



# REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:  
Investigación, desarrollo y práctica.

## DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS HORTOFRUTÍCOLAS POR VÍA MESOFÍLICA A ESCALA DE LABORATORIO

\*Syalidia Zárate- Jiménez<sup>1</sup>  
SergioPérez-Fabiel<sup>1</sup>  
Gustavo Yáñez-Ocampo<sup>1</sup>  
Josué Chanona-Soto<sup>1</sup>

*ANAEROBIC DIGESTION OF FRUIT AND VEGETABLE  
WASTE BY MESOPHILIC VIA LABORATORY SCALE*

*Recibido el 2 de septiembre de 2013; Aceptado el 28 de mayo de 2014*

### Abstract

The objective of this study was to assess the biological methane potential (*BMP*) of different fruit and vegetable waste and mixtures thereof in anaerobic biodegradability tests. Physicochemical studies were done to allow performing formulations of substrate:inóculo in a relation of 3 gCOD: 1.5 gTVS for a conventional anaerobic digestion. Substrates *BMP* values and their corresponding biodegradabilities were obtained for banana, papaya, mango and mix vegetables, in terms of mLCH<sub>4</sub>/gCOD<sub>Total</sub> and percentages were as follows: 255, 313, 341 and 341; 76, 89, 97, and 97%, respectively. Subsequently, mixtures of aforementioned substrates were analyzed which did not show significant differences in methane production in comparison of individual substrates.

**Key Words:** Anaerobic digestion, biodegradability, *BMP*.

<sup>1</sup>Ingeniería en Tecnología Ambiental, Universidad Politécnica de Chiapas, México.

\*Autor correspondiente: Calle Eduardo J. Selvas s/n y Avenida Manuel de J. Cancino. Colonia Magisterial. C.P. 29082. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Email: [syalidia@hotmail.com](mailto:syalidia@hotmail.com)

## Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial biológico de metano (*BMP*, por sus siglas en inglés), de diferentes residuos hortofrutícolas, y mezclas de éstos en ensayos de biodegradabilidad anaerobia. Se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica de los residuos, la cual permitió realizar la formulación de sustrato:inóculo en una relación de 3 gDQO: 1.5 gSTV para una digestión anaerobia convencional. Los valores de *BMP* de sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas, en términos de  $mLCH_4/gDQO_{Total}$ , fueron de 255, 313, 341 y 341, respectivamente. Así también, se calcularon los porcentajes de biodegradabilidad siendo finalmente de 76, 89, 97, y 97% para plátano papaya, mango y hortalizas respectivamente. Posteriormente se analizaron mezclas de los sustratos mencionados anteriormente, los cuales no arrojaron diferencias significativas en la producción de metano con respecto a las producciones individuales de los mismos.

**Palabras clave:** Digestión anaerobia, biodegradabilidad, *BMP*

---

## Introducción

En México los cultivos de mango, plátano, papaya, jitomate, cebolla y lechuga constituyen dos terceras partes (63%) de la producción hortofrutícola nacional (SAGARPA, 2013), de lo cual, cada año se desperdician alrededor de 49 millones 834 mil toneladas de frutas y verduras, más del 50%, por diversas causas, entre la recolección y el consumo (CONACCA, 2013).

Ante este panorama la digestión anaerobia no solamente se perfila como una vía útil para el tratamiento y reciclamiento de residuos hortofrutícolas, sino también como una fuente de producción de energía en forma de gas metano ( $CH_4$ ) (Isci y Demirer, 2007; Converti *et al.*, 2009).

Desarrollar el potencial de fuentes de energía no fósiles producen diversos tipos de beneficios tanto económicos, como sociales y ambientales. Coadyuva en aumentar la seguridad en el abasto de energía, así como la mitigación del cambio climático, producido por la emisión de gases y partículas contaminantes, al desplazar el consumo de combustibles fósiles se reducen impactos sobre la salud y medio ambiente.

La metanización por digestión anaerobia consiste en la degradación de la materia orgánica disponible mediante un consorcio bacteriano en un proceso coordinado en cuatro etapas, hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. El potencial biológico de metano (*BMP*, por sus siglas en inglés) por parte de los residuos hortofrutícolas puede ser medido por ensayos de biodegradabilidad anaerobia, el cual se efectúa en lote en condiciones ideales de sustrato, inóculo y elementos nutricionales trazas.

Este estudio evaluó principalmente el *BMP* de diferentes residuos hortofrutícolas en condiciones mesofílicas bajo formulaciones basadas en la caracterización fisicoquímica de los sustratos.

## **Materiales y métodos**

### Sustratos e inóculo

Los residuos hortofrutícolas utilizados como sustratos fueron pulpa de mango, plátano, papaya y una mezcla de frutos de jitomate, cebolla y lechuga (porciones iguales entre ellos). El inóculo fue obtenido de un digestor anaerobio en régimen mesofílico (35°C) de 75 L de volumen útil, alimentado de manera semi-continua con una solución de pulpa de plátano con agua.

### Métodos analíticos

La caracterización fisicoquímica de los sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas se realizó de acuerdo a normas mexicanas para aguas residuales, las cuales fueron modificadas para el tipo de muestras. Demanda Química de Oxígeno (DQO) (método de reflujó abierto) (NMX-AA-030-SCFI-2001). La caracterización bromatológica se basó en las normas mexicanas correspondientes. Humedad (NOM-116-SSA1-1994), cenizas (NMX-F-066-S-1978), proteína cruda (método Kjeldahl) (NMX-F-068-S-1980), fibra cruda (NMX-F-090-S-1978), grasa cruda (método Soxhlet) (NMX-F-089-S-1978) y carbohidratos los cuales fueron cuantificados por diferencia de los parámetros anteriores.

### Diseño experimental

El diseño experimental consistió en la utilización de sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas en diferentes fracciones, para determinar su efecto sobre la producción de metano. Las fracciones establecidas como tratamientos fueron las siguientes: plátano, papaya, mango, hortalizas, papaya-plátano (8:2), papaya-mango (8:2), hortalizas- plátano (8:2) y hortalizas-mango (8:2).

### Ensayos de biodegradabilidad anaerobia

Los ensayos de biodegradabilidad anaerobia de los sustratos se basaron en la metodología descrita por Labatut *et al.*, (2011). Los ensayos permiten determinar el valor experimental de la producción máxima de metano producido a partir de una formulación establecida de sustrato e inóculo. La metodología cumplió la relación 3 gDQO: 1.5 gSTV de sustrato:inóculo en cada tratamiento establecido, los cuales fueron evaluados en reactores de vidrio de 500 ml, donde también fueron agregados nutrientes y solución de fosfatos como amortiguador, se fijó el pH inicial a 7 y como indicador de presencia de oxígeno se añadió resazurina. Finalmente los reactores fueron sellados e incubados a temperatura ambiente, la cual se mantuvo dentro del intervalo mesofílico entre 28 y 35°C. Posteriormente se realizó la cuantificación del CH<sub>4</sub>, mediante el montaje de un lavador de gases con solución de NaOH 3 N y un dispositivo tipo rotámetro (marca RITTER). Cuando el biogás ingresa al lavador de gases el CO<sub>2</sub> presente en el biogás es retenido por la solución de hidróxido de sodio y el CH<sub>4</sub> ingresa al contador Ritter, donde el volumen de CH<sub>4</sub> es cuantificado con ayuda de dos cámaras calibradas

volumétricamente (3.22 mL/cámara) seguido de un registro magnético. Asimismo, el Ritter cuenta con una interfase electrónica que permitió visualizar fácilmente el volumen acumulado en función del tiempo que sirvió posteriormente para el cálculo del *BMP*.

#### Calculo de BMP

El valor numérico de *BMP* se determinó a partir de la ecuación 1. El volumen acumulado de metano fue convertido a condiciones normales de presión y temperatura (0 °C, 1 atm y 22.4L gas/mol). El metano acumulado en cada tratamiento fue graficado en función del tiempo de la cinética hasta que la velocidad fue constante. En este punto último de velocidad constante es donde el valor de *BMP* tomó lugar partiendo de la línea de tendencia de estabilidad de la gráfica hasta un punto perpendicular hasta el eje de las Y. Dando el valor final en unidades de mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>total</sub>.

$$BMP = \frac{V_{acum}}{materia\ orgánica} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

BMP: Potencial biológico de metano (mLCH<sub>4</sub>/gDQO)

V<sub>acum</sub>: Volumen acumulado de metano (mL) durante el experimento en condiciones normales de presión y temperatura (0°C y 1 atm de presión, considerando 22.4 L gas/mol)

Materia orgánica: Masa de materia orgánica (g DQO ó g STV)

#### Calculo de biodegradabilidad

El porcentaje de biodegradabilidad se obtuvo a partir de la ecuación 2.

$$Biodegradabilidad = \frac{BMP}{Producción\ teórica\ de\ metano} * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

Biodegradabilidad: (%)

BMP = Potencial biológico de metano (mLCH<sub>4</sub>/gDQO)

Producción teórica de metano = (350 mLCH<sub>4</sub>/gDQO)

#### Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) determinó diferencia entre valores de *BMP* obtenidos. Para comparaciones múltiples de *BMP* de los diferentes tratamientos se utilizó la prueba de Tukey. Ambos métodos estadísticos se realizaron utilizando el software Minitab versión 3.15. El intervalo de confianza o el nivel de significancia en este trabajo, fue del 95%.

## Resultados

### Caracterización fisicoquímica

A partir de la caracterización fisicoquímica de los sustratos utilizados en este estudio se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 1.

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica de los residuos hortofrutícolas

Residuo	DQO (g/L)	ST (g/L)	STV (g/L)	STV/ST	MO (%)
Plátano	139	226	169	0.75	75
Papaya	46	78	51	0.66	66
Mango	54	140	131	0.94	94
Hortalizas	16	40	35	0.89	89

*DQO: Demanda química de oxígeno; ST: Sólidos totales; STV: Sólidos totales volátiles; MO: Materia orgánica*

Los parámetros DQO y STV analizados permitieron realizar la formulación en cada uno de los tratamientos establecidos respetando la relación sustrato:inóculo de 3 gDQO: 1.5 gSTV.

La razón STV/ST, que indica el contenido de materia orgánica no recalcitrante, es decir la parte viable para ser biotransformada, fue mayor en la muestra de mango y hortalizas siendo 94 y 89% respectivamente. Los valores obtenidos permitieron determinar la viabilidad de los sustratos para la metanización.

### Caracterización bromatológica

La composición bromatológica de los residuos se describe en la tabla 2.

**Tabla 2.** Caracterización bromatológica de los residuos hortofrutícolas

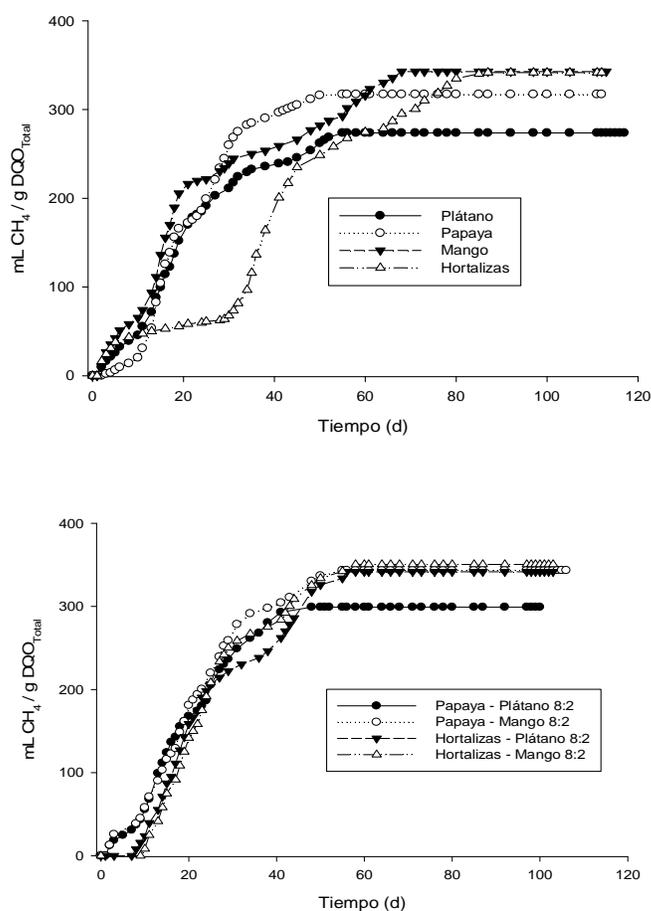
Residuo	Humedad %	Cenizas %	Proteína cruda %	Fibra cruda %	Grasa cruda %	Carbohidratos %
Plátano	69	1	1	1	1	27
Papaya	89	1	1	1	1	7
Mango	81	0	1	2	1	15
Hortalizas	94	1	1	1	1	2

El contenido en agua de hortalizas, papaya y mango fue del 94, 89 y 81% respectivamente, siendo los sustratos con mayor porcentaje de humedad. La mayoría de las frutas contiene una cantidad razonable de carbohidratos. Estos pueden incluir proporciones variables (de acuerdo con la fruta, la madurez, etc.) de dextrosa, fructosa y sacarosa, y posiblemente almidón (Kirk *et*

*al.*, 2005). La fracción de carbohidratos en plátano, mango, papaya y hortalizas fue del 27, 15, 7 y 2% respectivamente, los valores obtenidos son comparables con los compilados por Muñoz *et al.*, (2000). En general los porcentajes obtenidos de la caracterización bromatológica elucidaron que en un balance de compuestos orgánicos la metanización provendría directamente de una conversión de los carbohidratos siempre y cuando se encuentre en forma disponible para su transformación (Labatut *et al.*, 2011).

### Perfiles de BMP

La figura 1 muestra los perfiles de producción de metano de los sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas y de las diferentes mezclas. Las curvas obtenidas permitieron determinar el *BMP* y la biodegradabilidad de los diferentes sustratos.



**Figura 1.** Perfil de producción de metano de los diferentes sustratos  
Potencial biológico de metano (BMP)

Los valores numéricos de *BMP* de los sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas y de las diferentes mezclas se determinaron a partir de la ecuación 1, los datos obtenidos se presentan en la tabla 3. El análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95% ( $P < 0.05$ ), demostró que los valores de *BMP* de las diferentes mezclas de sustratos no fueron significativamente superiores respecto a los sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas. Los valores de *BMP* variaron de 255 a 350  $\text{mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{Total}}$ .

**Tabla 3.** Valores experimentales de *BMP*

Tratamiento	Sustrato	<i>BMP</i> ( $\text{mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{Total}}$ )	Tiempo (d)
I	Plátano	255 ± 7	56
II	Papaya	313 ± 1	55
III	Mango	341 ± 0	68
IV	Hortalizas	341 ± 0	97
V	Papaya - Plátano (8:2)	290 ± 3	66
VI	Papaya - Mango (8:2)	327 ± 5	100
VII	Hortalizas - Plátano (8:2)	341 ± 0	92
VIII	Hortalizas - Mango (8:2)	350 ± 0	76

*BMP*: Potencial biológico de metano; d: Día en alcanzar la máxima producción de metano

El mango fue el sustrato con mayor *BMP*, siendo 341  $\text{mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{Total}}$ , concluidos 68 días de fermentación, siendo superior al valor encontrado por Ceja en el 2011 de 250  $\text{mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{Total}}$ , el cual representa un 36% de incremento; esto pudo deberse al grado de madurez del sustrato puesto que bioquímicamente se conoce que en la ruta metabólica de la producción de metano, los monómeros de las biomoléculas son las que desencadenan tal producción.

En el mango verde el carbohidrato es mayoritariamente almidón, que en la fruta madura es reemplazado en gran parte por sacarosa, glucosa y fructosa (Kirk *et al.*, 2005), tal condición permitió que los microorganismos asimilaran de forma directa carbohidratos simples para la producción de metano. Por otra parte el mango es una fuente excelente de muchos minerales como el magnesio, el calcio, el sodio y el fósforo los cuales se encuentran presentes en mayor proporción (Muñoz *et al.*, 2000). La presencia de estos nutrientes probablemente proporcionó a las diversas poblaciones bacterianas los requerimientos necesarios para su desarrollo en el proceso de digestión anaerobia.

El sustrato de hortalizas tuvo un *BMP* de 341  $\text{mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{Total}}$ , concluidos 97 días de digestión. Similar al sustrato de mango, el grado de madurez de algunas hortalizas posiblemente favoreció la producción de metano debido a la asimilación directa de carbohidratos simples por parte de

los microorganismos. Al igual que el mango las hortalizas son fuente notable de minerales como calcio, magnesio, potasio y hierro (Muñoz *et al.*, 2000), elementos que de alguna manera promovieron o sirvieron como cofactores de crecimiento bacteriano, y por ende una alta producción de metano. De lo anterior se engloba que el sustrato de hortalizas presentó mayor fracción de carbohidratos disponibles.

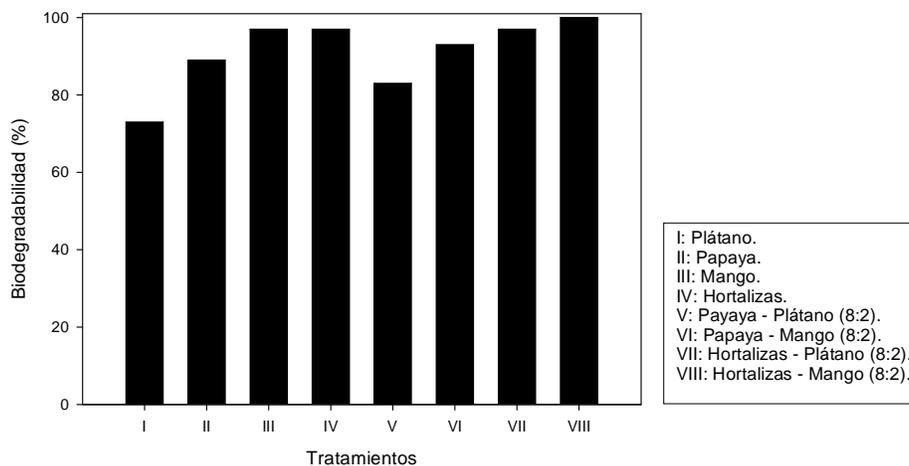
El *BMP* de la papaya fue de 313 mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>Total</sub>, transcurridos 55 días de fermentación, superior al valor reportado por Ceja (2011), quien obtuvo 214 mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>Total</sub> concluidos 100 días de digestión. Esto representa un 46% de incremento en la producción de metano. La variación de *BMP* entre ambos valores se puede atribuir al grado de madurez en los sustratos. El plátano presentó valor de *BMP* significativamente menor ( $P > 0.05$ ) respecto a papaya, mango y hortalizas, esto indica que el plátano fue el sustrato con menor *BMP* cuyo valor fue de 255 mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>Total</sub> después del día 56 de fermentación. Aun cuando no pueda ser comparado, por la naturaleza del sustrato, el valor encontrado en este estudio es superior al reportado por Kirtane *et al.*, (2009), quien evaluó la cáscara de plátano, obteniendo un valor de 232 mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>Total</sub> pasados 120 días de fermentación. La razón que determinó el bajo *BMP* de la cáscara respecto a la pulpa de plátano, se debió a la difícil degradación y transformación a glucosa de materiales lignocelulósicos (Cuervo *et al.*, 2009) ya que el 42% de la cáscara de plátano se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina (Manjarrés *et al.*, 2010), por el contrario la cantidad de polisacáridos no digeribles (fibra cruda) determinados en el sustrato de estudio fue del 1%.

El decremento en la producción de metano del plátano respecto a los sustratos de mango, hortalizas y papaya se puede atribuir al contenido de almidón en el fruto maduro, el cual se aproxima a 3% (Kirk *et al.*, 2005), la fracción de este polisacárido en el sustrato, debido a su estructura semicristalina, implica que los gránulos de almidón absorban el agua y se gelatinicen (Espinosa, 2008). Esta característica pudo haber desfavorecido el contacto directo entre el sustrato y las poblaciones microbianas limitando la producción de CH<sub>4</sub> (Tumutegyereize *et al.*, 2011). Similar al plátano, la mezcla de sustrato papaya-plátano (8:2), cuyo valor de *BMP* fue 290 mLCH<sub>4</sub>/gDQO<sub>Total</sub>, finalizados 66 días de digestión, presentó *BMP* significativamente menor ( $P > 0.05$ ) respecto al resto de sustratos. La mezcla no tuvo un efecto positivo sobre la eficiencia de metanización, posiblemente por el valor tan bajo de *BMP* del plátano. Respecto a los valores de *BMP* de las diferentes mezclas de sustratos, se determinó que los tratamientos evaluados no presentaron diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). Esto permitió determinar que las mezclas no mejoraron la producción de CH<sub>4</sub> en comparación con los residuos por si solos.

### Biodegradabilidad

La biodegradabilidad anaerobia, se determinó a partir de la ecuación 2, la figura 2 muestra los porcentajes obtenidos.

En el rango mesofílico el porcentaje de biodegradabilidad de plátano, papaya, mango, hortalizas y mezcla de estos fue del 76 al 100 %. Los sustratos de mango y hortalizas presentaron el 97 % de biodegradabilidad, similar a ello, la biodegradabilidad en la mezcla de ambos sustratos fue del 100 %. Sin embargo en plátano, papaya y mezcla de ambos la biodegradabilidad fue del 76, 89 y 83 % respectivamente. Dichos valores no superan las eficiencias reportadas del 90 % por Labatut *et al.*, (2011) para algunos residuos de origen vegetal.



**Figura 2.** Biodegradabilidad de los diferentes sustratos

### Conclusiones

Los valores de  $BMP$  fueron de 255, 313, 341 y 341  $mLCH_4/gDQO_{Total}$  para sustratos de plátano, papaya, mango y hortalizas respectivamente, alcanzando porcentajes de eficiencia en el mismo orden de 76, 89, 97 y 97%. Para mezcla de sustratos de papaya-plátano (8:2), papaya-mango (8:2), hortalizas- plátano (8:2) y hortalizas-mango (8:2) los valores de  $BMP$  fueron 290, 327, 341 y 350  $mLCH_4/gDQO_{Total}$  respectivamente alcanzando porcentajes de eficiencia en el mismo orden de 83, 93, 97 y 100%.

Los valores de  $BMP$  de mezcla de sustratos de papaya, mango y hortalizas, superaron las eficiencias convencionales del 90%. Sin embargo las mezclas no reflejaron diferencia significativa con respecto a la producción de metano de los sustratos.

### Referencias bibliográficas

Ceja, C. E. A. (2011) Estudios preliminares de obtención de valores de potencial de producción de metano ( $BMP$ ) de desechos agroindustriales y actividad metanogénica específica de inóculos anaerobios ( $AME$ ) Tesina para licenciatura en ingeniería ambiental. Chiapas, México.

- Comisión Nacional del Agua (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-030-SCFI-2001, Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Comisión Nacional del Agua (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-034-SCFI-2001, Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- CONACCA (2013). Confederación nacional de agrupaciones de comerciantes de centros de abasto, A. C. Consultado el 15 de junio de 2013, desde <http://www.conacca.org.mx/>
- Converti, A., Oliveira, R. P. S., Torres, B. R., Lodi, A., Zilli, M. (2009) Biogas production and valorization by means of a two-step biological process, *Bioresource Technology*, **100**, 5771–5776.
- Cuervo, L., Folch, J. L., Quiroz, R. E. (2009) Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol, *BioTecnología*, **13**(3), 11-25.
- Espinosa, S. Vicente. (2008) Estudios estructurales de almidón de fuentes no convencionales: mango (*Mangifera indica L.*) y plátano (*Musa paradisiaca L.*), Tesis de Maestría en Ciencias en Desarrollo de Productos Bioticos. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec. Morelos.
- Isci, A & Demirer, G. N. (2007) Biogas production potential from cotton wastes, *Renewable Energy*, **32**, 750–757.
- Kirk, R. S., Sawyer, R., Egan, H. (2005) Productos de las frutas y las legumbres. En: Composición y análisis de alimentos de Pearson. Compañía Editorial Continental. Mexico. 199-258.
- Kirtane, R. D., Suryawanshi, P. C., Patil, M. R., Chaudhari, A. B., Kothari, R. M. (2009) Optimización de la cantidad de carga orgánica para diferentes desechos de diferentes frutas durante la metanización, *Scientific and Industrial Research*, **68**, 252-255.
- Labatut, R. A., Angenent, L. T., Scott, N. R. (2011) Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates, *Bioresource Technology*, **102**, 2255-2264.
- Manjarrés, K., Castro, A., Rodríguez, E. (2010) Producción de *lacasa* utilizando *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de plátano y bagazo de caña, *Lasallista*, **7**(2), 9-15.
- Muñoz, M., Ledesma, J. A., Chávez, A., Pérez, F., Mendoza, E., Castañeda, J., Calvo, C., Castro, I., Sánchez, C., Avila, A. (2000) Tablas de valor nutritivo. En: Los alimentos y sus nutrientes. Mc Graw Hill. México. 35-148.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-F-066-S-1978, Determinación de cenizas en alimentos.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-F-068-S-1980, Determinación de proteínas en alimentos.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-F-089-S-1978, Determinación de extracto etéreo (método de Soxhlet) en alimentos.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2012) Norma Oficial Mexicana. NMX-F-090-S-1978, Determinación de fibra cruda en alimentos.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2012) Norma Oficial Mexicana. NOM-116-SSA1-1994, Determinación de humedad en alimentos.
- SAGARPA (2013). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado el 15 de junio de 2013, desde <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>
- Tumutegyreize, P., Muranga, F. I., Kawongolo, J., Nabugoomu, F. (2011) Optimization of biogas production from banana peels: Effect of particle size on methane yield, *African Journal of Biotechnology*, **10**(79), 18243-18251.