

## 10. DISEÑO DE EXPERIMENTOS

El diseño de un experimento es la secuencia completa de pasos previstos para asegurar que los datos apropiados se obtendrán de modo que permitan un análisis objetivo que conduzca a deducciones válidas con respecto al problema establecido.

Al igual que en el análisis de regresión, en el diseño de experimentos también se utilizan modelos que requieren fórmulas para el análisis; a continuación, algunas fórmulas utilizadas para definir modelos en el diseño de experimentos:

- $a + b$  : efectos de  $a$  y  $b$
- $X$ : si  $X$  es una matriz, describe un efecto aditivo para cada una de las columnas.
- $a : b$ : efecto interactivo entre  $a$  y  $b$
- $a * b$ : efectos aditivos e interactivos entre  $a$  y  $b$
- $\text{poly}(a, n)$ : polinomios de  $a$  hasta grado  $n$
- $\wedge n$ : incluye todas las interacciones hasta el nivel  $n$
- $b\%in\%a$ : los efectos de  $b$  están anidados en  $a$
- $a - b$ : remueve el efecto de  $b$
- $- 1: y \sim x - 1$  regresión a través del origen (igual para  $y \sim x + 0$  o  $y \sim 0 + x$ )
- $1: 1$  ajusta un modelo sin efectos (solo el intercepto)
- $\text{Offset}(\dots)$ : agrega un efecto al modelo sin estimar los parámetros

Como se observa en la mayoría de las fórmulas para determinar cierto modelo, en un diseño de experimentos se trabaja con efectos que clasifican la variable respuesta; para construir estas variables clasificatorias es necesario construir un vector de caracteres o numérico que contenga la respectiva clasificación para cada elemento de la variable respuesta.

### 10.1 CONSTRUCCIÓN DE VARIABLES CLASIFICATORIAS

Para construir las variables clasificatorias es necesario construir un vector de caracteres o numérico que contenga la respectiva clasificación para cada elemento de la variable respuesta. Dado que la anterior construcción puede ser un poco dispendiosa en caso de tener gran cantidad de datos, se presentan a continuación varias opciones para construir variables de clasificación.

**Diseños desbalanceados:** En este caso podemos crear un vector mediante el comando  $c()$  y dentro de él utilizar el comando  $\text{rep}()$  para generar la cantidad respectiva de niveles.

Ejemplo: Si se tiene un diseño con tres niveles (a, b y c) de tamaños 2, 3 y 4, respectivamente, la forma para crear el vector con estos niveles está dada por:

```
>
> niveles=c(rep("a",2),rep("b",3),rep("c",4))
>
> niveles
[1] "a" "a" "b" "b" "b" "c" "c" "c" "c"
>
```

Imagen 166. Salida R generación de niveles

En algunos casos es conveniente modificar los atributos del vector generado; para el caso del vector cuyos atributos son caracteres, el cambio se realiza a través de la instrucción:

```
niv = as.factor(niveles)
```

**Diseños balanceados:** En este caso, como el número de réplicas por nivel es igual, se puede utilizar el comando `gl(n,k,length=n*k,labels=, ordered=FALSE)`, donde **n** determina el número de niveles, **k** determina el número de réplicas por nivel, **length = n\*k** determina el tamaño del vector, **labels** es un vector opcional en el cual se puede especificar el nombre de cada uno de los niveles y **ordered** por defecto es FALSE, en caso de ser TRUE ordena los factores de menor a mayor, en caso de ser numéricos, y en orden alfabético en caso de ser caracteres.

Ejemplo: Considere que se necesita generar un vector que contenga 5 niveles con 3 réplicas por nivel.

```
> # N° Niveles
> n = 5
>
> # N° replicas
> k = 3
>
> # Nombre de cada nivel
> nombres = c("A","B","C","D","E")
>
> # Generación de niveles
> gl(n,k,length=n*k,labels=nombres)
> niveles
[1] A A A B B B C C C D D D E E E
LEVELS: A B C D E
```

Imagen 167. Salida R Generación de niveles comando gl

## 10.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

La tabla de análisis de varianza resume el conocimiento acerca de la variabilidad en las observaciones del experimento, el comando utilizado en R para obtener un análisis de varianza es:

```
aov(formula, data = NULL, contrasts = NULL)
```

Los argumentos utilizados en el comando anterior son: **formula**, que especifica el modelo; **data**, en caso de ser un data.frame que incluye las variables presentes en el modelo, si las variables han sido construidas previamente se deja **data=NULL**. Al igual que los modelos de regresión, en el análisis de varianza se utilizan comandos extractores de información; algunos de ellos se presentan aquí:

- **summary.aov()**: Muestra un resumen del análisis de varianza (Tabla ANOVA).
- **model.tables()**: Construye una tabla en la cual se encuentran los efectos de cada uno de los tratamientos.
- **TukeyHSD()**: Crea un conjunto de intervalos de confianza sobre las diferencias entre las medias de los niveles; los intervalos son calculados a través de rangos estudentizados (método de diferencias verdaderamente significativas de Tukey), además, si al comando se le precede con el comando **plot(TukeyHSD)** se genera una gráfica para los intervalos construidos en la prueba.

Es de notar que algunos de los comandos extractores de información utilizados en el análisis de regresión también se pueden utilizar en el análisis de varianza (**predict** y **residuals**, entre otros). Ahora un ejemplo del libro *Diseño de experimentos*, de Robert O Kuehl (2001, p. 38).

Ejemplo: La vida de anaquel de las carnes almacenadas es el tiempo que un corte previamente empacado es sano, nutritivo y vendible. Un paquete normal expuesto al aire ambiental tiene una vida aproximada de 48 horas, después de las cuales la carne comienza a deteriorarse por contaminación de microbios, degradación del calor y encogimiento. El empaque al vacío es efectivo para suprimir el desarrollo de microbios, sin embargo, continúan siendo un problema los otros aspectos. Algunos estudios sugieren las atmósferas controladas de gas, como alternativa de los empaques actuales. Dos atmósferas que prometen combinar la capacidad de suprimir el desarrollo de microbios con la conservación de las cualidades de la carne son: 1) dióxido de carbono puro CO, y 2) mezclas de monóxido de carbono. En la siguiente tabla se muestran los datos obtenidos para el número de bacterias sicotrópicas ( $\log(N^0/cm^2)$ ) en muestras de carne almacenadas en cuatro condiciones de empaque.

Tabla 11: Datos bacterias sicotrópicas

Condiciones de empaque	Bacterias ( $\log(N^0/cm^2)$ )
Empaque comercial (comercial)	7.66, 6.98, 7.80
Empaque al vacío (vacío)	5.36, 5.44, 5.80
Mezcla de gases (COON)	7.41, 7.33, 7.04
Dióxido de carbono (CO)	3.51, 2.91, 3.66

Con los datos se procede a correr el diseño de experimentos, así:

```

>
> # Factores de clasificación
> nombres=c("comercial","vacío","COON","CO")
> empaques=gl(4,3,length=12,labels=nombres)
>
> # Variables respuesta
> Bacterias=c(7.66,6.98,7.80,5.26,5.44,5.8,7.41,7.33,7.04,3.51,2.91,3.66)
>
> # Diseño de experimento
> aov(Bacterias~empaques)
Call:
  aov(formula = Bacterias ~ empaques)

Terms:
                empaques Residuals
Sum of Squares  32.8728    0.9268
Deg. of Freedom      3         8

Residual standard error: 0.3403674
Estimated effects may be unbalanced

```

*Imagen 168. Salida R Diseño de experimentos*

Como se aprecia en la imagen anterior, los resultados mostrados por el comando `aov()` son sencillos, por lo que si se requiere mayor información acerca del modelo para el diseño de experimentos se necesita trabajar con algunos otros comandos extractores; por ejemplo, la tabla de análisis de varianza se construye mediante el comando `anova()`. Para trabajar con los comandos extractores se utiliza una asignación para el modelo.

```

>
> # Asignación para el modelo
> Mbact = aov(Bacterias~empaques)
>
> # Tabla de análisis de varianza
> anova(Mbact)

Analysis of Variance Table

Responce: Bacterias
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
empaques  3  32.873   10.958   94.584 1.376e06 ***
Residuals  8   0.927    0.116
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

*Imagen 169. Salida R Modelo para el diseño*

A continuación se construye una tabla en la cual se encuentran los efectos de cada uno de los tratamientos.



```

>
> # Efectos de los tratamientos
> model.tables(Mbact)
Tables of effects

empaques
empaques
comercial      vacío      COON      CO
      1.58      -0.40      1.36      -2.54

```

Imagen 170. Salida R Efectos de los tratamientos

Luego se construyen los intervalos de Tukey (método de diferencias verdaderamente significativas).

```

>
> # Prueba de Tukey
> TukeyHSD(Mbact)
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = Bacterias ~ empaques)

$empaques
      diff      lwr      upr      p adj
vacío-comercial -1.98 -2.869962 -1.090038 0.0004549
COON-comercial  -0.22 -1.109962  0.669962 0.8563618
CO-comercial    -4.12 -5.009962 -3.230038 0.0000020
COON-vacío       1.76  0.870038  2.649962 0.0010160
CO-vacío        -2.14 -3.029962 -1.250038 0.0002639
CO-COON         -3.90 -4.789962 -3.010038 0.0000031

```

Imagen 171: Salida R Prueba de Tukey

Gráfica de los intervalos de Tukey `plot(TukeyHSD(Mbact))`

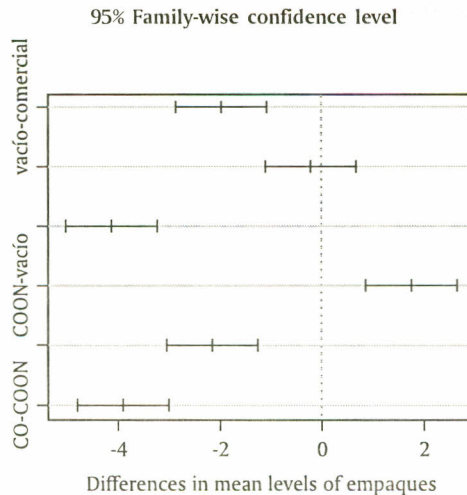


Imagen 172. Salida R Gráficos sobre los intervalos de Tukey

Como se ha mencionado, los comandos extractores utilizados en el análisis de regresión se pueden utilizar en el diseño de experimentos como se ilustra:

```
>
> # valores ajustados
> predict(Mbact)
  1    2    3    4    5    6    7    8    9   10   11   12
7.48 7.48 7.48 5.50 5.50 5.50 7.26 7.26 7.26 3.36 3.36 3.36
>
> # residuales
> residuals(Mbact)
  1    2    3    4    5    6    7    8    9   10   11   12
0.18 -0.50 0.32 -0.24 -0.06 0.30 0.15 0.07 -0.22 0.15 -0.45 0.30
```

Imagen 173. Salida R Comandos extractores

Una forma alternativa para elaborar la tabla de análisis de varianza y realizar las comparaciones entre tratamientos es mediante la creación de un archivo de texto (ver capítulo 11, importar y exportar datos). Para su elaboración, estando en la consola de R, en el menú Archivo, opción Nuevo Script, se despliega una ventana de edición donde se escribe la información de los tratamientos y los correspondientes valores de la variable respuesta, de manera que en la primera fila se ubique un nombre que se refiera a los tratamientos junto con un nombre para la variable que se está midiendo en el diseño de experimentos; con los datos del ejemplo de la vida de anaquel de las carnes, se tiene:

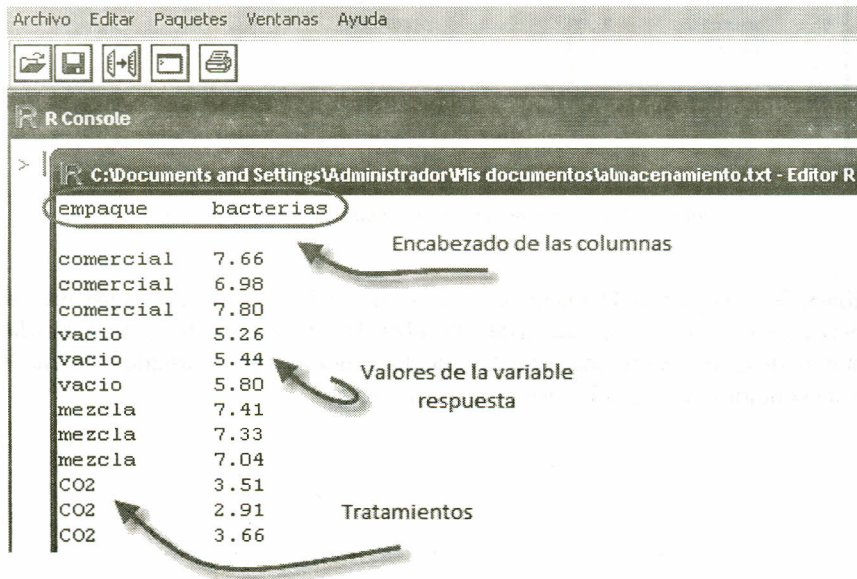
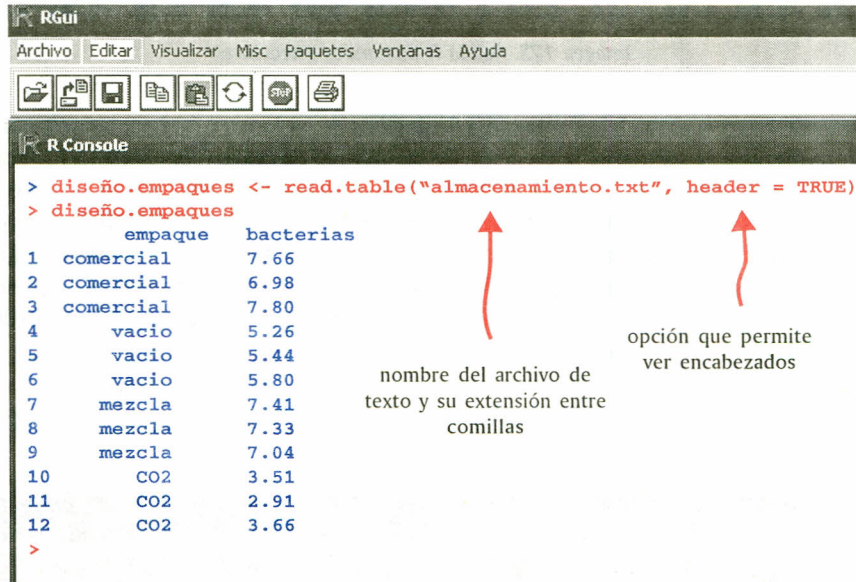


Imagen 174. Creación archivo de texto

Para guardar el archivo de texto, R emplea, por defecto, a **Mis documentos**; para este caso el nombre escogido fue `almacenamiento.txt`.

Ahora, en la consola de R, se debe importar el archivo tal como se muestra en la sección 11.1 importar; como el archivo de texto se encuentra en **Mis documentos** no es necesario cambiar de directorio para importarlo. Para elaborar la tabla con los datos del archivo de texto, que permitirá la elaboración del análisis de varianza y las comparaciones entre tratamientos, se recomienda un nombre que haga alusión a los datos contenidos en el archivo; para el ejemplo, la tabla se denominó `diseño.empaques`, así:



```
> diseño.empaques <- read.table("almacenamiento.txt", header = TRUE)
> diseño.empaques
  empaque bacterias
1 comercial  7.66
2 comercial  6.98
3 comercial  7.80
4 vacio      5.26
5 vacio      5.44
6 vacio      5.80
7 mezcla     7.41
8 mezcla     7.33
9 mezcla     7.04
10 CO2       3.51
11 CO2       2.91
12 CO2       3.66
>
```

nombre del archivo de texto y su extensión entre comillas

opción que permite ver encabezados

Imagen 175. Creación de tabla con datos de archivo de texto

Es posible que se tenga más de una tabla en la consola de R para realizar el análisis de varianza, de manera que se utiliza el comando `attach(nombre de la tabla)`, como se muestra en la imagen 176; además, después del comando `attach`, al digitar el nombre que se asignó a los tratamientos, R presenta el nombre de los diferentes niveles del factor.

```

Archivo  Editar  Visualizar  Misc  Paquetes  Ventanas  Ayuda
[Icons]

R Console
> attach(diseño.empaques)

> diseño.empaques
  empaque  bacterias
1  comercial  7.66
2  comercial  6.98
3  comercial  7.80
4   vacio     5.26
5   vacio     5.44
6   vacio     5.80
7   mezcla   7.41
8   mezcla   7.33
9   mezcla   7.04
10  CO2       3.51
11  CO2       2.91
12  CO2       3.66

> empaque
[1] comercial comercial comercial vacio vacio
[6] vacio mezcla mezcla mezcla CO2
[11] CO2 CO2
Levels: CO2 comercial mezcla vacio

```

Imagen 176. Invocar tabla de datos en la consola de R

Una vez se haya invocado la tabla con los datos por procesar, se crea un objeto con los resultados de la tabla de análisis de varianza mediante el comando `anova(lm(variable respuesta ~ tratamientos))`, donde el comando `lm()` se utilizó para ajustar modelos lineales, en el capítulo 9 (análisis de regresión).

```

RGui
Archivo  Editar  Visualizar  Misc  Paquetes  Ventanas  Ayuda
[Icons]

R Console
> attach(diseño.empaques)
> anova.diseño.empaques = anova(lm(bacterias~empaques))
> anova.diseño.empaques
Analysis of variance Table

Response: bacterias
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
empaques  3  32.873   10.9576    94.584 1.376e-06 ***
Residuals  8   0.927    0.1158
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>

```

Imagen 177. Tabla de análisis de varianza para el ejemplo de las carnes



Para realizar las comparaciones en pares de todos los tratamientos se tiene el método de Tukey (o la denominada de Diferencia Honestamente Significativa, HSD) y pruebas como la de Student–Newman-Keuls (SNK), la de la Mínima Diferencia Significativa (Least Significant Difference) y la de Intervalos Múltiples de Duncan, entre otras. Para ejecutar en R las pruebas mencionadas, una alternativa es descargar el paquete `agricolae_1.0-9.zip` (Procedimientos Estadísticos para Investigación en Agricultura), de la página <http://cran.r-project.org>, en el que además del archivo `.zip` está el manual de referencia `agricolae.pdf`, que muestra otros procedimientos del diseño experimental.

El comando que se requiere es **nombre de la prueba**(y, “`trt`”, `DFerror`, `MSerror`, `alpha = 0.05`, `group=TRUE`, `main = NULL`), donde:

**nombre de la prueba** hace referencia a la sintaxis para las pruebas de Duncan, Tukey y Student–Newman-Keuls, la cual corresponde a `duncan.test`, `HSD.test` y `SNK.test`, respectivamente.

`y`, en este argumento se escribe el modelo, ya sea mediante los comandos `aov` o `lm`.

`trt` es el nombre dado a los tratamientos.

`DFerror` hace referencia a los grados de libertad del error.

`MSerror`, valor del cuadrado medio del error.

`Alpha`, valor del nivel de significancia de la prueba; por defecto, R trabaja con 0.05.

`Group`, este argumento requiere de las opciones `FALSE` o `TRUE`. Mediante la opción `FALSE`, R arroja los valores de las diferencias entre cada par de tratamientos, el p-valor y el correspondiente intervalo de confianza; con la opción `TRUE` se asigna letras a los tratamientos, donde tratamientos con la misma letra indican que no hay diferencias entre ellos.

`main` permite asignar un título a los resultados que arroja R; este título se debe escribir entre comillas.

Con los datos del ejemplo de la vida de anaquel de las carnes, una vez se corre la tabla de análisis de varianza, la prueba de Tukey se puede llevar a cabo especificando el modelo, el nombre de los tratamientos, el argumento `group=FALSE`, y un título para los resultados, así:

```

R Console
> HSD.test(lm(bacterias-empaque), "empaque", group=FALSE, main="PRUEBA DE TUKEY")

Study: PRUEBA DE TUKEY

HSD Test for bacterias

Mean Square Error: 0.11585

Empaque, means

      bacterias  std.err replication
CO2          3.36 0.2291288         3
comercial    7.48 0.2532456         3
mezcla       7.26 0.1123981         3
vacio        5.50 0.1587451         3

alpha: 0.05 ; Df Error: 8
Critical Value of Studentized Range: 4.52881

Comparison between treatments means

      Difference  pvalue sig      LCL      UCL
comercial - CO2    4.12 0.000002 *** 3.230038 5.009962
mezcla - CO2      3.90 0.000003 *** 3.010038 4.789962
vacio - CO2       2.14 0.000264 *** 1.250038 3.029962
comercial - mezcla 0.22 0.856362    -0.669962 1.109962
comercial - vacio  1.98 0.000455 *** 1.090038 2.869962
mezcla - vacio    1.76 0.001016 **  0.870038 2.649962

```

Imagen 178. Prueba de Tukey para el ejemplo de las carnes

En el ejemplo no se indicó el valor para alfa, de manera que por defecto empleo el valor 0.05; observando los resultados, al comparar las medias por pares de tratamientos no se presentan diferencias entre tipo de empaque comercial y mezcla de gases, pues para la diferencia entre estos tratamientos el p-valor es de 0.8564.

De manera similar se procede para las pruebas de Duncan y SNK.

Cuando la prueba por emplear es la de Mínima Diferencia Significativa, el comando es:

```

LSD.test(y, trt, DFerror, MSerror, alpha = 0.05, p.adj=c("none", "holm", "hochberg",
«bonferroni», BH», BY», «fdr»), group=TRUE, main = NULL)

```

Es de notar que a diferencia de las pruebas anteriores se inserta un nuevo argumento denominado **p.adj**, que indica el método para ajustar el p-valor; al especificar la opción "none", R arroja el valor empleando la distribución t-Student.

```

R Console
> LSD.test(lm(bacterias-empaque), "empaque", group=FALSE, p.adj=c("none"),
+ main = "PRUEBA DE MÍNIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA")

Study: PRUEBA DE MÍNIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA

LSD t Test for bacterias

Mean Square Error: 0.11585

empaque, means and individual ( 95 % ) CI

      bacterias  std.err  replication  LCL  UCL
CO2          3.36  0.2291288         3  2.831628  3.888372
comercial    7.48  0.2532456         3  6.896015  8.063985
mezcla      7.26  0.1123981         3  7.000810  7.519190
vacio       5.50  0.1587451         3  5.133933  5.866067

alpha: 0.05 ; Df Error: 8
Critical Value of t: 2.306004

Comparison between treatments means

      Difference  pvalue  sig  LCL  UCL
comercial - CO2      4.12  0.000000  ***  3.479141  4.760859
mezcla - CO2         3.90  0.000001  ***  3.259141  4.540859
vacio - CO2          2.14  0.000057  ***  1.499141  2.780859
comercial - mezcla   0.22  0.451410         -0.420859  0.860859
comercial - vacio    1.98  0.000100  ***  1.339141  2.620859
mezcla - vacio      1.76  0.000225  ***  1.119141  2.400859

```

Imagen 179. Prueba LSD para el ejemplo de las carnes

Mediante esta prueba se observa que con nivel de significancia igual a 0.05 no hay diferencias nuevamente entre los tratamientos comercial y mezcla de gases.

### 10.3 EJERCICIOS

10.3.1 Suponga que se tiene un diseño de experimentos desbalanceados con cinco niveles de clasificación, llamados a, b, c, d y e, de tamaños 8, 12, 10, 15 y 9, respectivamente; construya un vector que sirva para la clasificación de los datos.

10.3.2 La Gulupa es una fruta de gran acogida debido a su aporte nutricional; en un estudio anterior se estableció que en el estado cero (verde medio a verde oscuro pálido), la fruta alcanza su máximo peso total; con el fin de verificar este antecedente se construyó y aplicó un diseño de experimentos que arrojó los siguientes datos.

ESTADO DE MADURACIÓN	REPETICIÓN	PESO (g)
CERO	1	60,2
	2	63,4
	3	44,8
UNO	1	56
	2	57,4
	3	41,4
DOS	1	55,4
	2	43
	3	50,5
TRES	1	59
	2	45
	3	58
CUATRO	1	55
	2	46,3
	3	50,8
CINCO	1	62,3
	2	56,3
	3	47,8

Con esta información construya en R el diseño de experimentos y determine si existen o no evidencias estadísticas para pensar que el peso en los diferentes estados de maduración de la fruta difiere significativamente.