

TRABAJO ESPECIAL DE LICENCIATURA

Universidad Nacional de Córdoba

FACULTAD DE MATEMÁTICA, ASTRONOMÍA, FÍSICA Y
COMPUTACIÓN

**ESTUDIO DE LABORATORIO
SOBRE EL ROL DE DIFERENTES
AEROSOLAS COMO
NUCLEANTES DE HIELO**

Autora:
Maite Soledad Grando

Directora:
María Laura López

27 de septiembre de 2019



Estudio de laboratorio sobre el rol de diferentes aerosoles como nucleantes de hielo por Maite Soledad Grando se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Agradecimientos

Al personal del LAMARX, en especial a Julieta Riva y Rubén Mutal.

A la empresa DPM S.A.[®] por facilitar el acceso a sus plantas.

A Laura y Rodrigo por el tiempo dedicado a este trabajo.

A Fernando Rivarola por su colaboración en la construcción de los dispositivos utilizados.

Resumen

Las nubes ejercen gran influencia sobre el sistema atmosférico y su efecto depende de las características de las gotas y de los cristales que las constituyen.

A temperaturas mayores a $-36\text{ }^{\circ}\text{C}$, la única manera para que se inicie la fase hielo en la atmósfera es mediante el proceso denominado “nucleación heterogénea”, que involucra la presencia de una partícula nucleante de hielo (INP). La nucleación heterogénea de hielo involucra cuatro modos bien diferenciados. De ellos, el más relevante para la formación de nubes con mezcla de fase es la nucleación por inmersión, producida cuando las partículas inmersas en gotas de agua actúan como INP a temperaturas inferiores a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En este trabajo se analiza la eficiencia como INP en el modo de inmersión, tanto de partículas naturales (polen, material vegetal y líquen) como antropogénicas (partículas generadas en la quema de biomasa, la combustión automotriz y una industria de reciclado de papel). La caracterización química y morfológica de estas partículas se realizó mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM) y un microscopio confocal. Para analizar la eficiencia de las partículas colectadas como INP se llevaron a cabo mediciones de la temperatura de congelación de gotas de suspensiones de estas partículas en agua ultrapura y de gotas de agua ultrapura, a los fines de determinar un valor de referencia.

Utilizando test estadísticos, tales como el Test de Levene para probar la homogeneidad de las varianzas, el Test de ANOVA para detectar diferencias significativas entre los métodos de estimación y el Test de Bonferroni para realizar comparaciones entre pares de métodos, se concluye que las muestras que presentan temperatura de congelación estadísticamente diferente a la del agua ultrapura son las de quema de biomasa, polen y líquen.

Por último, se analizó el número de sitios activos por grano de polen y se encontró que a temperaturas mayores a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, sólo 1 de cada 10000 granos de polen actúa como INP en el modo de nucleación por inmersión. Sin embargo, al alcanzarse los $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ la cantidad de granos de polen que actúa como INP es 1 cada 1000. Esto es: la probabilidad de que el polen actúe como nucleante se incrementa a medida que la gota asciende en altura en la tropósfera.

De los resultados de este trabajo se concluye en la importancia de las partículas de origen natural como INP en el modo de inmersión.

Abstract

Clouds strongly affect the atmospheric system, and this effect depends on the characteristics of the droplets and the crystals constituting them. At temperatures above $-36\text{ }^{\circ}\text{C}$ the only way to initiate ice phase in the atmosphere is through the process called heterogeneous nucleation. This process needs the presence of an ice nucleating particle (INP). Heterogeneous nucleation of ice involves four different modes. Among these modes, the most relevant in mixed-phase clouds is nucleation by immersion, produced when particles immersed in water droplets act as INP at temperatures below $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

This work analyzes the efficiency as INP by immersion mode of different natural (pollen, plant material and lichen) and anthropogenic particles (generated in the biomass burning, diesel combustion and a paper recycling industry). The chemical and morphological characterization of these particles was performed by using a scanning electron microscope (SEM) and a confocal microscope. To analyze the efficiency of the collected particles as INP, measurements of the freezing temperature of droplets of the suspensions of these particles in ultrapure water were carried out, as well as measurements of the freezing temperature of ultrapure water droplets in order to determine a reference value.

Different statistical tests were used, such as the Levene Test to test the homogeneity of the variances, the ANOVA Test to detect significant differences among estimation methods and the Bonferroni Test to make comparisons between pairs of methods. It is concluded that the samples showing freezing temperature statistically different to ultrapure water are the aerosols from biomass burning, pollen and lichen.

Finally, the number of active sites per pollen grain was analyzed. It was found that at temperatures higher than $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ only 1 per 10000 pollen grains acts as INP by immersion freezing mode. However, at $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ the number of pollen grains acting as INP is 1 per 1000. This is to say: the probability that the pollen be an INP increases as the drop rises in height in the troposphere.

The results of this work show the importance of natural particles as INP by immersion freezing mode.

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	II
Abstract	III
Índice de figuras	VI
Índice de tablas	VIII
Símbolos y siglas	IX
1. Introducción	1
1.1. Generalidades	1
1.2. Formación de nubes	2
1.3. Aerosoles	6
1.3.1. Clasificación por tamaño	6
1.3.2. Clasificación por su fuente de emisión	7
1.4. Aerosoles como nucleantes	8
1.5. Motivaciones y objetivo	9
2. Materiales y métodos	11
2.1. Material colectado	11
2.1.1. Aerosoles	11
2.1.2. Partículas	12
2.2. Caracterización del material colectado	14
2.3. Preparación de suspensiones	14
2.4. Dispositivo experimental	15
2.5. Corrección de termómetros	18
3. Resultados y discusión	19
3.1. Caracterización de las muestras	19
3.2. Resultados experimentales	27
3.2.1. Análisis de la deformación de las gotas	27
3.2.2. Mediciones de la temperatura de congelación	27
3.3. Análisis estadístico	29
3.3.1. Recursos estadísticos	29
3.3.2. Resultados obtenidos	33
3.4. Determinación del número de sitios activos por grano de polen	33
3.4.1. Fundamento	33
3.4.2. Mediciones y resultados sobre la muestra de polen	34
3.5. Discusión general	36

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	v
4. Conclusiones y observaciones	37
A. Fundamento del microscopio electrónico de barrido	38
B. Partes y funcionamiento del microscopio confocal	40
C. Test de Levene	42
D. Test ANOVA	44
E. Test de Bonferroni	45
Bibliografía	46

Índice de figuras

1.1. Capas de la atmósfera.	2
1.2. Distribución de las nubes en la tropósfera [31].	3
1.3. Esquema con las distintas formas de nucleación heterogénea. Los puntos negros representan los INPs, los círculos celestes representan gotas de agua, y los hexágonos celestes, representan los cristales de hielo.	4
1.4. Diagrama de fase del agua, presión de vapor vs. temperatura.	5
1.5. Diagrama de fase del agua, en donde se ha representado un estado (T_p , e_p), mediante el punto azul, el cual está en condiciones de subsaturación respecto al agua y de sobresaturación respecto al hielo. e_p es la presión de vapor del sistema y T_p la temperatura del mismo.	5
2.1. Esquema del material colectado.	11
2.2. Esquema del dispositivo utilizado para la colección de aerosoles	12
2.3. Rosa China de la cual se extrajo la muestra de polen	13
2.4. Polen colectado	13
2.5. Corteza del pino de la cual se extrajeron las muestras de liquen (color anaranjado).	13
2.6. Liquen separado de la corteza.	13
2.7. Foto de flor <i>Taraxacum officinale</i> , comúnmente llamada “diente de león”.	14
2.8. Muestras preparadas para dejar secar a temperatura ambiente.	14
2.9. Esquema del dispositivo experimental utilizado para congelar y medir la temperatura de las gotas dentro del freezer: vista superior.	16
2.10. Esquema del dispositivo experimental utilizado para congelar y medir la temperatura de las gotas dentro del freezer: vista lateral.	16
2.11. Esquema del dispositivo experimental utilizado dentro del freezer. Debajo del microscopio digital se observa el disipador de calor, la celda Peltier y la placa de aluminio.	17
2.12. Gota observada con el microscopio digital. Las manchas que se observan son las partículas de material vegetal, suspendidas en el agua ultrapura.	17
2.13. Imagen de la gota mostrada en la Figura 2.12 cuando se congeló.	17
2.14. Relación entre los valores de temperatura obtenidos del termómetro patrón con las mediciones del sistema termocupla/multímetro. La línea roja representa un ajuste lineal entre ambas variables.	18
3.1. Imagen SEM de la muestra de partículas residuales de la industria de reciclado de papel.	20
3.2. Espectro de rayos X de la muestra de partículas residuales de la industria de reciclado de papel.	20
3.3. Imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la quema de biomasa.	21
3.4. Imagen extraída del trabajo de Manfred et al.(2018)[45] “ <i>Investigating biomass burning aerosol morphology using a laser imaging nephelometer.</i> ”	21
3.5. Espectro de rayos X de la muestra de partículas liberadas durante la quema de biomasa.	22
3.6. Imagen SEM de la muestra de material vegetal.	22
3.7. Espectro de rayos X de la muestra de material vegetal.	23
3.8. Imagen SEM de la muestra de liquen.	23

3.9. Espectro de rayos X de la muestra de liquen.	24
3.10. Imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la combustión de un motor diésel.	24
3.11. Imagen extraída del trabajo de Manoj et al.(2012) “ <i>Characterization of Diesel Soot from the Combustion in Engine by X-ray and Spectroscopic techniques.</i> ”	25
3.12. Espectro de rayos X de la muestra de partículas liberadas durante la combustión de motor diésel.	25
3.13. Imagen SEM de la muestra de polen.	26
3.14. Imagen SEM para granos de polen de una variedad de plantas comunes: girasol (<i>Helianthus annuus</i>), gloria de la mañana (<i>Ipomoea purpurea</i>), malva de la pradera (<i>Sidalcea malviflora</i>), lirio oriental (<i>Lilium auratum</i>), onagra (<i>Oenothera fruticosa</i>), y haba de ricino (<i>ricinus communis</i>). Imagen extraída de NASA/Goddard Space Flight Center.	26
3.15. Imagen obtenida con el microscopio confocal para la muestra de polen.	26
3.16. Imagen de un grano de polen de Rosa China obtenida con el microscopio confocal. . .	26
3.17. Espectro de rayos X de la muestra de polen.	27
3.18. BoxPlot genérico, donde se observan todas sus partes.	28
3.19. BoxPlot: 1) Quema de biomasa; 2) Liquen; 3) Material vegetal; 4) Polen; 5) Combustión automotriz; 6) Residuo de papel; 7) Agua ultrapura.	28
3.20. Número de sitios activos por grano de polen en función de la temperatura. Valores obtenidos para gotas con diferentes concentraciones de polen. Rombo fucsia: Concentración original; cuadrado verde: dilución al 50 %; círculo rojo: dilución al 20 %.	35
3.21. Sitios activos por grano de polen en función de la temperatura. Se observan los valores obtenidos en este trabajo, ya observados en la Figura 3.20 junto con los valores encontrados por Hader et al. (2014)[25], von Blohn et al. (2005)[71], Pummer et al. (2012)[55] y Diehl et al. (2002)[18] para los granos de polen de diferentes especies. . .	35
B.1. Esquema del principio de la microscopía confocal.	41

Índice de tablas

1.1. Características de los distintos tipos de nubes.	3
2.1. Masa de los filtros luego del muestreo y masa residual luego del lavado ultrasónico. En la última columna se observa la diferencia entre ambas masas, la cual es la cantidad de muestra depositada en el agua ultrapura.	12
2.2. Concentración de cada suspensión utilizada.	15
3.1. Medidas de tendencia central y dispersión de los datos obtenidos. Las medias se expresan asociadas a su error.	29
3.2. Comparaciones múltiples entre las muestras.	33
3.3. Medidas de tendencia central y dispersión de los datos obtenidos para las diferentes concentraciones de polen. Las medias se expresan asociadas a su error.	34
C.1. Valores de D_{ij} para los valores del polen	42
C.2. Valores de D_{ij} para los valores del agua ultrapura	42
D.1. Valores de $y_{ij} - \bar{y}_i$ para los valores del polen	44
D.2. Valores de $y_{ij} - \bar{y}_i$ para los valores del agua ultrapura	44

Símbolos y siglas

α : Nivel de significancia.

γ : Nivel de confianza.

μ_i : Media de la población i .

ν : Número de comparaciones a hacer.

C_m : Concentración de masa de las partículas en la suspensión inicial.

D_{ij} : Diferencia en valor absoluto del valor observado y la media.

\bar{D} : Media de las diferencias D_{ij} por grupo.

D_t : Media total de las diferencias D_{ij} .

GL_{Dentro} : Grados de libertad dentro de los grupos.

GL_{Entre} : Grados de libertad entre los grupos.

H_0 : Hipótesis nula.

H_1 : Hipótesis alternativa.

HR: Humedad relativa.

IC: Intervalo de confianza.

INP: Partícula nucleante de hielo.

K: Número de sitios activos de nucleación de hielo por unidad de volumen de agua.

MC_{Dentro} : Media cuadrática dentro de cada grupo.

MC_{Entre} : Media cuadrática entre grupos.

SC_{Dentro} : Suma de cuadrados dentro de cada grupo.

SC_{Entre} : Suma de cuadrados entre grupos.

Se^2 : Estimación de la varianza del error.

S_i^2 : Varianza de la muestra i .

STC: Suma total de cuadrados.

T: Temperatura.

V: Volumen de la gota.

d : Diámetro de la gota.

d' : Tasa de dilución respecto a C_m .

d_A : Diámetro aerodinámico.

e : Presión de vapor.

f_f : Fracción de gotas congeladas.

k : cantidad de poblaciones independientes.

n : cantidad de muestras de cada población.

n_m : Densidad de sitios activos por unidad de masa.

t : Valor de tabla t-student.

t^* : Distribución t de Student con un cierto grado de libertad y un determinado nivel de significancia.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Generalidades

La atmósfera es la capa gaseosa que rodea la Tierra, la cual se caracteriza por variaciones de presión y temperatura con la altura. De hecho, la variación del perfil de temperatura promedio con la altitud permite distinguir cuatro capas en la atmósfera, las cuales se representan en la Figura 1.1 y se detallan a continuación.

-Tropósfera, es la capa más baja de la atmósfera. Se extiende desde la superficie terrestre hasta la tropopausa, la cual se encuentra entre los 10 y 15 km, dependiendo de la latitud y la época del año. En esta capa la temperatura disminuye con la altura.

-Estratósfera, se extiende desde la tropopausa hasta la estratopausa (entre 45 y 55 km de altura). En esta zona la temperatura aumenta con la altura.

-Mesósfera, se extiende desde la estratopausa hasta la mesopausa (entre los 80 y 90 km de altura). Aquí la temperatura vuelve a descender con la altura, dando lugar al punto más frío de la atmósfera.

-Termósfera, es la región sobre la mesopausa, caracterizada por las altas temperaturas como resultado de la absorción de radiación de onda corta por parte de las moléculas de nitrógeno y oxígeno.

Además de las capas antes detalladas, puede mencionarse una última capa, denominada exósfera, que es la región más externa de la atmósfera (> 500 km de altitud) donde las moléculas de gas con suficiente energía pueden escapar de la atracción gravitatoria de la Tierra.

De todas las capas mencionadas, una de las más importantes para los seres vivos es la tropósfera dado que aquí ocurren los fenómenos meteorológicos como el viento, la lluvia, la nieve y las nubes, entre otros. Por otro lado, además de concentrar la mayor parte del oxígeno y del vapor de agua, esta capa actúa como un regulador térmico del planeta: sin ella, las diferencias térmicas entre el día y la noche serían tan grandes que no podríamos sobrevivir. Pero no sólo la tropósfera afecta a la superficie de la Tierra, sino que esta misma capa está afectada por las características de la superficie terrestre.

El estrato de aire sujeto a la influencia de la superficie terrestre recibe el nombre de capa límite planetaria. Ésta se extiende desde la superficie terrestre hasta aproximadamente 1 km de altura. El resto de la capa se denomina tropósfera libre y llega hasta la tropopausa. A medida que el aire se mueve verticalmente su temperatura cambia en respuesta a la presión local. Una parcela de aire que asciende adiabáticamente desde la superficie hasta una altura de 1 km puede disminuir su temperatura de 5 a 10 °C, dependiendo de su contenido de vapor de agua. Debido a la fuerte dependencia de la presión de vapor con la temperatura, esta disminución de la temperatura de una parcela de aire ascendente está acompañada de un aumento importante de la humedad relativa (HR) en la parcela. Como resultado, los movimientos de aire ascendentes de unos pocos cientos de metros pueden hacer que el aire alcance la saturación (HR = 100%) e incluso la sobresaturación (HR >100%) respecto del agua[61].

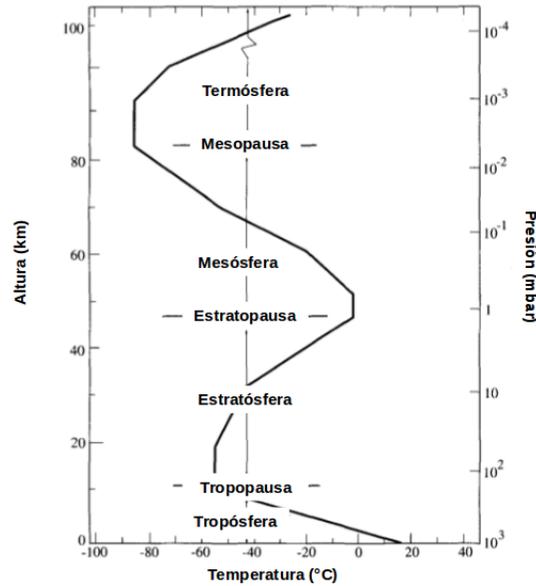


Figura 1.1: Capas de la atmósfera.

1.2. Formación de nubes

Las nubes son el resultado del ascenso adiabático de las parcelas de aire y la posterior condensación del vapor de agua contenido en ellas. Las nubes están compuestas por aire saturado y gotas de agua y/o partículas de hielo. La forma de las nubes depende del estado de la atmósfera en el cual se han formado y se continúan desarrollando. Así, nubes de gran desarrollo vertical son el resultado de importantes movimientos ascendentes de aire, mientras que grandes capas de nubes de espesor reducido implican condiciones atmosféricas estables, con limitados movimientos verticales[31].

Las nubes se clasifican de acuerdo a la altura de la base, su desarrollo vertical y su conformación (agua y/o hielo)[1]. La clasificación de acuerdo a la altura de la base permite diferenciar:

- Nubes de nivel alto: de 5 a 13 km.

- Nubes de nivel medio: de 2 a 6 km.

- Nubes de nivel bajo: de 0 a 2 km.

Esta clasificación junto con el desarrollo vertical y su conformación permite diferenciar 10 tipos de nubes, las cuales se detallan en la Tabla 1.1. Además, un esquema con la ubicación de estas nubes en la tropósfera se muestra en la Figura 1.2.

Nube	Clasificación	Composición
<i>Cirrus</i>	Alta	Hielo
<i>Cirrocumulus</i>	Alta	Hielo
<i>Cirrostratus</i>	Alta	Hielo
<i>Alto cumulus</i>	Media	Agua
<i>Altostratus</i>	Media	Agua
<i>Nimbostratus</i>	Baja	Agua
<i>Stratocumulus</i>	Baja	Agua
<i>Stratus</i>	Baja	Agua
<i>Cumulus</i>	Desarrollo vertical	Agua
<i>Cumulonimbus</i>	Desarrollo vertical	Agua y hielo

Tabla 1.1: Características de los distintos tipos de nubes.



Figura 1.2: Distribución de las nubes en la tropósfera [31].

Como se muestra en la Tabla 1.1, las nubes altas están formadas íntegramente por partículas de hielo mientras que las nubes de nivel bajo y medio están compuestas por agua. Por otra parte, las nubes de nivel alto están formadas por agua en su parte inferior, mientras que las partículas de hielo están presentes en la parte superior.

Sin embargo, la condición de sobresaturación respecto al agua o al hielo generalmente no es condición suficiente para la formación de nubes. Además de esta condición de sobresaturación, es necesario la presencia de partículas (aerosoles) que promuevan la formación de gotas de agua y de partículas de hielo. La formación de partículas de nube (gotas de agua y partículas de hielo) sin la presencia de aerosoles se denomina nucleación homogénea, mientras que la formación de partículas de nube por la presencia de aerosoles se denomina nucleación heterogénea.

Nucleación Homogénea

Experimentalmente Fournier d'Albe (1949), Mason (1952), Mossop (1955), Kachurin et al. (1956), Maybank and Mason (1959), Anderson et al. (1980), Hagen et al. (1981, 1982), DeMott et al. (1992) y DeMott y Rogers (1990) han encontrado, bajo condiciones de sobresaturación respecto al agua y con temperaturas entre 0°C y -70 °C, que las partículas de hielo se forman homogéneamente sólo como resultado del congelamiento de gotas sobreenfriadas. Otros resultados de laboratorio[72] muestran que para que ocurra el congelamiento de gotas sobreenfriadas homogéneamente se necesitan temperaturas menores a -41°C para gotitas de 1µm de diámetro y menores a -35 °C para gotas de 100µm de diámetro. Estas condiciones podrían ocurrir únicamente en nubes con gran desarrollo vertical, por

lo que no explica la presencia de partículas de hielo en nubes más cálidas. Por ello, a temperaturas mayores a -36°C la única manera para que se inicie la fase hielo en la atmósfera es mediante nucleación heterogénea[54].

Nucleación heterogénea

La formación de cristales de hielo por nucleación heterogénea necesita de la superficie de partículas insolubles llamadas partículas nucleantes de hielo (INP, por sus siglas en inglés Ice Nuclei Particle).

Existen cuatro formas de nucleación heterogénea: deposición heterogénea de hielo, condensación heterogénea seguida por congelación, congelación por contacto y congelación por inmersión. La temperatura y la sobresaturación son los principales parámetros que determinan estos cuatro modos de nucleación de hielo.

Un esquema de estos cuatro modos de nucleación heterogénea se muestra en la Figura 1.3.

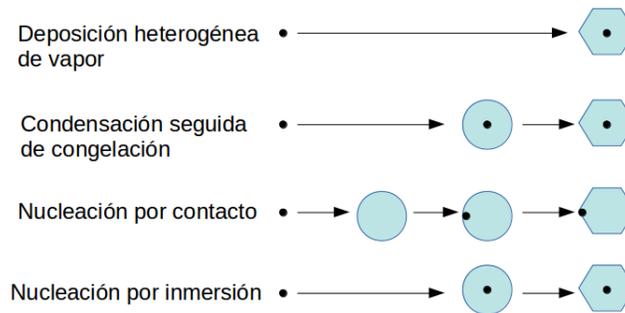


Figura 1.3: Esquema con las distintas formas de nucleación heterogénea. Los puntos negros representan los INPs, los círculos celestes representan gotas de agua, y los hexágonos celestes, representan los cristales de hielo.

Durante la **deposición heterogénea** moléculas de agua[68] se adhieren a la superficie de los INP desde la fase vapor, para ello el ambiente debe estar sobresaturado respecto al hielo y subsaturado respecto al agua.

En la Figura 1.4 se observa el diagrama de fase del agua, presión de vapor (e) en función de la temperatura (T). La línea roja representa la coexistencia de vapor y agua líquida, la línea verde representa la coexistencia de vapor y hielo mientras que la línea negra representa la coexistencia de hielo y agua líquida. La línea punteada roja, representa la situación metaestable en la que se tiene agua sobreenfriada coexistiendo con vapor.

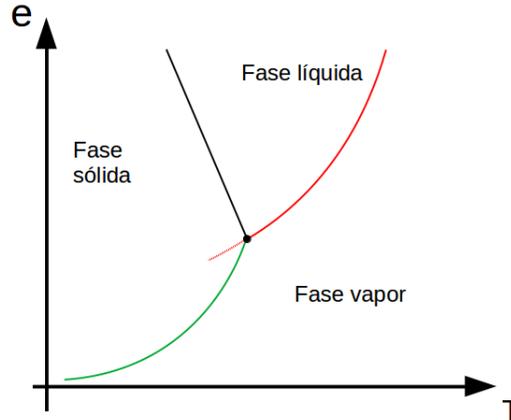


Figura 1.4: Diagrama de fase del agua, presión de vapor vs. temperatura.

La deposición heterogénea de hielo ocurre cuando el sistema se encuentra, por ejemplo, en un estado como el que se representa en la Figura 1.5 mediante el punto azul. En esas condiciones la presión de vapor del sistema (e_p) es menor a la presión de saturación respecto al agua, pero mayor a la presión de saturación respecto al hielo, por esto se dice que el sistema está subsaturado respecto al agua sobreenfriada y sobresaturado respecto al hielo.

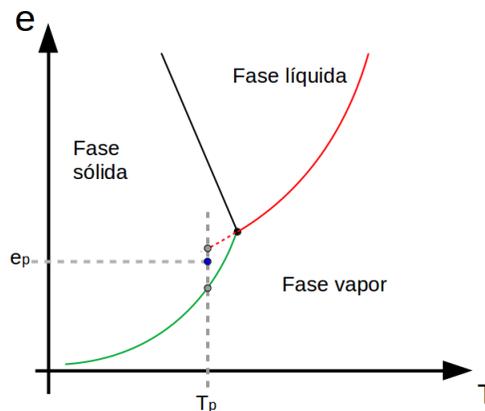


Figura 1.5: Diagrama de fase del agua, en donde se ha representado un estado (T_p, e_p) , mediante el punto azul, el cual está en condiciones de subsaturación respecto al agua y de sobresaturación respecto al hielo. e_p es la presión de vapor del sistema y T_p la temperatura del mismo.

La **condensación heterogénea seguida por congelación** ocurre a temperaturas menores a 0°C , cuando los núcleos de condensación de nubes actúan como INP.

En la **congelación por contacto** el INP colisiona con una gota sobreenfriada produciendo su congelamiento, mientras que en la **congelación por inmersión** el INP ya se encuentra dentro de la gota.

Las partículas que actúan como INPs son aerosoles, es decir, partículas que permanecen suspendidas en el aire y que se describen más detalladamente en la siguiente sección.

1.3. Aerosoles

Con el término *aerosol* se designa a la suspensión de partículas finas, sólidas o líquidas en un gas. Cada partícula puede contener muchos componentes, incluyendo el agua líquida[32].

Los aerosoles influyen de manera directa sobre el clima terrestre mediante la dispersión y absorción de la radiación solar[26] y de manera indirecta al modificar la formación, la evolución temporal y las propiedades dinámicas y microfísicas de las nubes[66] mediante su rol como nucleantes.

Existen diversas formas de clasificar los aerosoles, ya sea por su tamaño o su fuente de emisión.

1.3.1. Clasificación por tamaño

Ya sea emitido directamente como partículas (aerosol primario) o formado en la atmósfera por los procesos de conversión de gas a partícula (aerosol secundario), los aerosoles atmosféricos varían en tamaño desde unos pocos nm a decenas de μm de diámetro.

Si hablamos del *tamaño* del aerosol, se debe aclarar que esta clasificación es según el diámetro de la esfera que lo contiene, el cual no es su diámetro geométrico ya que esto implicaría que todos los aerosoles son esféricos, y muchas de las partículas en la atmósfera tienen formas muy irregulares. Por esta razón a la hora de hablar de diámetro nos referimos al *diámetro aerodinámico* (d_A), el cual se define como el diámetro de una esfera de 1 g cm^{-3} de densidad con la misma velocidad terminal de caída que la partícula en cuestión.

La clasificación más utilizada de aerosoles respecto a su tamaño tiene cuatro categorías:

- Modo de nucleación: $1 \text{ nm} \leq d_A \leq 30 \text{ nm}$.
- Partículas de Aitken: $30 \text{ nm} < d_A \leq 100 \text{ nm}$.
- Modo de acumulación: $0,1 \mu\text{m} < d_A \leq 1 \mu\text{m}$.
- Modo grueso: $1 \mu\text{m} < d_A \leq 10 \mu\text{m}$.

Las partículas en el rango de núcleos de Aitken son producidas por procesos de combustión, por la coagulación de partículas más pequeñas y por la condensación de vapor. Por lo tanto estas partículas, junto con las del modo de acumulación, contienen generalmente elementos como carbono y algunas trazas de metales como vanadio, que son características de la combustión, así como sulfatos y nitratos[16][11][39]. Finalmente, como los procesos mecánicos son los principales responsables de las partículas en el modo grueso, éstas suelen contener principalmente elementos presentes en el suelo y la sal marina[9].

La concentración de partículas en el aire varía a través del espacio y el tiempo y está íntimamente relacionada con las fuentes de los aerosoles y las transformaciones que sufren en la atmósfera. Teniendo en cuenta estas consideraciones, las partículas se dividen en dos grupos:

-Partículas gruesas: Con diámetro entre $2,5$ y $10 \mu\text{m}$, son generalmente de origen mecánico generadas por aplastamiento o trituración. Suelen estar dominadas por el polvo resuspendido proveniente de material de la corteza terrestre, de los caminos pavimentados, de la construcción, la agricultura y las actividades mineras. En general, su tiempo de residencia en la atmósfera es limitado y se depositan en la superficie en cuestión de minutos u horas, pudiendo trasladarse horizontalmente en la atmósfera algunas decenas de kilómetros desde la fuente de emisión [9][44].

-Partículas finas: Con diámetro menor a $2,5 \mu\text{m}$, se emiten directamente a partir de fuentes de combustión o se forman a partir de precursores gaseosos. Se componen en general de sulfatos, nitratos, cloruros y compuestos de amonio, carbono orgánico y elemental, y metales. La combustión de carbón, petróleo, madera, así como los procesos de alta temperatura, tales como los desarrollados en fundiciones y acerías, producen emisiones que contribuyen a la formación de partículas finas. Pueden permanecer en la atmósfera durante días o semanas y ser transportadas hasta miles de kilómetros por el aire[9][44].

1.3.2. Clasificación por su fuente de emisión

Otra clasificación posible de los aerosoles es teniendo en cuenta su fuente de emisión. Estas fuentes pueden ser naturales o antropogénicas[61].

Aerosoles de origen natural

Estos aerosoles incluyen tanto materia biológica como orgánica. La materia biológica es un producto primario (es decir, las partículas se inyectan directamente en la atmósfera, ya sea desde la biósfera o desde otras superficies) mientras que las partículas orgánicas son productos secundarios (es decir, partículas que se forman en la atmósfera)[61].

Dentro de los aerosoles de origen natural más importantes pueden mencionarse el polen, las esporas de hongos, microorganismos, aquellos producidos en océanos, polvo mineral, volcanes y la quema de biomasa, entre otros.

El polen, las esporas y los fragmentos de animales y plantas generalmente están en el rango de tamaño de μm , mientras que las bacterias, algas, protozoos, hongos y virus son más pequeños.

La existencia de microorganismos y otras partículas biológicas en el ambiente es temporal. La atmósfera es sólo un vehículo para el transporte de estas partículas. No es un hábitat donde se alimentan y se reproducen.

Los océanos son una fuente importante de microorganismos. Las micro capas de microbios se acumulan alrededor de las burbujas de aire a medida que se elevan hacia la superficie del océano, y luego estos microbios se expulsan al aire cuando estallan las burbujas[5]. Las algas y los protozoos también pueden ser expulsados a la atmósfera con la espuma de mar[27].

Las concentraciones de microorganismos dependen de la ubicación, la meteorología y la época del año. Alrededor de las ciudades las concentraciones de bacterias son más altas que en el campo y los océanos[7]. Se han encontrado partículas biológicas mayores a $2 \mu\text{m}$ de radio en concentraciones más altas en áreas rurales que en áreas urbanas. La distribución de tamaño va de $0,3$ a $50 \mu\text{m}$ de radio.

El polvo mineral es otro de los aerosoles naturales presentes en la atmósfera, siendo éste uno de los mayores contribuyentes a la carga global de aerosoles, con importantes impactos asociados[19][42][76]. Las fuentes principales son generalmente desiertos, lechos de lagos secos y superficies semiáridas, pero cualquier tipo de suelo es una fuente potencial de este tipo de aerosol. Factores como la superficie del suelo (textura y rugosidad), la humedad del suelo y la cobertura vegetal, así como los cambios en los parámetros climáticos como la velocidad del viento y la precipitación, regulan la emisión de partículas minerales[24][74].

Otra fuente importante de aerosoles son los volcanes. Si bien las grandes erupciones volcánicas pueden hacer importantes contribuciones al reservorio de aerosoles estratosféricos, las descargas de la mayoría de los volcanes permanecen principalmente en la tropósfera. Las erupciones volcánicas suelen proporcionar dos componentes para la formación de aerosoles: gases precursores para la conversión de gas a partículas, y polvo y cenizas insolubles en agua. Hofmann (1988) afirma que la mayoría de las partículas expulsadas a la atmósfera por los volcanes son demasiado grandes para el transporte a larga distancia y se asientan rápidamente.

Por último, las partículas y gases producidos en la quema de biomasa han recibido gran atención recientemente. Las partículas de hollín y las cenizas se inyectan directamente en la atmósfera durante la quema. Si bien la quema de biomasa se asume como una fuente natural de aerosoles, un alto porcentaje de incendios forestales son producidos por acción del hombre. Dentro de estos últimos no sólo deben entenderse aquellos originados accidentalmente sino también los producidos de manera intencional, tales como las quemaduras provocadas para ampliar áreas en vista de la cría de ganado o cultivos agrícolas.

Aerosoles de origen antropogénico

Las actividades humanas alteran los ciclos climáticos naturales del planeta. Particularmente en lo que respecta a la formación de nubes, modifican la concentración y el tipo de aerosoles emitidos a la atmósfera[34] y, con ello, alteran la concentración y tipo de partículas nucleantes. A nivel mundial

la carga media de los aerosoles antropogénicos se ha incrementado desde el período preindustrial hasta la actualidad[41]. Las principales fuentes de estos tipos de aerosoles se encuentran en áreas urbanas e industriales. Dentro de las más importantes pueden mencionarse el tráfico automotriz (emisiones producidas por la combustión, abrasión de la superficie de calles, desgaste de los frenos y neumáticos), diferentes actividades industriales (emisiones de plantas de energía, refinerías de petróleo), construcción (excavaciones, movimiento de suelos, demoliciones) y emisiones domésticas (calefacción). En las zonas rurales, por otro lado, las principales fuentes de aerosoles son la quema de biomasa y las emisiones debidas a diversas actividades agrícolas[9].

El tráfico automotriz, especialmente en zonas urbanas, es la principal fuente de aerosoles antropogénicos primarios y secundarios. Estas partículas varían mucho en tamaño y composición química dependiendo de los mecanismos involucrados en su formación. Por ejemplo, debido a que los neumáticos contienen una gran variedad de componentes orgánicos e inorgánicos, la investigación sobre la composición química del caucho de los neumáticos y los residuos de desgaste es aún incompleta[57].

Existe una amplia gama de actividades industriales que emiten a la atmósfera partículas o gases que son precursores de partículas[9]. Algunas de las actividades que generan más emisiones de partículas son las industrias que producen cerámica, ladrillos y cemento, fundiciones, minas y canteras, todas las cuales liberan grandes cantidades de aerosoles primarios, ya sea durante la producción misma o durante la manipulación y transporte de las materias primas empleadas.

La producción de energía a partir de combustibles fósiles es una fuente importante de gases que actúan como precursores de aerosoles secundarios. La combustión del carbón, utilizada principalmente para producir electricidad y calor, constituye otra fuente importante de partículas y contaminantes gaseosos[65].

Como se mencionó anteriormente, la quema de biomasa es una fuente natural y antropogénica de aerosoles. Incluye la quema de bosques, pastizales y tierras agrícolas después de las actividades de cosecha para preparar la tierra para el próximo año. La quema de biomasa es una fuente importante de gases y partículas atmosféricas en todo el mundo con un fuerte efecto no sólo a escala regional, sino también en sitios a miles de kilómetros de la fuente. Los aerosoles generados por la quema de biomasa consisten principalmente en compuestos carbonáceos. Una fracción importante de toda la combustión de biomasa se produce en estufas domésticas que, aunque de pequeña escala, se utilizan en un número considerable de hogares y contribuyen a la contaminación atmosférica.

La quema de basura constituye una importante fuente de emisión tanto en zonas urbanas como rurales. La quema de basura no está incluida en la mayoría de la bibliografía porque generalmente es ilegal. La basura es un combustible heterogéneo. Contiene no sólo una gran cantidad de biomasa sino también una gran cantidad de plástico, papel y otros materiales, como textiles, caucho, cuero, vidrio, metal, etc[37].

1.4. Aerosoles como nucleantes

Tal como se mencionó anteriormente, algunos aerosoles actúan como INPs en alguno de los cuatro modos de nucleación heterogénea. De estos cuatro, el modo por inmersión es el dominante en nubes de fase mixta, las cuales están compuestas de partículas de hielo y gotas de agua sobreenfriadas. Estas nubes se forman típicamente en condiciones de saturación de agua, a temperaturas entre -36°C y 0°C .

Aerosoles como INPs por inmersión

Sólo una parte de las gotas de agua que contienen INPs pueden congelarse heterogéneamente. Dado que la fase hielo es termodinámicamente más estable que la fase agua a temperaturas menores a los 0°C , se espera que los cristales de hielo en las nubes mixtas puedan crecer a expensas de las gotas (Proceso de Bergeron), lo que influye en el tiempo de vida de la nube y sus propiedades radiativas.

Ciertas partículas biológicas pueden actuar como INPs[38]. Este es el caso de bacterias[43][75][67][59][28][40], polen[21] y abrasiones foliares[60]. Umo et al. (2015) y Grawe et al. (2016) estudiaron este tipo de aerosoles en el modo de inmersión y ambos encontraron que éstos actúan como INPs.

Debido a la falta de información sobre la abundancia atmosférica de las cenizas volcánicas, sumado a la gran diferencia de los métodos utilizados, aún no se puede determinar su importancia como INP.

En lo que respecta al papel de los aerosoles antropogénicos como INPs, a pesar de la gran cantidad de estudios sobre este tema los resultados son contradictorios. Algunos muestran que los aerosoles con origen en el carbón negro no son buenos INPs[58][12]. Chou et al. (2013) observaron que las partículas emitidas por los motores diésel y la combustión de madera forman hielo a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se necesitaba una humedad relativa inusualmente alta para el congelamiento por encima de esta temperatura. Schill et al. (2016) mostraron que ni las emisiones recientes ni las envejecidas de los motores diésel contribuyeron de manera apreciable a las concentraciones atmosféricas de INPs. Chen et al. (2018) concluyen que a pesar de la alta contaminación en la atmósfera urbana de Beijing no aumentó ni disminuyó la concentración de INPs en el rango de temperatura examinado ($-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) en comparación con los valores observados en áreas no urbanas. Por último, algunos estudios consideran que los aerosoles con origen en el carbón negro son posibles INPs[14][13].

De esta revisión bibliográfica puede observarse que no hay resultados concluyentes con respecto al papel de los aerosoles en su rol como INPs. Por este motivo actualmente la comunidad científica necesita de trabajos experimentales que contribuyan a comprender el papel de los aerosoles como nucleantes y, de esta forma, su influencia sobre los procesos de formación de nubes y el clima en general. El trabajo reciente de Kok et al. (2018)[36], al analizar la retroalimentación directa entre aerosoles y clima, resalta esta necesidad. En esta misma necesidad se fundamenta el desarrollo del presente trabajo.

Metodologías de estudio en el modo inmersión

El estudio de los aerosoles que actúan como nucleantes puede abordarse mediante técnicas in situ, de campo y de laboratorio.

Las mediciones in situ se realizan a través de vehículos aéreos no tripulados, mientras que las de campo se llevan a cabo por medio de sensores remotos que permiten establecer la concentración de aerosoles y su distribución en la atmósfera[47].

Existen diversas técnicas de laboratorio que permiten estudiar la eficiencia de un aerosol como INP en el modo de congelación por inmersión. Una de las más utilizadas consiste en congelar gotas de agua sobreenfriadas con partículas inmersas en su interior, y registrar la temperatura a la cual estas gotas se congelan. Esta técnica es la utilizada por Ardon-Dryer y Levin (2011), quienes hacen uso de un dispositivo experimental que permite, mediante una placa Peltier, disminuir gradualmente la temperatura de gotas de agua pura y gotas de agua con partículas inmersas en ellas. Si la temperatura de congelación de las gotas con partículas inmersas es superior a la temperatura de las gotas de agua pura, esto implica que tales partículas actúan como INPs en el modo de nucleación por inmersión. Es decir, tales partículas están favoreciendo la formación de hielo al promover un incremento en la temperatura de congelación respecto al agua pura.

1.5. Motivaciones y objetivo

De todo lo expuesto, y a modo de síntesis, las nubes ejercen una influencia muy importante sobre el sistema atmosférico. Son uno de los elementos principales en el balance radiativo de la Tierra e intervienen en el ciclo hidrológico, afectando al clima en general[54]. También contribuyen a la eliminación de material particulado y gases de la atmósfera, suministran un medio para las reacciones químicas en fase acuosa e influyen en la electrificación de las tormentas[61]. El efecto de las nubes sobre estos procesos depende de las características de las gotas y los cristales de hielo que las constituyen.

En este contexto, el objetivo general del presente trabajo es contribuir al avance en el conocimiento del efecto de los aerosoles sobre el clima en general, a través de su papel como partículas nucleantes que inician los procesos de formación de nubes.

El objetivo particular del presente trabajo es evaluar el papel de diferentes tipos de aerosoles como partículas nucleantes de hielo en el modo de inmersión, siguiendo la técnica de congelación de gotas utilizada por Ardon-Dryer y Levin (2011). Mediante esta metodología, este trabajo provee

un análisis de la eficiencia como INP tanto de aerosoles naturales (polen, material vegetal, liquen y aquellos producidos durante la quema de biomasa) como antropogénicos (partículas generadas en la combustión automotriz y una industria de reciclado de papel).

Capítulo 2

Materiales y métodos

En el presente capítulo se describe la metodología de colección de las partículas que se desean evaluar como INPs y su posterior caracterización. También se explica el procedimiento de inmersión de las partículas en agua para preparar suspensiones y la técnica por la cual se registra la temperatura de congelación de gotas de estas suspensiones.

2.1. Material colectado

Se colectaron tanto aerosoles como partículas a nivel de superficie que, una vez suspendidas en la atmósfera, actúan como aerosoles. En la Figura 2.1 se observa un esquema del material colectado.

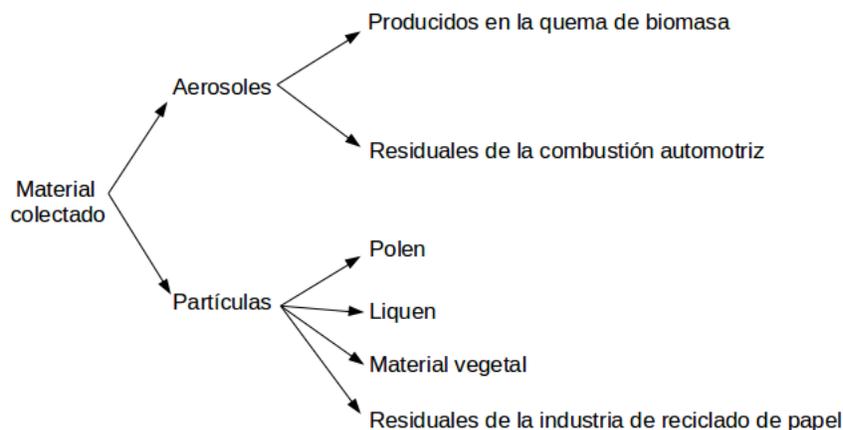


Figura 2.1: Esquema del material colectado.

2.1.1. Aerosoles

Se estudiaron aerosoles tanto de origen natural (procedentes de la quema de biomasa) como antropogénicos (residuales de la combustión automotriz). Por razones de simplicidad, de ahora en más se referirá a los aerosoles procedentes de la quema de biomasa y de la combustión automotriz como “quema de biomasa” y “combustión automotriz”, respectivamente.

Los aerosoles se colectaron mediante una bomba de vacío (Diaphragm vacuum pump, GM-0,5), utilizando un filtro de nitrato de celulosa (MCE, Merck Millipore®, tamaño de poro $0,45\mu\text{m}$) cuyo

esquema se puede observar en la Figura 2.2.

Luego de la colección, estos filtros fueron sumergidos en agua ultrapura (conductividad de $0,054 \mu\text{S}/\text{cm}$) y colocados en un lavador ultrasónico Testlab (por un lapso de 1 hora a una temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$). Este procedimiento permite suspender en el agua los aerosoles colectados.

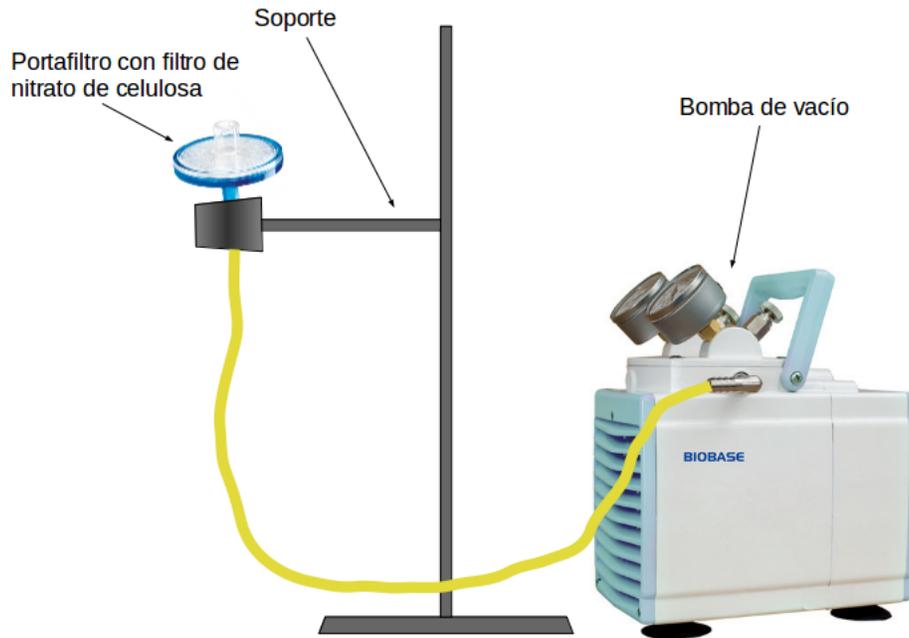


Figura 2.2: Esquema del dispositivo utilizado para la colección de aerosoles

En la Tabla 2.1 se presentan los valores de masa de los filtros posterior a la colección y la masa, tras pasar por el lavador ultrasónico, del filtro ya seco conteniendo el residuo de muestra que no fue transferido al agua ultrapura. La diferencia de ambas masas permitió determinar la cantidad de muestra colectada y depositada en el agua ultrapura.

Muestra	Masa [mg] $\pm 0,01$ mg		
	Colectada + filtro	Residual + filtro	Muestra en el agua
Combustión automotriz	76,91	75,22	1,69
Quema de biomasa	81,92	67,34	14,58

Tabla 2.1: Masa de los filtros luego del muestreo y masa residual luego del lavado ultrasónico. En la última columna se observa la diferencia entre ambas masas, la cual es la cantidad de muestra depositada en el agua ultrapura.

2.1.2. Partículas

Entre las partículas analizadas hay de origen natural, como el polen, el líquen y el material vegetal, y de origen antropogénico, como lo son las partículas residuales de la industria del reciclado de papel.

Polen

Se colectó de manera directa a partir del estambre de flores de la especie *Hibiscus rosa-sinensis*, llamada comúnmente rosa China, cayena, amapola, hibisco, entre otros nombres. Se colectó el polen de esta especie considerando la facilidad de colección y la abundancia de sustancia por unidad floral.

La Figura 2.3 muestra una foto de un ejemplar de rosa China. Puede observarse el tamaño de los estambres y pistilos y la abundancia del polen (en color amarillo) que contiene cada unidad floral, mientras que en la Figura 2.4 se observa el polen ya extraído de las flores.



Figura 2.3: Rosa China de la cual se extrajo la muestra de polen



Figura 2.4: Polen colectado

Liquen

Se colectó de manera directa de la corteza de un pino, luego se lo trituró en un mortero. En la Figura 2.5 se observa la corteza del pino con el liquen depositado y en la Figura 2.6 el liquen ya separado de la misma.



Figura 2.5: Corteza del pino de la cual se extrajeron las muestras de liquen (color anaranjado).



Figura 2.6: Liquen separado de la corteza.

Material Vegetal

Se colectaron flores de la especie *Taraxacum officinale*, comúnmente llamada diente de león (Figura 2.7). Se eligió esta especie por su abundancia en pastizales, caminos y jardines, y por extenderse prácticamente en todos los continentes.

Las flores colectadas se dejaron secar a temperatura ambiente, para luego ser trituradas en un mortero. En la Figura 2.8 se pueden observar las flores colectadas para su posterior secado.



Figura 2.7: Foto de flor *Taraxacum officinale*, comúnmente llamada “diente de león”.

Figura 2.8: Muestras preparadas para dejar secar a temperatura ambiente.

Esta muestra denominada “material vegetal”, contiene además del polen, todas las partes que componen la flor.

Partículas residuales de la industria de reciclado de papel

Se colectó de manera directa en una planta de reciclado de cartón, DPM S.A.[®], en Carlos Pellegrini, Santa Fe. La colección se llevó a cabo en la cizalladora, la cual fracciona la bobina de cartón. Por razones de simplicidad, de ahora en más se referirá a estas partículas como “residuo de papel”.

2.2. Caracterización del material colectado

La caracterización del material colectado se realizó con un microscopio electrónico de barrido (SEM, por sus siglas en inglés Scanning Electron Microscope) y un microscopio confocal en el Laboratorio de Microscopía Electrónica y Análisis por Rayos-X (LAMARX) de la FaMAF (UNC). A partir de este análisis se determinó la diferencia química y morfológica de los distintos tipos de partículas colectadas. En los apéndices A y B se describen, respectivamente, los fundamentos de las dos microscopías utilizadas.

2.3. Preparación de suspensiones

Para poder reproducir de manera experimental el proceso de nucleación por inmersión de las gotas de agua, se llevó a cabo la preparación de distintas suspensiones del material colectado en agua ultrapura.

Para la preparación de las suspensiones de las partículas colectadas directamente desde su fuente se pesó el material en una balanza (Mettler Toledo XP205, DeltaRange[®]) y se adicionó un determinado volumen de agua (diferente en cada caso, para lograr la concentración que se muestra en la Tabla 2.2) utilizando micropipetas automáticas (Pipette CE IVD[®]).

La concentración de la suspensión de aerosoles fue la obtenida luego del lavado ultrasónico de los filtros en un volumen definido de agua ultrapura (Ver Tabla 2.1).

Las concentraciones obtenidas se muestran en la Tabla 2.2. En todos los casos los valores de concentración se encuentran en el orden de aquellos valores utilizados en bibliografía (e.g. Pummer et al., 2012; Tobo, 2016).

Material colectado	Concentración [mg/mL]
Residuo de papel	5,89
Quema de biomasa	2,27
Material vegetal	0,64
Liquen	0,57
Combustión automotriz	0,24
Polen	2,94

Tabla 2.2: Concentración de cada suspensión utilizada.

2.4. Dispositivo experimental

Se realizaron mediciones experimentales de la temperatura de congelación de gotas de las suspensiones preparadas. Estas mediciones permiten analizar el comportamiento de los distintos aerosoles y partículas recogidas como INPs por el modo de nucleación por inmersión.

El dispositivo experimental consistió en una placa de aluminio, montada sobre una celda Peltier, la cual se encuentra sobre un disipador de calor. Las gotas se depositaron sobre una cinta delgada de teflón que cubría la placa. Dado que el teflón es un material hidrofóbico, evita la formación de hielo en la superficie de la placa durante el proceso de enfriamiento y disminuye la superficie de contacto de la gota, manteniendo la esfericidad de la misma.

Se utilizó una pipeta automática para depositar sobre la cinta de teflón gotas de $5 \mu\text{L}$ de las diferentes suspensiones. El diámetro promedio de las mismas es de $(2,31 \pm 0,01)\text{mm}$ (se detallará en la sección 3.2.1). La temperatura se disminuyó a una velocidad constante de $1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. (e.g. Ardon-Dryer y Levin, 2014) variando la corriente de la celda Peltier con una fuente de corriente continua (BAW HY3005D de 30V-5A). La temperatura de la placa de aluminio, considerada la temperatura de la gota (y referida de ahora en más de esa manera) se midió mediante una termocupla ubicada en un orificio realizado en la placa de aluminio. En la Figura 2.9 se observa el dispositivo placa/celda/disipador desde una vista superior y una lateral en la Figura 2.10. Cuatro de estos dispositivos se ubicaron dentro de un freezer, lo cual permitió medir cuatro gotas de manera simultánea.

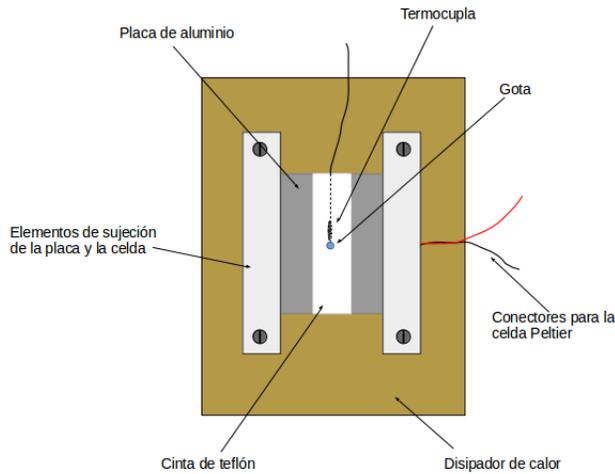


Figura 2.9: Esquema del dispositivo experimental utilizado para congelar y medir la temperatura de las gotas dentro del freezer: vista superior.

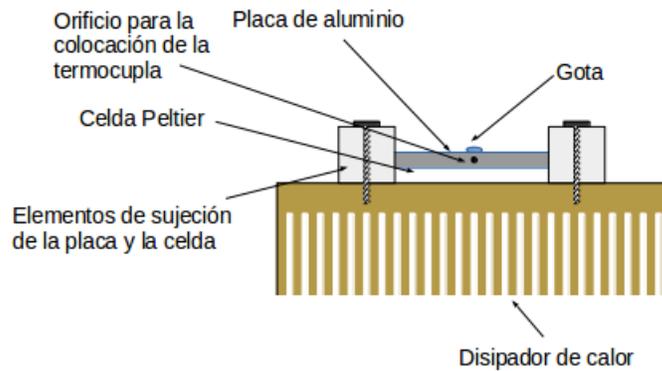


Figura 2.10: Esquema del dispositivo experimental utilizado para congelar y medir la temperatura de las gotas dentro del freezer: vista lateral.

En la Figura 2.11 se observa un esquema del dispositivo completo que se colocó dentro del freezer. Durante la disminución de la temperatura de la gota, la misma fue monitoreada mediante un microscopio digital (USB Digital Microscope Nisuta NS-DIMI de 5 mpx de resolución y zoom 200X).

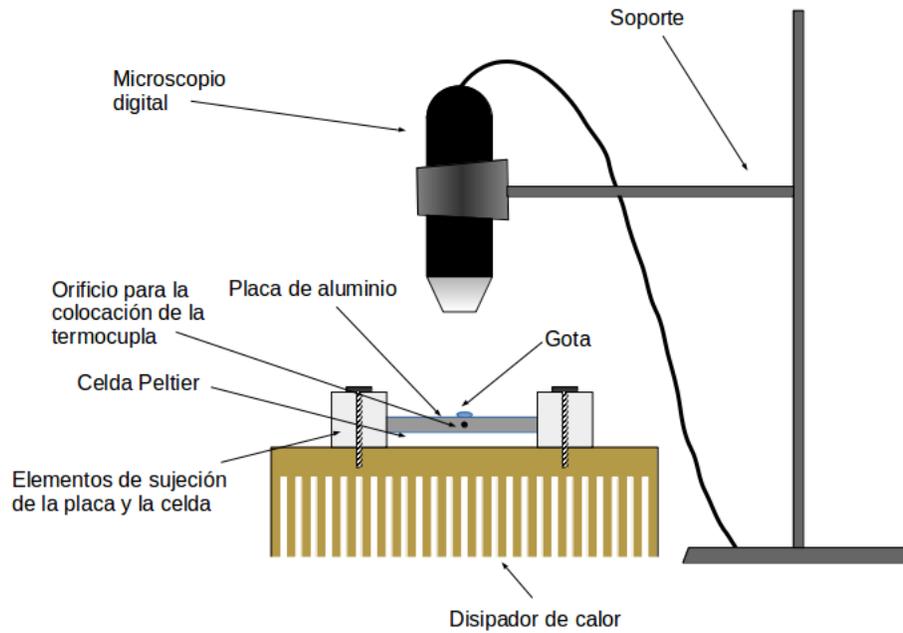


Figura 2.11: Esquema del dispositivo experimental utilizado dentro del freezer. Debajo del microscopio digital se observa el disipador de calor, la celda Peltier y la placa de aluminio.

El microscopio permite detectar los cambios en la opacidad de las gotas debido al cambio de fase. En la Figura 2.12 se puede observar una gota en fase líquida y en la Figura 2.13 la misma gota luego de congelarse.



Figura 2.12: Gota observada con el microscopio digital. Las manchas que se observan son las partículas de material vegetal, suspendidas en el agua ultrapura.

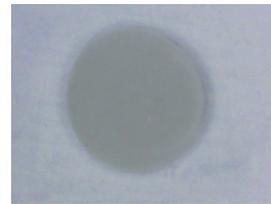


Figura 2.13: Imagen de la gota mostrada en la Figura 2.12 cuando se congeló.

Este cambio de color en las imágenes permite determinar el momento en que la gota se congela y registrar la temperatura de la placa de aluminio.

Para cada experimento, el procedimiento de medición fue el siguiente:

- Se cubre la placa con cinta de teflón.
- Se coloca la gota de suspensión.
- Se coloca el dispositivo en el freezer a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos para permitir que el sistema alcance el equilibrio térmico.

- Se enfría el sistema (Peltier) a una tasa de 1 °C/minuto.
- Se registra la temperatura de congelación de la gota.

Este tipo de configuración experimental ya se ha utilizado para estudios de congelación por inmersión[64][3].

A los fines de determinar un valor de referencia se registró la temperatura de congelación de gotas de agua ultrapura. De esta manera, serán nucleantes efectivos aquellas partículas que promuevan la congelación de las gotas a temperaturas superiores a las que se congelan las gotas de agua ultrapura.

2.5. Corrección de termómetros

Para la corrección de la medición realizada con el dispositivo termocupla/multímetro se hizo uso de un termómetro patrón (Fluke®, 2189A). El procedimiento se llevó a cabo en el rango de temperatura (-25 °C a -5 °C) que constituye el intervalo de temperaturas de trabajo.

Se colocaron el termómetro patrón y las termocuplas dentro de un recipiente (para evitar efectos de ventilación) en el seno del freezer. Una vez que se alcanzó la temperatura mínima (-25 °C) de trabajo, se apagó el freezer y se dejó subir la temperatura, tomando las mediciones cada un tiempo arbitrario cada vez que se observaba el ascenso de 1°C aproximadamente.

A modo de ejemplo, la Figura 2.14 muestra la relación entre la temperatura obtenida con el termómetro patrón y la de una de las termocuplas utilizadas.

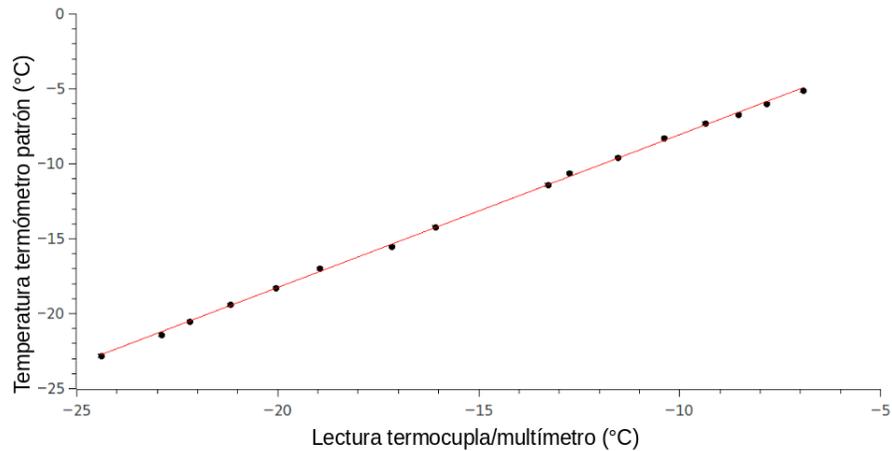


Figura 2.14: Relación entre los valores de temperatura obtenidos del termómetro patrón con las mediciones del sistema termocupla/multímetro. La línea roja representa un ajuste lineal entre ambas variables.

Capítulo 3

Resultados y discusión

Dado que el objetivo particular del presente trabajo es evaluar el papel de diferentes tipos de aerosoles y partículas como nucleantes de hielo en el modo de inmersión, se llevaron a cabo mediciones de la temperatura de congelación de gotas siguiendo la técnica explicada en la sección 2.4. Para cada suspensión, así como también para el agua ultrapura, se evaluaron 25 gotas de $5 \mu\text{L}$.

En este capítulo se presenta, en primer lugar, la caracterización de las muestras mediante los diferentes tipos de microscopía y los espectros de rayos X. Posteriormente, se muestran las mediciones de temperatura de congelación obtenidas y los resultados de los test estadísticos que se llevaron a cabo, tales como el Test de Levene para probar la homogeneidad de las varianzas, el Test de ANOVA para detectar diferencias significativas entre los métodos de estimación y el Test de Bonferroni para realizar comparaciones entre pares de métodos.

Por último, se muestra la determinación de la cantidad de sitios activos por grano de polen.

3.1. Caracterización de las muestras

Residuo de papel

En la Figura 3.1 se presenta la imagen SEM de la muestra de partículas residuales de la industria de reciclado de papel. Se puede apreciar una estructura fibrosa propia del papel o cartón, la cual también se muestra en los trabajos de Thoden van Velzen[63] y Vargas[69]. En la Figura 3.2 se muestra el espectro característico de rayos X. Para obtener este espectro, así como también los de las demás muestras, se realizó un baño de carbono sobre las mismas a los fines de hacerlas más conductoras. Es por ello que en todos los espectros se verá un pico de carbono. En la descripción de los espectros debe tenerse en cuenta que la procedencia de carbono en la muestra se verá enmascarada por el carbono asociado al baño realizado. En el espectro presentado en la Figura 3.2 se observa la presencia de carbono y oxígeno, como así también picos para sodio, magnesio, aluminio, silicio, azufre, cloro, potasio, hierro y calcio. Estos elementos son característicos de muestras orgánicas, ya que son componentes de las estructuras celulares[15]. En el espectro también puede observarse un pico alrededor de los 8 keV que se corresponde con el cobre y se asocia a una impureza del baño de carbono.

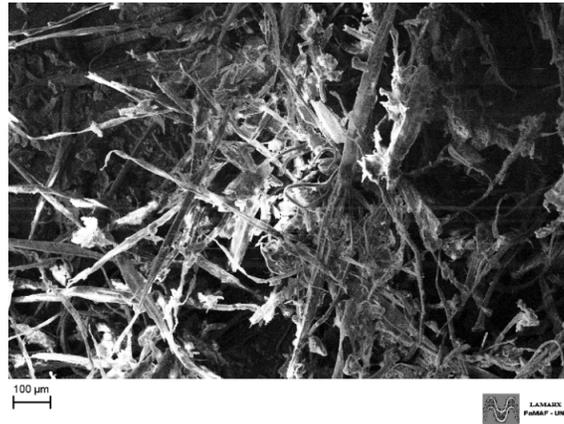


Figura 3.1: Imagen SEM de la muestra de partículas residuales de la industria de reciclado de papel.

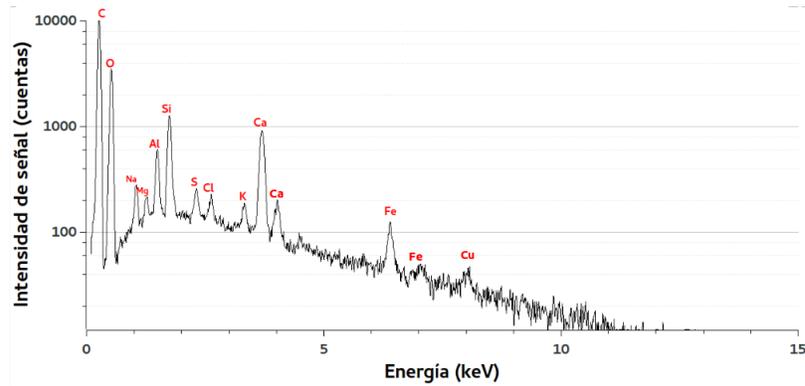


Figura 3.2: Espectro de rayos X de la muestra de partículas residuales de la industria de reciclado de papel.

Quema de biomasa

En la Figura 3.3 se presenta la imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la quema de biomasa y en la Figura 3.5 su respectivo espectro de rayos X. En la imagen SEM se identifica una clara estructura correspondiente a partículas carbonáceas, las cuales se caracterizan por presentarse como conglomerado de esférulas. Estas últimas constituyen las partículas primarias del conglomerado, y se constituyen mayoritariamente de carbono[33]. En la Figura 3.4 se muestra la semejanza con otra imagen SEM obtenida en bibliografía de partículas carbonáceas generadas por la quema de biomasa[45].

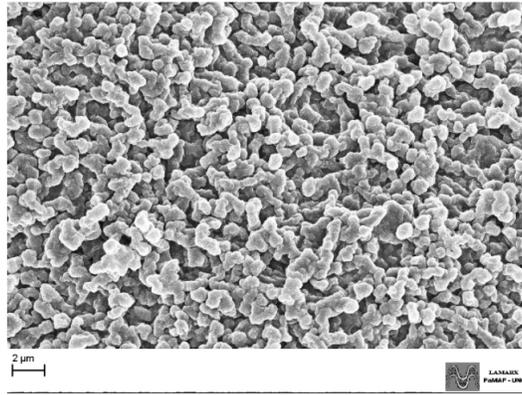


Figura 3.3: Imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la quema de biomasa.

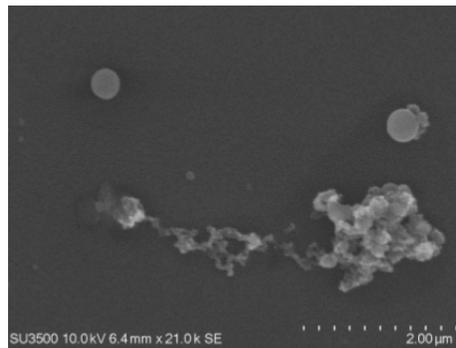


Figura 3.4: Imagen extraída del trabajo de Manfred et al.(2018)[45] “*Investigating biomass burning aerosol morphology using a laser imaging nephelometer.*”

En el espectro (Figura 3.5) se pueden observar picos para el carbono y el oxígeno, lo que confirma que este aerosol pertenece a los compuestos carbonáceos. Esto se corresponde con lo observado por Calvo et al. (2012)[9] y Bondy et al. (2018)[6]. El pico de carbono se atribuye entonces, además de al baño, a la presencia de este elemento en la muestra. También se aprecia en el espectro el pico de cobre asociado al baño de carbono.

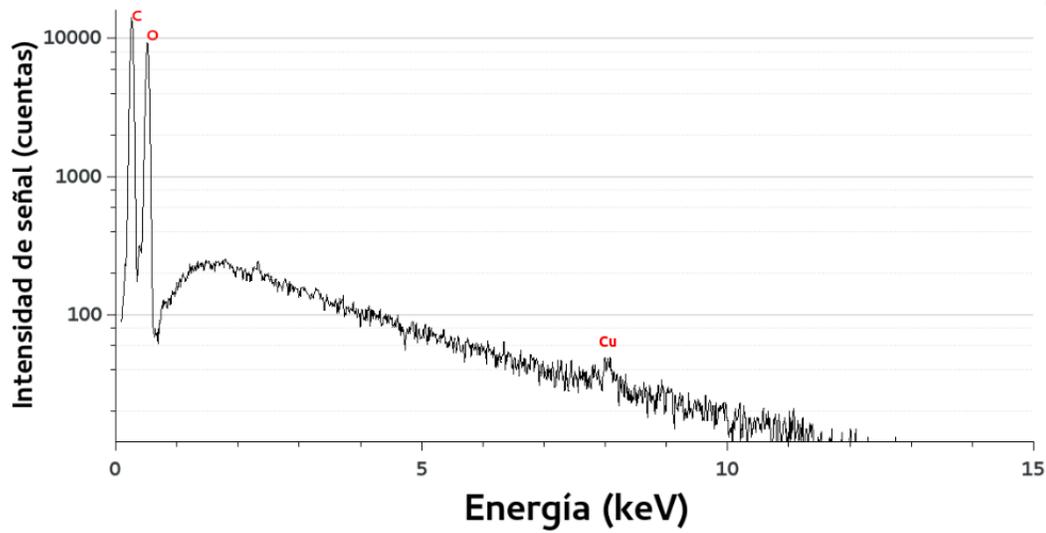


Figura 3.5: Espectro de rayos X de la muestra de partículas liberadas durante la quema de biomasa.

Material vegetal

En la Figura 3.6 se presenta la imagen SEM de la muestra de material vegetal, donde se observa una estructura irregular tanto en tamaño como en forma. Estas irregularidades se atribuyen a que esta muestra fue procesada con un mortero durante su tratamiento. En la Figura 3.7 se ve su correspondiente espectro de rayos X. En él se ven picos de carbono, oxígeno, sodio, silicio, fósforo, azufre, potasio, cloro y calcio. Todos estos elementos son macronutrientes y micronutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas[4][48][62]. También se aprecia en el espectro el pico de cobre asociado al baño de carbono.

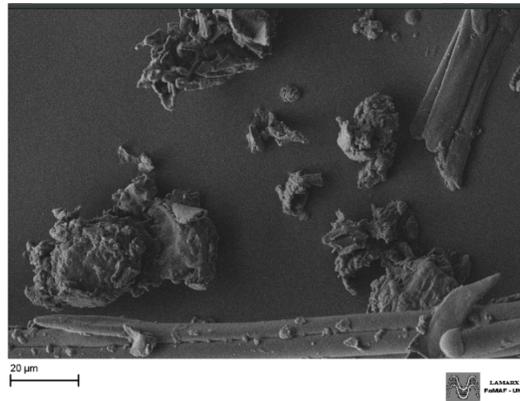


Figura 3.6: Imagen SEM de la muestra de material vegetal.

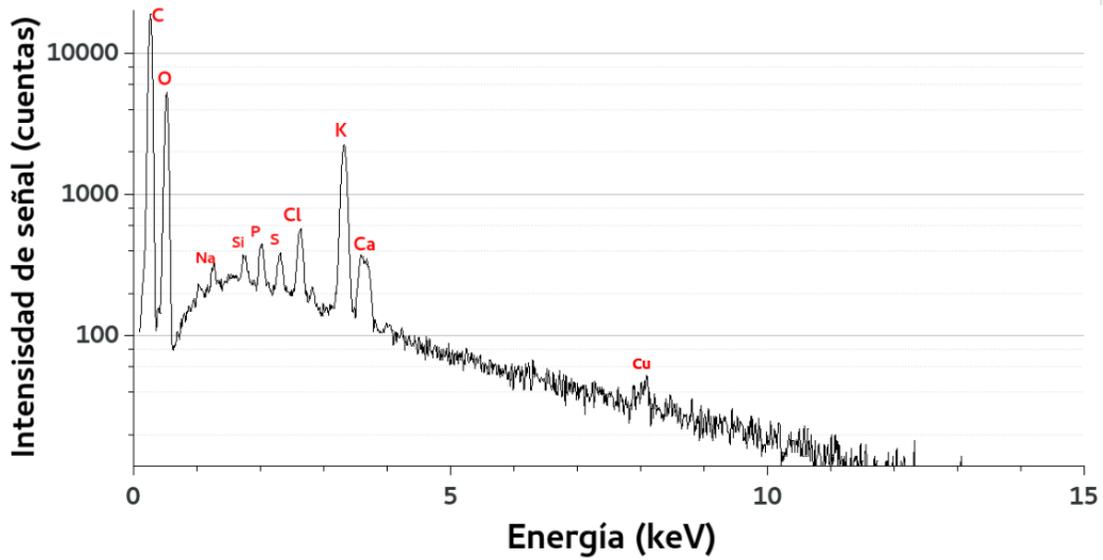


Figura 3.7: Espectro de rayos X de la muestra de material vegetal.

Liquen

En la Figura 3.8 se presenta la imagen SEM de la muestra de liquen, donde se observa una estructura irregular en tamaño y forma. Al igual que en la muestra de materia vegetal, estas irregularidades se asocian al procesamiento de la muestra con mortero durante su tratamiento, en contraposición con las partículas generadas en la quema de biomasa. En la Figura 3.9 se muestra su correspondiente espectro de rayos X. En él se ven picos de carbono y oxígeno, como así también sodio, magnesio, aluminio, silicio, fósforo, azufre, potasio, hierro y calcio. Nuevamente, estos elementos son componentes característicos de las estructuras biológicas.

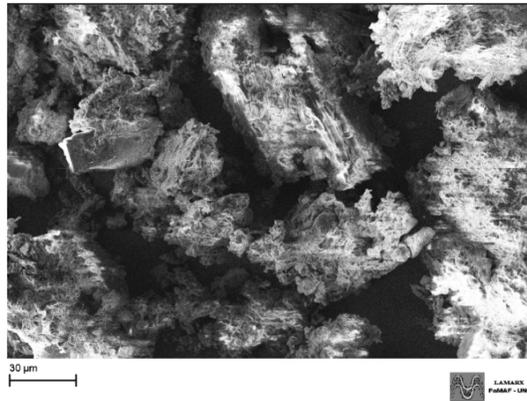


Figura 3.8: Imagen SEM de la muestra de liquen.

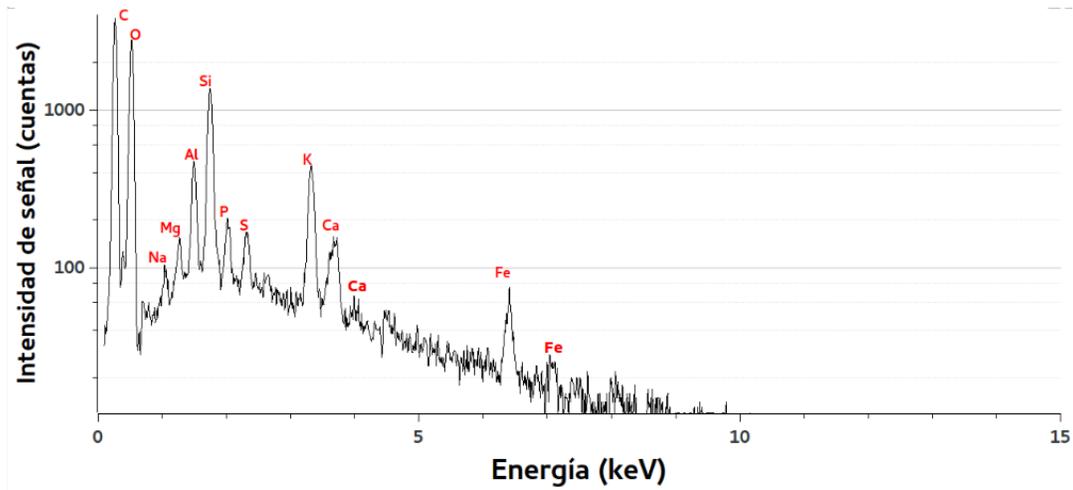


Figura 3.9: Espectro de rayos X de la muestra de líquen.

Combustión automotriz

En la Figura 3.10 se observa la imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la combustión de un motor diésel. Se observa que las estructuras de las partículas es similar a la observada en las partículas generadas en la quema de biomasa. Esto se debe a que también se trata de partículas carbonáceas.

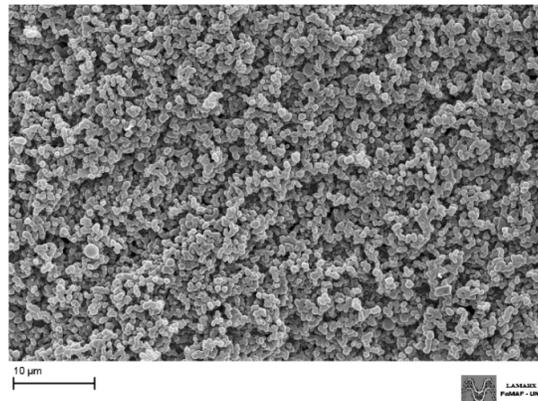


Figura 3.10: Imagen SEM de la muestra de partículas liberadas durante la combustión de un motor diésel.

En la Figura 3.11 se muestra la semejanza con otra imagen SEM obtenida en bibliografía de partículas carbonáceas generadas en la combustión del diésel[46].

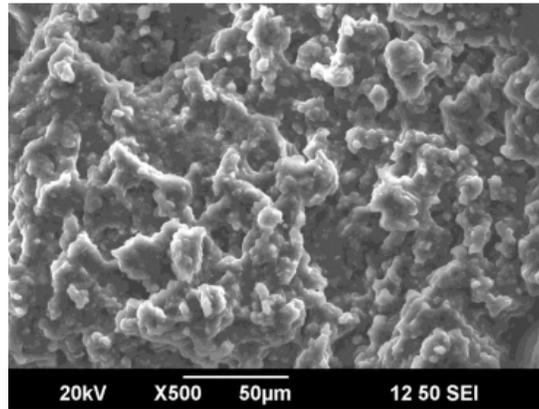


Figura 3.11: Imagen extraída del trabajo de Manoj et al.(2012) “*Characterization of Diesel Soot from the Combustion in Engine by X-ray and Spectroscopic techniques.*”

En la Figura 3.12 se muestra el espectro de rayos X de la muestra, donde se observa la presencia de carbono y oxígeno, como así también picos para silicio, azufre, manganeso, níquel, cobre y zinc. A diferencia de los espectros de algunas de las muestras anteriores, ya no se observan aquí elementos presentes en las estructuras celulares. Si bien en el espectro de la figura no llegan a diferenciarse los picos correspondientes, el análisis cuantitativo mostró la presencia, en concentraciones menores al 1%, de S, Mn, Ni y Zn (además de cobre, impureza asociada al baño de carbono realizado sobre la muestra). La presencia de estos elementos en concentraciones tan pequeñas (especialmente de los metales pesados) es un claro indicativo del origen antropogénico de esta muestra.

Así, por ejemplo, diversos compuestos de azufre se agregan a los lubricantes, por lo que la presencia de azufre en los aerosoles se asocian al tráfico. Esto también es válido para el níquel, dado que altos niveles de este metal se han visto asociados a alta densidad de tráfico (Amato et al., 2009)[2]. Por su parte, el zinc está presente en el material de desgaste de los neumáticos, así como también en las emisiones del tubo de escape debido a su uso en el aceite del motor. Por último, el cobre también es un indicador de tráfico y suele encontrarse presente, por ejemplo, en el material de desgaste de los frenos (Viana et al. 2008)[70], aunque debe tenerse en cuenta que su presencia en el espectro puede asociarse también a una impureza del baño de carbono.

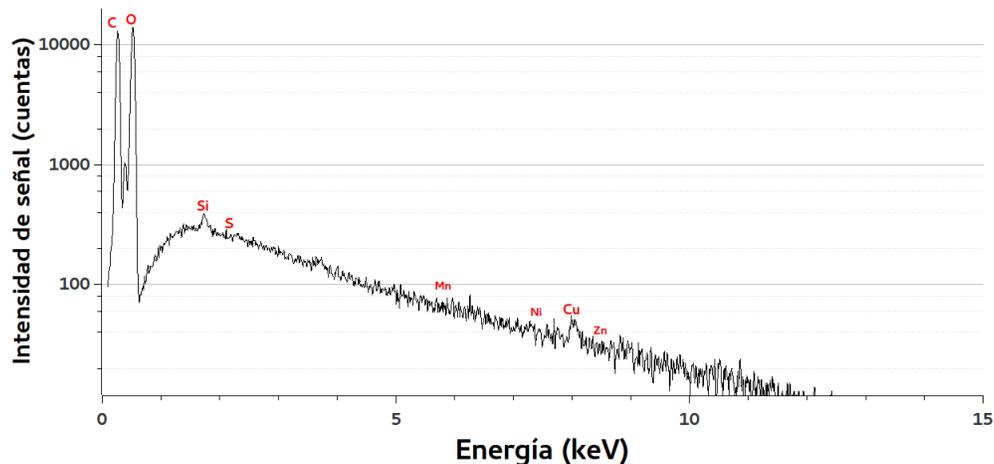


Figura 3.12: Espectro de rayos X de la muestra de partículas liberadas durante la combustión de motor diésel.

Polen

En la Figura 3.13 se presenta la imagen SEM de la muestra de polen, donde se observa una estructura esférica con puntas, mientras que en la Figura 3.17 se puede observar el espectro de rayos X. La Figura 3.14 muestra, a los fines comparativos, la imagen SEM de diferentes tipos de polen, obtenida del sitio web NASA/Goddard Space Flight Center. Puede notarse la similitud entre ambas imágenes. Sin embargo, en la imagen SEM obtenida los granos de polen presentan cierto aplastamiento debido a la condición de vacío requerido por la técnica. Dado que el grano de polen presenta un alto contenido de agua, al realizarse vacío la expulsión de la misma conduce a la deformación de los granos. La Figura 3.15 muestra la imagen del polen obtenida con el microscopio confocal, el cual no requiere de vacío. Con este microscopio puede obtenerse una imagen del polen sin sufrir ninguna alteración. De la comparación de las imágenes en las Figura 3.14 y Figura 3.15 pueden observarse la semejanza morfológica entre el polen muestreado y el de otras especies.

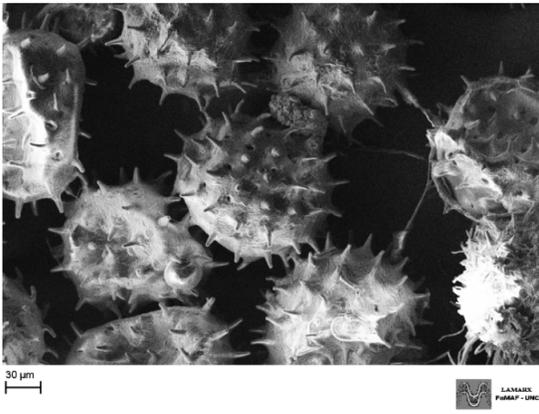


Figura 3.13: Imagen SEM de la muestra de polen.

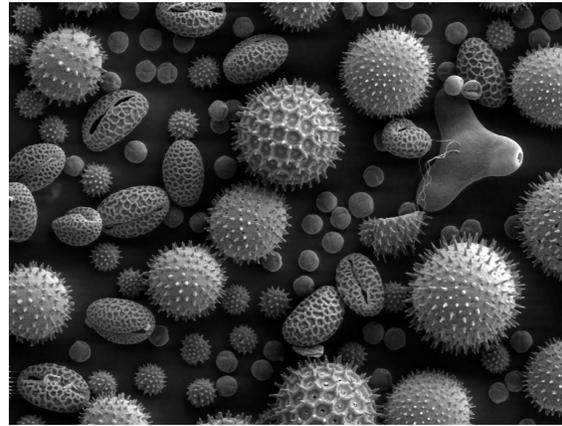


Figura 3.14: Imagen SEM para granos de polen de una variedad de plantas comunes: girasol (*Helianthus annuus*), gloria de la mañana (*Ipomoea purpurea*), malva de la pradera (*Sidalcea malviflora*), lirio oriental (*Lilium auratum*), onagra (*Oenothera fruticosa*), y haba de ricino (*ricinus communis*). Imagen extraída de NASA/Goddard Space Flight Center.

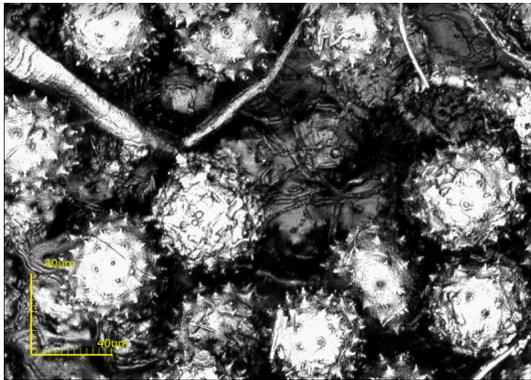


Figura 3.15: Imagen obtenida con el microscopio confocal para la muestra de polen.

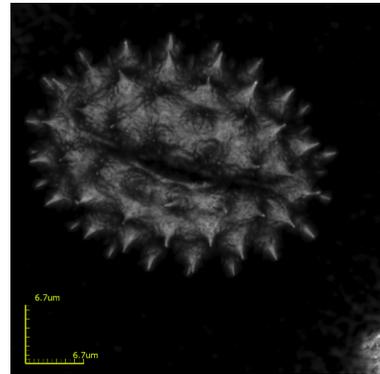


Figura 3.16: Imagen de un grano de polen de Rosa China obtenida con el microscopio confocal.

En lo que respecta al espectro de rayos X, Erdogan et al.(2017)[23] analiza una muestra de polen de la misma morfología que el utilizado en este trabajo, y obtiene un espectro comparable al de la Figura 3.17, en el cual se observan picos de carbono y oxígeno, como así también magnesio, aluminio, silicio, fósforo, azufre, potasio y calcio. Entre otros elementos, los observados en el espectro de rayos X constituyen macronutrientes de las plantas. Así, por ejemplo, C y O están presentes en todas las estructuras biológicas, mientras que K es el elemento más abundante del citoplasma y Ca forma parte de las estructuras celulares, confiriéndole así estabilidad a la célula[4][48][62]. Ender et al.(1982)[22] también observó estos picos en el espectro de rayos X realizado para una muestra de polen.

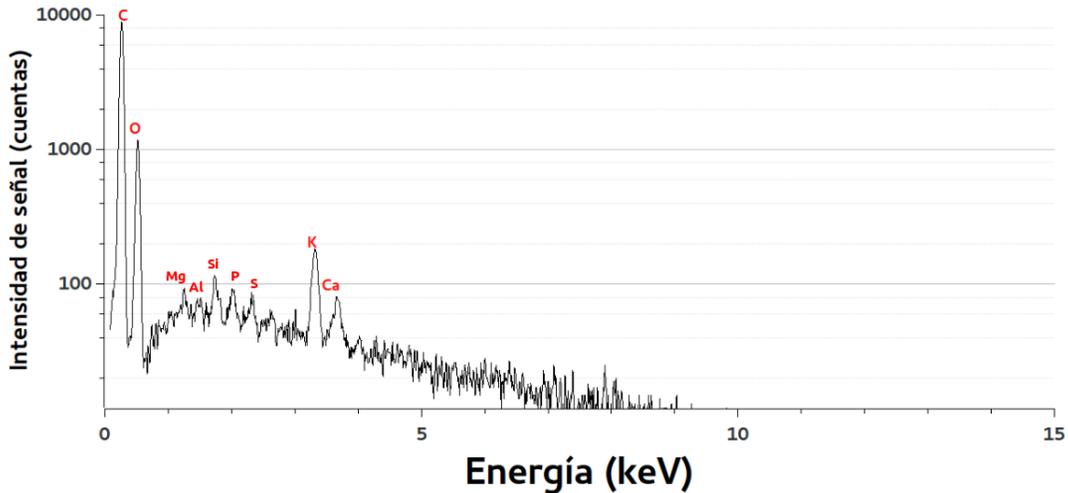


Figura 3.17: Espectro de rayos X de la muestra de polen.

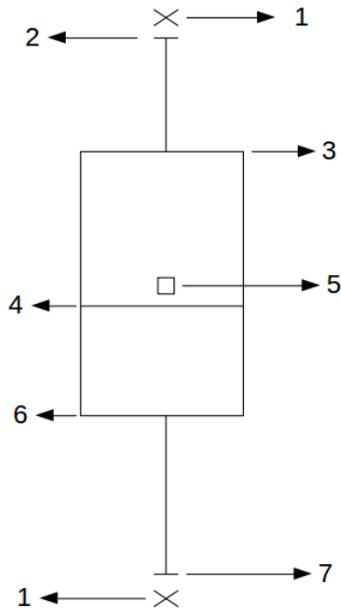
3.2. Resultados experimentales

3.2.1. Análisis de la deformación de las gotas

Las gotas que se utilizaron son de un volumen $V = (5,0 \pm 0,1)\mu\text{L}$, por lo que si se pensara que son esferas perfectas, se esperaría que su diámetro (d) sea $d = (6V)^{\frac{1}{3}}\pi^{-\frac{1}{3}} = (2,12 \pm 0,02)\text{mm}$. Sin embargo, se midió el diámetro de las gotas utilizadas, a partir de fotos de las mismas mediante el software ImageJ, y se encontró un notable achatamiento producido por la fuerza gravitatoria y la tensión superficial. En promedio, el diámetro medido es de $d = (2,31 \pm 0,01)\text{mm}$. Mediante este análisis se concluye que la diferencia entre el diámetro teórico y el experimental no supera el 10%.

3.2.2. Mediciones de la temperatura de congelación

El análisis de los valores de temperatura de congelación obtenidos para cada una de las muestras se realizó con box plots. A los fines de explicar la constitución de este diagrama, en la Figura 3.18 se muestra un boxplot (diagrama de caja y bigote) a modo de ejemplo, donde se indica cada una de sus partes.



1) Valores atípicos: Valores que están apartados del grupo principal de datos.

2) Límite superior: Es el extremo superior del bigote. Los valores por encima de este límite se consideran atípicos.

3) Tercer cuartil: Por debajo de este valor se encuentran como máximo el 75% de los valores.

4) Mediana: Coincide con el segundo cuartil. Divide a la distribución en dos partes iguales. De modo que el 50% de los valores están por debajo y el otro 50% por encima de la mediana.

5) Media aritmética: Es el promedio.

6) Primer cuartil: por debajo de este valor se encuentra como máximo el 25% de los valores.

7) Límite inferior: Es el extremo inferior del bigote. Los valores por debajo de éste se consideran atípicos.

Cuanto más larga es la caja y sus bigotes, más dispersa es la distribución de los datos.

Figura 3.18: BoxPlot genérico, donde se observan todas sus partes.

Los datos de temperatura de congelación obtenidos para las 25 gotas de cada muestra se presentan como gráficos Box-Plot en la Figura 3.19.

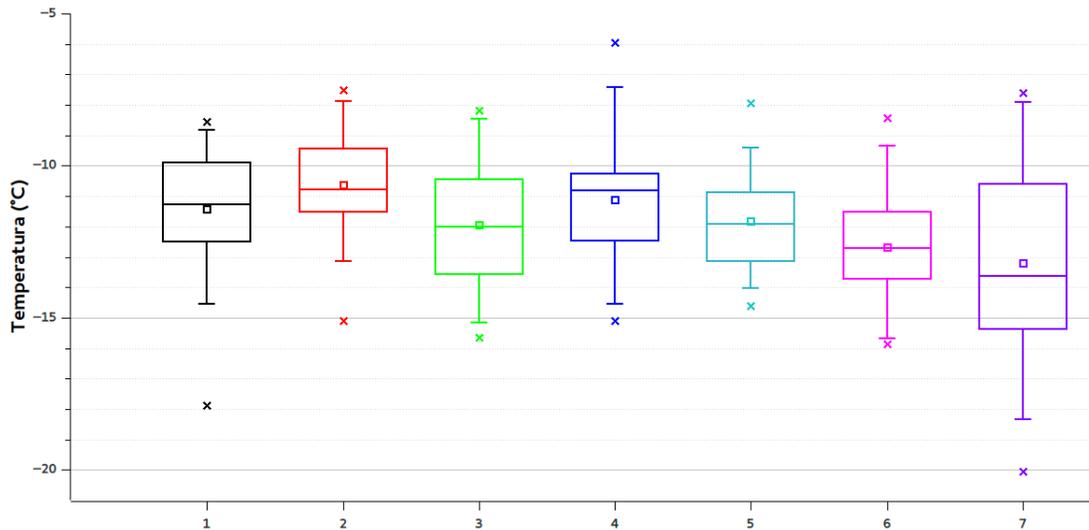


Figura 3.19: BoxPlot: 1) Quema de biomasa; 2) Liqueen; 3) Material vegetal; 4) Polen; 5) Combustión automotriz; 6) Residuo de papel; 7) Agua ultrapura.

En la Tabla 3.1 se muestran, a modo de resumen, las medidas de tendencia central y dispersión de los datos obtenidos.

Material colectado	Media [°C]	Desviación estándar [°C]	Varianza [°C]	Valor máximo [°C]	Valor mínimo [°C]	Mediana [°C]
Residuo de papel	$-12,7 \pm 0,4$	2	4	-8,4	-15,9	-12,7
Quema de biomasa	$-11,4 \pm 0,4$	2	5	-8,6	-17,9	-11,3
Material vegetal	$-11,9 \pm 0,4$	2	5	-8,2	-15,6	-12,0
Liquen	$-10,6 \pm 0,4$	2	4	-7,5	-15,1	-10,9
Combustión automotriz	$-11,8 \pm 0,3$	2	3	-7,9	-14,6	-11,9
Polen	$-11,1 \pm 0,5$	2	5	-6,0	-15,1	-10,8
Agua ultrapura	$-13,2 \pm 0,7$	3	11	-7,6	-20,0	-13,6

Tabla 3.1: Medidas de tendencia central y dispersión de los datos obtenidos. Las medias se expresan asociadas a su error.

Del análisis de los Box-Plots se puede apreciar que, tanto en media como en mediana, las muestras presentan diferencias entre sí respecto a la temperatura de congelación. A los fines de comprobar si estas diferencias son significativas se llevó a cabo un análisis estadístico.

3.3. Análisis estadístico

3.3.1. Recursos estadísticos

La herramienta más utilizada para detectar diferencias entre las estimaciones obtenidas con los distintos métodos es el Análisis de Varianza de un factor. Una vez detectadas las diferencias entre las poblaciones testeadas, se utilizan los test de comparaciones múltiples para realizar comparaciones de a pares a los fines de identificar los métodos con resultados o comportamientos similares. Las técnicas antes mencionadas pueden aplicarse si se satisface el supuesto de normalidad y homogeneidad de las varianzas de los procedimientos de estimación[20].

En el presente trabajo, a los fines de comprobar esta condición, se utilizó el Test de Levene para probar la homogeneidad de las varianzas. Dado que las varianzas resultaron homogéneas, el Test de ANOVA se utilizó para detectar diferencias significativas entre los métodos de estimación y el Test de Bonferroni para realizar comparaciones entre pares de muestras. Todos estos tests se describen a continuación.

Test de Levene

Tal como se mencionó anteriormente, se utiliza para comprobar el supuesto de homocedasticidad de varianzas entre dos o más muestras, es decir, el supuesto de que las varianzas de las poblaciones de las que se extraen diferentes muestras son iguales. Las hipótesis que se someten a prueba son la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_1):

- H_0 : las varianzas de cada i-población (σ_i^2) son iguales.

$$H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma_n^2 \quad (3.1)$$

- H_1 : al menos dos varianzas son distintas.

El procedimiento para evaluar ambas hipótesis es el siguiente[8]:

- Se calcula D_{ij} , definido como la diferencia en valor absoluto entre cada valor observado x_{ij} (la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento, donde i toma valores desde 1 hasta k , y j desde 1 hasta n_i , k es la cantidad de poblaciones independientes, y n la cantidad de muestras de cada población) y la media de su grupo (\bar{x}_j) (ecuación 3.2):

$$D_{ij} = |x_{ij} - \bar{x}_j| \quad (3.2)$$

- Se calcula el promedio de las diferencias de cada grupo (\bar{D}_i), (ecuación 3.3).

$$\bar{D}_i = \frac{\sum_{j=1}^{n_i} D_{ij}}{n_i} \quad (i = 1, \dots, k) \quad (3.3)$$

- Se calcula el promedio total de las diferencias (D_t) (ecuación 3.4).

$$D_t = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} D_{ij}}{N} \quad (3.4)$$

donde $N = n_1 + n_2 + \dots + n_k$.

- Se calcula la suma de cuadrados dentro de cada grupo (SC_{Dentro}) (ecuación 3.5).

$$SC_{Dentro} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (D_{ij} - \bar{D}_i)^2 \quad (3.5)$$

- Se calcula la suma de cuadrados entre grupos (SC_{Entre}) (ecuación 3.16).

$$SC_{Entre} = \sum_{i=1}^k n_i (\bar{D}_i - D_t)^2 \quad (3.6)$$

- Se calculan los grados de libertad dentro de los grupos (GL_{Dentro}) (ecuación 3.7) y entre grupos (GL_{Entre}) (ecuación 3.8).

$$GL_{Dentro} = \sum_{i=1}^k (n_i - 1) = N - k \quad (3.7)$$

$$GL_{Entre} = k - 1 \quad (3.8)$$

- Se calcula la media cuadrática dentro de los grupos (MC_{Dentro}) (ecuación 3.9) y la media cuadrática entre los grupos (MC_{Entre}) (ecuación 3.10).

$$MC_{Dentro} = \frac{SC_{Dentro}}{GL_{Dentro}} \quad (3.9)$$

$$MC_{Entre} = \frac{SC_{Entre}}{GL_{Entre}} \quad (3.10)$$

- Se calcula el estadístico F (ecuación 3.11).

$$F = \frac{MC_{Entre}}{MC_{Dentro}} \quad (3.11)$$

- El valor calculado de F se compara con su correspondiente valor teórico, obtenido de tablas, el cual depende de los grados de libertad utilizados y del nivel de significancia α con el que se decide trabajar. Por lo tanto, la Regla de Decisión para aceptar la hipótesis nula o la alternativa dependerá de la comparación entre ambos F . La hipótesis nula se rechaza si:

$$F = \frac{MC_{Entre}}{MC_{Dentro}} > F_{\alpha[(k-1)(N-k)]} \quad (3.12)$$

En este trabajo el nivel de significancia con el que se trabajó en este y en los demás test, fue de 5%.

En el Apéndice C se presenta a modo de ejemplo, el Test de Levene entre los datos de temperatura de congelación de las muestras de polen y el agua ultrapura.

ANOVA (Análisis de varianza)

Es un procedimiento mediante el cual la variación total de la variable dependiente se subdivide en componentes significativos, que luego se observan y se tratan en forma sistemática.

Este procedimiento permite comprobar la hipótesis nula de que las medias de cada población estudiada son iguales, en contraste con la hipótesis alternativa de que al menos dos de las medias no son iguales.

En el procedimiento de análisis de varianza se supone que cualquier variación que exista entre los promedios de las poblaciones se atribuye a variaciones entre las muestras o a variaciones entre las poblaciones. Las variaciones entre las muestras deben considerarse como una variación aleatoria. Este estudio del análisis de varianza consiste en determinar si las diferencias entre las medias muestrales entre las poblaciones estudiadas son lo que se esperaría debido sólo a la variación aleatoria, o si se trata de una variación mas allá de los efectos del azar[73].

Para llevar a cabo este análisis se supone que las poblaciones son independientes y que están distribuidas en forma normal, con medias μ_i y varianza común σ^2 . Las hipótesis que se someten a prueba son la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_1):

- H_0 : las medias μ_i son iguales.

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_n \quad (3.13)$$

- H_1 : al menos dos de las medias no son iguales.

Sea y_{ij} la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento y \bar{y} la media sobre las nk observaciones, donde k es la cantidad de poblaciones independientes, y n la cantidad de muestras de cada población.

Nuestra prueba se basa en una comparación de dos estimados independientes de la varianza común σ^2 .

Se calculan tres medidas importantes de variabilidad, al igual que en el Test de Levene:

-Suma total de cuadrados (STC):

$$STC = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y})^2 \quad (3.14)$$

-Suma de los cuadrados entre grupos (SC_{Entre}):

$$SC_{Entre} = n \sum_{i=1}^k (\bar{y}_i - \bar{y})^2 \quad (3.15)$$

-Suma de los cuadrados dentro del grupo (SC_{Dentro}):

$$SC_{Dentro} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 \quad (3.16)$$

donde $STC = SC_{Entre} + SC_{Dentro}$, expresa cómo la variaciones entre los tratamientos y dentro de los tratamientos contribuyen a la suma total de cuadrados.

Luego se calculan los grados de libertad dentro de los grupos (ecuación 3.17) y entre grupos (ecuación 3.18).

$$GL_{Dentro} = k(n - 1) \quad (3.17)$$

$$GL_{Entre} = k - 1 \quad (3.18)$$

Con estos datos, se calcula la media cuadrática dentro de los grupos (MC_{Dentro}) (ecuación 3.19) y la media cuadrática entre los grupos (MC_{Entre}) (ecuación 3.20).

$$MC_{Dentro} = \frac{SC_{Dentro}}{GL_{Dentro}} \quad (3.19)$$

$$MC_{Entre} = \frac{SC_{Entre}}{GL_{Entre}} \quad (3.20)$$

para finalmente calcular el estadístico F (ecuación 3.21).

$$F = \frac{MC_{Entre}}{MC_{Dentro}} \quad (3.21)$$

Al igual que en el Test de Levene, el valor calculado de F se compara con su correspondiente valor teórico, obtenido de tablas, el cual depende de los grados de libertad utilizados y del nivel de significancia α con el que se decide trabajar. Por lo tanto, la hipótesis nula se rechaza cuando:

$$F = \frac{MC_{Entre}}{MC_{Dentro}} > F_{\alpha[(k-1),k(n-1)]} \quad (3.22)$$

Trasladando esto al presente estudio, se desea determinar si entre todas las muestras con las que se trabajó existen diferencias en los valores de temperatura media de congelación de las gotas.

En el apéndice D se muestra a modo de ejemplo, el análisis de varianza entre el polen y el agua ultrapura.

Test de Bonferroni

El test de Bonferroni consiste en construir intervalos de confianza a partir de la comparación de los valores de las poblaciones tomadas de a pares. Si esos intervalos originados contienen al valor 0 entonces los valores medios de ambas poblaciones son iguales. Caso contrario, son diferentes. La expresión para construir el intervalo de confianza (IC) de Bonferroni es la siguiente:

$$IC_{(\mu_i - \mu_j; \gamma = (1 - \alpha)\%)} = (y_i - y_j) \pm t^* Se \sqrt{\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j}} \quad (3.23)$$

donde $t^* = t_{(n_i + n_j - 2; \frac{\alpha}{2})}$, para la comparación entre la población i y la población j , entre las k poblaciones que se desean comparar. y_i e y_j simbolizan el promedio de los valores de las poblaciones i y j , respectivamente.

Por otra parte Se se calcula por medio de la ecuación 3.24

$$Se = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2 + \dots + (n_k - 1)S_k^2}{N - k}} \quad (3.24)$$

En el apéndice E se muestra a modo de ejemplo, el Test de Bonferroni aplicado entre los datos de temperatura de congelación del polen y el agua ultrapura y entre el residuo de papel y el agua ultrapura.

3.3.2. Resultados obtenidos

Los diferentes test se realizaron con el programa Infostat. El Test de Levene mostró que las muestras presentan varianzas iguales, por lo que fue posible aplicar el Test ANOVA. Este último mostró con un nivel de significancia del 5 % que hay diferencia entre los datos de temperatura de congelación de, al menos, una muestra.

A los fines de detectar qué muestra/s es/son diferente/s a las demás, se aplicó el Test de Bonferroni. Los resultados de este último test se resumen en la Tabla 3.2. En ella, se simboliza con la misma letra aquellas muestras que resultan iguales en temperatura de congelación y con diferente letra aquellas muestras que presentan diferencias significativas entre sí. Así, por ejemplo, en la Tabla 3.2 se observa que el agua ultrapura, el residuo de papel, el material vegetal y la combustión automotriz se agrupan con la letra A. Esto implica que los valores de temperatura de congelación para estas muestras no son significativamente diferentes.

Comparación de muestras (las distintas letras indican diferencias significativas con $\alpha = 5\%$)			
Muestra			
Agua ultrapura	A		
Residuo de papel	A	B	
Material vegetal	A	B	C
Combustión automotriz	A	B	C
Quema de biomasa		B	C
Polen		B	C
Liquen			C

Tabla 3.2: Comparaciones múltiples entre las muestras.

Se concluye, entonces, que las muestras que presentan temperaturas de congelación estadísticamente diferentes a la del agua ultrapura son las de quema de biomasa, polen y liquen.

3.4. Determinación del número de sitios activos por grano de polen

Del análisis estadístico practicado sobre las muestras, se concluye que el polen (junto con él las partículas producidas en la quema de biomasa y el liquen) es un INP eficiente en el modo de nucleación heterogénea por inmersión. Además, de la imagen obtenida con el microscopio confocal (Figura 3.13) se pudo observar que es una partícula de estructura esférica con una distribución de tamaño homogéneo, características típicas de los granos de polen de la Rosa China (Debut et al., 2013)[17]. Dadas estas condiciones, se elige esta muestra en particular para llevar a cabo un análisis para determinar el número de sitios activos por grano de polen, es decir, el número de sitios en la superficie del grano de polen sobre los cuales podría iniciarse la fase hielo.

3.4.1. Fundamento

Siguiendo el trabajo de Tobo[64], el número acumulativo de sitios activos de nucleación de hielo por unidad de volumen de agua (K) a una dada temperatura (T) se puede expresar como:

$$K(T) = -\frac{\ln(1 - f_f(T))}{V_{gota}} \quad (3.25)$$

En esta ecuación V_{gota} es el volumen de la gota y $f_f(T)$ es la fracción de gotas congeladas a la temperatura T .

Conociendo la masa de partículas por unidad de volumen de agua se puede calcular la densidad de sitios activos por unidad de masa (n_m).

$$n_m(T) = K(T) \frac{d'}{C_m} \quad (3.26)$$

donde C_m es la concentración de masa de las partículas en la suspensión inicial ($2,94mg/mL$) y d' es la tasa de dilución respecto a C_m .

3.4.2. Mediciones y resultados sobre la muestra de polen

Para llevar adelante la determinación del número de sitios activos por grano de polen siguiendo el procedimiento detallado en Tobo[64], se requirieron entonces de suspensiones con distintas concentraciones de polen. Se utilizaron 3 concentraciones distintas: la original (Tabla 2.2), una reducida al 50 % y otra al 20 % en agua ultrapura.

Preparación de las suspensiones

Las concentraciones utilizadas en esta parte del análisis, fueron entonces:

-Concentración original: $2,94 \frac{mg}{mL}$

-Dilución al 50 %: $1,47 \frac{mg}{mL}$

-Dilución al 20 %: $0,59 \frac{mg}{mL}$

Resultados

Para cada suspensión preparada, se midió la temperatura de congelación de 25 gotas y en la Tabla 3.3 se pueden ver los datos estadísticos sobre todas las mediciones realizadas.

Concentración	Media [°C]	Desviación estándar [°C]	Varianza [°C]	Valor máximo [°C]	Valor mínimo [°C]	Mediana [°C]
Original	$-11,2 \pm 0,2$	1	1	-9,1	-12,8	-11,3
Dilución al 50 %	$-11,5 \pm 0,3$	1	2	-6,5	-13,8	-11,5
Dilución al 20 %	$-11,7 \pm 0,1$	1	0	-10,7	-12,9	-11,6

Tabla 3.3: Medidas de tendencia central y dispersión de los datos obtenidos para las diferentes concentraciones de polen. Las medias se expresan asociadas a su error.

Los valores de $n_m(T)$ obtenidos (ecuación 3.26) representan la densidad de sitios activos por unidad de masa de polen. A los fines de referirlo al número de sitios activos por grano de polen es necesario conocer la masa de un grano de polen. Para ello se recurrió a bibliografía, y se consideró una masa equivalente a la del grano de polen de maíz, planta para la cual cada grano de polen tiene una masa de $2,5 \times 10^{-10} \text{Kg}$ (Porter, 1981)[53]. La Figura 3.20 muestra el número de sitios activos por grano de polen a las diferentes temperaturas de congelación.

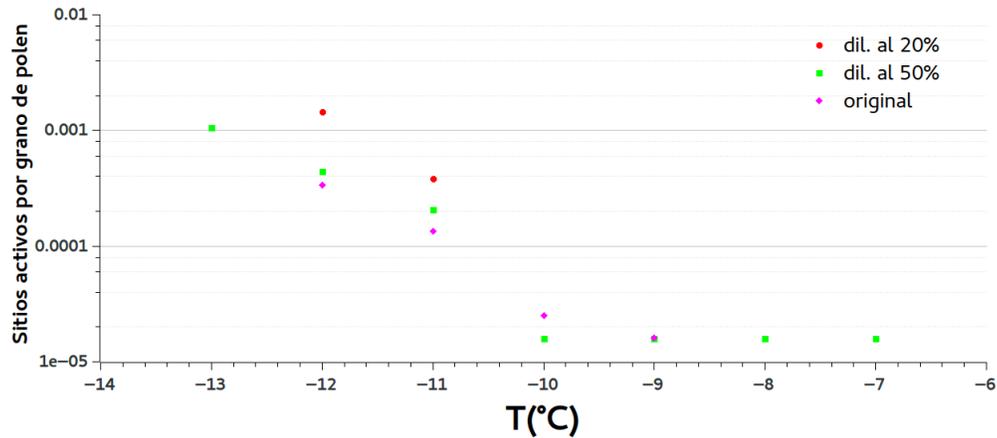


Figura 3.20: Número de sitios activos por grano de polen en función de la temperatura. Valores obtenidos para gotas con diferentes concentraciones de polen. Rombo fucsia: Concentración original; cuadrado verde: dilución al 50 %; círculo rojo: dilución al 20 %.

La dispersión en los valores de sitios activos a una misma temperatura pueden explicarse teniendo en cuenta errores experimentales asociados a variaciones en el número de granos de polen depositados en cada gota.

A fines de comparar estos resultados con bibliografía[25] se realizó un gráfico (Figura 3.21) en el que, además de los valores encontrados en este trabajo, se incluyen los valores encontrados por Hader et al. (2014)[25], von Blohn et al. (2005)[71], Pummer et al. (2012)[55] y Diehl et al. (2002)[18] para los granos de polen de diferentes especies.

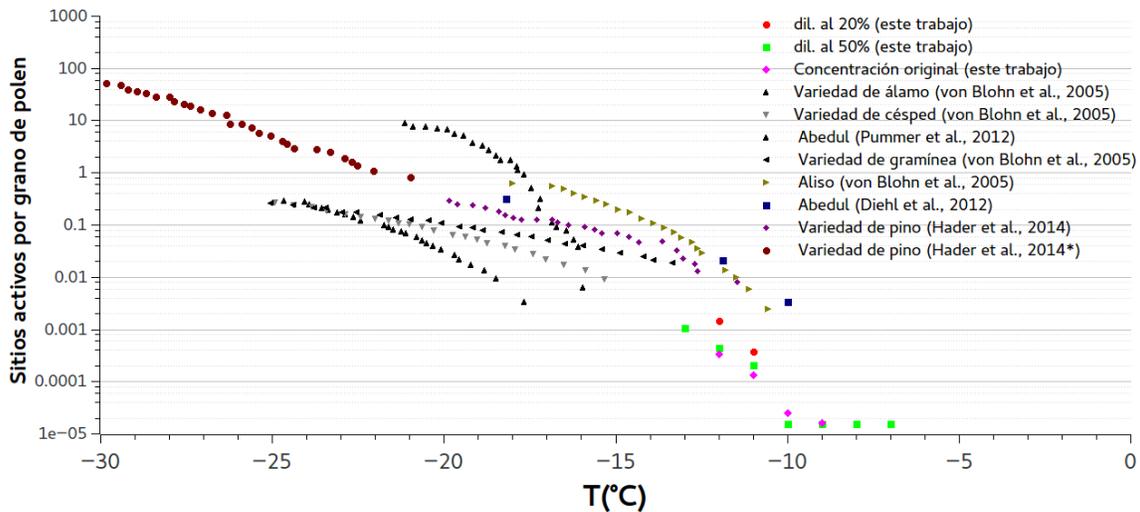


Figura 3.21: Sitios activos por grano de polen en función de la temperatura. Se observan los valores obtenidos en este trabajo, ya observados en la Figura 3.20 junto con los valores encontrados por Hader et al. (2014)[25], von Blohn et al. (2005)[71], Pummer et al. (2012)[55] y Diehl et al. (2002)[18] para los granos de polen de diferentes especies.

3.5. Discusión general

Los resultados obtenidos en la primera parte de este trabajo, al evaluar el papel de diferentes partículas y aerosoles como INP en el modo de nucleación por inmersión, muestran que el liquen, el polen y las partículas generadas en la quema de biomasa actúan como nucleantes. Estos resultados concuerdan con los informados en trabajos previos (e.g. Murray et al., 2012; O’Sullivan et al., 2018)[51][52] que reportan que estas partículas pueden promover la formación de partículas de hielo apenas por debajo de 0 °C hasta aproximadamente -20 °C (dependiendo del tamaño de la gota en la que tales partículas están inmersas).

De las partículas evaluadas, aquellas que no actúan como nucleantes de hielo son las partículas residuales de una industria de reciclado de papel, el material vegetal y las partículas generadas durante la combustión de un motor diésel. El hecho de que estas últimas partículas no actúen como nucleantes coincide con los resultados presentados por Schill et al.(2016)[58], quienes mostraron que las emisiones de los motores diésel no contribuyen de manera apreciable a las concentraciones atmosféricas de INPs. De la misma forma, sustenta también las conclusiones de Chen et al.(2018)[10] quienes encuentran que, pese a la alta contaminación atmosférica en la zona urbana de Beijing, las concentraciones de INPs en el rango de temperaturas entre -6 °C y -25 °C no presenta diferencias significativas con la correspondiente concentración en áreas no urbanas.

Por todo esto, los resultados de este trabajo muestran que las actividades antropogénicas que producen las partículas analizadas (liberadas en la industria de reciclado del papel y en la combustión de diésel) no afectarían los procesos de formación de nubes por intermedio de su rol como INPs en el modo de inmersión. Por el contrario, todas las partículas que actúan como INP en este modo de nucleación son de origen natural. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, si bien la acción humana podría no afectar directamente a la formación de hielo en el modo de inmersión dado que las partículas antropogénicas no actúan como INP, la acción humana podría afectar la formación de hielo en el modo de inmersión al alterar la concentración de partículas que actúan como INPs (por ejemplo, afectando las emisiones de polen a la atmósfera durante el avance de áreas urbanas sobre áreas vegetales).

En lo que respecta a los resultados obtenidos al determinar y analizar el número de sitios activos por grano de polen de la especie vegetal estudiada, en la Figura 3.21 puede observarse que los valores encontrados en el presente trabajo se corresponden con aquellos reportados en bibliografía. Puede observarse que para todas las especies de polen la tendencia es que el número de sitios activos se incrementa con la disminución de la temperatura. Es decir, estando un grano de polen inmerso en una gota de agua líquida, la probabilidad de que este grano actúe como nucleante se incrementa a medida que la gota asciende en altura (es decir, a medida que su temperatura desciende).

En lo que respecta particularmente al polen analizado en el presente trabajo, se encuentra que a temperaturas mayores a -10 °C sólo 1 de cada 10000 granos de polen actúan como INP en el modo de nucleación por inmersión. Sin embargo, al disminuir la temperatura 2 °C y alcanzarse los -12 °C la cantidad de granos de polen que actúa como INP es 1 cada 1000. Esto demuestra el potencial del polen analizado para, una vez inmerso en una gota de agua, iniciar la formación de hielo en la atmósfera a temperaturas más altas a las que ocurriría en caso de estar ausente.

Capítulo 4

Conclusiones y observaciones

- Los resultados del presente trabajo confirman la importancia de los aerosoles de origen natural en los procesos de formación de nubes.
- El hecho de que los aerosoles estudiados emitidos por actividades antropogénicas no mostraron actuar como nucleantes de hielo en el modo de inmersión implica que tales actividades no afectan directamente a la formación de nubes en dicho modo. Sin embargo, las actividades humanas pueden alterar la concentración de aerosoles naturales que actúan como nucleantes, por ejemplo, durante la deforestación y el avance de áreas urbanas en detrimento de las áreas naturales.
- Los resultados obtenidos contribuyen al avance en el conocimiento de la interacción entre los aerosoles y las partículas de nube, específicamente en lo que respecta a la iniciación de hielo en la atmósfera mediante el modo de nucleación por inmersión. Serán útiles, a corto plazo, para comprender el efecto de los aerosoles sobre la formación de las nubes. Esta mejor comprensión permitirá, a largo plazo, regular las emisiones antropogénicas con el objeto de minimizar el impacto de las actividades humanas sobre el clima.
- El desarrollo del presente trabajo implicó el estudio de conceptos estadísticos y el manejo de herramientas estadísticas diversas, así como también la lectura de tipo técnica para comprender el funcionamiento de los microscopios SEM y confocal.
- Las conclusiones de este trabajo contribuyeron a generar nuevos interrogantes sobre los cuales trabajar a futuro. Entre otras, pueden destacarse los siguientes:
 - A escala regional, ¿el reemplazo de áreas vegetales por áreas urbanas ha mostrado efectos sobre la cobertura nubosa o el ciclo hidrológico?
 - ¿Qué otras especies de polen actúan como INP?
 - Las partículas estudiadas, ¿inician la formación de hielo en alguno de los otros modos de nucleación heterogénea?
 - El tamaño de las gotas sobre las que están inmersas las partículas, ¿cómo afecta la temperatura de congelación de las mismas?

Apéndice A

Fundamento del microscopio electrónico de barrido

El microscopio electrónico de barrido consta de un cañón electrónico en una columna de alto vacío en la cual se genera un haz de electrones de alta energía. Este haz es colimado por una serie de lentes electrónicas y focalizado sobre la muestra a analizar. Los detectores registran las señales originadas por la interacción entre el haz de electrones y la muestra, que son procesadas y visualizadas en el sistema final de observación (monitor o pantalla de computadora).

El cañón electrónico es el primer componente de la columna del microscopio y es el que produce el haz de electrones. Consta de un filamento emisor de electrones que son luego acelerados por un ánodo polarizado positivamente a una tensión variable. Este haz es luego colimado por una serie de lentes electrónicas y pequeñas aperturas hasta que es focalizado sobre la superficie de la muestra. Un sistema de bobinas desvía este haz de tal manera que una zona de la superficie de la muestra es continuamente explorada (scanning) y las señales resultantes son registradas por los detectores. La parte final de la columna es la cámara con cierre de vacío que contiene la platina donde se coloca la muestra. En esta cámara se colocan los detectores para registrar las distintas señales emitidas por la muestra.

Las interacciones de un sólido con un haz de electrones se pueden dividir en dos categorías: interacciones elásticas que afectan a las trayectorias de los electrones del haz sin que se alteren significativamente sus energías e interacciones inelásticas, que resultan de la transferencia de energía por parte de los electrones al sólido. El sólido excitado emite entonces electrones secundarios, electrones Auger, rayos X y a veces fotones de longitud de onda larga.

Interacciones elásticas

La colisión de un electrón con un átomo provoca un cambio en la dirección del electrón pero deja virtualmente intacta la velocidad del mismo, por lo tanto la energía cinética del electrón permanece prácticamente constante. El ángulo de desviación de una colisión es aleatorio y puede variar desde 0° hasta 180° . Si bien algunos electrones pierden energía, la mayoría experimenta numerosas colisiones y como resultado, acaban saliendo de la superficie como electrones retrodispersados. Es importante señalar que el haz de electrones retrodispersados tiene un diámetro mucho mayor que el haz incidente. El diámetro del haz retrodispersado es uno de los factores que limitan la resolución de los microscopios de electrones.

Interacciones inelásticas

Se observa que cuando la superficie de un sólido se bombardea con un haz de electrones del orden de varios keV, se emiten de la superficie electrones con energías de menos de 50 eV junto con los

electrones retrodispersados. El número de estos electrones secundarios es generalmente menor que el número de los electrones retrodispersados. Los electrones secundarios, que tienen energías entre 3 y 5 eV, se producen como resultado de interacciones entre los electrones de elevada energía del haz (primarios) y los electrones de la banda de conducción del sólido. Esto da lugar a la expulsión de estos electrones con energías de unos pocos electronvolts. Los electrones secundarios tan sólo se pueden producir a una profundidad de 5 a 500Å y forman un haz que tiene un diámetro algo superior al haz incidente. Puede evitarse que los electrones secundarios lleguen al detector desviando ligeramente la posición del mismo. Los electrones secundarios son los que se utilizan comúnmente para la formación de la imagen en el SEM.

Espectro característico de rayos X

El choque de un electrón incidente (procedente del cátodo) con un electrón de las capas internas de un átomo (del elemento al que corresponde el ánodo), produce la expulsión de dicho electrón quedando el átomo en estado excitado.

Este átomo en estado excitado tiende a volver inmediatamente a su estado fundamental, para lo cual se producen saltos de electrones de niveles más externos para cubrir el hueco producido. En este proceso hay una liberación de energía, igual a la diferencia de energía entre los dos niveles en los que se produce el salto electrónico, en forma de radiación electromagnética correspondiente a la región de los rayos X.

A esta excitación producida por el bombardeo de partículas se la denomina excitación primaria, y a la radiación así obtenida se la llama radiación X primaria. Al ser las energías de los distintos niveles electrónicos características para cada tipo de átomos, la radiación X emitida será característica para cada elemento, y, en principio, no dependerá de la sustancia química en la que se encuentre ya que, en general, estas radiaciones están originadas por transiciones entre los niveles electrónicos internos, cuyas energías no se ven afectadas por el tipo de enlace existente.

La obtención de rayos X característicos, como resultado de la interacción de los electrones con la materia, permite una de las aplicaciones más importantes en los microscopios electrónicos: analizar la composición de la muestra in situ, es decir a la vez que observamos su imagen real[30].

Apéndice B

Partes y funcionamiento del microscopio confocal

El microscopio confocal permite observaciones a una mayor resolución, contraste y nitidez que la que se puede lograr con la microscopía óptica convencional. Además, permite caracterizar todo tipo de superficies inclusive aquellas muy blandas, como los materiales biológicos. El principio de la microscopía confocal se basa en el uso de un láser de una determinada longitud de onda. Este láser aplicado en la muestra provoca que moléculas excitadas emitan fluorescencia (autofluorescencia o fluorescencia asociada a fluorocromos artificiales) a una longitud de onda mayor a la aplicada, eliminando además la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. El microscopio confocal utilizado (OLYMPUS LEXT OLS4000) está totalmente automatizado usando un láser de 405 nm.

En la Figura B.1 se puede ver un esquema del principio de funcionamiento del microscopio confocal. Parte de la luz procedente de la fuente de iluminación atraviesa un primer diafragma, es reflejada mediante un espejo dicróico y se enfoca en un punto de la muestra mediante la lente de un objetivo. La señal emitida por el punto iluminado (fluorescencia o luz reflejada) vuelve por el mismo camino óptico, pasa a través del espejo dicróico y es enfocada en un detector. Un segundo diafragma o pinhole es colocado delante del detector para eliminar las señales procedentes de la zona fuera de foco.

El principio de funcionamiento del Microscopio Confocal se basa en estos dos diafragmas: el ubicado entre la fuente de luz y el objetivo y el ubicado entre el objetivo y el detector. Ambos diafragmas deben de estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal.

La utilización de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con una gran intensidad. Dado que sólo se ilumina una pequeña zona de la muestra (punto), para poder visualizarla se necesita un sistema de barrido que permita muestrear todos los puntos y un sistema de formación de la imagen donde se recoja la información de cada uno de estos puntos.

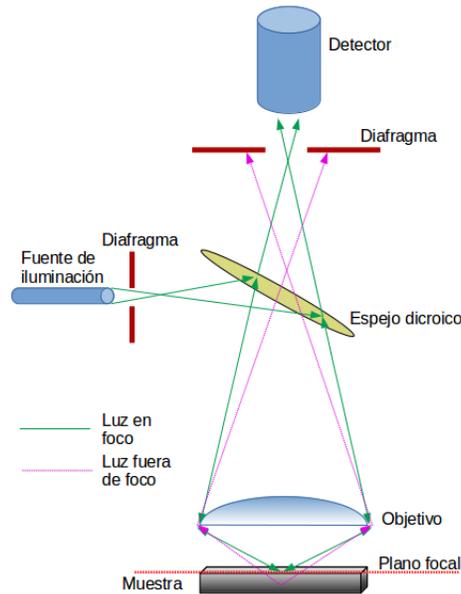


Figura B.1: Esquema del principio de la microscopía confocal.

El sistema de barrido puede ser de dos tipos: que el haz del láser se desplace por la muestra (beam scanning) o que sea ésta la que se desplace, mientras el haz permanece inmóvil (stage scanning). El primer tipo es el más usado, tiene la ventaja de una mayor velocidad de barrido y por lo tanto, mayor velocidad de formación de la imagen. Además la muestra no necesita ser movida durante el muestreo por lo que no necesita ser fijada. La técnica de desplazamiento de la muestra presenta como principal ventaja el permitir la observación de una zona tan grande como se desee sin tener que limitarse al campo visual del objetivo, además debido a que el haz permanece estacionario se tiene una iluminación axial constante.

La luz reflejada o fluorescencia emitida por la muestra es recogida en un fotomultiplicador donde se transforma en una señal de video que se digitaliza y almacena en una PC. La mayoría de los sistemas cuentan con varios fotomultiplicadores y un sistema óptico que permite recoger en cada uno de ellos diferentes longitudes de onda[49].

Este tipo de microscopio confocal en el que el haz del láser barre la muestra es denominado Confocal Láser Scanning Microscopy (CLSM). Debido a que el láser necesita un tiempo para barrer la imagen, ésta no pueda ser visualizada de manera instantánea en el monitor. El método de trabajo del microscopio confocal es por epiluminación, es decir con muestras que al incidir la luz sobre ellas reflejan toda o parte de la luz incidente (microscopía de reflexión), o emiten luz en una longitud de onda superior (microscopía de fluorescencia). El primer caso se suele utilizar con muestras opacas, principalmente en estudios de materiales, mientras que la fluorescencia se utiliza principalmente con muestras biológicas[49].

Apéndice C

Test de Levene

Cálculos para la muestra de polen y el agua ultrapura

Siguiendo con los pasos descritos en la subsección Test de Levene de la sección 3.3.1 se obtiene el valor D_{ij} para cada valor con respecto al valor promedio $\bar{x}_{polen} = -11,113$ y $\bar{x}_{agua} = -13,670$. Estos valores se muestran en las tablas C.1 y C.2 para las muestras de polen y agua ultrapura, respectivamente.

3,997	1,309	3,493	3,073	0,959
0,322	2,737	0,076	0,539	1,897
1,141	1,393	0,287	0,371	0,813
0,568	0,498	1,387	5,156	2,944
1,797	0,731	3,845	0,252	

Tabla C.1: Valores de D_{ij} para los valores del polen

0,091	3,034	0,007	2,740	2,250
3,638	1,464	1,661	5,095	6,370
0,974	2,838	3,063	2,161	3,364
0,344	0,056	4,867	1,460	1,159
1,961	4,266	0,858		

Tabla C.2: Valores de D_{ij} para los valores del agua ultrapura

- Con estos valores de la tabla C.1 se calcula la media de las diferencias de cada grupo $\bar{D}_{polen} = 1,649$
- y con los valores de la tabla C.2 $\bar{D}_{agua} = 2,336$
- y con esto se calcula la suma de cuadrados dentro de cada grupo:
 $SC_{Dentro}(polen) = 46,946$
 $SC_{Dentro}(agua) = 65,414$
- para finalmente calcular $SC_{Dentro} = 275,070$.
- Conociendo la media total de las diferencias $D_t = 1,660$ (ecuación 3.4) se puede calcular mediante la ecuación 3.16:
 $SC_{Entre}(polen) = 0,002$
 $SC_{Entre}(agua) = 10,511$

- y finalmente $SC_{Entre} = 15,520$
- Para calcular los grados de libertad dentro y entre grupos se usan las ecuaciones 3.7 y 3.8 y se tiene que:
 $GL_{Dentro} = 163$
 $GL_{Entre} = 6$
- Con todo esto los valores de la media cuadrática dentro de los grupos y entre grupos es:
 $MC_{Dentro} = 1,688$
 $MC_{Entre} = 2,587$
- Mediante la ecuación 3.11 se tiene que el estadístico:
 $F = 1,53282774479443$
- y el valor teórico es:
 $F_{(6,163;0,05)} = 2,099$

Como $F_{calculado} < F_{tabla}$ entonces se acepta la hipótesis nula y como no hay diferencias entre las varianzas de las poblaciones, se puede aplicar el test ANOVA.

Apéndice D

Test ANOVA

Siguiendo con los pasos descritos en la subsección Test ANOVA de la sección 3.3.1 se obtiene el valor $(y_{ij} - \bar{y})^2$ para cada valor con respecto al valor promedio $\bar{y}_{polen} = -11,113$ y $\bar{y}_{agua} = -13,670$. Estos valores se muestran en las tablas D.1 y D.2 para las muestras de polen y agua ultrapura, respectivamente.

15,980	1,715	12,204	9,446	0,919
7,494	0,290	3,600	1,303	1,942
0,082	0,137	0,662	0,322	0,248
1,924	26,587	8,666	3,228	0,535
14,785	0,063	0,006	0,104	

Tabla D.1: Valores de $y_{ij} - \bar{y}_i$ para los valores del polen

0,008	9,207	0,000	7,507	5,059
13,235	2,144	2,757	25,956	40,581
0,948	8,054	9,382	4,670	11,315
0,119	0,003	23,688	2,130	1,343
3,844	18,196	0,737		

Tabla D.2: Valores de $y_{ij} - \bar{y}_i$ para los valores del agua ultrapura

La varianza entre los valores del polen es 4,880 y para los valores del agua ultrapura 8,677.

La suma de los cuadrados entre grupos es $SC_{Entre} = 146,288$ mientras que la suma de los cuadrados dentro es $SC_{Dentro} = 756,274$.

Los grados de libertad entre los grupos es 6, mientras que dentro de los grupos es 163, lo que nos da como resultado:

$$MC_{Entre} = 24,381$$

$$MC_{Dentro} = 4,640$$

Lo que da como resultado el estadístico $F = 5,255$

y el valor teórico es $F_{(6,163;0,05)} = 2,099$.

Como $F_{calculado} > F_{tabla}$ entonces se acepta la hipótesis alternativa, es decir, hay diferencias estadísticas entre las poblaciones.

Apéndice E

Test de Bonferroni

Siguiendo con los pasos descritos en la subsección Test de Bonferroni de la sección 3.3.1, se confecciona el intervalo de confianza de Bonferroni (IC), entre los datos de temperatura de congelación del polen y el agua ultrapura y entre el residuo de papel y el agua ultrapura.

Test de Bonferroni entre datos del polen y agua ultrapura

Los valores promedio de cada muestra son:

$$\bar{y}_{polen} = -11,113$$

$$\bar{y}_{agua} = -13,670$$

Mientras que su varianza es, respectivamente:

$$S^2_{Polen} = 4,880$$

$$S^2_{Agua} = 8,677$$

El valor que se obtiene para Se conociendo todos los valores de todos los grupos de muestras es 2,158.

Sabiendo que $n_{Polen} = 24$, $n_{agua} = 23$, $N = 170$, $k = 7$, $t^* = 3,17$, además de los valores promedios para el polen y el agua ultrapura, se llega a que el intervalo de confianza entre estos dos grupos es:

$$IC = (-4,553; -0,561)$$

Como dicho intervalo no contiene al valor 0 se concluye que los valores medios de ambas poblaciones son diferentes.

Test de Bonferroni entre datos del residuo de papel y agua ultrapura

Los valores promedio de cada muestra son:

$$\bar{y}_{Papel} = -12,666$$

$$\bar{y}_{agua} = -13,670$$

Mientras que su varianza es, respectivamente:

$$S^2_{Papel} = 3,618$$

$$S^2_{Agua} = 8,677$$

El valor que se obtiene para Se conociendo todos los valores de todos los grupos de muestras es 2,158.

Sabiendo que $n_{Papel} = 24$, $n_{agua} = 23$, $N = 170$, $k = 7$, $t^* = 3,17$, además de los valores promedios para el residuo de papel y el agua ultrapura, se llega a que el intervalo de confianza entre estos dos grupos es:

$$IC = (-2,9990; 0,993)$$

Como dicho intervalo contiene al valor 0 se concluye que los valores medios de ambas poblaciones son iguales.

Bibliografía

- [1] Ahrens, C.D. 1991
Meteorology Today: An Introduction to Weather, Climate, and the Environment.
4th ed., West Publishing Company.
- [2] Amato F., Pandol M., Escrig A., Querol X., Alastuey A., Peya J., Perez N., Hopke P.K. 2009
Quantifying road dust resuspension in urban environment by multilinear engine: a comparison with PMF2.
Atmospheric Environment 43, 2770-2780.
- [3] Ardon-Dryer K., Levin Z. 2014
Ground-based measurements of immersion freezing in the eastern Mediterranean.
Atmospheric chemistry and physics. 14, 5217-5231.
- [4] Azcón-Bieto J., Talón M. 2001
Fundamentos de fisiología vegetal.
McGraw-Hill-Interamericana, Madrid. 522.
- [5] Blanchard D.C., Syzdek L.D. 1972
Concentration of bacteria in jet drops from bursting bubbles.
J. of Geophysical Research 77 (27), 5087-5099.
- [6] Bondy A.L., Bonanno D., Moffet R.C., Wang B., Laskin A., Ault A.P. 2018
Diverse Chemical Mixing States of Aerosol Particles in the Southeastern United States.
Atmospheric chemistry and physics. 18, 12595-12612.
- [7] Bovallius A., Roffey R., Henningson E. 1980
Long-range transmission of bacteria.
Annals of the New York Academy of sciences 353 (1), 186-200.
- [8] Brown M.B., Forsythe A.B. 1974
Robust Tests for Equality of Variances.
Journal of the American Statistical Association. 69, 364-367
- [9] Calvo A.I., Alves C., Castro A., Pont V., Vicente A.M., Fraile R. 2012
Research on aerosol sources and chemical composition: Past, current and emerging issues.
Atmospheric Research. 120-121, 1-28.
- [10] Chen J., Wu Z., Augustin-Bauditz S., Grawe S., Hartmann M., Pei X., Liu Z., Ji D., Wex H. 2018
Ice-nucleating particle concentrations unaffected by urban air pollution in Beijing, China.
Atmospheric chemistry and physics. 18, 3523-3539.
- [11] Chien S., Huang Y.J., Chuang S.C., Yang H.H. 2009
Effects of biodiesel blending on particulate and polycyclic aromatic hydrocarbon emissions in nano-ultrafine/fine/coarse ranges from diesel engine..
Aerosol and Air Quality Research 9, 18-31.

- [12] Chou C., Kanji Z.A., Stetzer O., Tritscher T., Chirico R., Heringa M.F., Weingartner E., Prevot A.S.H., Baltensperger U., Lohmann U. 2013
Effect of photochemical ageing on the ice nucleation properties of diesel and wood burning particles.
Atmospheric chemistry and physics. 13, 761-772.
- [13] Cozic J., Verheggen B., Mertes S., Connolly P., Bower K., Petzold A., Baltensperger U., Weingartner E. 2007
Scavenging of black carbon in mixed phase clouds at the high alpine site Jungfraujoch.
Atmospheric chemistry and physics. 7, 1797-1807.
- [14] Cozic J., Mertes S., Verheggen B., Cziczo D.J., Gallavardin S.J., Walter S., Baltensperger U., Weingartner E. 2008
Black carbon enrichment in atmospheric ice particle residuals observed in lower tropospheric mixed phase clouds.
Journal of Geophysical Research Atmospheres, 113 (D15), 1-11.
- [15] Curtis H., Barnes S., Schnek A., Massarini A. 2008
Biología.
Séptima edición. Editorial Medica Panamericana.
- [16] Dahl A., Gharibi A., Swietlicki E., Gudmundsson A., Bohgard M., Ljungman A., Blomqvist G., Gustafsson M. 2006
Traffic-generated emissions of ultrafine particles from pavement-tire interface.
Atmos. Environ. 40, 1314-1323.
- [17] Debut A., Guerra S., Andrade K. 2013
Morphology of Hibiscus rosa-sinensis pollen grain from bud to senescence stage as criterion for taxonomy.
ESPE Ciencia y Tecnología 4, 57-61.
- [18] Diehl K., Matthias-Maser S., Jaenicke R., Mitra S. K. 2002
The ice nucleating ability of pollen: Part II. Laboratory studies in immersion and contact freezing modes.
Atmospheric Research 61, 125-133.
- [19] DeMott P.J., Prenni A.J., Liu X., Kreidenweis S.M., Petters M.D., Twohy C.H., Richardson M., Eidhammer T., Rogers D. 2010
Predicting global atmospheric ice nuclei distributions and their impacts on climate.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 11217.
- [20] Devore J.L. 2013
Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias.
8th ed. Editorial Cengage Learning, México.
- [21] Dingle A.N. 1966
Pollen as condensation nuclei.
Journal Research Atmospheric. 2, 231-237.
- [22] Ender Ch., Li M.Q., Martin B., Povh B., Nobiling R., Reiss H.D., Traxel K. 1983
Demonstration of Polar Zinc Distribution in Pollen Tubes of Lilium longiflorum with the Heidelberg Proton Microprobe .
Protoplasma. 116, 201-203.
- [23] Erdogan D.A., Ozensoy E. 2017
Hierarchical synthesis of corrugated photocatalytic TiO₂ microsphere architectures on natural pollen surfaces.
Applied Surface Science. 403, 159-167.

- [24] Grini, A., Zender, C.S., Colarco, P.R. 2002
Saltation sandblasting behavior during mineral dust aerosol production.
Geophys. Res. Lett. 29, 1868.
- [25] Hader J.D., Wright T.P., Petters M.D. 2014
Contribution of pollen to atmospheric ice nuclei concentrations.
Atmospheric chemistry and physics. 14, 5433-5449.
- [26] Hansen J., Sato M., Ruedy R., Nazarenko L., Lacis A., Schmidt G.A., Russell G., Aleinov I., Bauer M., Bauer S., Bell N., Cairns B., Canuto V., Chandler M., Cheng Y., Del Genio A., Faluvegi G., Fleming E., Friend A., Hall T., Jackman C., Kelley M., Kiang N., Koch D., Lean J., Lerner J., Lo K., Menon S., Miller R., Minnis P., Novakov T., Oinas V., Perlwitz Ja., Perlwitz Ju., Rind D., Romanou A., Shindell D., Stone P., Sun S., Tausnev N., Thresher D., Wielicki B., Wong T., Yao M., Zhang S. 2005
Efficacy of climate forcings.
Journal of Geophysical Research, Atmospheres 110 (D18), 1-45.
- [27] Harold E., Schlichting Jr. 1971
A Preliminary Study of the Algae and Protozoa in Seafoam.
Botánica Marina 14 (1), 24-28.
- [28] Hirano S.S., Maher E.A., Kelman A. 1978
Ice nucleation activity of fluorescent plant pathogenic pseudomonads.
International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Institut National de la Recherche Agronomique. Angers, vol. 2, 717-724.
- [29] Hobbs P.V. 1993
Aerosol-Cloud-Climete Interactions.
Academic Press, Inc. San Diego, Claifornia, USA.
- [30] Ipohorski M., Bozzano P.B. 2013
Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales.
Revista Cel. Asociación Argentina para el progreso de la ciencia.
- [31] Iribarne J.V., Cho H.R. 1980
Atmospheric physics.
D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holanda.
- [32] Jacobson M.Z. 2005
A Solution to the Problem of Nonequilibrium Acid/Base Gas-Particle Transfer at Long Time Step.
Aerosol Science and Technology. 39 (2), 92-103.
- [33] Jacobson M.Z. 2005
Fundamentals of Atmospheric Modeling.
University Press, Reinio Unido.
- [34] Joos H., Madonna E., Witlox K., Ferrachat S., Wernli H., Lohmann U. 2017
Effect of anthropogenic aerosol emissions on precipitation in warm conveyor belts in the western North Pacific in winter â a model study with ECHAM6-HAM.
Atmospheric chemistry and physics 17, 6243-6255.
- [35] Kok J.F. 2011
Does the size distribution of mineral dust aerosols depend on the wind speed at emission?.
Atmospheric chemistry and Physics. 11, 10149-10156.

- [36] Kok J.F., Ward D.S., Mahowald N.M., Evan A.T. 2018
Global and regional importance of the direct dust-climate feedback.
Nature Communications volume 9, Article number 241.
- [37] Lemieux P.M., Lutes C.C., Abbott J.A., Aldous K.M. 2000
Emissions of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans from the open burning of household waste in barrels.
Environ. Sci. Technol. 34, 377-384.
- [38] Levin Z., Yankofsky S.A. 1988
Ice nuclei of biological origin.
Atmospheric Aerosols and Nucleation. Lecture Notes in Physics, vol 309. Springer, Berlin, Heidelberg.
- [39] Linak W.P., Yoo J.I., Wasson S.J., Zhu W., Wendt J.O., Huggins F.E., Chen Y., Shah N., Huffman G.P., Gilmour M.I. 2007
Ultrafine ash aerosols from coal combustion: characterization and health effects.
Proc. Combust. Inst. 31, 1929-1937.
- [40] Lindemann J., Constantinidou H.A., Barchet W.R., Upper C.D. 1982
Plants as Sources of Airborne Bacteria, Including Ice Nucleation-Active Bacteria.
Applied and environmental microbiology, 44 (5), 1059-1063.
- [41] Lohmann U., Hoose C. 2009
Sensitivity studies of different aerosol indirect effects in mixed-phase clouds.
Atmospheric chemistry and physics 9, 8917-8934.
- [42] Mahowald N.M., Kloster S., Engelstaedter S., Moore J.K., Mukhopadhyay S., McConnell J.R., Albani S., Doney S.C., Bhattacharya A., Curran Ma.J., Flanner M.G., Hoffman F.M., Lawrence D.M., Lindsay K., Mayewski P.A., Neff J., Rothenberg D., Thomas E., Thornton P.E., Zender C.S. 2010
Observed 20th century desert dust variability: impact on climate and biogeochemistry.
Atmospheric chemistry and physics. 10, 10875-10893.
- [43] Maki L.R., Willoughby K.J. 1978
Bacteria as Biogenic Sources of Freezing Nuclei.
Journal of Applied Meteorology and Climatology 17 (7), 1049-1053.
- [44] Malaguti A., Mircea M., La Torretta T.M.G., Telloli C., Petralia E., Stracquadanio M., Berico M. 2015
Chemical Composition of Fine and Coarse Aerosol Particles in the Central Mediterranean Area during Dust and Non-Dust Conditions.
Aerosol and Air Quality Research. 15, 410-425.
- [45] Manfred K.M., Washenfelder R.A., Wagner N.L., Adler G., Erdesz F., Womack C.C, Lamb K.D., Schwarz J.P., Franchin A., Selimovic V., Yokelson R.J., Murphy D.M. 2018
Investigating biomass burning aerosol morphology using a laser imaging nephelometer.
Atmospheric chemistry and physics. 18, 1879-1894.
- [46] Manoj B., Sreelaksmi S., Mohan A.N., Kunjomana A.G. 2012
Characterization of Diesel Soot from the Combustion in Engine by X-ray and Spectroscopic techniques.
International Journal of Electrochemical Science. 7, 3215-3221.
- [47] Marinou E., Tesche M., Nenes A., Ansmann A., Schrod J., Mamali D., Tsekeri A., Pikridas M., Baars H., Engelmann R., Voudouri K.A., Solomos S., Sciare J., Grob S., Amiridis V. 2018
Retrieval of ice nucleating particle concentrations from lidar observations: Comparison with

- airborne in-situ measurements from UAVs.*
Atmospheric chemistry and physics. Discuss., <https://doi.org/10.5194/acp-2018-1203>.
- [48] Marschner, H. 1998
Mineral Nutrition of higher plants.
Academic Press, San Diego. 889.
- [49] Martínez Nistal A. 2013
Microscopía láser confocal.
Universidad de Oviedo.
- [50] Mason B.J. 1952
The spontaneous crystallization of supercooled water.
Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society, 78, 335, 22-27.
- [51] Murray B.J., O'Sullivan D., Atkinson J.D., Webb M.E. 2012
Ice nucleation by particles immersed in supercooled cloud droplets.
Chemical Society Reviews, 2012, 41, 6519-6554.
- [52] O'Sullivan D., Murray B. J., Malkin T. L., Whale T. F., Umo N. S., Atkinson J. D., Price H. C., Baustian K. J., Browse J., Webb M. E. 2014
Ice nucleation by fertile soil dusts: relative importance of mineral and biogenic components.
Atmospheric chemistry and physics. 14, 1853-1867.
- [53] Porter E. K. 1981
Origins and genetic nonvariability of the proteins which diffuse from maize pollen.
Environmental Health Perspectives 37, 53-59.
- [54] Pruppacher H.R., Klett J.D. 2004
Microphysics of clouds and precipitation.
2nd ed. Kluwer Academic Publishers, USA.
- [55] Pummer B. G., Bauer H., Bernardi J., Bleicher S., Grothe H. 2012
Suspendable macromolecules are responsible for ice nucleation activity of birch and conifer pollen.
Atmospheric chemistry and physics. 12, 2541-2550.
- [56] Reid J.S., Koppmann R., Eck T.F., Eleuterio D.P. 2005
A review of biomass burning emissions part II: intensive physical properties of biomass burning particles.
Atmospheric chemistry and physics. 5, 799-825.
- [57] Rogge W.F., Hildemann L.M., Mazurek M.A., Cass G.R., Simoneit B.R.T. 1993
Sources of fine organic aerosol. 3. Road dust, tire debris, and organometallic brake lining dust: roads as sources and sinks.
Environ. Sci. Technol. 27 (9), 1892-1904.
- [58] Schill G.P., Jathar S.H., Kodros J.K., Levin E.J.T., Galang A.M., Friedman B., Link M.F., Farmer D.K., Pierce J.R., Kreidenweis S.M., DeMott P.J. 2016
Ice nucleating particle emissions from photochemically aged diesel and biodiesel exhaust.
Geophysical Research Letters, 43 (10), 5524-5531.
- [59] Schnell R.C., Vali G. 1976
Biogenic Ice Nuclei. Part I. Terrestrial and Marine Sources.
Journal of the Atmospheric Sciences 33 (8), 1554-1564.
- [60] Schnell R.C., Tan-Schnell S.N. 1982
Kenyan tea litter: A source of ice nuclei.
Tellus, 34 (1), 92-95.

- [61] Seinfeld J.H., Pandis S.N. 2006
Atmospheric chemistry and physics, From Air Pollution to Climate Change.
2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.
- [62] Taiz L., Zeiger E. 1998
Plant physiology.
2nd ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland. 792.
- [63] Thoden van Velzen E.U., Brouwer M.T., Keijsers E., Pretz T., Feil A., Jansen M. 2013
Pilot beverage cartons, extended technical report.
Wageningen UR Food and Biobased Research. Report 1440.
- [64] Tobo Y. 2016
An improved approach for measuring immersion freezing in large droplets over a wide temperature range.
Scientific Reports. 6, 32930.
- [65] Tsitouridou R., Anatolaki C. 1993
On the wet and dry deposition of ionic species in the vicinity of coal-fired power plants, northwestern Greece.
Atmospheric Research. 83, 93-105.
- [66] Twomey S. 1974
Pollution and the planetary albedo.
Atmospheric Environment. 8 (12), 1251-1256.
- [67] Vali G., Christensen M., Fresh R.W., Galyan E.L., Maki L.R., Schnell R.C. 1976
Biogenic Ice Nuclei. Part II: Bacterial Sources.
Journal of the Atmospheric Sciences 33 (8), 1565-1570.
- [68] Vali G. 1985
Nucleation terminology.
J. Aerosol S. 16 (6), 575-576.
- [69] Vargas-Radillo J.J., Salazar-Ríos E., Barrientos-Ramírez L., Pérez-Centeno A., Rentería-Urquiza M., Rodríguez-Rivas A., Navarro-Arzate F., Rutiaga-Quiñones J. 2015
Pasta blanqueada y azúcares fermentables a partir de médula de bagazo de caña.
Madera y Bosques. 21 (2), 117-130.
- [70] Viana M., Kuhlbusch T.A.J., Querol X., Alastuey A., Harrison R.M., Hopke P.K., Winiwarter W., Vallius M., Szidat S., Prévot A.S.H., Hueglin C., Bloemen H., Wahlin P., Vecchi R., Miranda A.I., Kasper-Giebl A., Maenhaut W., Hitzenberger R. 2008
Source apportionment of particulate matter in Europe: a review of methods and results.
Journal of Aerosol Science 39, 827-849.
- [71] von Blohn N., Mitra S. K., Diehl K., Borrmann S. 2005
The ice nucleating ability of pollen.
Atmospheric Research, 78, 182-189.
- [72] Wallace J.M., Hobbs P.V. 2006
Atmospheric science: an introductory survey.
2nd ed. Academic Press, Elsevier, California.
- [73] Walpole R.E., Myers R.H., Myers S.L., Ye K. 2012
Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias.
9th ed. Pearson educación, México.

- [74] Washington R., Todd M.C. 2005
Atmospheric controls on mineral dust emission from the Bodélé Depression, Chad: the role of the low level jet.
Geophys. Res. Lett. 32, L17701.
- [75] Yankofsky S.A., Levin Z., Bertold T., Sandlerman N. 1981
Some Basic Characteristics of Bacterial Freezing Nuclei.
Journal of Applied Meteorology and Climatology 20 (9), 1013-1019.
- [76] Zhang R., Shen Z., Cheng T., Zhang M., Liu Y. 2010
The elemental composition of atmospheric particles at Beijing during Asian dust events in spring 2004.
Aerosol Air. Qual. Res. 10, 67-75.