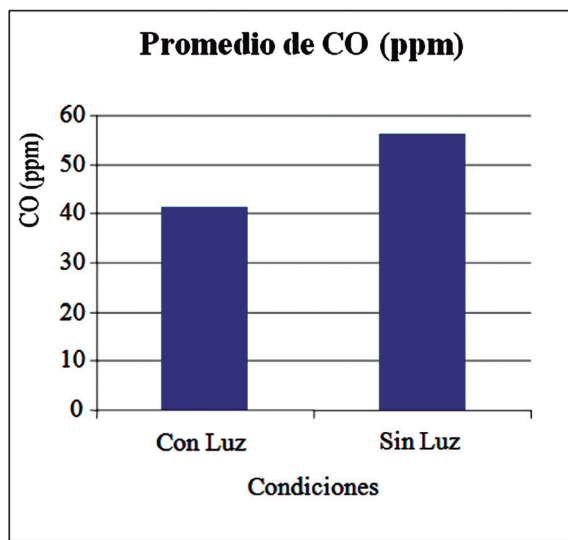
nes realizadas del CO (ppm), al utilizar otro humidificador (2), con luz UV (2.10) y sin luz (2.11).

Se observa la disminución de la concentración del CO por la iluminación con luz UV, con un promedio de 42 ppm en la concentración de CO y 56 ppm sin la iluminación, lo que equivale a una disminución del 26% en la concentración de monóxido de carbono.

En las Figuras 13 y 14 se observan los valores promedios de las concentraciones de CO (ppm) medidos, sin luz y sin peróxido de hidrógeno (56 ppm), con un valor mayor que el promedio de las mediciones obtenidas con luz UV (42 ppm), dando

Tabla 8. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H_2O_2 10 Vol, sin luz e iluminado con luz de tubo fluorescente UV.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.10	Luz UV y H_2O_2 10 Vol	42	124	40	17
2.11	Sin luz UV	56	123	34	19

**Figura 13.** Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición: Con H_2O_2 10 Vol y luz UV y Sin peróxido de hidrógeno ni luz UV.

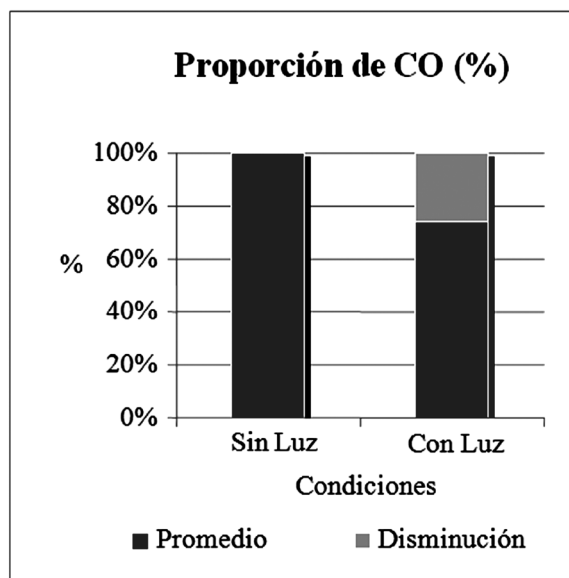
una disminución del 26% en la concentración de monóxido de carbono.

Punto de mezcla del vapor de peróxido de hidrógeno con los gases de escape en la cámara de reacción

En la Tabla 9, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con la luz UV en la cámara de reacción (2) y sin luz.

Tabla 9. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H_2O_2 10 Vol, sin luz UV e iluminado con luz UV.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.12	Sin luz UV	56	123	34	19
2.13	Con luz UV	53	201	38	20

**Figura 14.** Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz UV y sin peróxido de hidrógeno, ni luz.

Los valores promedio de CO de 56 ppm, obtenidos al realizar el cambio del punto de mezcla del vapor del peróxido de hidrógeno con los gases de escape en la cámara de reacción, no produjeron una disminución significativa de la concentración de monóxido de carbono al obtenido sin la iluminación que fue de 53 ppm en CO. Esto evidencia el efecto de la turbulencia generada por el caño corrugado en la eficiencia de reacción de la mezcla de reactivos.

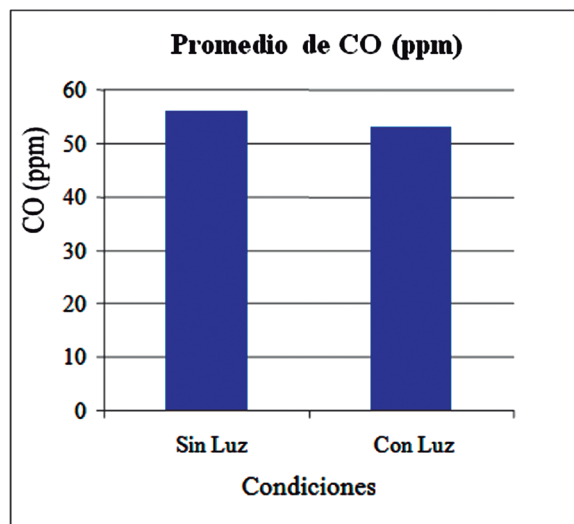


Figura 15. Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición: Sin peróxido de hidrógeno ni luz UV y con H_2O_2 y luz UV.

En las Figuras 15 y 16 se observan los valores promedios de las concentraciones de CO (ppm) medidos, sin luz y sin peróxido de hidrógeno (56 ppm), con valores mayores que las mediciones obtenidas con luz UV y peróxido de hidrógeno 10 Vol (53 ppm), dando una disminución del 3% en la concentración de monóxido de carbono.

Con el tubo fluorescente de luz UV dentro de la cámara de reacción

En la Tabla 10, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con la luz UV en la cámara de reacción (2) y sin luz.

Se observa una disminución de la concentración del CO por la iluminación con luz UV en la cámara de reacción a un promedio de 35 ppm, del 54 ppm obtenido sin la iluminación, lo que equivale

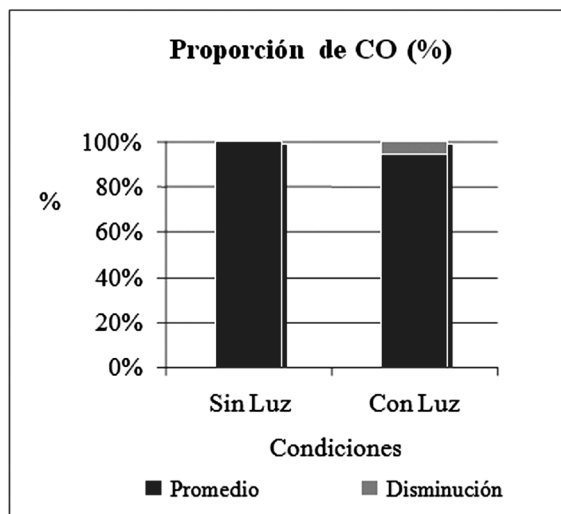


Figura 16. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Con peróxido de Hidrógeno 10 Vol y luz UV y sin peróxido de hidrógeno, ni luz.

a una disminución del 36% en la concentración de monóxido de carbono. Que se observa un mayor porcentaje de disminución con la obtenida en las mismas condiciones, pero iluminando dentro del caño corrugado, observándose el efecto de la superficie de reacción o el volumen del reactor.

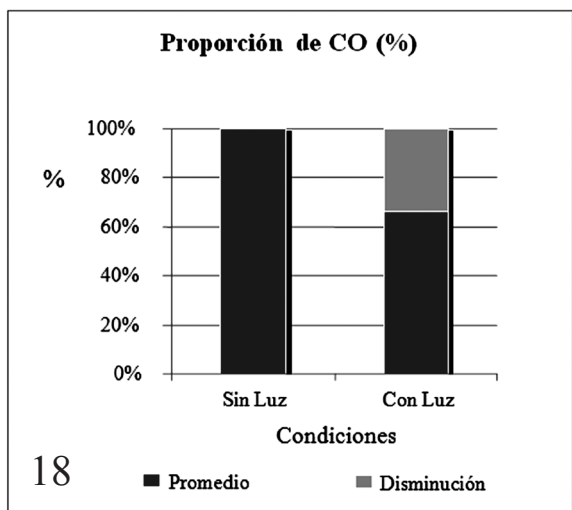
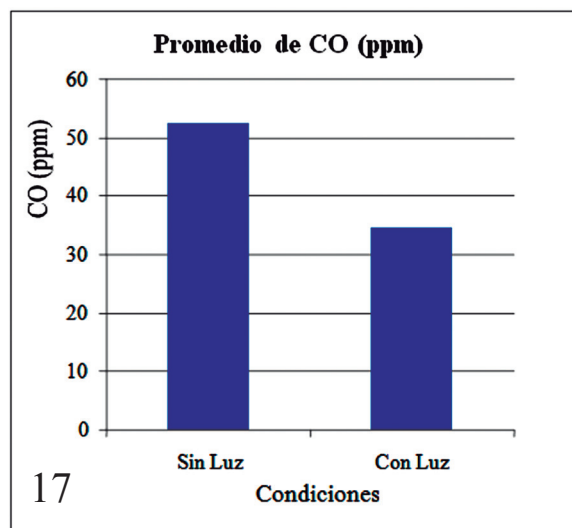
En las Figuras 17 y 18 se observan los valores promedios de las concentraciones de CO (ppm) medidos, sin luz y sin peróxido de hidrógeno (54 ppm), con valores mayores que las mediciones obtenidas con luz UV y peróxido de hidrógeno 10 Vol (35 ppm), lo que da una disminución del 36% en la concentración de monóxido de carbono al utilizar luz UV.

Análisis Estadístico

En las Figuras 19, 20 y 21 se muestra el comportamiento de CO según las condiciones del Experimento 2, como las medias, intervalos de confianza

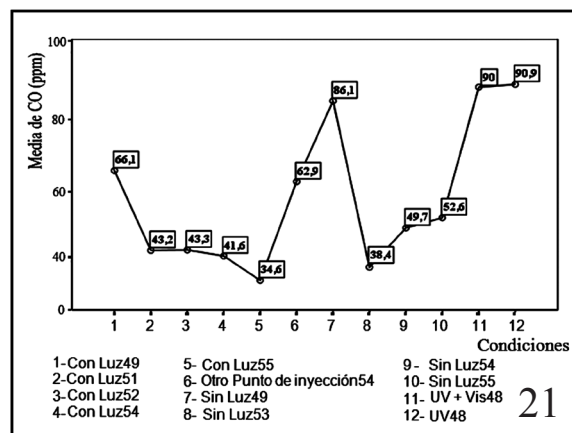
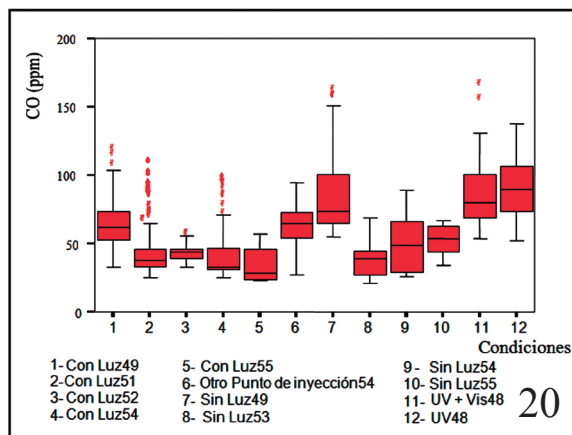
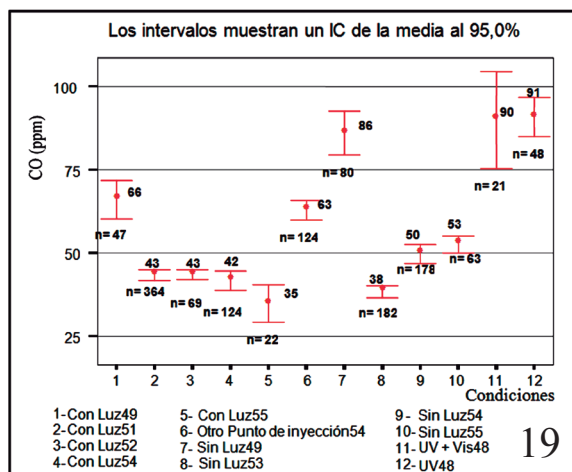
Tabla 10. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H_2O_2 10 Vol, sin luz UV e iluminado con luz UV dentro de la cámara de reacción.

Experimento	Condiciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
2.14	Con luz UV	35	22	37	13
2.15	Sin luz UV	54	22	16	9



Figuras 17-18. Valores promedio de las concentraciones de CO (ppm). **17)** Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición: Con H_2O_2 10 Vol y luz UV y Sin peróxido de hidrógeno ni luz UV. **18)** Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz UV y sin peróxido de hidrógeno, ni luz.

del 95%, detección de valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) y tamaños de las muestras (n). Se puede observar que la menor variabilidad corresponde al experimento realizado sin luz y con luz; la mayor UV+Visible 48 respectivamente. Los datos no presentan homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene ($p < 0,05$). Presentan va-



Figuras 18-21. Comportamiento del CO según las condiciones del Experimento 2. **19)** Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según las condiciones del experimento (2). **20)** Gráfica de cajas y bigotes de CO, según la condición del experimento (2). **21)** Gráfica de medias de CO, según la condición del experimento (2).

Tabla 11. Resumen de valores de concentración de CO en ppm medidos en el ambiente de trabajo y de valores de CO (ppm) de ajuste de condiciones.

Experimento	Condiciones	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coefficiente de Variación	Desviación Estándar
31	Valores de Base	6	60	5	0,3
32	Ajuste	401	114	4	18

lores extremos superiores (teniendo en cuenta la mediana) con casi todas las condiciones de este experimento, con mayor proporción con luz 51 y luz 54.

Así mismo también presentan diferencias significativas entre cada una de las condiciones de mediciones de CO en sus valores de las medianas a excepción entre UV48 - UV + Vis48 y Sin Luz49 - UV + Vis48 y Sin Luz49 - UV48 con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p > 0,05$), donde los mayores valores de CO se concentran con la medición de Sin luz49, UV + Vis48 y UV48 y los demás con menores valores.

Se observaron cambios en las concentraciones de CO utilizando como fuente de luz tubo fluorescente UV, y por las características de la misma la emisión de luz corresponda mayormente al rango UVA (320 – 400 nm), con lo que la generación de radicales puede estar sujeto a la energía suministrada mediante la misma.

Experimento 3

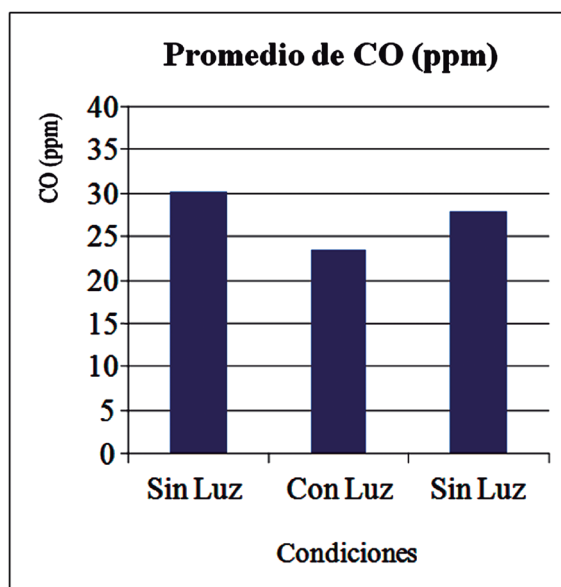
Antes de afirmar que la lámpara utilizada no es la adecuada, se ha realizado el mismo experimento utilizando peróxido de hidrógeno de mayor concentración de calidad para análisis de 100 volúmenes, modificado el sistema de inyección por arrastre del vapor por medio del burbujeo (Vaporizador 2) y se ha modificado cambiado la ubicación de la fuente de luz.

Tabla 12. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, mezclado con H₂O₂ 10 Vol, sin luz UV e iluminado con luz UV dentro de la cámara de reacción.

Experimento	Condiciones	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coefficiente de Variación	Desviación Estándar
3.3	Sin Luz	30	132	25	8
3.4	Luz UV y H ₂ O ₂ 10 V	24	331	16	4
3.5	Sin Luz	28	301	23	6

Las mediciones se han realizado en el ambiente de trabajo antes de hacer funcionar el motor. En la Tabla 11 se dan los valores de la medición de CO en ppm realizada en el ambiente de trabajo, en donde se observan valores promedio de 6 ppm, un coeficiente de variación de 1 y una desviación estándar de 0,3.

Eficiencia y reproducibilidad de la generación

**Figura 22.** Concentración de CO en ppm en diferentes condiciones de medición: Con H₂O₂ 10 Vol y luz UV y Sin peróxido de hidrógeno ni luz UV (antes y después).

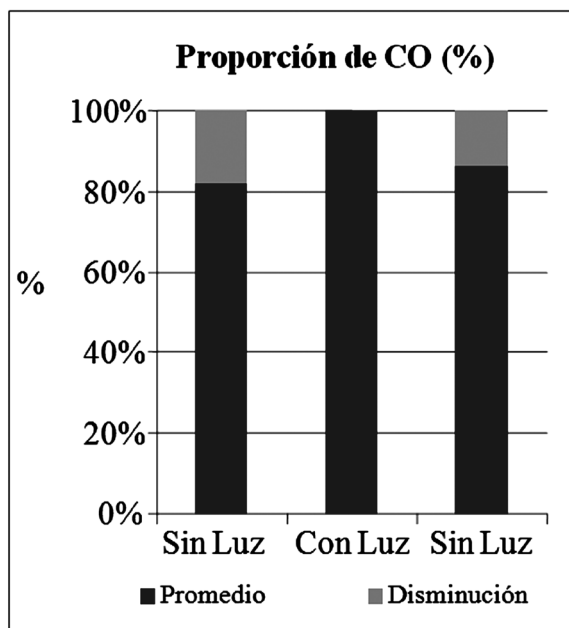


Figura 23. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Con peróxido de hidrógeno 10 Vol y luz UV y sin peróxido de hidrógeno, ni luz.

de radicales OH• con fuente de luz UV y peróxido de hidrógeno 10 Vol

En la Tabla 12, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con la luz UV en la cámara de reacción (2) y sin luz.

Se observa la disminución de la concentración promedio del CO desde 30 ppm (sin luz UV) a 24 ppm con luz UV y con un valor de 28 ppm del CO sin luz UV, lo que corresponde a una disminución promedio del 19%.

En las Figuras 22 y 23 se observan los valores promedios de las concentraciones de CO (ppm)

medidos, sin luz y sin peróxido de hidrógeno (30 ppm), con valores mayores que las mediciones obtenidas con luz UV y peróxido de hidrógeno 10 Vol (24 ppm) y sin luz ni peróxido de hidrógeno (30 ppm), dando una disminución del 7% en la concentración de monóxido de carbono cuando es iluminado con luz UV y presencia de peróxido de hidrógeno.

Evaluación de la eficiencia con la concentración del peróxido de hidrógeno (10 Vol 100 Vol) y luz UV

En la Tabla 13, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con la luz UV en la cámara de reacción (2) y sin luz.

Se observa la disminución de la concentración del CO de 30 ppm (medida sin luz UV), utilizando

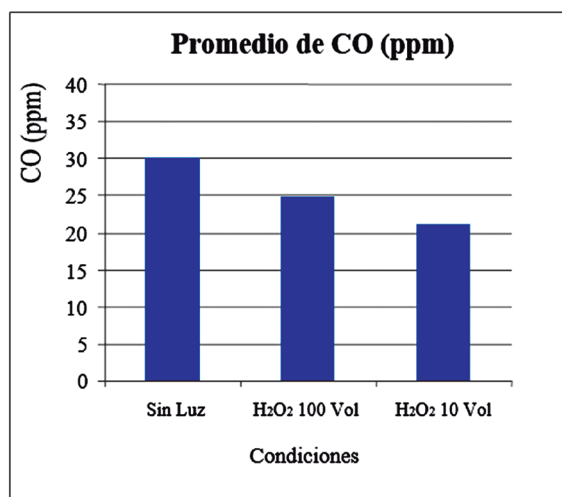


Figura 24. Concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Sin luz, Con Luz UV: H₂O₂ 100 Vol y H₂O₂ 10 Vol.

Tabla 13. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, sin luz e iluminado con luz UV, con H₂O₂ 10 Vol y 100 Vol.

Experimento	Condiciones	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
3.5	Sin Luz	30	132	25	8
3.6	Luz UV y H ₂ O ₂ 10 V	21	176	11	2
3.7	Luz UV y H ₂ O ₂ 100 V	24	278	35	9

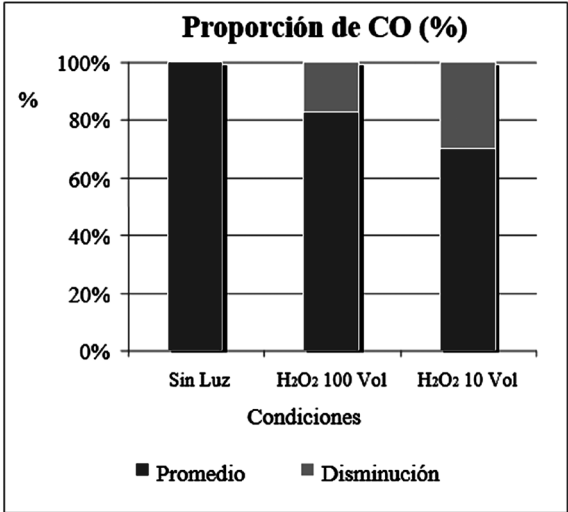


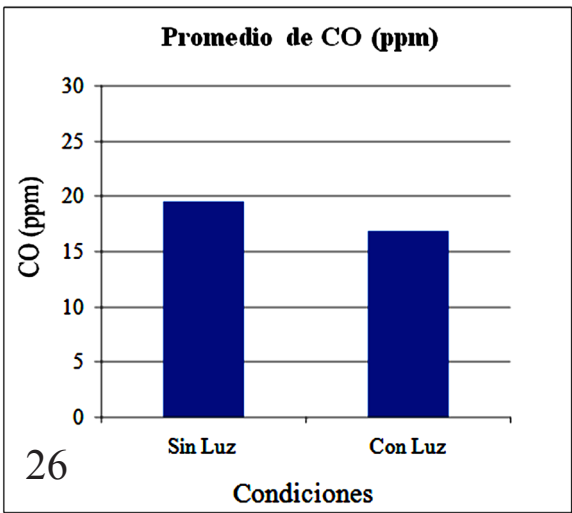
Figura 25. Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Sin luz y Con Luz UV: H₂O₂ 100 Vol y H₂O₂ 10 Vol.

luz UV con peróxido de hidrogeno de 10 Volúmenes a un promedio de 21 ppm y de 24 ppm con el peróxido de hidrógeno de 100 volúmenes.

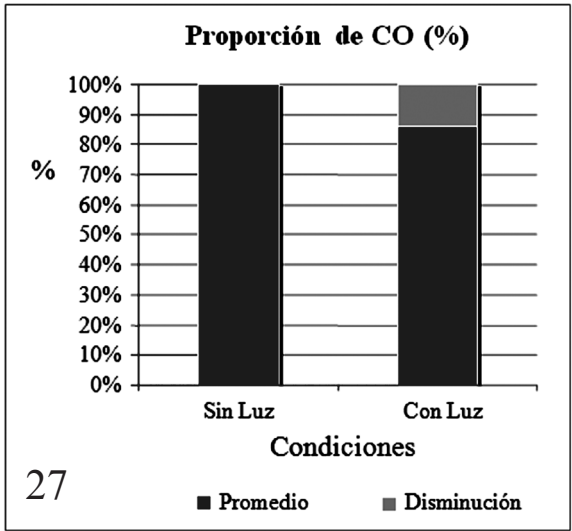
En las Figuras 24 y 25 se observan los valores promedios de CO (ppm) medidos, sin luz (30 ppm), con valores mayores que las mediciones con luz UV y H₂O₂ 10 Vol (21 ppm) y H₂O₂ 100 Vol (24 ppm), lo que equivale a una mayor eficiencia en 10% con el peróxido de hidrógeno de 10 Vol con respecto al del H₂O₂ 100 Vol.

Evaluación de la eficiencia de la reacción: Inyección del vapor de peróxido de hidrógeno de 10 volúmenes en la cámara de reacción

En la Tabla 14, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), sin iluminación con luz UV y con la



26



27

Figuras 26-27. Valores promedios de CO (ppm). 26) Concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Sin luz, Con luz UV y H₂O₂ 10 Vol en la cámara de reacción. 27) Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Sin luz y Con luz UV y H₂O₂ 10 Vol en la cámara de reacción.

Tabla 14. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, sin luz e iluminado con luz UV en la cámara de reacción.

Experimento	Condiciones	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
3.8	Luz UV (cámara de reacción)	17	110	8	1
3.9	Sin luz UV	19	79	20	4

iluminación con luz UV e inyección del H_2O_2 en la cámara de reacción.

Se observa que el promedio de la concentración del CO disminuye de 19 ppm sin la iluminación con luz UV a 17 ppm al realizar la inyección directamente en la cámara de reacción.

En las Figuras 26 y 27 se observan los valores promedios de CO (ppm) medidos, sin Luz UV (19 ppm), con valores mayores que las mediciones con luz UV y H_2O_2 10 Vol (17 ppm) cuando la inyección del H_2O_2 se realiza en la cámara de reacción con una disminución del 14% en la concentración de CO(ppm).

Análisis Estadístico

En la Figuras 28, 29 y 30 se muestra el comportamiento de CO según las condiciones del Experimento 3, como las medias, intervalos de confianza del 95%, detección de valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) y tamaños de las muestras (n). Se puede observar que la menor variabilidad corresponde al experimento realizado con 10 Vol, la mayor 100 Vol de peróxido respectivamente. Los datos no presentan homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene ($p < 0,05$). Presentan valores extremos superiores (teniendo en cuenta la mediana) para todas las condiciones de este experimento 3, con mayor proporción sin luz y 100 Vol.

Así mismo también presentan diferencias significativas entre cada una de las condiciones de mediciones de CO en sus valores de las medianas con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p < 0,05$), donde los mayores valores de CO se concentran con la medición de Sin luz y 100 Vol y los valores menores con 10 Vol de peróxido.

Experimento 4

Se incorpora la lámpara de luz UV de Deuterio

Figuras 28-30 (columna opuesta). Comportamiento de CO según las condiciones del Experimento 3. **28)** Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según las condiciones del experimento 3. **29)** Gráfica de cajas y bigotes de CO, según la condición del experimento (3). **30)** Gráfica de medias de CO, según la condición del experimento 3.

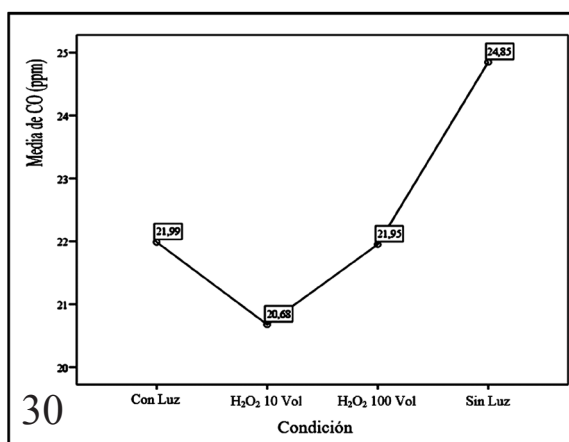
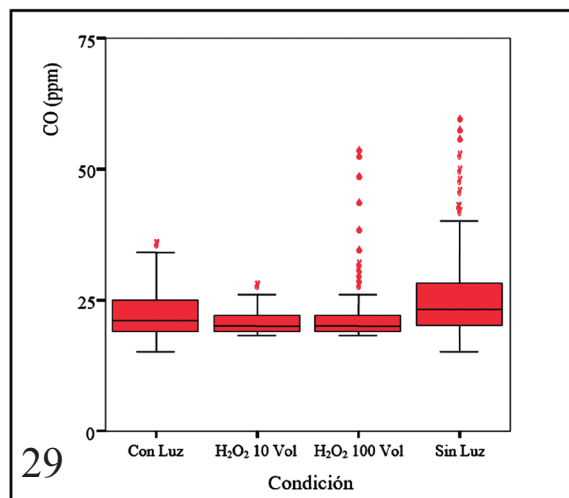
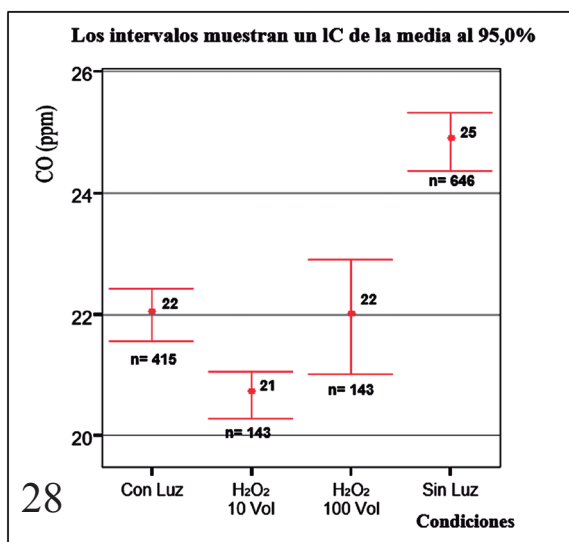


Tabla 15. Concentraciones promedio, coeficiente de variación y desviación estándar de CO (ppm) medidos del gas de escape, sin luz e iluminado con luz UV, con H_2O_2 10 Vol y 100 Vol.

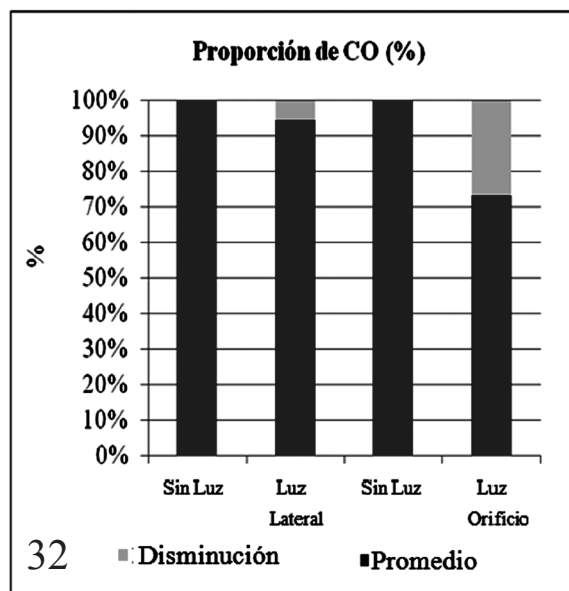
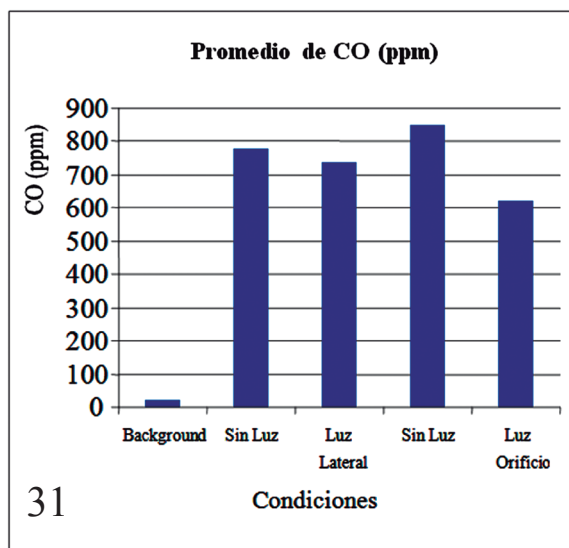
Experimento	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Referencia	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
4.1.1	18	48	Valores de base	4	1
4.1.2	777	117	Sin luz UV	15	120
4.1.3	733	285	Lateral de la cámara (2)	8	60
4.1.4	849	245	Sin luz UV	5	40
4.1.5	623	213	Orificio de la cámara (2)	13	80

tipo L2D2, de un espectrofotómetro de la marca Hitachi, con lo que se garantiza la emisión de luz a partir de longitud de onda 185 nm, y con un valor alto de intensidad de radiancia para la obtención de radicales $OH^\bullet$. Se ha cambiado el soplador por otro con fuente externa de 220 V con caudal de aire regulable, debido a que se han observado algunas fluctuaciones en la concentración de CO medido, sin el agregado del peróxido de hidrógeno ni luz UV, lo que se ha atribuido a que el soplador de 12 V alimentado con la batería del auto es afectado por la disminución de la tensión al funcionar el ventilador de refrigeración del motor, con lo que la velocidad de flujo de aire y la concentración de monóxido de carbono. Se ha cambiado el recipiente de mezcla y reacción por un frasco de vidrio con una mayor capacidad (aproximadamente de 5 litros).

Iluminación de la mezcla con luz UV - lámpara de deuterio L2D2

En la Tabla 15, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con la luz UV la cámara de reacción, a través de la pared y por un orificio de la cámara de reacción utilizando peróxido de hidró-

Figuras 31-32 (columna opuesta). Concentraciones de CO (ppm). **31)** Concentración de CO en ppm del Background y en condiciones de medición: Sin luz, Con luz UV (Lateral de la cámara de reacción), Sin luz y con luz UV (Orificio de la cámara de reacción) con H_2O_2 100 Vol. **32)** Proporción de la concentración de CO en ppm en condiciones de medición: Sin luz - Con luz UV (Lateral de la cámara de reacción) y Sin luz - Con luz UV (Orificio de la cámara de reacción), con H_2O_2 100 Vol.



geno 100 Volúmenes, observándose que iluminando por el orificio de la cámara de reacción se tiene una mayor disminución (27%) de la concentración de CO (ppm) del iluminado a través de la pared (6%) con respecto a los valores obtenidos de CO sin luz. Este hecho se debe a la influencia de absorción de la luz por el material de la cámara de reacción (Vidrio de borosilicato).

En las Figuras 31 y 32 se observan las concentraciones de CO (ppm) medidas, del ambiente de trabajo, sin luz UV, en las condiciones de iluminación con luz UV a través de las paredes del recipiente y utilizando H₂O₂ 100 Vol e iluminado a través de un orificio de la tapa de la cámara de reacción, observándose la disminución de los valores de monóxido de carbono para ambos casos, pero, presentando una disminución mayor cuando la iluminación se realiza en forma directa a través del orificio de la tapa de la cámara de reacción (27%) de cuando se ilumina a través de la pared (6%). Este hecho indica que la luz UV ha sido absorbida por el material del recipiente utilizado.

Evaluación del efecto de la temperatura del peróxido de hidrógeno

En la Tabla 16, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con luz UV la cámara de reacción a diferentes temperaturas del peróxido de hidrógeno de 100 volúmenes, medidos mediante un termómetro de mercurio sumergido en el peróxido de hidrógeno. Se observa que el aumento de la temperatura del peróxido de hidrógeno, no ha favorecido la reacción de disminución de la

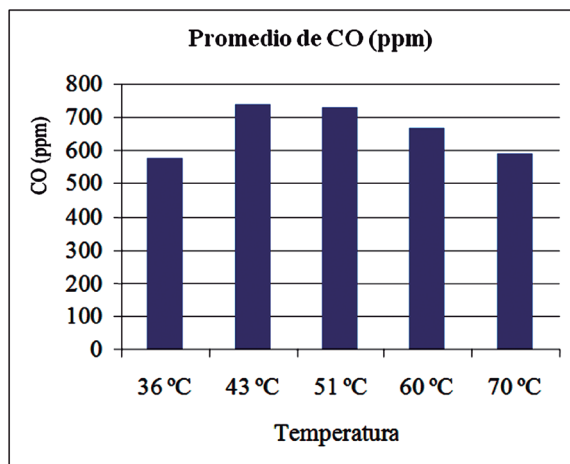


Figura 33. Efecto de la temperatura del peróxido de hidrógeno en la reacción.

concentración de CO.

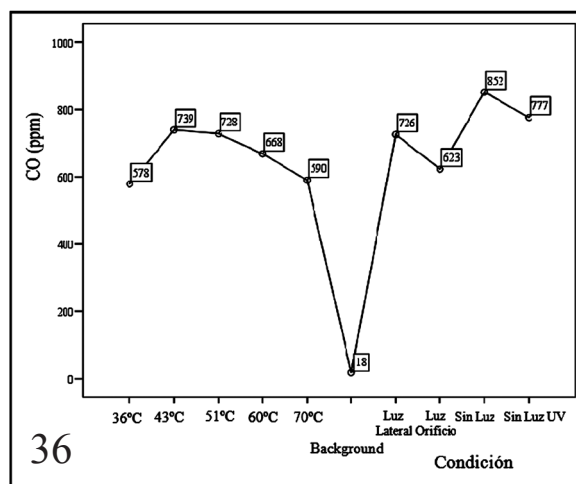
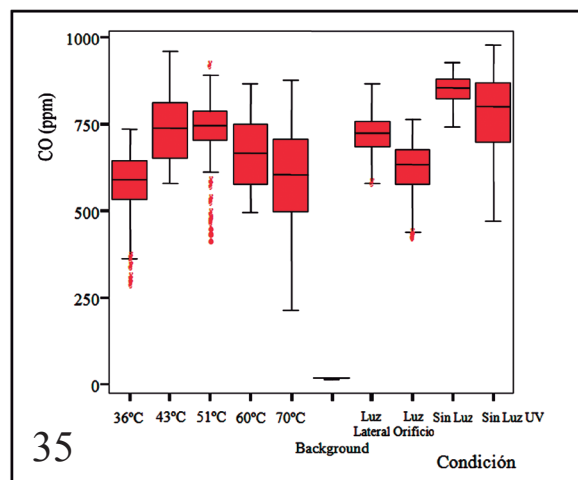
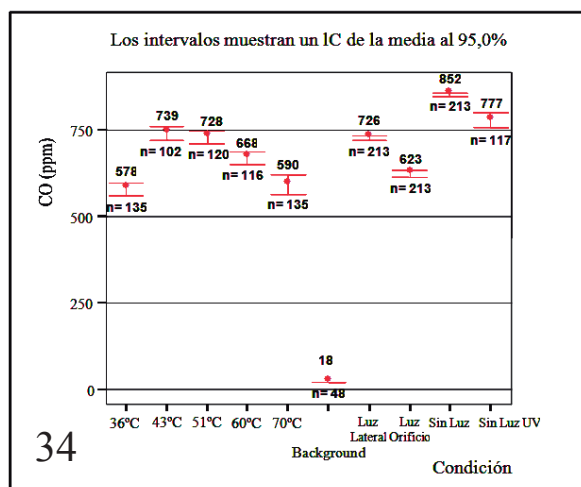
En la Figura 33 se observa que las concentraciones promedio del CO (ppm), medidos con luz UV y H₂O₂ 100 Vol a diferentes temperaturas, presentan aumentos desde 36 °C a 43 °C, siendo a esta temperatura el mayor valor obtenido y disminuyendo posteriormente a mayores temperaturas.

Análisis Estadístico

En las Figuras 34, 35 y 36 se muestra el comportamiento de CO según las condiciones del experimento (4), como las medias, intervalos de confianza del 95%, detección de valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) y tamaños de las muestras (n). Se puede observar que la menor variabilidad corresponde al experimento realizado con los valores de base, la mayor a 70°C de peróxido y Sin luz UV, respectivamente.

Tabla 16. Concentración promedio del CO (ppm) determinado iluminando con luz UV L2D2 y H₂O₂ 100 Vol, variando la temperatura del peróxido de hidrógeno.

Experimento	Promedio CO (ppm)	N° de Datos	Temperatura °C	Coeficiente de Variación	Desviación Estándar
4.2.1	578	135	36	18	103
4.2.2	739	102	43	13	98
4.2.3	728	120	51	14	101
4.2.4	668	116	60	15	101
4.2.5	590	135	70	28	163



Figuras 34-36 (columna opuesta). Comportamiento de CO según las condiciones del experimento 4. **34)** Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según las condiciones del experimento (4). **35)** de cajas y bigotes de CO, según la condición del experimento (4). **36)** Gráfica de medias de CO, según la condición del experimento (4).

Los datos no presentan homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene ($p < 0,05$). Presentan valores extremos inferiores (teniendo en cuenta la mediana) para las condiciones de 36°C, 51°C y Luz-Orificio en este experimento (4), con mayor proporción a 51°C de temperatura. Presentan diferencias significativas entre cada una de las condiciones de mediciones de CO en sus valores de las medianas, a excepción entre 70°C-36°C y 51°C-43°C con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p > 0,05$), donde los mayores valores de CO se concentran con la medición de 43°C y Sin luz y los valores menores con los valores de base.

Experimento 5

Se han modificado las condiciones del experimento anterior, con la utilización de diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno, así como el cambio de diseño de la cámara de reacción para el agregado de una rejilla metálica impregnada con dióxido de titanio - TiO_2 como catalizador. Las concentraciones de peróxido de hidrógeno se han preparado por dilución del reactivo puro PA 100Volúmenes.

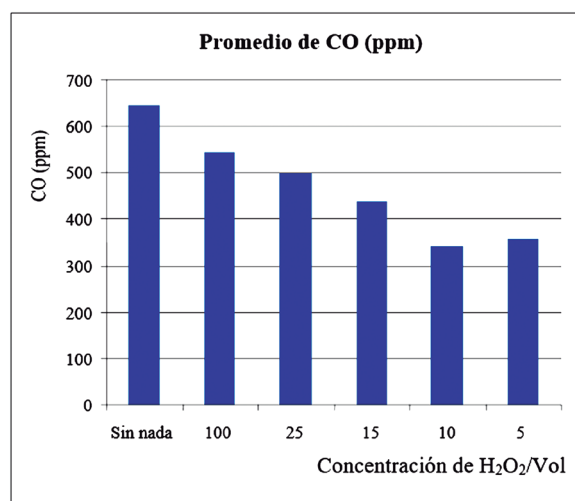
En la Tabla 17, se muestran los valores promedios, número de mediciones, el coeficiente de variación y la desviación estándar de las mediciones realizadas del CO (ppm), al iluminar con luz UV la cámara de reacción a diferentes concentraciones del peróxido de hidrógeno desde 5 a 100 Volúmenes. Se observa la disminución de la concentración de CO con la disminución de la concentración de H_2O_2 hasta el de 10 Vol y aumentando de nuevo con la concentración de 5 Vol.

Al tener en cuenta las disminuciones de concentración de CO medido, se tiene un total de 58%.

En la Figura 37 se observan los valores promedios de las concentraciones de CO (ppm) medidos,

Tabla 17. Concentración promedio del CO (ppm) determinado iluminando con luz UV L2D2 y H₂O₂ a diferentes concentraciones.

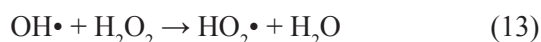
Mediciones	Promedios CO (ppm)	N° de Datos	Conc. H ₂ O ₂ Volúmenes	Coficiente de Variación	Desviación Estándar	% Disminución
4.5.1	644	194	Sin nada	6	37	
4.5.2	543	154	100	8	44	16
4.5.3	499	188	25	4	22	22
4.5.4	439	194	15	7	31	32
4.5.5	342	122	10	8	29	47
4.5.6	357	104	5	9	30	45

**Figura 37.** Concentración de CO en ppm medidos sin iluminación ni peróxido (sin nada) y a diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno y con luz UV.

sin luz ni peróxido de hidrógeno y con luz UV con H₂O₂ a diferentes concentraciones, en las que se observa que la concentración de monóxido de carbono va disminuyendo al disminuir la concentración de monóxido de carbono hasta llegar a la concentración de 10 volúmenes, aumentando nuevamente con la concentración de 5 volúmenes.

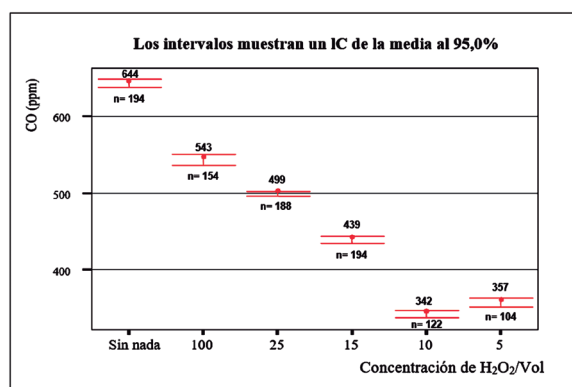
La eficiencia de una reacción aumenta con el aumento de la concentración de los reactivos (OH•) formados. El aumento de la eficiencia desde H₂O₂ 100 volúmenes hasta la de 10 volúmenes y una posterior disminución de la eficiencia con la solución de 5 volúmenes, nos indica que, se ha alcanzado la concentración óptima o la dosis adecuada de peróxido de hidrógeno para alcanzar la máxima eficacia del proceso (10 volúmenes).

A concentraciones menores de 10 volúmenes la concentración de radicales OH• disminuye debido a la concentración de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) disponible y en cuanto a las concentraciones de peróxido de hidrógeno mayores a 10 volúmenes, la disminución de la eficiencia puede atribuirse a la aparición de reacciones secundarias donde el peróxido actúa como inhibidor de los radicales hidroxilo formando radicales HO₂• mucho menos reactivos (Martínez, 2008).



Análisis Estadístico

La Figura 38 representa la media de monóxido de carbono para diferentes volúmenes de peróxido. El mayor valor promedio corresponde a la ausencia de peróxido (644) y el menor con 10 volúmenes de la misma (342). Se ha hecho una comparación no

**Figura 38.** Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según las condiciones del experimento 5.

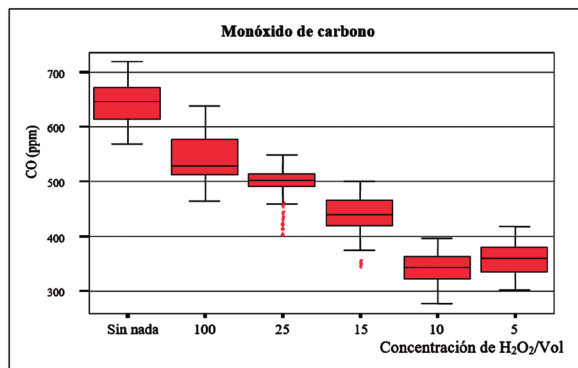


Figura 39. Gráfica de cajas y bigotes de CO, según la condición del experimento (5).

paramétrica debido a que los datos no presentan homogeneidad de la varianza ($p < 0,05$) encontrándose una diferencia significativa en la concentración de monóxido de carbono para todos los volúmenes de peróxido aplicados al escape de gases de un vehículo, con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p < 0,05$).

En la Figura 39 se muestran las medias de monóxido de carbono y sus intervalos de confianza al 95%, barra de error y tamaños de las muestras realizadas para cada volumen de peróxido. La mayor cantidad de experimentos realizados corresponde a la ausencia de peróxido (sin nada) y 15 Vol ($n=194$); la menor en 5 Vol ($n=104$). Por otro lado, la menor variabilidad corresponde a 25 Vol y 15Vol, ambos con valores pequeños muy extremos (teniendo en

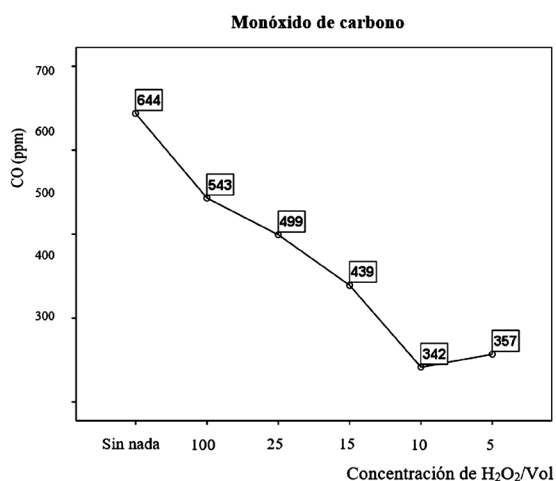


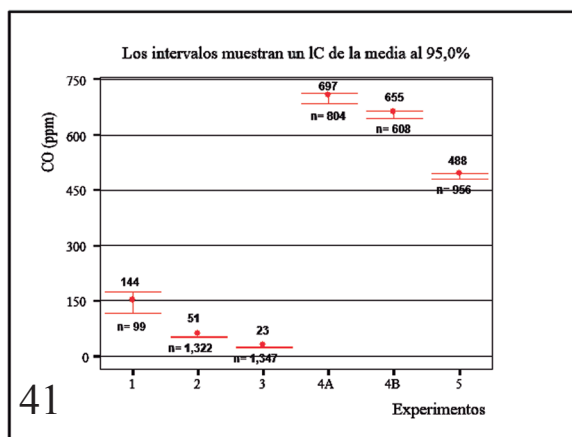
Figura 40. Gráfica de medias de CO, según la condición del experimento (5).

cuenta la mediana); la mayor variabilidad con la ausencia de peróxidos y 100 Vol, respectivamente, como se muestra en la Figura 40.

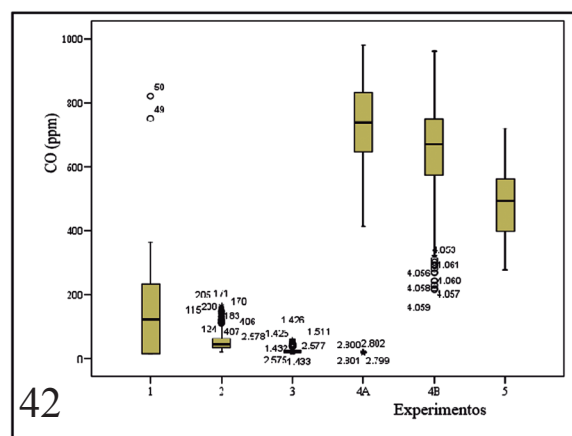
Todos los experimentos

En las Figuras 41, 42 y 43 se muestra el comportamiento de CO según los experimentos (1, 2, 3, 4 y 5), como las medias, intervalos de confianza del 95%, detección de valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) y tamaños de las muestras (n). Se puede observar que la menor variabilidad corresponde a los experimentos (2 y 3) y los mayores a los experimentos (1, 4A y 4B), respectivamente.

Los datos no presentan homogeneidad de la va-



41



42

Figuras 41-42. comportamiento de CO según los experimentos (1, 2, 3, 4 y 5). **41)** Gráfica de barra de error, media y su intervalo de confianza del 95%, tamaño de las muestras (n) de CO, según los experimentos (1, 2, 3, 4 y 5). **42)** Gráfica de cajas y bigotes de CO, según los experimentos (1, 2, 3, 4 y 5).

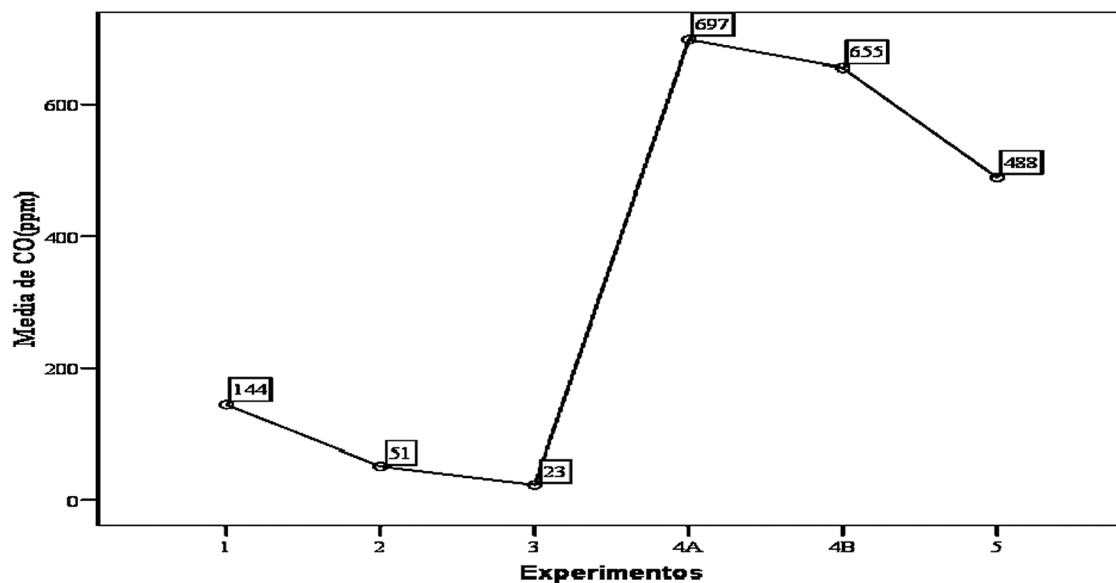


Figura 43. Gráfica de medias de CO, según los experimentos (1, 2, 3, 4 y 5).

rianza con la prueba de Levene ($p < 0,05$). Presentan valores extremos (teniendo en cuenta la mediana) para todos los experimentos a excepción el experimento 5, con mayor proporción a 2, 3, 4A y 4B. Presentan diferencias significativas entre cada uno de los experimentos en las mediciones de CO en sus valores de las medianas con la prueba de Friedman y Wilcoxon ($p < 0,05$), donde los mayores valores de CO se concentran con los experimentos 4A y 4B y los valores menores con el experimento 3.

La heterogeneidad de los resultados se puede deber a las características propias del motor de

combustión interna, en la que el funcionamiento mismo por más que sea régimen de revoluciones por minuto constante, se trata de un motor con desgastes, aparte de que para la refrigeración del motor debe funcionar un ventilador, con lo que en esos momentos los valores pueden sufrir algunas fluctuaciones.

Resumen de resultados

En la Tabla 18, se muestran los porcentajes de disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno obtenidos en cada uno de los experimen-

Tabla 18. Resultados de los porcentajes de disminución de la concentración de monóxido de carbono obtenido en cada uno de los experimentos realizados.

Lámpara	Experimento	% Disminución de Concentración de CO	Promedio
Tungsteno halogenado	1	42	42
UV – Tubo fluorescente	2	23	
UV – Tubo fluorescente	3	32	24
UV – Tubo fluorescente	4	19	
UV – Tubo fluorescente	5	22	
UV – L2D2	5	58	58

tos realizados en las mismas condiciones. Se puede establecer que con el cambio de tipo de lámpara se han registrado cambios en las concentraciones de CO medidas, siendo el de mayor efecto en la disminución la lámpara de UV – L2D2, seguido de la lámpara de tungsteno halogenado y por último del tubo fluorescente, observándose el efecto del tipo de lámpara utilizada.

Que con la lámpara de tungsteno halogenado se haya obtenido una mayor disminución de la concentración de monóxido de carbono, se pueden evaluar dos situaciones; una de ellas que puede ser debido a una mayor potencia de luz que la de la lámpara de tubo fluorescente o que las diferencias no sean estadísticamente significativas, ya que tienen un coeficiente de variación de 58 y una desviación estándar de 83, mientras que con la lámpara de tubo fluorescente, tiene un coeficiente de variación de 22 y una desviación estándar de 20.

Teniendo en cuenta que la lámpara L2D2 tiene un rango de emisión de luz, a partir de 185 nm, con una energía aproximada de $646 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Gómez, 2000), mientras que la lámpara de tubo fluorescente (Se estima tiene un rango de longitud de onda de 320 – 400 nm), la máxima energía que puede alcanzar es de $380 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, mientras que la del tungsteno halogenado es alrededor de $300 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Conclusiones

La concentración de monóxido de carbono emitidos en los gases de combustión posterior a la mezcla con peróxido de hidrógeno e iluminación con una fuente externa ha registrado disminuciones en todos los casos.

La mayor disminución se ha registrado con la lámpara de UV – L2D2, seguido de la lámpara de tungsteno halogenado y por último del tubo fluorescente, observándose el efecto del tipo de lámpara utilizada, lo que indica que la generación de radicales $\text{OH}\cdot$ fue influenciado por la intensidad de radiación UV de cada lámpara empleada.

Del hecho de que con la lámpara de tungsteno halogenado se haya obtenido una mayor disminución de la concentración de monóxido de carbono, se pueden evaluar dos situaciones; una de ellas

que puede ser debido a una mayor potencia de luz que la de la lámpara de tubo fluorescente o que las diferencias no sean estadísticamente significativas, teniendo en cuenta que, con la lámpara de tungsteno se obtuvo un coeficiente de variación de 58 y una desviación estándar de 83, mientras que con la lámpara de tubo fluorescente, se tuvo un coeficiente de variación igual a 22 y una desviación estándar de 20.

Teniendo en cuenta que la lámpara L2D2 tiene un rango de emisión de luz, a partir de 185 nm, con una energía de $646 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Gómez, 2000), mientras que la máxima energía que puede alcanzar la lámpara fluorescente (Se estima un rango de longitud de onda de 320 – 400 nm), es de $380 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ y la del tungsteno halogenado alrededor de $300 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, que la cantidad de radicales $\text{OH}\cdot$ que pueden producir cada una de las lámparas es directamente proporcional a la energía que emite, además, de que los resultados obtenidos al utilizar el tubo fluorescente de luz UV conjuntamente con la lámpara de tungsteno, son casi similares con la obtenida utilizando solamente el tubo fluorescente de luz UV, se considera que el “Experimento 1” debería ser verificado en caso de que sea necesario.

El caño corrugado utilizado ha generado una turbulencia de los gases, que ha favorecido la mezcla eficiente de los reactivos para la reacción, observado al realizar la inyección del peróxido de hidrógeno en la cámara de reacción y comparándola con la inyección antes del filtro de aire.

Se ha verificado la eficiencia de la reacción con el aumento del volumen de la cámara de reacción, observado con los valores obtenidos al realizar las mediciones iluminando dentro del caño corrugado y dentro de la cámara de reacción. Este hecho se atribuye al mayor tiempo de mezcla los gases y al aumento de la superficie de iluminación (3.2.6).

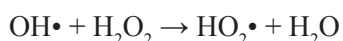
La eficiencia de la generación de los radicales $\text{OH}\cdot$ por la iluminación con luz UV es disminuida en un valor aproximado de 21% por el material de vidrio de borosilicato utilizado como cámara de reacción (3.4.1).

La producción de radicales $\text{OH}\cdot$ es influenciada por la concentración de peróxido de hidrógeno utilizada, independientemente de la fuente luz UV uti-

lizada (Tubo fluorescente UV o Tipo L2D2) (3.3.2).

La eficiencia de la reacción aumenta con la concentración del (H_2O_2) hasta un valor límite de la concentración de 10 Volúmenes de H_2O_2 .

A concentraciones mayores de 10 volúmenes se observa una disminución de la eficiencia que puede atribuirse a la aparición de reacciones secundarias donde el peróxido actúa como inhibidor de los radicales hidroxilos formando radicales $\text{HO}_2\cdot$ mucho menos reactivos.



Se considera que la concentración óptima o la dosis de peróxido de hidrógeno adecuada para alcanzar la máxima eficacia del proceso es la de 10 volúmenes.

Los valores obtenidos en los experimentos realizados son propios de las condiciones de funcionamiento del motor utilizado, ya que la cantidad de hollín, de otros gases u otros compuestos capaces de absorber la radiación UV, tendría un efecto similar al que ocurre al disminuir el flujo de radiación incidente, es decir, menor radiación disponible para la fotólisis del H_2O_2 y la cantidad transformada en radicales $\text{OH}\cdot$ será menor, con lo que éstos resultados se puede suponer tendrá una eficiencia mayor para motores nuevos y con un ajuste adecuado de la mezcla de combustible – aire.

El diseño del dispositivo que mejor se ha adecuado para obtener una mayor eficiencia de reacción del peróxido de hidrógeno con el monóxido de carbono de modo a disminuir la emisión de éste al ambiente, es la correspondiente al “Experimento 5”, utilizando una solución de H_2O_2 de 10 volúmenes, fuente de luz UV, de lámpara de deuterio con rango de longitud de onda de 185 a 400 nm, con iluminación dentro de la cámara de reacción (Volumen aproximado de 5 (cinco) litros), con una rejilla metálica impregnada con dióxido de titanio (TiO_2), con un soplador de flujo constante y las conexiones para el flujo de los gases, utilizando caño corrugado.

LITERATURA CITADA

Alfaro, R. (2001). Contaminación del aire en la

capital. *Ambientico*, 93.

Aristizabal, W.A.G. & Gómez, M.V.T. (2008). Estimación de la emisión de contaminantes por Motocicletas en el Valle de Aburra. *Dyna*, (156): 241–250.

Badii, M.H., A. Guillen, L.A. Araiza, E. Cerna, J. Valenzuela & J. Landeros. (2012). Métodos no paramétricos de uso común. *Daena: International Journal of Good Conscience*, 7(1): 132-155.

Baird, C. (2001). *Química Ambiental*. . Edición 2. Barcelona: Reverté. 850 pp.

Cengel A. & Yunus. (2011). *Termodinámica*. México: McGraw-Hill/Interamericana. 502 pp.

Corzo S., J.A. (2005). *Notas de clase. Estadística no paramétrica (Métodos basados en rangos)*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 94 pp.

Chang, R. (2008). *Fisicoquímica*. Edición 3. México: Mc Graw-Hill/Interamericana. 1018 pp.

Delgado Saborit, J.M. (2005). *Validación e implementación de técnicas de captación pasiva para el estudio de los niveles y efectos de ozono troposférico y dióxido de nitrógeno en un área costera mediterránea*. Universitat Jaume: Tesis Doctoral.

Denbigh, K.G. & Turner, J.C. (1990). Introducción a la teoría de los reactores químicos, México: Limusa.

EPA (1997). EMC Conditional Test Method (CTM-030).

Fujishima A., Rao T.N. & Tryk D.A. (2000). Titanium Dioxide Photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 1(1): 1-21.

Garcés Giraldo, L.F., Mejía Franco, E.A. & Santamaría Arango, J.J. (2004). La fotocatalisis como alternativa para el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1): 83-92.

García Morán, G.A. & García Cardona, A. (2008). An old new gas, carbon monoxide (CO): essentials in human Biology, Pathobiology, Bioclinic and human Pharmacotherapeutics. *Iatreia*21(3), 307–320.

- Giraldo Aristizabal, W.A. & Toro Gómez, M.V. (2008). Estimation of the emission polluting agents by motorcycles in the Aburra Valley. *Dyna*, 75(156): 241-250.
- Gómez, L., Urkiaga, A., Gutiérrez, M. & de las Fuentes, L. (2000). Fotooxidación de vertidos químicos: Revisión y experiencias de procesos de oxidación avanzada. *Ingeniería Química (Madrid)*, 32(371): 211-216.
- Jacob, D.J. (1999). *Introduction To Atmospheric Chemistry*. Princeton University Press. 280 pp.
- Molina, M. (2011). *Plan de acción para combustibles y vehículos más limpios en Paraguay*. Asuncion: Petrosur. 67 pp..
- Martínez, O.P. (2008). *Mejoras en el Tratamiento de Lixiviados de Vertedero de RSU Mediante Procesos de Oxidación Avanzada*. Universidad De Cantabria: Tesis Doctoral. 233 pp.
- Mielnicki, D.M., Canziani, P.O. & Drummond, J. (2004). *Quema de biomasa en el centro-sur de Sudamérica: Incendios locales, impactos regionales*. 10 pp.
- Moragues, L.A. (2011). *Manual de Tecnologías de Medición de Concentración de Gases y material particulado en chimeneas y atmósfera*. Buenos Aires: Ministerio de desarrollo social y medio ambiente. 149 pp.
- Neyestanaki, A.K., Klingstedt, F., Salmi, T. & Murzin, D.Y. (2004). Deactivation of postcombustion catalysts, a review. *Fuel*, 83(4): 395-408.
- Pérez, C. (2009). *Técnicas de Análisis Multivariante de Datos. Aplicaciones con SPSS*. Buenos Aires: Pearson Educación. 712 pp.
- Sbarato, D., Sbarato, V.M. & Ortega, J.E. (2007). *Predicción y evaluación de impactos ambientales sobre la atmósfera*. Colección Salud Ambiental 2. Tucumán: Editorial Brujas. 156 pp.
- Skoog, D.A., Crouch, S.R. & Holler, F.J. (2008). *Principios de Análisis Instrumental*. Buenos Aires: Cengage Learning Editores. 1060p.
- TAIVO SA. (2013). *Concentración de Monóxido de Carbono en gases de escape de Vehículos verificados durante el periodo Febrero 2012 - Marzo 2013*. San Lorenzo, Paraguay, Planta verificadora. Informe.
- Téllez, J., Rodríguez, A. & Fajardo, Álvaro (2006). Carbon monoxide contamination: an environmental health problem. *Revista de Salud Pública*, 8(1): 108-117.
- Trabal, E. (1998). *Estabilidad y descomposición de Disoluciones de Peróxido de Hidrógeno*. Blanqueo de la Lana, Instituto de Investigación Textil. Informe.
- Vogel, B., Corsmeier, U., Vogel, H., Fiedler, F., Kühlwein, J., Friedrich, R., Obermeier, A., Weppner, J., Kalthoff, N., Bäumer, D. Bitzer, A. & Jay, K. (2000). Comparison of measured and calculated motorway emission data. *Atmospheric Environment*, 34(15): 2437-2450.
- Zereini, F. & Alt, F. (2006). *Palladium Emissions in the Environment: Analytical Methods, Environmental Assessment and Health Effects*. New York: Springer. 640 pp.

BIODEGRADATION OF THE BENZOPHENONE-3 IN AGRICULTURAL SOILS AMENDED WITH COMPOST FROM URBAN WASTEWATER TREATMENT PLANTS

BIODEGRADACIÓN DE LA BENZOFENONA-3 EN SUELOS AGRÍCOLAS ENMENDADOS CON COMPOST PROCEDENTES DE ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS

JULIO CÉSAR BENÍTEZ-VILLALBA^{1*}, ALBERTO ZAFRA-GÓMEZ², MARÍA JOSÉ BELÉN JUÁREZ-JIMENEZ², NOEMI DORIVAL-GARCIA², SERGIO RODRÍGUEZ-BONET¹, FRANCISCO PAULO FERREIRA-BENÍTEZ¹ & JOSÉ LUIS VILCHEZ²

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Asunción, Campus Universitario, San Lorenzo, Paraguay.

²Grupode Investigación en Química Analítica y Ciencias de la Vida, Departamento de Química Analítica, Campus de Fuentenueva, Universidad de Granada, E-18071 Granada, España.

*Email: Julio81benitez@gmail.com

Abstract: Endocrine disruptors are chemical substances capable of altering the hormonal system in living beings; which they are present in urban or industrial wastewater and can not be completely degraded by treatment in wastewater treatment plants (EDAR). Within this group of contaminants, it includes a wide variety of chemical compounds such as benzophenone-3 (BP-3) with activity as an endocrine disruptor whose biodegradation was studied in amended and unamended agricultural soils with compost from urban sewage sludge EDAR. For this, an analytical methodology has been developed and validated that has allowed the identification and quantification of this pollutant in the selected matrices (agricultural soil and agricultural soil contaminated with compost). A study of the behavior of the microbiota was performed on the treated soils. Firstly, the count of cultivable microbiota was performed on these soils, using the technique of plating. The selected microorganisms were characterized biochemically from the treated soils using kits, where it was concluded that each microorganism metabolized them differently and allowed to discriminate the microorganisms studied and to select those that were different from the metabolic aspect. Subsequently the growth kinetics of selected microorganisms and study of degradation of BP-3 in the presence of these microorganisms was studied. Later the growth kinetics of selected microorganisms and study of degradation of BP-3 in the presence of these microorganisms was studied, demonstrating the ability to grow them in the presence of this compound as a source of carbon and energy (C/E).

Keywords: *compost, soil amended, Benzophenone-3, bioremediation, biodegradation, sewage sludge.*

Resumen: Los disruptores endocrinos son sustancias químicas capaces de alterar el sistema hormonal en seres vivos; los cuales se encuentran presentes en aguas residuales urbanas o industriales y que pueden no ser completamente degradadas por tratamientos en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) la Benzofenona-3 (BP-3) se encuentra dentro de este grupo, con actividad como disruptor endocrino y cuya biodegradación fue estudiada en suelos agrícolas enmendados y no enmendados con compost procedentes de lodos de depuradoras urbanas EDAR. Para ello se ha desarrollado y validado una metodología analítica que ha permitido la identificación y cuantificación de este contaminante en las matrices seleccionadas (suelo agrícola y suelo agrícola contaminado con compost). Se realizó un estudio del comportamiento de la microbiota en los suelos tratados. Primeramente se realizó el recuento de la microbiota cultivable en dichos suelos, mediante la técnica de siembra en placa. Se caracterizaron bioquímicamente los microorganismos seleccionados a partir de los suelos tratados empleando kits, donde se concluyó que cada microorganismo los metabolizaba de forma diferente y permitió discriminar y seleccionar a los que eran diferentes desde el punto de vista metabólico. Posteriormente se estudió a los microorganismos estudiados la cinética de crecimiento de los microorganismos seleccionados y el estudio de degradación de la BP-3 en presencia de estos microorganismos; demostrando la habilidad de crecimiento de los mismos en presencia de este compuesto como fuente de carbono y energía (C/E).

Palabras clave: *compost, suelos enmendados, Benzofenona-3, biorremediación.*

INTRODUCTION

Today's society depends largely on many chemicals, used in the many activities of daily life. Nevertheless, its massive and sometimes uncontrolled use is becoming a major concern for the different social strata, due to its possible environmental impact, since at present, there is no clear and specific legislation for many of these compounds, especially in relation to existing concentrations in the envi-

ronment (Cunningham, V.L., et al 2006; Calamari, D. 1995; Richardson, M.L., et al 1985; Doughton, C.G., et al 1999). Within this group of contaminants, which are now known as "emerging", includes a wide variety of pharmaceuticals, antimicrobial and numerous chemical compounds with activity as endocrine disruptors (Cunningham, V.L., et al 2006; Calamari, D. 1995; Richardson, M.L., et al 1985. Doughton, C.G., et al 1999).

Endocrine disruptors are chemicals capable of altering the hormonal system, both in humans and animals, responsible for multiple vital functions such as growth or hormonal development (Frang, H., et al 2001; King, K.A., et al 2003). Many of these compounds can have as final destination urban and industrial wastewater, being able to be degraded and removed during the treatment of them in the EDAR. However, it is demonstrated that the purification procedures are not completely effective, since these substances remain in the treated effluents, being able to reenter the environment becoming a serious danger to the ecosystems (Petrovic, M., et al 2005; Díaz-Cruz, M.S., et al 2006; Temes, T., et al 2006).

At present time, it is thought, although there is still insufficient evidence, that the presence of these substances in this kind of environment may represent a risk to human health and ecosystems, since when they are adsorbed, soil microorganisms can not biodegrade them satisfactorily, becoming bioaccumulable, persistent and toxic substances; With the possibility of being transferred to the harvests, and to enter the food chain of living beings (Drewes, J.L., et al 2003; Kummerer, K. 2003).

About the present time one thinks, although one still does not tell on sufficient evidence, that the presence of these substances in this type of atmospheres can represent a risk for the human health and the ecosystems, since when being adsorbed, the microorganisms of the ground cannot biodegrade them satisfactorily, becoming bioaccumulables, persistent and toxic; existing the possibility of being transferred to the harvests, and to enter the nourishing chain of the living beings (Khetan, S.K., et al 2007).

Generally, sewage sludge is subjected to composting treatments, since it is a low-cost treatment that has many advantages such as disinfection of sludge, microbial removal of some contaminants, and obtaining a substrate rich in organic matter and nutrients, suitable for the amendment of agricultural soils. In addition, it is an environmentally more favorable process compared to others such as incineration or landfill. Currently, very little

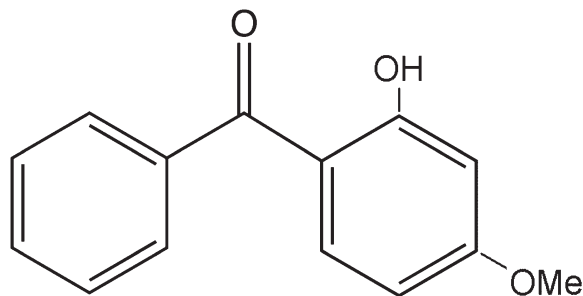


Figure 1. Chemical Structure of the benzophenone-3.

is known about the ability of this process to the definitive removal of these emerging pollutants. There is not any evidence of what parameters or factors contribute to the degradation of these substances during this process. On the other hand, it is not exactly known the effect of the amendment of soils with sluges or compost on the pollutants present, as well as the real risk to which humans are exposed, since these substances can be transferred, for example, to groundwater (Spellman, F.R. 2009; Cheremisinoff, N.P. 2002).

The compound selected for this study is Benzophenone-3 (BP-3, Figure 1), a white crystalline substance, insoluble in water. It acts as a filter for UV radiation as it is able to absorb it (promoting its electrons to an excited state) and dissipate it as heat. This is possible because the benzophenone has its energetic states of singlet and triplet very close together. The BP-3 is used in products such as perfumes and soaps to prevent ultraviolet light from degrading the odor and color of these products. It is also used as a component of sunscreens and can be added in the packaging plastics so that they block the UV rays protecting the product (Jeon, H.K., et al 2006; Sánchez-Brunete C., et al 2011; Zhang, Z., et al 2011).

In this work, it has been carried out a study of biodegradation of benzophenone-3 (BP-3) in the presence of microorganisms isolated from agricultural soils amended with compost from wastewater treatment plant EDAR. The microorganisms isolated from the soils were characterized and their kinetic growth was studied in the presence of the compound and in addition a chemical study of the degradation of this substance was carried out. This

allowed to study and evaluate this contaminant in agricultural soils amended and not amended with compost from sludge from urban sewage treatment plants.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and Reagents

Analytical grade reagents were used. The pattern of Benzophenone-3 and the internal standard Benzo-phenone- d_{10} were supplied by Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). The BP-3 solution (200 mg mL^{-1}) was prepared in methanol monthly and stored at -20°C . The standard solution mixture of this compound together with the internal standard was prepared in methanol or in the mobile phase immediately prior to use. This standard was stored at 4°C and was prepared weekly. All solutions were stored in dark glass bottles. The water and methanol used for the preparation of the mobile phase were LC-MS grade supplied by Fluka (St. Louis, MO, USA). The ammonia ($> 25\%$), acetonitrile, and ethyl acetate were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). The water ($18.2 \text{ M}\Omega\text{cm}$) was purified by a Milli-Q of Millipor system (Bedford, MA, USA). For the study of the growth kinetics of microorganisms, the base culture medium diluted 1/10 with 5 mg L^{-1} of the compound was used.

Instrumentation and software

For the collection of compost samples, conventional shovels were used and for soil samples a draft sampler (surface) and a helical auger for greater depths. The soil temperature and humidity were controlled to the different depths of the studied soil, continuously, by means of an AquaCheck probe. The experimental work was developed using a digital ultrasonic probe Sonifier S450D (BRANSON) equipped with: Type 102 converter, standard resonator 12.7 mm diameter, screw tip of 12.7 mm in diameter, temperature probe, 3 mm threaded end screwdriver, temperature probe, Micro Threaded tip with final diameter 3 mm . A Waters Acquity UPLCTM chromatograph coupled to triple quadrupole mass spectrometer Waters H-Class-Xevo TQSTM, equipped with: Pump: Quaternary

Solvent Manager. Acquity UPLC H Class. (Waters); Injector: Sample Manager-FTN. Acquity UPLC. Waters; Detector: Xevo TQ-S. (Waters). The separation of the compound was obtained with a column Acquity UPLC BEHTM C_{18} ($1.7 \mu\text{m}$; $2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$) (Waters). An ionization source by electrodepray Z-sprayTM ESI for analyte detection. The software used for the detection and integration of the peaks was the MassLynx V.4.1 SCN.803 program for the management and treatment of the data obtained by the chromatograph Waters Acquity UPLCTM H-Class - Xevo TQSTM. A Vortex (Yellow line, Wilmington, NC, USA), a centrifuge Hettich Zentrifugen, Universal 32 (Tuttlingen, Germany). On the growth kinetics, the results were expressed according to the optical density relationship/count CFU mL^{-1} through a spectrophotometer (UV/VIS UNICAM 5822) to 600 nm . Finally, the equipments were used (scales, stoves, stirrers, incubators, etc.) and the usual laboratory glassware of analytical chemistry and microbiology. For the statistical treatment, a Statgraphics Plus version 5.0 (Manugistics, Rockville, MD, USA, 2000) software was used. Packages Microsoft[®] Office: Word[®], Excel[®] and PowerPoint[®] 2007.

Experimental Development

Field study BP3

The field study was carried out on an experimental parcel which is located in the Huerta de Santa María in the Vega de Granada - Spain. In the agricultural soil, has not used any type of pesticide, insecticide or herbicide in the last ten years with the aim of not altering the soil microbiota (Araujo, A., et al 2003; Haney, R., et al 2000). The samples of compost made from sewage sludge that were used for this assay, were collected at the company "Biomass del Guadalquivir" located in Santa Fe (Granada).

In order to determine the influence of this chemical pollutant under study on the cultivable microbiota present in the agricultural soil, this compound was added to the soil of the experimental parcel, divided in this case into subparcels of 1 m^2 being the amount of compound added 1 gL^{-1} in a volume of well water of 120 L m^{-2} so that the provision of the

compound was homogeneous in the zone of application. Each subparcels was separated by tasquibas of 30 centimeters of thickness. Previously a cleaning of the existing vegetation was carried out to avoid possible interferences of the adsorption-desorption mechanisms, degradation of the compound under study, or interference with some general variable such as the evaporation index of water.

Two different conditions were set: Parcel 1 (P1) soil contaminated with BP-3 applied directly to the soil, Parcel 2 (P2) soil amended with compost and contaminated with BP-3. For this study, three samples of each subparcels were taken along time (0, 15 and 30 days) and at three depths (surface, 30 and 60 cm). The samples were transferred to the laboratory and dried at room temperature in a desiccator for 24 h, in order to remove remaining moisture. Then they were homogenized and sieved using a sterile 1 mm diameter pore sieve.

Count of the cultivable microorganisms

Through the technique of planting in plate. All plantings, as well as processing of the samples (preparation of dilutions), were carried out in a laminar flow hood. Serial dilutions (1/10) in saline solution (NaCl, 0.9%, w/v) were made from 0.1 g of each dilution in TSA medium (trypticase soy agar, Oxoid), by means of a method of sowing the drop. From each solution, three replicates were made. Subsequently, the plates were incubated in aerobiosis for 24/48 h in the oven at 28-30°C.

The results were expressed as logarithm of Colony Forming Units of cultivable heterotrophic microorganisms per gram of soil (log UFC g soil⁻¹).

Morphological characterization of the isolated microorganisms and selected from the different plots and studiadas

After the counting of the cultivable microbiota in the different parcel treated with the BP-3 under study, the isolates and selection of the culture-dependent microorganisms present in the different soils were carried out in solid plate medium (TSA). From each soil type, 20-25 isolates were made.

The selection of microorganisms was performed according to morphological criteria of the colonies (shape, elevation, edge, size and coloration) as well as microscopic criteria (Gram, morphology, and clustering). In order to obtain an initial information about the microorganisms present in the study soils, Gram staining of the selected microorganisms was performed. This staining generated information about the type of cell wall as well as the morphology and type of cell grouping. Subsequent observation under the microscope allowed to ascertain the basic morphological characteristics of the working microorganisms.

Kinetics of growth of microorganisms and degradation studies of the compounds

A battery of microorganisms from the soil samples treated with the different compounds and composts (coded with the initials of the compound added to that parcel and a consecutive number). The selection was made based on morphological criteria of the colonies. In addition, 10 of the microorganisms were used for the growth and degradation kinetics assays. For the kinetics, a base culture medium diluted 1/10 with 5 mg L⁻¹ of the test compound was used and incubated at 30°C for five days.

After the study of microbial counts obtained from the samples of the parcels treated and not treated with compost and the microcontaminant object of study, isolates were made in order to select those microorganisms capable of growing and degrading the different compounds.

Isolates were plated with TSA culture medium. The selection of microorganisms was performed based on morphological criteria of isolated colonies. Of all the microorganisms isolated, a selection of 10 microorganisms was finally carried out for the kinetic growth and degradation assays of each analyte.

The tests were carried out in sterile centrifuge conical bottom tube according to Table 1. With the analyte used as a source of C / E, 20 cultures were carried out + 1 flasks without microorganism subjected to the same incubation process (chemical control).

Table 1. Description of tests (10 microorganisms by analyte).

Test	Samples	Analysis Type
Half TSB1/10 + microorganism + analyte	10	Microbiological / Chemical
Half TSB1/10 + microorganism	10	Microbiological (Controls)
Half TSB1/10 + analyte	1	Chemical (Control)

Culture medium and inoculum. 15 mL TSB diluted 1/10 supplemented with 50 mg L⁻¹ of the test compound. Diluted TSB was used according to the Valkova assays (Valkova, N., et al 2001). The inocula were prepared in TSB medium diluted 1/10. Initial inoculation / assay = 105 CFU mL⁻¹.

Incubation, sampling and reading results. All tubes were incubated on an orbital shaker (New Brunswick E25R) at 100 r.p.m. At 30°C for 5 days.

Microbiological analysis. The optical density measurement was performed on a spectrophotometer (UNICAM UV / VIS 5821) at 600 nm. The readings were performed at 0 h, 24 h, 48 h, 72 h and 96 h. The results of UFC mL⁻¹ were obtained according to the different calibration curves (relationship optical density D.O. / count UFC mL⁻¹).

Chemical analysis using UPLC-MS/MS. The amount of degraded compound was determined by the UPLC-MS/MS technique using the conditions described in Table 2. After the sample was centrifuged at 13,000 r.p.m. for the removal of cells. Measurements were performed at initial and final test time (0 hours and 96 hours).

Table 2. Optimal values of the chromatographic conditions.

Stationary Phase	ACQUITY UPLC® BEH C18 (2.1 x 100 mm) 1.7µm		
Mobile Phase	A: Water (0.025 % ammonia)		
	B: methanol (0.025 % ammonia)		
	Time (min)	A %	B %
	0.0	40	60
	6.0	0	100
Modality: Gradient	6.5	0	100
	6.6	40	60
	10.0	40	60
Flow	0.3 mL min ⁻¹		
Injection volume	4 µL		
Oven temperature	40 °C		
Detection	ESI-MS/MS		

Table 3 shows optimized parameters for chromatographic separation and mass spectrometric detection. Once these variables were optimized, the two transitions were selected in the spectrometer (quantification and identification), optimal for the unequivocal determination of the molecule.

Biochemical characterization of microorganisms

In order to determine the behavior of the microorganisms in relation to their ability to use different substrates as a source of carbon and energy (C/E), as well as their enzymatic capacity, tests were performed for

Table 3. Parameters of the mass spectrometer for the BP-3 (VC: Voltage of cone; EC: Energy of collision).

Analyte	Transition	VC / EC	Transition	VC / EC	Mode
BP-3	229.0 → 150.8	4/20	229.0 → 104.9	4/18	ESI(+)
BP-d ₁₀	193.1 → 109.8	18/16	193.1 → 81.8	18/30	ESI(+)

API 50 CH (study of carbohydrate metabolism) and ZYM API (study of enzymatic activity).

The API 50 CH system is a standardized system consisting of 50 biochemical tests for the study of carbohydrate (CH) metabolism in microorganisms. The API 50 CH is used in combination with the API 50 CHB/E medium for the identification of: *Lactobacillus* and nearby microorganisms of *Bacillus* and nearby microorganisms and *Enterobacteriaceae* and *Vibrionaceae*.

The gallery API 50 CH is composed of microtubes and allows the study of the use of substrates belonging to the family of carbohydrates and derivatives (heterosidos, polysaccharides, uronic acid). Fermentation assays were inoculated into API 50 CHB/E medium which rehydrates the substrates. During the incubation period, the use of HC results in a color change in the microtube, due to acid production in anaerobiosis (fermentation) and in aerobiosis (oxidation) revealed by the pH indicator

of the chosen medium. The first microtube, without active principle, serves as a negative control.

Of the microorganisms selected, studies were carried out on both oxidation and fermentation, since this gallery allows studying both pathways. The oxidation was investigated in unsealed microtubes, and the fermentation in microtubes sealed with liquid paraffin. The test container consists of 10 galleries API 50 CH, 10 inoculation chambers, 10 results sheets and a technical sheet.

For the test were used inoculation medium (API 50 CHL Medium), paraffin oil, McFarland Standard scale and distilled water. The galleries were kept at 2-8°C until the date of their use.

The microorganisms to perform the carbohydrate test was the one capable of degrading high percentages of the contaminant, specifically the microorganism codified as BP3-5. Likewise, the most representative of the group of samples, i.e. BP3-5, BP3-7, BP3-10, BP3-14, BP3-16, were selected for the enzyme activity test.

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological Study

Influence of the presence of the BP-3 and of compost in the count of the microbiota of soil

The percentage of log UFC/g of soil obtained in soils without compost treatment (Figure 2 (a)) was different from the surface samples (100%), with a decrease in microorganisms observed of 8.1% and of one 21.8% for samples collected at 30 and 60 cm, respectively.

In soils amended with compost and contaminated with BP-3 (figure 2 (b)), was decreasing, with a reduction of 0.5 log in the CFU count ground/g along the test period. If both figures are compared, a downward trend of the counting is observed as the soil depth increases; this behavior is repeated in all the tests performed over time (0, 15 and 30 days).

In the counts of both control parcels and BP-3 samples, no significant variations in surface counts (2 centimeters) were observed, indicating that population levels remained quantitatively constant throughout the study. Likewise, both counts at 30

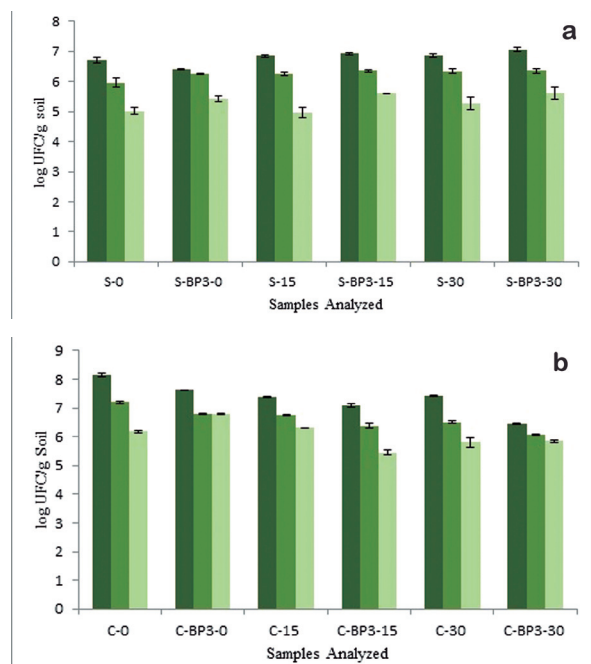


Figure 2. Example of counting of microorganisms (Log CFU/g soil) in samples of soil treated and non treated with BP-3 at different depths, at initial test time (0 days), 15 and 30 days. (a) ground control without compost (S) and contaminated with the compound (S-BP3). (b) Control of soil + compost (C) and soil + compost contaminated (C-BP3). Surface (dark tone); 30 cm (medium tone); 60 cm (clear tone).

and 60 centimeters of depth indicated that there were no significant variations in time in relation to the number of bacteria present in the control soil samples as in the treated ones, obtaining very similar values in the number of microorganisms in samples collected at 30 centimeters as well as those at 60 centimeters deep.

According to the results obtained, an increase in the absolute number of microorganisms in the presence of compost with respect to the unamended soil was observed, since the composted material not only provides chemical nutrients, but also increases the microbial wealth. Therefore, there is greater microbial development in the amended parcels.

This fact would be very useful in promoting an improvement in the characteristics of the compost, isolating the microorganisms of greater interest and supplementing the material with them.

Morphological characterization of the isolated microorganisms of the study plots

Of the 20 to 25 microorganisms isolated from the parcel treated with BP-3, 10 were selected and their morphological characterizations of the colonies and their morphological criteria were performed (Table 4). The microorganisms observed in the soils treated with BP-3 were isolated five Gram-positive bacilli, two Gram-negative bacilli and three Gram-positive cocci.

Table 4. Morphological characteristics of microorganisms isolated in soils treated with different compounds.

BP-3			
Identification	Gram	Morphology	Grouping
BP-3-1	+	Bacillus	Isolated
BP-3-5	+	Bacillus	In string
BP-3-7	+	Coco	In string
BP-3-10	+	Coco	In string
BP-3-11	+	Bacillus	Isolated
BP-3-14	+	Bacillus	In string
BP-3-16	+	Coco	In string
BP-3-18	-	Bacillus	Isolated
BP-3-20	-	Bacillus	Isolated
BP-3-21	+	Bacillus	Isolated

Biochemical characterization of the microorganisms selected

The use of API 50 CH kits for carbohydrate metabolism and API ZYM for enzymatic activity allowed the characterization of numerous microorganisms.

From the results obtained in the processes of oxidation and fermentation of carbohydrates, it was concluded that each microorganism metabolized them differently. This data, together with the results of enzymatic activity, which reports on the presence or absence of a certain activity of an enzyme, group of them or a certain metabolic pathway, allowed to discriminate the microorganisms studied and to select those that were different from the metabolic point of view.

Growth kinetics in the presence of BP-3 as a source of C/E. Degradation of the compounds

Figures 3 (a) and (b) show an example of growth kinetics of different microorganisms in the presence of the contaminant studied.

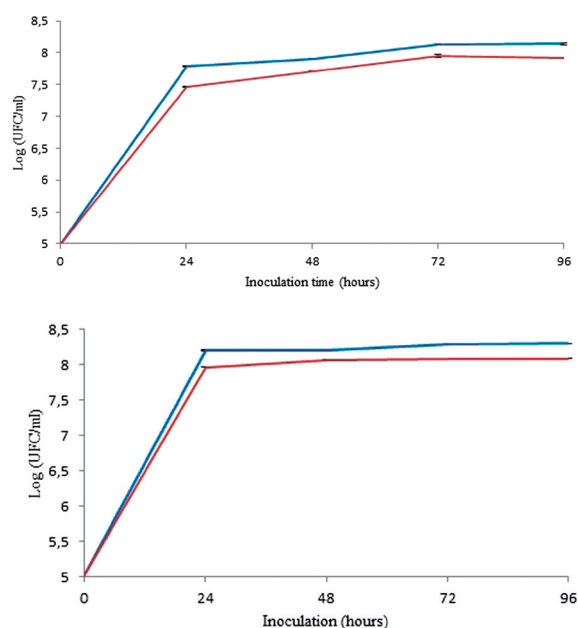


Figure 3. Kinetic growth examples of the microorganism encoded as BP-3-1 (a) and BP-3-5 (b) in a culture medium containing 5 ppm of BP-3. Blue line: growth of the microorganism in TSB 1/10 medium supplemented with BP-3. Red line: control, growth of the microorganism in TSB medium 1/10.

Table 5. Relationship between cultures of different microorganisms in the presence and absence of BP-3 at 48 h incubation. **A:** cultivation in the presence of compound. **B:** cultivation in the absence of compound. The results are expressed as log CFU mL⁻¹.

Microorganism	A - B (Log CFU mL ⁻¹)	Microorganism	A - B (Log CFU mL ⁻¹)
BP-3-1	0.19	BP-3-14	0.41
BP-3-5	0.14	BP-3-16	0.33
BP-3-7	0.76	BP-3-18	0.21
BP-3-10	0.26	BP-3-20	0.33
BP-3-11	0.31	BP-3-21	0.16

The results showed that the selected microorganisms were able to grow in the presence of the contaminant and that this growth was superior to that obtained in the base medium in the absence of the compound (control).

As a result of the growth kinetics of the selected microorganisms, the growth difference (log UFC mL⁻¹) between the cultures in the presence of BP-3 and the control cultures without compound after 48 h of test is shown in Table 5. The greatest difference in growth between both cultures was observed in the case of the test with the microorganism BP-3-7, this being 10.0%.

Degradation of BP-3 in the presence of different microorganisms

The amount of the degraded compound in the presence of the different microorganisms was similar in all tests performed. In Table 6 it is observed that after 96 h of culture, all the microorganisms tested degraded the compound in a concentration higher than 75%, with almost total degradation in the case of microorganism BP-3-1 (99.3%) and BP-3-14 (99.9%).

The microorganisms that degraded the compound in a lower percentage were BP-3-7 (78.0%) and BP-3-11 (76.3%).

CONCLUSION

As a result of this research the following main conclusions have been obtained:

The counting of the cultivable heterotrophic

microbiota of the soils treated with BP-3 and of the compost-amended soils and treated with this pollutant showed that, as the soil depth increases, there is a progressive decrease in the number of viable microorganisms. On the other hand, it was observed that the greatest microbial development occurred in the parcels amended with compost.

The study of the morphological and staining characteristics of the microorganisms isolated from the soils treated with benzophenone 3 showed a higher proportion of Gram (+) and Gram (-) bacilli.

Table 6. Final concentration of BP-3 (ppm) determined using LC-MS/MS. Initial concentration 5 ppm. **To:** final concentration (ppm) of BP-3 detected after 96 h of culture with different microorganisms isolated from MPB treated soils. **B:** Concentration of degraded BP-3 (ppm) after the end of the test.

Microorganism	To (ppm)	B (ppm)
BP-3-1	0.03	4.05
BP-3-5	0.43	3.65
BP-3-7	0.89	3.18
BP-3-10	0.36	3.72
BP-3-11	0.96	3.12
BP-3-14	1.0 · 10 ⁻³	4.08
BP-3-16	0.59	3.48
BP-3-18	0.53	3.55
BP-3-20	0.27	3.81
BP-3-21	0.68	3.39
CONTROL	4.08	

The isolated compound was degraded to a greater or lesser proportion by the selected microorganisms, with degradation rates above 70% in all cases.

The results obtained demonstrate the growth ability of the microorganisms selected in the presence of this compound as a source of C/E.

Therefore, these microorganisms could be used in bioremediation processes of environments contaminated with benzophenone-3.

LITERATURE

- Araujo, A., Monteiro, R., Abarkeli, R. (2003). Effect of glyphosate on microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere, Oxford* 52 799-804.
- Calamari, D. (1995). Assessment of persistence and bioaccumulating chemicals in the aquatic Environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37 1-12.
- Cunningham, V.L., Buzby, M., Hutchinson T., Mastrocco F., Parke N., Roden, N. (2006). Effects of human pharmaceuticals on aquatic life: next steps. *Environmental Science and Tecnology* 40 3456-3465.
- Cheremisnoff, N.P. (2002). Handbook of water and wastewater technologies. *Butterworth-Heinemann, Boston* 645-654.
- Doughton, C.G., Ternes, T.A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the Environment: Agents of subtle change. *Environmental Health Perspectives* 107 907-938.
- Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. (2006). Determination of antimicrobial residues and metabolites in the aquatic environment by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 386 973-985.
- Drewes, J.L., Heberer, T., Rauch, T., Reddersen, K. (2003). Fate of pharmaceuticals during ground water recharge. *Ground Water Monitoring and Remediation* 23 64-72.
- Frang, H., Tong, W.D., Shi, L.M., Blair, R., Perkins, R., Branham, W., Hass, B.S, Xie, Q., Dial, S.L., Moland, C.L., Sheehan, D.M. (2001). Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens. *Chemical Research in Toxicology* 14 280-294.
- Haney, R., Senseman, S., Hons, F., Zuberer, D. (2000). Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Science* 48 89-93.
- Jeon, H.K., Chung, Y., Ryu, J.C. (2006). Simultaneous determination of benzophenone – type UV filters in water and soil by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 192-202.
- Khetan, S.K., Collins, T.J. (2007). Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry. *Chemical Reviews* 107 2319-2364.
- King, K.A., Zaun, B.J., Schotborgh, H.M., Hurt, C. (2003). DDE-induced eggshell thinning in white-faced ibis: A continuing problem in the western United States. *Southwestern Naturalist* 48 356-364.
- Kummerer, K. (2003). Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52 5-7.
- Petrovic, M., Hernando, M.D., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. (2005). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: A Review. *Journal of Chromatography A* 1067 1-14.
- Richardson, M.L., Bowron, J.M. (1985). The fate of pharmaceutical chemical in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37 1-12.
- Sánchez-Brunete C., Miguel, E., Alberto, B., Tadeo, J.L. (2011). Analysis of salicylate and benzophenone-type UV filters en soil and sediments by simultaneous extraction cleanuo and chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 4291-4298
- Spellman, F.R. (2009). Handbook of water and wastewater plant operations. *CRC Press, 2nd Ed., Boca Raton* 825-826.
- Temes, T., Joss, A. (2006). Human pharmaceuticals,

hormones and fragrances: the micropollutant challenge for urban water management. *Water* 21 121-148.

Valkova, N., Lépine, F., Valeanu, L., Dupont, M., Labrie, L., Labrie, L., Bisaillon, J.G., Beaudet, R., Shareck, F., Villemur, R. (2001). Hydrolysis of 4-hydroxybenzoic acid esters (Parabens) and their aerobic transformation

into phenol by the resistant enterobacter cloacae strain EM. *Applied and Environmental Microbiology* 2404-2409.

Zhang, Z., Ren, N., Li, Y., Kunisue, T., Gao, D., Kannan, K. (2011). Determination of benzotriazole and benzophenone UV Filters in sediment and sewage sludge. *Environ Sci Technol* 3909-3916.

A BLOCK-SENSITIVITY LOWER BOUND FOR QUANTUM TESTING HAMMING DISTANCE

UN LÍMITE INFERIOR DE SENSIBILIDAD DE BLOQUE PARA PRUEBAS CUÁNTICAS DE LA DISTANCIA DE HAMMING

MARCOS VILLAGRA*

*Núcleo de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Facultad Politécnica, Universidad Nacional de Asunción. Email: mvillagra@pol.una.py.

The Gap-Hamming distance problem is the promise problem of deciding if the Hamming distance h between two strings of length n is greater than a or less than b , where the gap $g = |a - b| \geq 1$ and a and b could depend on n . In this short note, we give a lower bound of $\Omega(\sqrt{n/g})$ on the quantum query complexity of computing the Gap-Hamming distance between two given strings of length n . The proof is a combinatorial argument based on block sensitivity and a reduction from a threshold function.

A generalized definition of the Hamming distance is the following: given two strings x and y , decide if the Hamming distance $h(x, y)$ is greater than a or less than b , with the condition that $b < a$. Note that this definition gives a partial boolean function for the Hamming distance with a gap. There is a entire body of work on the computation of a particular case of this notion of Hamming distance in the decision tree and communication models known as the *Gap-Hamming distance* (GHD) problem, which asks to differentiate the cases $h(x, y) \leq n/2 - n$ and $h(x, y) \geq n/2 + n$ (Woodruff, 2007). A lower bound on GHD implies a lower bound on the memory requirements of computing the number of distinct elements in a data stream (Indyk *et al.*, 2003). Chakrabarti *et al.* (2011) give a tight lower bound of $\Omega(n)$; their proof was later improved by Vidick (2011) and then by Sherstov (2011). For the Hamming distance with a gap of the form $n/2 \pm g$ for some given g , Chakrabarti and Regev (2011) also prove a tight lower bound of $\Omega(n^2/g^2)$. In the quantum setting, there is a communication protocol with cost $O(\sqrt{n} \log n)$ (Buhrman *et al.*, 1998).

Suppose we are given oracle access to input

strings x and y . In this note, we prove a lower bound on the number of queries to a quantum oracle to compute the Gap-Hamming distance with an arbitrary gap, that is, for any given $g = a - b$.

Theorem 1.1.

Let $x, y \in \{0, 1\}^n$ and $g = a - b$ with $0 \leq b < a \leq n$. Any quantum query algorithm for deciding if $h(x, y) \geq a$ or $h(x, y) \leq b$ with bounded-error, with the promise that one of the cases hold, makes at least $\Omega(\sqrt{n/g})$ quantum oracle queries.

The proof is a combinatorial argument based on block sensitivity. The key ingredient is a reduction from a threshold function. A previous result of Nayak *et al.* (1999) implies a tight lower bound of $\Omega(\sqrt{n/g} + \sqrt{h(n-h)/g})$; their proof, however, is based on the polynomial method of Beals *et al.* (2001) and it is highly involved. The proof presented here, even though it is not tight, is simpler and requires no heavy machinery from the theory of polynomials.

Proof of Theorem 1.1

Let a, b be such that $0 \leq b < a \leq n$. Define the partial boolean function $\text{GapThr}_{a,b}$ on $\{0, 1\}^n$ as

$$\text{GapThr}_{a,b}(x) = \begin{cases} 1 & \text{if } |x| \geq a \\ 0 & \text{if } |x| \leq b. \end{cases} \quad (1)$$

To compute $\text{GapThr}_{a,b}$ for some input x , it suffices to compute the Hamming distance between x and the all 0 string. Thus, a lower bound for Gap-Hamming distance follows from a lower bound for $\text{GapThr}_{a,b}$.

Let $f : \{0, 1\}^n \rightarrow \{0, 1\}$ be a function, $x \in \{0, 1\}^n$ and $B \subseteq \{1, \dots, n\}$ a set of indices called a block. Let x^B denote the string obtained from x by flipping the variables in B . We say that f is *sensitive* to B on x if $f(x) \neq f(x^B)$. The block sensitivity $bs_x(f)$ of f on x is the maximum number t for which there exist t disjoint sets of blocks $B_1, \dots, B_t$ such that f is sensitive to each B_i on x . The *block sensitivity* $bs(f)$ of f is the maximum of $bs_x(f)$ over all $x \in \{0, 1\}^n$.

From (Beals *et al.*, 2001) we know that the square root of block sensitivity is a lower bound on the bounded-error quantum query complexity. Thus, Theorem 1.1 follows immediately from the lemma below.

Lemma 2.1. $bs(\text{GapThr}_{a,b}) = \Theta(n/g)$.

Proof. Let $x \in \{0, 1\}^n$ be such that $\text{GapThr}_{a,b}(x) = 0$ and suppose that $|x| = b$. To obtain a 1-output from x we need to flip at least $g = a - b$ bits of x . Hence, we divide the $n - b$ least significant bits of x in non-intersecting blocks, where each block flips exactly g bits. The number of blocks is $\lfloor \frac{n-b}{a-b} \rfloor$, which is at most $bs_x(\text{GapThr}_{a,b})$. To see that $\lfloor \frac{n-b}{a-b} \rfloor$ is the maximum number of such non-intersecting blocks, consider what happens when the size of a block is different from g . If the size of a block is less than g , then we cannot obtain a 1-output from x ; if the size of a block is greater than g , then the number of blocks decreases. Thus, we have that $bs_x(\text{GapThr}_{a,b}) = \lfloor \frac{n-b}{g} \rfloor$.

For any x' with $|x'| < b$, we need to flip $a - b$ bits plus $b - |x'|$ bits. Using our argument of the previous paragraph, the size of each block is thus $g + b - |x'|$, and hence, $bs_{x'}(\text{GapThr}_{a,b}) = \lfloor \frac{n-|x'|}{g+b-|x'|} \rfloor$. Note that $bs_{x'}(\text{GapThr}_{a,b}) \leq bs_x(\text{GapThr}_{a,b})$.

For the case when $\text{GapThr}_{a,b}(x) = 1$ and $|x| = a$, to obtain a 0-output from x we need to flip at least g bits of x . Hence the same argument applies, and thus, $bs_x(\text{GapThr}_{a,b}) = \lfloor \frac{n-a}{g} \rfloor$.

Taking the maximum between the cases when $|x| = b$ and $|x| = a$, we have that $bs(\text{GapThr}_{a,b}) = \max\{(n-b)/g, (n-a)/g\} = \Theta(n/g)$.

REFERENCES

- Beals, R., Buhrman, H., Cleve, R., Mosca, M. & De Wolf, R. (2001). Quantum lower bounds by polynomials. *Journal of the ACM*, 48(4): 778-797.
- Buhrman, H., Cleve, R. & Wigderson, A. (1998). Quantum vs. classical communication and computation. *Proceedings of the 30th annual ACM Symposium on Theory of Computing (STOC)*: 63-68.
- Chakrabarti, A. & Regev, O. (2011). An optimal lower bound on the communication complexity of gap-hamming-distance. *Proceedings of the 43rd ACM Symposium on Theory of Computing (STOC)*: 51-60.
- Indyk, P. & Woodruff, D. (2003). Tight lower bounds for the distinct elements problem. *Proceedings of the 44th Annual IEEE Symposium on Foundations of Computer Science (FOCS)*: 283-288.
- Nayak, A. & Wu, F. (1999). The quantum query complexity of approximating the median and related statistics. *Proceedings of the 31st annual ACM symposium on Theory of computing (STOC)*: 384-393.
- Sherstov, A. (2011). The Communication Complexity of Gap Hamming Distance. *Electronic Colloquium on Computational Complexity*, Report TR11-063. 9 pp.
- Vidick, T. (2011). A concentration inequality for the overlap of a vector on a large set, with application to the communication complexity of the gap-hamming-distance problem. *Electronic Colloquium on Computational Complexity*, Report TR11-051 9 pp.
- Woodruff, D. (2007). *Efficient and Private Distance Approximation in the Communication and Streaming Models*. Ph.D. thesis, MIT, USA. 114 pp.

GUÍA PARA LOS AUTORES

Reportes Científicos de la FACEN, es una revista de libre acceso y órgano de publicación científica oficial de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Es emitida semestralmente y publica **Artículos originales, Artículos de revisión, Tópicos actuales, Reportes de casos, Comunicaciones cortas y Correspondencia**, en las áreas de Biología, Química, Física, Matemática Pura, Matemática Estadística, Geología, Biotecnología y Tecnología de Producción. Los principales criterios para la selección de los artículos son la solidez científica y la originalidad del tema. Los trabajos y opiniones publicados en la revista son de exclusiva responsabilidad de los autores. El idioma oficial de la revista es el español, pero se aceptan trabajos en inglés y en portugués.

El trabajo será enviado en formato electrónico a la dirección email de la revista (reportescientificos@gmail.com), consistiendo en archivos de texto, archivos de planilla electrónica y archivos de imagen. **El archivo principal de texto debe contener únicamente texto, sin ilustraciones ni tablas embebidas**, sino únicamente las respectivas citas a las mismas en el texto (numeradas secuencialmente). **Las tablas e ilustraciones deberán ser remitidos en formato digital en archivos independientes**. Los respectivos archivos deberán indicar en su nombre a qué número de tabla o ilustración corresponden.

El archivo de texto debe ser producido con Microsoft Word® u otro editor de texto perfectamente compatible. El texto deberá estar en letra Times New Roman, tamaño 11. Todo trabajo llevará en su primera página los siguientes elementos: **a) el Título** en español e inglés, **b) la lista de Autores** con nombre y apellido, **c) la Afiliación** laboral de cada autor, **d) un Resumen** de un máximo de 250 palabras en español, **e) un máximo de 7 Palabras clave** en español, **f) un Abstract** en inglés, correspondiente a la versión en español y **g) un máximo de 7 Key words** en inglés, correspondientes a la versión en español. **En caso de trabajos en Portugués** se añaden Título, Resumo y Palavras chave en dicho idioma. El resumen sólo podrá obviarse en el caso de Editoriales, Comunicaciones cortas y Correspondencias presentadas como tales. El cuerpo principal del texto podrá contener, según el contexto del trabajo, las secciones de **1) Introducción, 2) Materiales y métodos (o sólo uno de ellos de acuerdo al caso), 3) Resultados, 4) Discusión, 5) Conclusión, 6) Agradecimientos y 7) Literatura citada**. Tales secciones podrán sufrir fusión o no existir, de acuerdo a la metodología de trabajo o enfoque dados por el autor, así como al tipo de escrito (Artículo original, Comunicación corta, etc.) como haya sido presentado por autor o como lo decida el comité editorial. **Los pies de figuras y tablas** deberán ir al final del texto, a continuación de la sección de literatura citada.

Las citas bibliográficas deberán seguir las normas APA. Según estas normas, el año va entre paréntesis y se destacan el autor y año en las citas en texto: “Según González (1999)” o “El método es reciente (González, 1999)”. Para la lista en la sección de Literatura citada la secuencia lógica y formato es de “Autor. (Año). Título. Publicador, Volumen(Número): Páginas.”, poniéndose siempre primero el apellido de cada autor, seguido de sus correspondientes iniciales y separados por comas, con el último autor separado por un signo de ampersand. Se aplicará cursivas respectivamente en el título si se trata de un libro o tesis, o en el publicador si se trata de un artículo. Se ilustra en los siguientes ejemplos:

González, A.P. (1999). *Métodos de análisis crítico*. Asunción: Editorial Nueva. 120 pp.

González, A.P., Martínez, G.T. & Robledo, H.A. (1999). Análisis de la producción científica del país. *Revista de Filosofía Científica*, 45(2): 56-61.

Las tablas y cuadros deberán presentarse en archivos de Microsoft Excell® u otro programa perfectamente compatible, aunque en muchos casos se aceptan también tablas embebidas en archivo de Microsoft Word®, siempre que sea en archivo separado del de texto. **Las ilustraciones (graficos, imágenes, fotos, dibujos, mapas, esquemas o láminas completas) deberán presentarse cada una en un archivo aparte**, en formato JPG o TIF, generados en Adobe Photoshop u otro programa de procesamiento de imágenes. Deberá cuidarse que posean buen enfoque, claridad y contraste, que tengan una resolución mínima de 300 dpi y máxima de 1000 dpi y teniendo en cuenta que su anchura máxima en la revista será de 16 cm.

El proceso de evaluación incluye una primera revisión por el Comité Editorial para determinar si el artículo corresponde a la línea editorial y si cumple con los criterios generales de publicación. Una vez que el artículo se considere pertinente, se someterá a por lo menos dos revisores especialistas en el tema, de cuya opinión depende la aceptación definitiva del artículo. Si existiera una contradicción en la opinión de ambos especialistas, se someterá al Comité editorial o en caso contrario se solicitará una tercera opinión de un tercer especialista. El dictamen podrá ser aceptado, rechazado o condicionado, que será comunicado por escrito al autor principal en un plazo no mayor de tres meses de la recepción del material original. Si el dictamen es condicionado, el autor deberá remitir la nueva versión impresa y en formato digital en el plazo que se le indique que no podrá exceder de los 30 días posteriores a la recepción de la comunicación.

REPORTES CIENTÍFICOS

D E L A F A C E N

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Rep. cient. FACEN	San Lorenzo (Paraguay)	Vol. 8, Nº 1	enero-junio de 2017	ISSN 2078-399X (versión impresa) ISSN 2222-145X (versión online)
-------------------	------------------------	--------------	---------------------	---

EDITORIAL

- 3-4 **Andrea Weiler.** Apuestas de la FACEN al desarrollo del conocimiento y la investigación científica.

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 5-11 **Elizabeth Gaona Colmán, María B. Blanco, Ian Barnes & Mariano A. Teruel.** Distribución de productos y mecanismo en fase gaseosa de reacciones de ozono con compuestos insaturados oxigenados.
- 12-25 **María Carolina Samudio Perez.** Evaluación de procesos fisicoquímicos de adsorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS).
- 26-49 **Fernando Giménez Sena.** Diseños observacionales: una aplicación en estudios clínicos.
- 50-78 **Alfredo Ramón Leguizamón Ortiz.** Estudio de las emisiones de monóxido de carbono en motores de combustión interna (según Ciclo Otto).
- 79-88 **Julio César Benítez-Villalba, Alberto Zafra-Gómez, María José Belén Juárez-Jimenez, Noemi Dorival-García, Sergio Rodríguez-Bonet, Francisco Paulo Ferreira-Benítez & José Luis Vilchez.** Biodegradation of the Benzophenone-3 in agricultural soils amended with compost from urban wastewater treatment plants.

COMUNICACIÓN CORTA

- 89-90 **Marcos Villagra.** A block-sensitivity lower bound for quantum testing Hamming Distance.

