

Neutralización con KOH del aceite de pescado para la obtención de un efluente fertilizante

KOH neutralization of fish oil to obtain a fertilizer effluent

Neutralização KOH de óleo de peixe para obter um efluente fertilizante

Cherrepano Manrique, Reynaldo Francisco; Vélez Chang, Yasmin Jesús; Legua Cárdenas, José Antonio

 **Reynaldo Francisco Cherrepano Manrique**
rcherrepano@unjfsc.edu.pe
Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión,
Perú

 **Yasmin Jesús Vélez Chang**
yvelez@unjfsc.edu.pe
Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión,
Perú

 **José Antonio Legua Cárdenas**
jlegua@unjfsc.edu.pe
Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión,
Perú

Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ALFA

Centro de Estudios Transdisciplinarios, Bolivia
ISSN: 2664-0902
ISSN-e: 2664-0902
Periodicidad: Cuatrimestral
vol. 6, núm. 16, 2022
editor@revistaalfa.org

Recepción: 28 Enero 2022
Corregido: 16 Febrero 2022
Publicación: 30 Marzo 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/540/5403172008/>

DOI: <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v6i16.154>

Al enviar los artículos para su evaluación, los autores aceptan que transfieren los derechos de publicación a la Revista de Investigación Ciencias Agronómicas y Veterinarias ALFA, para su publicación en cualquier medio. Con el fin de aumentar su visibilidad, los documentos se envían a bases de datos y sistemas de indexación, así mismo pueden ser consultados en la página web de la Revista: <http://revistaalfa.org>. Por último, la Revista se acoge en todo lo que concierne a los derechos de autor, al reglamento de propiedad intelectual del Centro de Estudios Transdisciplinarios Bolivia, el cual se encuentra en la siguiente dirección: <http://www.cetbolivia.org>.

Resumen: La presente propuesta es convertir un efluente en un recurso económico, para tal propósito se realizó pruebas experimentales a nivel laboratorio, donde se ensayó la neutralización en la refinación del aceite de pescado, el hidróxido de potasio como agente neutralizante que se propone sustituir al hidróxido de sodio, que actualmente la industria aceitera utiliza, para neutralizar la acidez libre del aceite crudo de pescado. Al realizarse la neutralización con hidróxido de potasio para reducir la acidez libre de los aceites, y realizar los lavados del aceite y neutralizar la acidez de estas aguas con hidróxido de amonio, se obtiene una solución mezcla con propiedades fertilizantes. Para mostrar las propiedades fertilizantes de esta mezcla obtenida se utilizaron como fertilizante foliar aplicado al cultivo rabanito, para ello se realizó la experimentación en campo, se hizo la instalación utilizando el Diseño de Bloques Completamente Aleatorio, con cinco tratamientos.

Palabras clave: Neutralización con KOH, Aceite de pescado, Fertilización.

Abstract: The present proposal is to convert an effluent into an economic resource, for this purpose experimental tests were carried out at the laboratory level, where neutralization was tested in the refining of fish oil, potassium hydroxide as a neutralizing agent that is proposed to replace potassium hydroxide sodium, currently used by the oil industry to neutralize the free acidity of crude fish oil. When neutralizing with potassium hydroxide to reduce the free acidity of the oils, and washing the oil and neutralizing the acidity of these waters with ammonium hydroxide, a mixed solution with fertilizing properties is obtained. To show the fertilizing properties of this obtained mixture, they were used as a foliar fertilizer applied to the radish crop, for which field experimentation was carried out, the installation was made using the Completely Random Block Design, with five treatments.

Keywords: Neutralization with KOH, Fish oil, Fertilization.

Resumo: A presente proposta é converter um efluente em um recurso econômico, para isso foram realizados testes experimentais em nível laboratorial, onde foi testada a



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

neutralização no refino de óleo de peixe, hidróxido de potássio como agente neutralizante que se propõe a substituir o hidróxido de potássio sódico, que atualmente é usado pela indústria do petróleo para neutralizar a acidez livre do óleo de peixe bruto. Ao neutralizar com hidróxido de potássio para reduzir a acidez livre dos óleos, e lavar o óleo e neutralizar a acidez dessas águas com hidróxido de amônio, obtém-se uma solução mista com propriedades fertilizantes. Para mostrar as propriedades fertilizantes desta mistura obtida, eles foram utilizados como fertilizante foliar aplicado na cultura do rabanete, para o qual foi realizada experimentação em campo, a instalação foi feita usando o Desenho de Blocos Completamente Aleatórios, com cinco tratamentos.

Palavras-chave: Neutralização com KOH, Óleo de peixe, Fertilização.

INTRODUCCIÓN

Se ocasiona un daño ambiental por la actividad industrial aceitera, en el caso de la etapa de refinación del aceite de pescado, se generan efluentes que contaminan los recursos hídricos. Es preferible evitar la producción de un residuo que reciclarlo, tratarlo o disponer de él una vez que se haya formado (1). Los efluentes que se producen son mezclas de aguas neutralizadas y de lavado del aceite y son inevitables cuando se refina con hidróxido de sodio al aceite de pescado. El efluente es un residuo líquido compuesto aproximadamente de 94% de agua y 6% de sólidos con alta demanda bioquímica de oxígeno y muy contaminante cuando se descarga en las aguas (2).

Las fábricas aceiteras producen efluentes que se vierten al sistema de alcantarilla ocasionando impacto ambiental negativo a los cuerpos de agua, contraviniendo al desarrollo local sostenible.

Una decisión importante y muestra de responsabilidad ambiental de parte de las empresas aceiteras como por ejemplo la empresa Biopex SAC, es la adquisición de un insumo químico de mayor costo, que es el hidróxido de potasio (KOH) frente al hidróxido de sodio (NaOH) que normalmente hoy en día se utiliza por su menor costo. La ventaja del KOH es reducir la contaminación que, por las características físico químicas y volúmenes de los efluentes producidos, estos cumplen características físico-químicas para ser reutilizados como fertilizantes líquidos para los cultivos. Es una decisión de parte del empresariado que tendría que evaluar la viabilidad técnica y económica para aplicar esta variante en la refinación del aceite crudo desgomado.

El análisis de decisiones es un grupo de herramientas que permiten apoyar y manejar un proceso de evaluación estructurado. Esta metodología se usa ampliamente en la evaluación económica para planeación o programas de salud (3).

Un criterio importante en un proceso físico químico es incorporar el concepto de responsabilidad y eficiencia ambiental, es decir en tratar de recuperar nutrientes y/o recuperación energética, al diseñar el proceso en este caso de la refinación del aceite de pescado (4).

En la recuperación y generación de nutrientes mediante la adición de sustancias químicas en el procedimiento de cambiar un efluente contaminante en un efluente con propiedades fertilizantes a partir de las aguas de lavado del aceite neutralizado y posterior neutralización de estas aguas con hidróxido de amonio, estas aguas van adquiriendo una composición de interés para su reutilización. Las aguas residuales de plantas de beneficio de aceite de palma o Palm Oil Mill Effluent (POME, por su sigla en inglés), requieren tratamiento antes de su uso en riego o su descarga en aguas superficiales (5).

Las propuestas de recuperación y/o tratamiento de los efluentes en la industria alimentaria son viables por la composición de los efluentes que incluyen materia orgánica predominantemente, que pueden tener macro y micronutrientes, que transformados naturalmente o químicamente a estado inorgánico, son aprovechados para el desarrollo vegetativo de un cultivo si se le utiliza como fertilizante. Los efluentes que se pueden emplear, entre otros, como fertilizantes, combustible para calderas y alimento para animales (6).

La utilización del KOH en la refinación del aceite de pescado se experimenta para observar su viabilidad técnica haciendo los cambios necesarios, para obtener una solución que tiene macro y micronutrientes, que se aplica a un conjunto de plantas de rabanito, dispuestas en 3 bloques, con cinco tratamientos por bloque, para observar su respuesta a esta fertilización comparando con el tratamiento control o testigo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las pruebas experimentales físico- químicas se realizaron en el Laboratorio de la empresa líneas arriba mencionada, en el distrito de Supe y las pruebas agronómicas se desarrollaron en el campo de cultivo de Medio Mundo del distrito de Vegueta ubicado en el departamento de Lima.

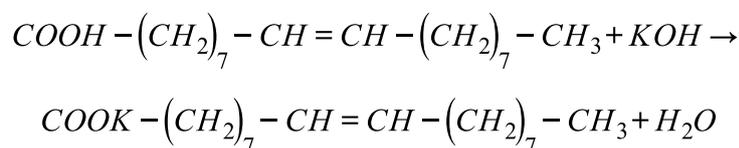
Neutralización en la refinación del aceite con KOH

La acidez de los aceites es el resultado de la descomposición de pequeña cantidad de los triglicéridos que componen los aceites en glicerina y ácidos grasos, este rompimiento de las moléculas del triglicérido es catalizado por acción hidrolítica, tiempo de almacenamiento y trasvases del aceite. El grado de acidez indica la cantidad de ácidos grasos libres en el aceite, a mayor grado de acidez menor calidad (7).

En laboratorio se neutralizó el aceite crudo de pescado (8 L) previamente desgomado a una temperatura de 40°C con agitación constante, utilizando 0.1% p/v de ácido fosfórico. La acidez libre se determinó por titulación del aceite desgomado en medio alcohólico con una solución valorada de KOH y presencia de indicador fenolftaleína, registró un valor de 2% como ácido graso oleico libre.

El aceite de pescado desgomado se vertió a un vaso erlenmeyer de 2 L de volumen, se sometió a calentamiento hasta alcanzar la temperatura de 60°C, luego se procedió a neutralizarlo con KOH (20°Be de concentración) consumiéndose 210 mL., para poder neutralizar la acidez libre de 2%. (Este procedimiento experimental de neutralización en laboratorio se repitió 4 veces para tratar todo el aceite de pescado desgomado disponible).

La reacción estequiométrica de la neutralización entre el aceite de pescado, representado como ácido oleico y el KOH es la siguiente:



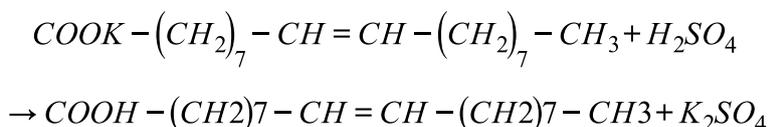
Ácido oleico hidróxido agua Oleato de potasio de potasio

Desdoblamiento del oleato de potasio con ácido sulfúrico y lavado del aceite neutralizado en laboratorio

Decantar el aceite neutralizado por 10", utilizando una pera de decantación, para separar las sales formadas (jabón) a partir de los ácidos grasos libres y el agente neutralizante, las cuales se separaron utilizando la pera

de decantación, obteniéndose aproximadamente 444.4 mL de jabón con 5.2% de merma. Luego se desdobra el jabón utilizando 40 mL al 9% v/v de H_2SO_4 al 98% de concentración, produciéndose 84 mL de agua ácida.

La siguiente reacción estequiométrica muestra el desdoblamiento del jabón, para separar los ácidos grasos,



Oleato de potasio (jabón) ácido sulfúrico ácido oleico sulfato de potasio

El aceite neutralizado y decantado de la pera de decantación, pero aun con restos de KOH en su masa, se sometió a lavados, para ello se le calentó en un vaso erlenmeyer a una temperatura aproximada de 60°C, para verterlo inmediatamente a una pera de decantación de volumen de 2 L, para allí realizar 03 lavados sucesivos, utilizándose 1300 mL por lavado para separar los restos de KOH presentes en la masa del aceite. El agua de lavado con pH neutro y a una temperatura aproximada a 60°C, registró un consumo total de agua de 3900 mL.

El agua de lavado resultante se mezcló con el agua ácida producida en el desdoblamiento del jabón, por efecto de la adición del H_2SO_4

según se ilustra en la segunda reacción química. Se obtuvo un agua mezcla final de pH ácido, por lo se necesitó adicionar un hidróxido para neutralizar esta acidez, se seleccionó al hidróxido de amonio, NH_4OH (teniéndose en cuenta su aporte de nitrógeno al agua) para tener un pH final entre 7-8.5, esta última reacción de neutralización se muestra a continuación:

ácido sulfúrico hidróxido de amonio sulfato de amonio agua

En esta reacción de neutralización la solución ácida representada por el H_2SO_4 se le adiciona NH_4OH , hasta alcanzar un pH neutro, se obtiene finalmente una solución acuosa fertilizante (SAF) según se muestra sus características físico-químicas en la Tabla 1.

Prueba de fertilización en campo de cultivo

La solución acuosa fertilizante, obtenida cuando se neutraliza el aceite con una solución de hidróxido de potasio (KOH), fue analizada físico-químicamente, y presentó resultados que se muestran en la Tabla 1. Al comparar con los resultados obtenidos de las aguas de lavado, cuando se utilizó como agente neutralizante el hidróxido de sodio (NaOH), que se muestran en la Tabla 2, se evidencia un mayor porcentaje de concentración en macronutrientes de nitrógeno y potasio en las aguas de lavado, cuando se neutraliza el aceite con una solución de KOH, y se trata la borra de pescado con ácido sulfúrico y luego con hidróxido de amonio.

TABLA 1.
Análisis físico-químico del efluente resultante de la refinación con KOH.

Parámetro físico-químico	Resultado
Ph	8,24
C.E (mS/cm)	4,71
Sólidos totales (g/L)	3,59
M.O. (mg/L)	722
N (mg/L)	25760
P (mg/L)	88,86
K (mg/L)	1707,51
Ca (mg/L)	17,19
Mg (mg/L)	1,85
C/N	0,03
Fe ppm	0,055
Zn ppm	0,58
Cu ppm	0,005
Mn ppm	0,11

Fuente: Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA).

TABLA 2.
Análisis físico-químico del efluente resultante de la refinación con NaOH.

Parámetro físico-químico	Resultado
Ph	9,29
C.E (mS/cm)	323,00
Sólidos totales (g/L)	1,70
M.O. (mg/L)	1215
N (mg/L)	560
P (mg/L)	82,58
K (mg/L)	201,20
Ca (mg/L)	14,08
Mg (mg/L)	14,03
C/N	1,26
Fe ppm	0,01025
Zn ppm	0,39
Cu ppm	0,001
Mn ppm	0,09

Fuente: INIA

Prueba de fertilización

Para evaluar la eficiencia de la SAF obtenida utilizando la solución de KOH como agente neutralizante en la refinación del aceite de pescado, para la prueba experimental se desarrollaron cinco tratamientos aplicados al cultivo rabanito (*Raphanus sativus*) vía foliar, teniendo en cuenta las recomendaciones de aplicaciones de fertilizantes similares y de la evaluación del análisis físico-químico de la SAF obtenida, que se muestra en la Tabla 1 y del suelo, que se muestra en la Tabla 3. Las dosis utilizadas se muestran en la Tabla 4.

El modelo estadístico que se empleó fue el Diseño de Bloque Completamente al Azar con 5 tratamientos y 3 bloques y se procesaron los datos con Análisis de Varianza y Prueba de Duncan

TABLA 3.
Análisis de fertilidad del suelo en el cultivo de rabanito

C.E. 1:2:5 mS/cm	pH 1:2:5 %	M.O.	N %	P ppm	K ppm	CaCO ₃ %	Interchangeable cations (mEq/100 g soil)				CEC
							Ca	Mg	Na	K	
0,73	8,0	0,51	0,03	17,05	115	5,72	5,95	1,76	0,09	0,28	8,08

Fuente: INIA

CEC: Cation exchange capacity OM: Organic matter

EC Electrical conductivity

Para el tratamiento estadístico se aplicó el análisis de varianza (ANOVA), con la prueba de F homogeneidad al 5% y 1%, que determinarán si los tratamientos son significativos.

Prueba de Duncan

Se utilizó la prueba comparativa de Duncan con el objetivo de determinar la homogeneidad de los resultados de los tratamientos, una prueba más rigurosa que la DMS (Diferencia Mínima Significativa). De esta forma, permite comparar todas las medias (8).

Tratamientos

Se experimentaron las dosis de aplicación foliar, utilizando la SAF a los 10 días después de la siembra, las dosis de aplicación se resumen en la Tabla 4.

TABLA 4.
Dosis de solución fertilizante obtenido por tratamiento.

Tratamiento	L/ha
T1	0
T2	2
T3	3
T4	4
T5	5

RESULTADOS Y DISCUSION

Existe viabilidad técnica a nivel de laboratorio al refinar el aceite de pescado con una solución de KOH, reemplazando al NaOH que actualmente se utiliza en las industrias de aceites comestible de origen animal o vegetal. En la etapa de neutralización del aceite se utiliza el NaOH por su menor costo respecto al KOH.

Los análisis fisicoquímicos, que se muestran en la tabla 1 y 2, indican una mayor concentración de macro y micronutrientes, cuando se utilizó el KOH respecto al NaOH, por lo que estas aguas resultantes de interés para la fertilización de cultivos.

Otro aporte del presente trabajo de investigación es evitar el vertimiento de efluentes al sistema de alcantarillado, que ocasiona impactos ambientales negativos a los cuerpos de agua, como acontece en las actuales actividades de las fábricas aceiteras que refinan sus aceites con NaOH y no utilizan el KOH, por su

mayor costo y no existe un compromiso o responsabilidad de estas empresas para evitar la contaminación de los cuerpos de agua.

Evaluaciones de las características físicas

Las características físicas del cultivo rabanito fertilizado con SAF, que muestra en la tabla 5, indica que el tratamiento T5, fue el que recibió una mayor dosis de la solución fertilizante foliar SAF, presentando un rendimiento superior respecto a los demás tratamientos, con una proyección de producción de 6.649 tn/ha.

TABLA 5.
Características físicas del cultivo de rabanito.

Tratamiento	Efluente polar L/ha	Diámetro polar (cm)	Diámetro ecuatorial (cm)	Longitud de planta (cm)	Peso de planta (g)	Remanente comercial tn/ ha
T5	5	4,16 a	3,42 a	22,26 a	29,52 a	6,649 a
T4	4	3,77 ab	3,21 ab	19,58 ab	26,95 ab	5,954 ab
T3	3	3,60 ab	3,11 ab	17,37 ab	24,85 ab	5,145 ab
T2	2	3,31 ab	2,75 b	16,20 b	22,65 ab	4,855 ab
T1	0	3,15 b	2,62 b	15,78 b	20,75 b	3,979 b
Significancia		**	**	**	**	**
Coefficiente de variación %		12,06	10,81	14,98	16,10	19,43

Significancia (*)
No significativo (**)

Análisis foliar

Los resultados del análisis foliar para los cinco tratamientos realizados se muestran en la Tabla 6.

TABLA 6.
Características físicas del cultivo de rabanito.

Macro nutrientes (%)	T1	T2	T3	T4	T5
Potasio	4,01	1,83	3,05	2,01	3,53
Nitrógeno	2,13	2,79	2,45	2,33	2,76
Fósforo	0,55	0,43	0,47	0,39	0,40
Calcio	2,02	4,87	3,63	4,91	2,47
Magnesio	0,36	0,42	0,41	0,46	0,37
Azufre	1,04	1,07	1,07	1,35	1,02
Micro nutrientes (mg/kg)					
Molibdeno	1,97	1,99	2,87	3,38	1,90
Hierro	> 1 000	> 1 000	> 1 000	> 1 000	822
Manganeso	67,9	131	101	128	72,2
Cobre	5,72	8,65	7,63	8,24	5,79
Zinc	42,9	48,4	42,4	50,6	35,5
Boro	42,7	61,2	53,2	65,8	46,3
Elementos Fitotóxicos (mg/kg)					
Cloruros	20 081	19 272	22 678	22 269	20 530
Sodios	2 930	2 768	3 732	4 322	6 968

Fuente: AGQ PERU SAC(2021) "Informe de ensayo- material vegetal"

DISCUSIÓN

Las Tablas 1 y 2 que muestra los análisis físico-químico del efluente resultante de la refinación con KOH y NaOH respectivamente, indican que las concentraciones de los principales macronutrientes, necesarios para el desarrollo vegetativo de un cultivo, en este caso son el nitrógeno, fosforo y potasio, tienen más ventajas cuando se ha neutralizado con hidróxido de potasio en lugar de utilizar hidróxido de sodio, a su vez se hicieron otros cambios para mejorar las propiedades fertilizantes del efluente a obtener en la neutralización de las aguas ácidas, al utilizar hidróxido de amonio para incorporar el elemento nitrógeno al efluente en forma de sulfato de amonio según se indica en la tercera reacción química presentada líneas arriba.

Otro detalle importante a observar en la neutralización con KOH, es la incorporación a la solución efluente del elemento químico potasio, en la primera reacción química mostrada se observa la generación del sulfato de potasio, en el caso que se neutralice con NaOH se generaría el elemento químico sodio, que en un equivalente a la reacción referida en este párrafo se formaría el sulfato de sodio, siendo esta última sustancia de efecto perjudicial para un cultivo, un efecto contrario y beneficioso tiene el sulfato de potasio.

En relación a la Tabla 5, muestra las características físicas del cultivo de rabanito, por efecto de la aplicación del SAF de acuerdo a dosis indicadas en la tabla 4, se aprecia que el tratamiento T5, presenta unas características físicas de mayor calidad con relación a los demás tratamientos que recibieron menos dosis SAF, incluyendo también el tratamiento testigo. Con respecto a la tabla 6 se muestra los contenidos químicos de los nutrientes a nivel foliar, se aprecia que el tratamiento T5, presenta una concentración de potasio y fosforo ligeramente menor o comparable a los demás tratamientos, esto se explicaría por la mayor masa vegetativa del cultivo rabanito desarrollada por este tratamiento T5.

Los resultados mostrados en el párrafo anterior son por efecto de los contenidos de macronutrientes y micronutrientes del SAF y efluentes obtenidos según se muestra en las Tablas 1 y 2, cuando se utilizó KOH y NaOH respectivamente.

Al respecto se tiene el antecedente de (9) que señala que, luego de analizar el agua de lavado de refinación y agua de la separación de los ácidos grasos, se encontró un potencial de macronutrientes y micronutrientes,

observándose la viabilidad de utilización como solución fertilizante. En esta experiencia presentada se experimento la utilización del KOH en lugar del NaOH para refinar el aceite de soya.

CONCLUSIONES

Al realizar el cambio de agente neutralizante en la refinación de una muestra de aceite de pescado no se apreciaron dificultades en el lavado del aceite para su remoción de restos de KOH de la masa de aceite, por lo que la neutralización es óptima, como si se hubiera utilizado el NaOH.

En el lavado del aceite neutralizado con KOH se aplica químicos al efluente resultante para dar propiedades de interés fertilizante a la mezcla final resultante, en ese caso se utilizó el ácido sulfúrico y el hidróxido de amonio.

Se encontró una mayor concentración de macronutrientes y micronutrientes en las aguas mezcla final o efluentes, cuando se utiliza el agente neutralizante KOH al compararlo con los obtenidos al utilizar el NaOH.

Las características físicas del cultivo rabanito correspondientes al tratamiento T5, son mejores en calidad y rendimiento por ha, con respecto al tratamiento testigo, y también a los demás tratamientos que recibieron menos dosis de la solución acuosa fertilizante, SAF.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Doria M. Química verde: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente Green Chemistry: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente. *Educación Química*. 2009; 20(4):412-420
2. Ling O, Kong L, y Khoon C. Conversión de efluentes y tusas en fertilizantes orgánicos con cero desperdicios. *Palmas*. 2007;(28):II
3. Sánchez R, Gamboa O, y Díaz J. Modelos empleados para la Toma de Decisiones en el Cuidado de la Salud. *Revista de Salud Pública*. Bogotá. Colombia. 2008;10(1)
4. Senior A, Narváz M, Fernández G, y Revilla J. Responsabilidad ambiental: factor creador de valor agregado en las organizaciones. *Revista de Ciencias Sociales* 2007
5. Althausin M. Tratamiento de efluentes de la planta de beneficio-convertir un residuo en un recurso. *Revista Palmas*. Vol. 37, N° Especial. 2016:31-37
6. Garcés C, y Cuellar M. Productos derivados de la industria de la palma de aceite. *Usos*. Palmas. 1997; 18(1)
7. Acosta D, Baños J, y Bustamante K. Determinación del grado de acidez por volumetría de neutralización en muestras comerciales de aceite de oliva, girasol y soya. *Artículo de Investigación*. 1-8. Laboratorio de Química Analítica II, Facultad de Ciencias Químicas (CCQQ), Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.10. 2019
8. Condo L. "Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias". Tomo N°1. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo e instituto de Investigaciones. Ecuador. 2015:91
9. Legua J. Reducción de la contaminación en la refinación del aceite. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 2001;4(8)