



RIIIT®

**REVISTA INTERNACIONAL
DE INVESTIGACIÓN E
INNOVACIÓN TECNOLÓGICA**

10°
Aniversario
RIIIT

RIIIT Científica
Bimestre
marzo-abril 2023
Año: 11, No. 61



Análisis de la intención conductual para usar Google Classroom en estudiantes de bachillerato

Torres-Nabel, L.C.*; Toledo-Nares, E.U.

Reducing the complexity of implementing the vehicle routing problem using evolutionary strategies and fuzzy logic

Montes-Dorantes, P.N.*; Ireta-Sanchez, P.H.; Méndez, G.M.

Evaluation of in vitro gastrointestinal digestion on the release of phytochemicals from the fruit of nanche (*Byrsonima crassifolia* L.)

Agredano-De la Garza, C.S.; Berumen-Varela, G.; León-Fernández, A.E.; Bautista-Rosales, P.U.; Balois-Morales, R.*

Reducción de partes defectuosas fabricadas a base de resina fenólica moldeadas por inyección durante el proceso de acabado "shot-blasting"

Arguelles-Ojeda, J.L.

Inmunolocalización celular de una enzima participante en la ruta de degradación del naftaleno

Camacho-Morales, R.L.

Caracterización y prevalencia de los polimorfismos de los farmacogenes CYP2C8 y CYP2C9 implicados en el metabolismo de anti-inflamatorios no esteroideos en población del norte de México

Michel-Martínez, H.; González-Galarza, F.F.; López-Márquez, F.C.; Prieto-Hinojosa, A.I.; Argüello-Astorga, J.R.; Arellano-Pérez Vertti, R.D.*

Desarrollo de un alimento para tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) con harina de larva de mosca soldado negro *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae)

Sánchez-Velázquez, J.*; Nieto-Ramírez, M.I.; Oviedo-Olvera, M.V.; Ramírez-Ramírez, J.C.; Peña-Herrejón, G.A.; Feregrino-Pérez, A.A.; García-Trejo, J.F.

Evaluación financiera-ambiental de tecnologías de aprovechamiento energético de RSU en el estado de Oaxaca

Escamilla-García, P.E.*; Morales-Castro, J.A.; Pérez-Soto, F.; Alvarado-Raya, H.E.; Estrada-Chavira, M.E.

Producción de biodiésel y análisis de costos usando aceite de cocina

Riojas-González, H.H.*; Guerra-Bautista, R.; Ruiz H.A.; Rodríguez-Jasso, R.M.

Cuantificación del biogás generado en tres sitios de disposición final del Estado de San Luis Potosí, México

López-Díaz, N.L.; Durán-García, H.M.*; Álvarez-Fuentes, G.; Ávila-Galarza, A.; Pulido-Delgado, J.L.; Barajas-Beltrán, M.del S.

Cintillo Legal

RIIT REVISTA INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA, Vol. 11, No. 61. Marzo - Abril 2023, es una publicación bimestral editada y publicada por Universidad Autónoma de Coahuila, boulevard Venustiano Carranza s/n colonia República Oriente, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, Tel. (844) 414 85 82, <https://riit.com.mx/>, correo electrónico: publicacionesriit@uadec.edu.mx. Editor responsable: Dra. Antonia Mtz. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2022-021512364600-102, ISSN: 2007-9753, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Departamento de Divulgación y Comunicación Digital de la Dirección de Investigación y Posgrado de la UAdeC, Q.F.B. Fernando García, Edificio “D” planta alta, unidad Camporredondo, Saltillo, Coahuila, C.P. 25280, Tel. (844) 414 85 82, fecha de última modificación: 01 Marzo 2023.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de Universidad Autónoma de Coahuila.

Tabla de Contenido

Título artículo/ Autores	Páginas
Análisis de la intención conductual para usar Google Classroom en estudiantes de bachillerato Torres-Nabel, L.C. - Toledo-Nares, E.U.	1 - 19
Reducing the complexity of implementing the vehicle routing problem using evolutionary strategies and fuzzy logic Montes-Dorantes, P.N., Ireta-Sánchez, P.H., Méndez, G.M.	20 - 46
Effect of <i>in vitro</i> gastrointestinal digestion on the release of phytochemicals from nanche (<i>Byrsonima crassifolia</i> L.) fruit Agredano-De la Garza, C.S., Berumen-Varela, G., León-Fernández, A.E., Bautista-Rosales, P.U., Balois-Morales, R.	47 - 61
Reducción de partes defectuosas fabricadas a base de resina fenólica moldeadas por inyección durante el proceso de acabado “shot-blasting” Arguelles-Ojeda, J.L., Pineda-Rico, Z.	62 - 75
Inmunolocalización celular de una enzima participante en la ruta de degradación del Naftaleno Camacho-Morales, R.L., Cárabez-Trejo, A.	75 - 92
Caracterización y prevalencia de los polimorfismos de los farmacogenes <i>CYP2C8</i> y <i>CYP2C9</i> implicados en el metabolismo de anti-inflamatorios no esteroideos en población del norte de México Michel-Martínez, H., González-Galarza, F.F., López-Márquez, F.C., Prieto-Hinojosa, A.I., Argüello-Astorga, J.R., Arellano-Pérez Vertti, R.D.	93 - 108
Desarrollo de un alimento para tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> (Perciformes: Cichlidae) con harina de larva de mosca soldado negro <i>Hermetia illucens</i> (Diptera: Stratiomyidae) Sánchez-Velázquez, J., Nieto-Ramírez, M.I., Oviedo-Olvera, M.V., Ramírez-Ramírez, J.C., Peña-Herrejón, G.A., Feregrino-Pérez, A.A., García-Trejo, J.F.	109 - 126

Evaluación financiera-ambiental de tecnologías de aprovechamiento energético de RSU en el estado de Oaxaca Escamilla-García, P.E., Morales-Castro, J.A., Pérez-Soto, F., Alvarado-Raya, H.E., Estrada-Chavira, M.E.	127 - 141
Producción de biodiésel y análisis de costos usando aceite de cocina Riojas-González, H.H., Guerra-Bautista, R., Ruiz H.A., Rodríguez-Jasso, R.M.	142 - 156
Cuantificación del biogás generado en tres sitios de disposición final del Estado de San Luis Potosí, México López-Díaz, N.L., Durán-García, H.M. Álvarez-Fuentes, G., Ávila-Galarza, A, Pulido-Delgado, J.L., Barajas-Beltrán, M.delS.	157 - 166



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Análisis de la intención conductual para usar Google Classroom en estudiantes de bachillerato

Analysis of behavioral intention to use Google Classroom in high school students

Torres-Nabel, L.C.^{a*}, Toledo-Nares, E.U.^b

^a Universidad Pedagógica Nacional 141; C.P. 44620, Guadalajara, Jalisco [<https://orcid.org/0000-0002-5845-9290>].

^b Universidad Pedagógica Nacional 141; C.P. 44620, Guadalajara, Jalisco.

cesar.torres@upn141.edu.mx; 1441me20b0016@upn141.edu.mx

Innovación: identificación de factores en la intención de usar Google Classroom mediante una variación de la Teoría Unificada de Aceptación y uso de la Tecnología 2 (UTAUT2).

Área de aplicación: ámbito de la investigación educativa e instituciones de Educación Media Superior (EMS).

Recibido: 02 agosto 2022

Aceptado: 08 noviembre 2022

Abstract

The COVID-19 pandemic forced students from Mexico and the world to migrate to an online mode of education. In this context, Learning Management Systems (LMS) gained importance. From which, the most widely used in Mexico is Google Classroom (GC). However, there is little information on the acceptance and use of this LMS by students in this country. Therefore, this study used a variation of the second version of the structural model of the Unified Theory of Acceptance and Use of Technology (UTAUT2) to determine the degree of influence that the factors defined in the theory have and their relationship with the behavioral intention to use GC. For this reason, this study applied surveys to 102 students 6th semester high school students from Colegio Anahuac Garibaldi (CAG) and corroborated the correlations of the factors that determine the behavioral intention to use GC. Data analysis was performed using Partial Least Squares Structural Equations (PLS-SEM). In this sense, it was found that the direct determinant of intention to use CG was habit, followed by performance expectancy and social influence. On the other hand, effort expectancy, facilitating conditions and hedonic motivation are not direct determinants of behavioral intention to use CG. However, facilitating conditions are indirect determinants through habit, while hedonic motivation is a predictor of intention to use, through performance expectancy,

social influence, and habit. Finally, it was found that the most important factor is habit, followed by facilitating conditions. For this reason, it is recommended that institutions of Higher Secondary Education (EMS) interested in using GC implement strategies to use GC in a constant and consistent manner, as well as generate means such as Internet and technical and pedagogical support within the institution, so that students have the ease of using the educational platform. It is recommended that future studies consider a mixed methodology through a case study, to deepen students' perception about the acceptance and use of GC, as well as to consider teachers who use the LMS in the analysis.

Keywords: Google Classroom, behavioral intention, UTAUT2.

Resumen

La pandemia por COVID-19 obligó a los estudiantes de México y el mundo a migrar hacia una modalidad educativa en línea. En ese contexto, cobraron importancia los Sistemas de Gestión del Aprendizaje (LMS). De los cuales, el más utilizado en México, es Google Classroom (GC). Sin embargo, existe escasa información sobre la aceptación y uso de los estudiantes hacia este LMS en este país. Por lo tanto, este estudio utilizó una variación de la segunda versión del modelo estructural de la Teoría Unificada de la Aceptación y Uso de la Tecnología (UTAUT2) para determinar el grado de influencia que tienen los factores definidos en la teoría y su relación con la intención conductual de utilizar GC. Por lo anterior, este estudio aplicó encuestas a 102 estudiantes de 6° semestre de bachillerato del Colegio Anáhuac Garibaldi (CAG) y corroborar las correlaciones de los factores que determinan la intención conductual en el uso de GC. El análisis de los datos, se realizó mediante Ecuaciones Estructurales de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-SEM). En ese sentido, se encontró que el determinante directo en la intención de utilizar GC fue el hábito, seguido de la expectativa de desempeño y la influencia social. Por otro lado, la expectativa de esfuerzo, condiciones facilitadoras y motivación hedónica no son determinantes directos en la intención conductual para utilizar GC. Sin embargo, las condiciones facilitadoras son determinantes indirectos a través del hábito, mientras que la motivación hedónica es predictor de la intención de uso, por medio de la expectativa de desempeño, la influencia social y el hábito. Finalmente, se encontró que el factor más importante es el hábito, seguido de las condiciones facilitadoras. Por tal motivo se recomienda a las instituciones de Educación Media Superior (EMS) interesadas en utilizar GC implementar estrategias para utilizar GC de manera constante y consistente, así como generar los medios tales como internet y soporte técnico y pedagógico dentro de la institución, para que los estudiantes tengan la facilidad de utilizar la plataforma educativa. Se recomienda que en estudios futuros se contemple una metodología mixta mediante un estudio de caso, para profundizar en las percepciones de los estudiantes sobre la aceptación y uso de GC, así como también, considerar en el análisis a los docentes que utilizan el LMS.

Palabras clave: Google Classroom, intención conductual, UTAUT2.

I. Introducción

En el margen de la educación en línea causada por la pandemia mundial del virus SARS-CoV-2 (COVID-19), en México han cobrado especial relevancia los Sistemas de Gestión de Aprendizaje (LMS, Learning Management Systems,). Este término se refiere a una plataforma que facilita la creación, organización y gestión de cursos en línea [1]. En consecuencia, los LMS han sido la base de diversas instituciones educativas en los tiempos actuales.

En el año 2020, los LMS más utilizados por estudiantes universitarios en México fueron Google Classroom (GC) (34%); seguido de Zoom (23%); otras no especificadas (23%); Educativa (9%); Moodle (7%) y Microsoft Teams (5%) [2]. De lo anterior, se aprecia que GC es el LMS que se usa con mayor frecuencia. A principios del año 2021, GC ya contaba con más de 150 millones de usuarios por todo el mundo [3]. Por otro lado, aunque desde principios del año 2022, la mayoría de los centros escolares de todos los niveles educativos regresaron a las aulas, GC fue el LMS con mayor cantidad de búsquedas vía Google [4].

Por lo anterior, es importante generar mayor conocimiento que profundice acerca de la aceptación que tiene GC, ya que es el LMS más utilizado en México. En ese sentido, algunos estudios en México y Latinoamérica han abordado el problema de la percepción e impacto de GC [5], [6]. Sin embargo, son escasos los estudios que examinan los factores que influyen en la intención conductual (BI, behavioral intention) de usarlo.

Este estudio se propone estudiar la BI de usar GC en alumnos de 6° semestre de bachillerato, del Colegio Anáhuac Garibaldi (CAG), desde el modelo de la segunda versión de la Teoría Unificada de Aceptación

y Uso de la Tecnología (UTAUT2, Unified Theory of Acceptance and Use of Technology 2,). Con esta investigación se aborda una brecha en la literatura relevante al identificar factores en la BI para usar GC en alumnos de bachillerato. De acuerdo a lo anterior, se establece el siguiente objetivo general de investigación:

Determinar el grado de influencia de los factores de UTAUT2 en la BI de estudiantes de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC.

Con base a este objetivo general se desglosan los siguientes objetivos específicos:

1. Identificar los factores de UTAUT2 que determinan la BI de estudiantes de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC.
2. Distinguir los factores de UTAUT2 más importantes que determinan la BI de estudiantes de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC.

II. Método

2.1 Modelo estructural

Se determinó utilizar la UTAUT2 debido a que es un referente teórico común diseñado por Venkatesh, Thong & Xu (2012) [7], en el cual se aglomeran a ocho modelos y teorías (Fig 1) de diversos ámbitos psicológicos, sociales e informáticos. El modelo tiene como propósito predecir la intención de usar una determinada tecnología por parte del usuario [8].

En la figura 1 se presentan los constructos de los modelos que conforman UTAUT, estos modelos son la teoría de la innovación y la difusión (IDT, Innovation Diffusion Theory) [9]; la teoría de la acción razonada (TRA, theory of reasoned action) [10]; la teoría de conducta planeada (TPB, theory of planned behavior) [11]; el modelo de la aceptación tecnológica (TAM, technology acceptance model) [12]; la teoría social cognitiva (SCT, social cognitive theory) [13]; el modelo de

utilización de PC (MPCU, model of PC utilization) [14]; la combinación de TAM y

TPB (C-TAM-TPB) [15] y el modelo motivacional (MM) [16].

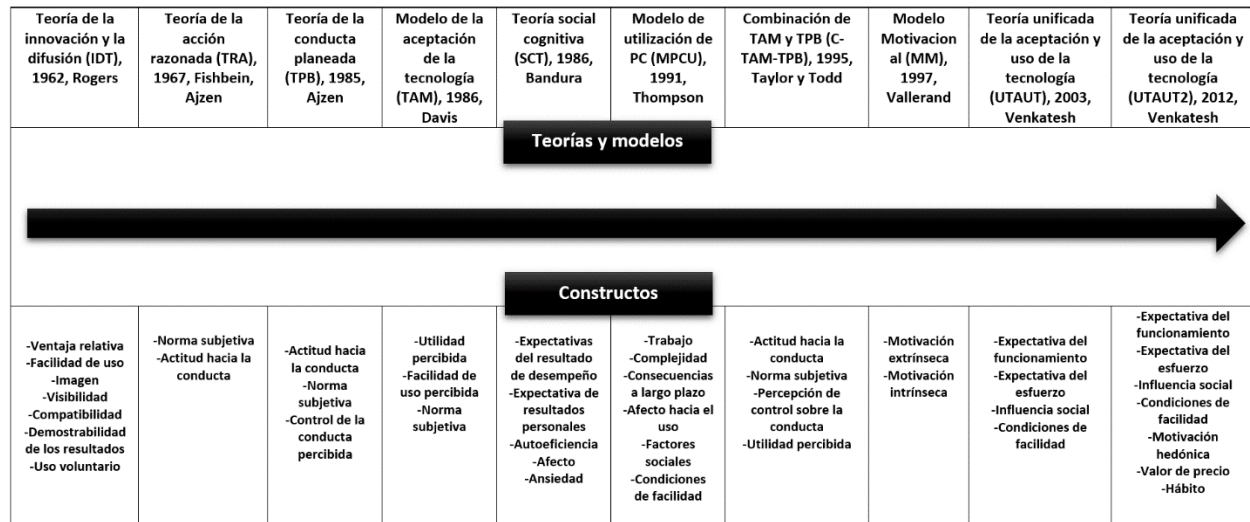


Figura 1. Línea del tiempo de las teorías incluidas en UTAUT adaptada de [8].

En este estudio se utilizó una variación del modelo original de Venkatesh et al. [7] propuesto por Bervell & Kumar (2019) [17] presentada en la figura 2, en donde los investigadores realizaron una modificación de UTAUT2 con la implementación de una relación no lineal de 6 factores de la teoría.

A continuación, se describen cada uno de estos factores desde la perspectiva de la presente investigación a partir de la definición de Venkatesh, Morris & Davis et al. (2003) [18], y las hipótesis propuestas para la investigación (Tab 1), de acuerdo a como se relacionan estos factores como predictores de la BI.

1. Intención conductual (BI). Este estudio define BI como las percepciones individuales de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato sobre el grado de su voluntad de intentar utilizar la plataforma GC en su aprendizaje [19].

2. Expectativa de desempeño (PE, performance expectancy). Se refiere a las expectativas individuales de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato para utilizar

GC y mejorar su rendimiento de aprendizaje, aumentar sus conocimientos, habilidades y satisfacer las necesidades individuales de aprendizaje [18]. De acuerdo con Alotumi (2022) [19], a partir de las ideas preconcebidas de los estudiantes, los puntos de referencia para evaluar la utilidad de GC son la mejora de sus resultados y el cumplimiento de sus objetivos académicos. De lo anterior se propone la siguiente hipótesis:

H1: PE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

3. Expectativa de esfuerzo (EE, effort expectancy). Es el grado de percepción de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato sobre la facilidad de usar GC en su aprendizaje [18]. En otras palabras, la idea de que GC es fácil de utilizar, determina su uso continuo [19]. Así se ha propuesto la siguiente hipótesis:

H2: EE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

4. Influencia social (SI, social influence). En concordancia con Alotumi (2022) [19], este estudio define SI como las percepciones

individuales de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato sobre el grado en que los maestros, compañeros de clase, familiares y amigos los alientan a usar la plataforma GC. Así, se ha desarrollado la siguiente hipótesis:
H3: SI tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

5. Condiciones facilitadoras (FC, facilitating conditions). La investigación actual define FC como las percepciones individuales de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato sobre el grado en que creen que tienen los medios de ayuda (por ejemplo, recursos, habilidades y apoyo) para emplear la plataforma GC en su aprendizaje. FC también puede llegar a ser un predictor del hábito (HA, habit) que se genera en el uso de GC [19]. Por ello, las hipótesis son las siguientes:

H4: FC tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

H5: FC tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC.

6. Motivación hedónica (HM, hedonic motivation). Es la percepción individual de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato sobre el grado en que creen que disfrutan usar GC para su aprendizaje [18]. Según Bervell & Kumar (2019) [17], HM también es un

predictor directo de PE, EE, SI, HA para relacionarse de manera indirecta con BI. De tal manera que se han desarrollado las siguientes hipótesis:

H6: HM tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

H7: HM tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC.

H8: HM tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC.

H9: HM tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC.

H10: HM tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC.

7 HA. Es el grado de preferencia de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato para usar GC de forma automática [7]. Según Bervell & Kumar [17], HA también es un predictor indirecto de BI mediante su relación con PE, EE y SI. Así se han desarrollado las siguientes hipótesis:

H11: HA tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC.

H12: HA tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC.

H13: HA tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC.

H14: HA tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC.

Tabla 1. Hipótesis propuestas en el estudio.

Hipótesis	Declaración
H1	PE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H2	EE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H3	SI tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H4	FC tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H5	FC tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC
H6	HM tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H7	HM tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC
H8	HM tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC
H9	HM tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC
H10	HM tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC
H11	HA tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC
H12	HA tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC
H13	HA tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC
H14	HA tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC

Nota: Adaptado de [7], [17] y [19].

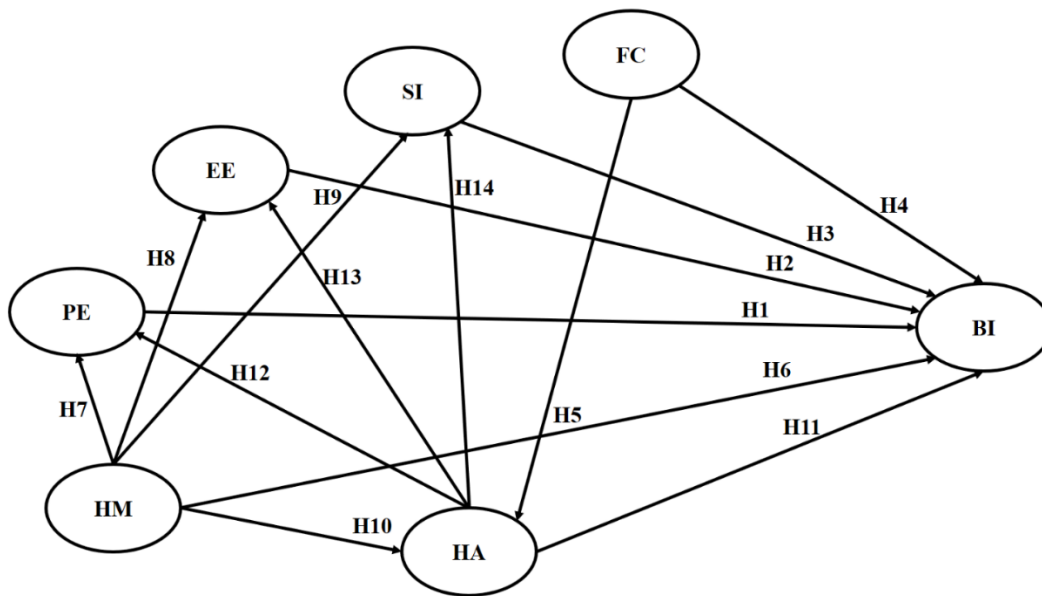


Figura 2. Variación de UTAUT2 de [17] adoptado en este estudio.

2.2 Participantes

La población de la investigación abarcó a 117 alumnos de 6° semestre de bachillerato, del Colegio Anáhuac Garibaldi (CAG) de la zona metropolitana de Guadalajara, Jalisco en México. El muestreo fue no probabilístico y por conveniencia, es decir, se seleccionaron aquellos alumnos que aceptaron participar y ser incluidos en el estudio. La muestra quedó conformada por 102 alumnos de 6° semestre de bachillerato.

Todos los alumnos de la muestra tuvieron clases presenciales desde agosto del 2019 hasta marzo del 2020. Y cuando llegó la pandemia y se implementó la educación en línea en el CAG, los estudiantes emplearon GC desde marzo del 2020 a mayo del 2022 para todas sus asignaturas. La principal función del LMS fue la puesta de material didáctico, el acceso a videollamadas y la carga de actividades de clase.

2.3 Instrumento de recolección de datos

Para la recolección de los datos, se realizó una traducción del cuestionario desarrollado por Venkatesh et al (2003) [18] y adaptado para

evaluar la aceptación de GC por Alotumi (2022) [19]. Dicho cuestionario es una escala tipo Likert que empleó la gradación 5) Totalmente de acuerdo, 4) De acuerdo, 3) Neutral, 2) En desacuerdo y 1) Totalmente en desacuerdo. El cuestionario contiene 3 reactivos que sirven como indicadores para cada factor y 3 reactivos que sirven como indicadores de BI. En total son 24 reactivos. Los estudiantes contestaron el cuestionario mediante la aplicación de Google Forms durante las horas clases. Dicho cuestionario se encuentra en el apéndice de este documento.

2.4 Método de análisis de la información

Se adoptó un método cuantitativo cuyo alcance es exploratorio en el contexto mexicano ya que son escasos los estudios que evalúan la aceptación tecnológica de GC en alumnos de bachillerato mediante UTAUT2 y también tiene un alcance correlacional debido que se busca medir el grado de asociación de los factores de UTAUT2 como predictores de BI (figura 2). El diseño de la investigación es no experimental de tipo transeccional correlacional-causal ya que se recolectaron

datos en un solo momento, en un tiempo único y se establecieron relaciones (ver figura 2) entre los factores de UTAUT2 y BI. La validez y valoración del modelo propuesto (Fig 4) se hizo mediante el análisis estadístico de Ecuaciones Estructurales de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-SEM, Partial Least Squares Path Modeling). El método PLS-SEM tiene un enfoque causal predictivo, que enfatiza la predicción en la estimación de modelos estadísticos, cuyas correlaciones están diseñadas para proporcionar explicaciones de causalidad [20].

Se empleó esta técnica multivariante de segunda generación ya que permite estimar modelos complejos con muchos constructos, variables indicadoras y trayectorias estructurales sin imponer supuestos de distribución sobre los datos [20]. Además, da

mayor nivel de confianza a la investigación por su eficiencia estadística, en comparación con otras técnicas estadísticas tradicionales [21]. Por otro lado, el método PLS-SEM es adecuado para probar una teoría (en este estudio la teoría es UTAUT2) desde una perspectiva de predicción [20]. El software utilizado para la modelación fue SmartPLS 3.

III. Resultados

3.1 Datos demográficos

El análisis inicial fue sobre los datos demográficos de los estudiantes. Este estudio recopiló y analizó los datos de 102 estudiantes encuestados que cursaron el 6° semestre de bachillerato en el CAG. La tabla 2 muestra el número de estudiantes distribuidos por edad, género y experiencia usando GC antes de la pandemia.

Tabla 2. Aspectos demográficos de los estudiantes participantes (N=102).

Variables demográficas	Frecuencia (N)	Porcentaje (%)
Edad		
17 años	41	40.2
18 años	61	59.8
Género		
Masculino	35	34.3
Femenino	63	61.8
Otro	4	3.9
Experiencia usando GC antes de la pandemia		
Tenía experiencia	76	74.5
No tenía experiencia	26	25.5

Nota: Elaboración propia.

3.2 Validez y fiabilidad del modelo de medida

Antes de llevar a cabo el análisis de la comprobación de hipótesis del modelo propuesto, se analizaron las cargas de los reactivos, la consistencia interna del modelo a partir de la fiabilidad del constructo (factor de UTAUT2) y validez convergente de cada factor de UTAUT2 en función de la fiabilidad compuesta (CR). También se analizó la

validez convergente con base a la varianza media extraída (AVE).

Posteriormente se determinó la validez discriminante a partir de la ratio heterotrait-monotrait (HTMT). Finalmente se verificó la validez interna por medio del análisis de multicolinealidad con base al cálculo del factor de inflación de varianza (VIF). A continuación, se presentan los resultados de cada uno de estos cálculos estadísticos.

3.2.1 Consistencia interna y validez convergente

Primeramente, se calculó el algoritmo PLS inicial para análisis factorial confirmatorio (CFA, confirmatory factor analysis) Según Hair, Risher & Sarstedt et al. (2019) [20], las cargas exteriores de los reactivos en el CFA deben ser superiores a 0.708. En la tabla 3 se puede apreciar que todas las cargas de los reactivos fueron superiores al valor sugerido.

Por otro lado, la CR permite comprobar la consistencia interna de todos los reactivos al medir el constructo al cuál pertenecen. Para una investigación básica como el presente estudio, se acepta un valor mínimo de CR de

0.8 [22]. Como se muestra en la tabla 3, cada valor de CR superó la calificación de 0.8, lo cual indica que los reactivos empleados para probar cada constructo eran internamente confiables.

Finalmente, la AVE evalúa la validez convergente, ya que ésta proporciona la cantidad de varianza que un constructo obtiene de sus reactivos con relación a la cantidad de varianza debida al error de medida [23]. Fornier y Lacker (1981) [24], sugieren un valor de AVE de 0.5 como límite inferior. La tabla 3, presenta los valores de AVE superiores a 0.5. Esto quiere decir que existe validez convergente en el modelo.

Tabla 3. Valores de consistencia interna y validez convergente.

Constructo	Cargas externas	Alfa de Cronbach (AC)	rho_A	Fiabilidad Compuesta (CR)	Varianza Media Extraída (AVE)
Intención de comportamiento (BI)		0.899	0.905	0.937	0.832
BI1	0.876				
BI2	0.923				
BI3	0.936				
Expectativa de esfuerzo (EE)		0.918	0.919	0.948	0.859
EE1	0.916				
EE2	0.936				
EE3	0.929				
Condiciones facilitadoras (FC)		0.821	0.846	0.893	0.737
FC1	0.808				
FC2	0.918				
FC3	0.845				
Hábito (HA)		0.864	0.873	0.917	0.788
HA1	0.916				
HA2	0.927				
HA3	0.815				
Motivación hedónica (HM)		0.897	0.901	0.936	0.829
HM1	0.895				
HM2	0.927				
HM3	0.909				
Expectativa de desempeño (PE)		0.832	0.840	0.900	0.750
PE1	0.817				
PE2	0.904				

PE3	0.874				
Influencia social (SI)		0.890	0.905	0.931	0.819
SI1	0.861				
SI2	0.945				
SI3	0.908				

Nota: Elaboración propia. Indicadores de referencia: Carga externa > 0.708; CR > 0.8; AVE > 0.5.

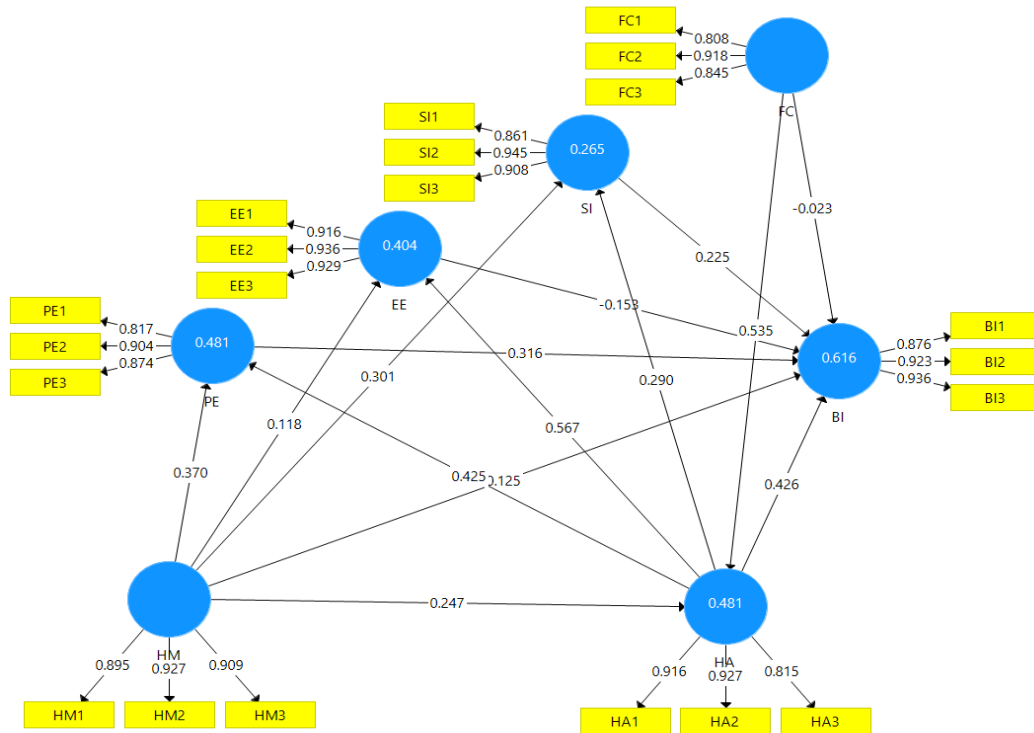


Figura 3. Algoritmo PLS para CFA.

3.2.2 Validez discriminante

La validez discriminante (VD) indica en qué grado un constructo dado es diferente de otros constructos del modelo. Para valorar la VD, es necesario evaluar la ratio HTMT. Ésta se define como “el valor medio de las correlaciones de elementos entre constructos en relación con la media (geométrica) de las

correlaciones promedio para los elementos que miden el mismo constructo” [20]. Se considera que un valor por encima de 0.9 indica ausencia de VD [21]. En la tabla 4 se puede apreciar que todos los valores están por debajo de 0.9, por lo tanto, desde el análisis de la ratio HTMT, también existe validez discriminante del modelo propuesto.

Tabla 4. Validez discriminante por ratio HTMT < 0.9.

	BI	EE	FC	HA	HM	PE
EE	0.476					
FC	0.613	0.897				
HA	0.771	0.7	0.768			
HM	0.619	0.451	0.591	0.579		
PE	0.754	0.736	0.863	0.723	0.68	
SI	0.636	0.388	0.518	0.506	0.501	0.598

Nota: Elaboración propia.

3.2.3 Multicolinealidad

La validez interna del modelo se realizó buscando que no exista una alta multicolinealidad entre los reactivos de un mismo factor. Para ello se realizó un test del factor de VIF, buscando un nivel por debajo de

5 [23]. En la tabla 5 se presenta el estadístico de multicolinealidad. Todos los valores de VIF están por debajo de 5, lo que representa una ausencia de multicolinealidad del modelo propuesto.

Tabla 5. Valores de VIF < 5 en el modelo propuesto.

	BI	EE	FC	HA	HM	PE	SI
BI							
EE	2.857						
FC	3.514			1.345			
HA	2.125	1.367				1.367	1.367
HM	1.695	1.367		1.345		1.367	1.367
PE	2.654						
SI	1.472						

Nota: Elaboración propia.

3.3 Valoración del modelo estructural

Según Hair et al. (2019) [20], para la valoración del modelo estructural se debe analizar el valor Beta (β). Las hipótesis son más significativas cuando β se acerca al valor de 1, en función de su peso estadístico (Valor P). También se deben determinar los coeficientes de determinación (R^2), la relevancia predictiva del modelo (Q^2) y el mapa de rendimiento-importancia (IPMA, importance performance map).

3.3.1 Comprobación de las hipótesis

Para que las hipótesis nulas de este estudio puedan ser rechazadas se debe considerar un valor $p < 0.05$. La determinación de β y valor “p” de cada correlación se realizó mediante un cálculo de Bootstrapping con base en el arranque de 5000 remuestreos [20]. Los resultados de significación de las rutas y los indicadores validados se muestran en la Tabla 6, mientras que los resultados de la imagen de arranque se muestran en la Figura 4.

Como se muestra en la tabla 6, los predictores directos de la intención conductual (BI) para usar Google Classroom (GC), son el hábito (HA) ($\beta=0.426$, $p<0.001$), la expectativa de desempeño (PE) ($\beta=0.316$, $p=0.001$) y la influencia social (SI) ($\beta=0.225$, $p<0.05$). Por otro lado, se encontró que la expectativa de esfuerzo (EE) ($\beta=-0.153$, $p>0.05$), las condiciones facilitadoras (FC) ($\beta=-0.023$, $p>0.05$) y la motivación hedónica (HM) ($\beta=0.124$, $p>0.05$) fueron insignificantes para explicar la intención conductual para usar GC. De las correlaciones entre los factores de UTAUT2, la correlación más fuerte que HA sobre EE ($\beta=0.567$, $p<0.001$), seguido de FC sobre HA ($\beta=0.535$, $p<0.001$). Posteriormente se encuentran las correlaciones débiles como HA sobre PE ($\beta=0.425$, $p<0.001$), HM sobre PE ($\beta=0.370$, $p<0.001$), HM sobre SI ($\beta=0.301$, $p<0.05$), HA sobre SI ($\beta=0.290$, $p<0.05$) y HM sobre HA ($\beta=0.247$, $p<0.05$). Finalmente se encontró que HM sobre EE no fue significativa. La tabla 7 muestra las hipótesis aceptadas y rechazadas.

Tabla 6. Resultados de la ruta del modelo: * $p < .05$; ** $p < .001$.

Hipótesis	Valor Beta (β)	Desviación estándar (DS)	Estadísticos t	P Valores	Intervalo de confianza	
					2.50%	97.50%
EE -> BI	-0.153	0.102	1.502	0.134	-0.371	0.017
FC -> BI	-0.023	0.111	0.206	0.837	-0.245	0.23
FC -> HA	0.535	0.088	6.068**	0	0.34	0.695
HA -> BI	0.426	0.090	4.733**	0	0.265	0.586
HA -> EE	0.567	0.091	6.225**	0	0.384	0.746
HA -> PE	0.425	0.113	3.768**	0	0.197	0.618
HA -> SI	0.290	0.092	3.135*	0.002	0.117	0.461
HM -> BI	0.125	0.093	1.345	0.179	-0.042	0.307
HM -> EE	0.118	0.108	1.093	0.275	-0.112	0.292
HM -> HA	0.247	0.094	2.637*	0.009	0.073	0.439
HM -> PE	0.370	0.101	3.653**	0	0.152	0.566
HM -> SI	0.301	0.104	2.893*	0.004	0.102	0.513
PE -> BI	0.316	0.122	2.591*	0.001	0.085	0.531
SI -> BI	0.225	0.083	2.721*	0.007	0.047	0.375

Nota: Elaboración propia.

Tabla 7. Resumen de los hallazgos cuantitativos sobre las relaciones hipotéticas.

Hipótesis	Declaración	Soporte
H1	PE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	Si
H2	EE tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	No
H3	SI tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	Si
H4	FC tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	No
H5	FC tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC	Si
H6	HM tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	No
H7	HM tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC	Si
H8	HM tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC	No
H9	HM tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC	Si
H10	HM tiene un efecto significativo sobre HA hacia BI para usar GC	Si
H11	HA tiene un efecto significativo sobre BI para usar GC	Si
H12	HA tiene un efecto significativo sobre PE hacia BI para usar GC	Si
H13	HA tiene un efecto significativo sobre EE hacia BI para usar GC	Si
H14	HA tiene un efecto significativo sobre SI hacia BI para usar GC	Si

Nota: Elaboración propia.

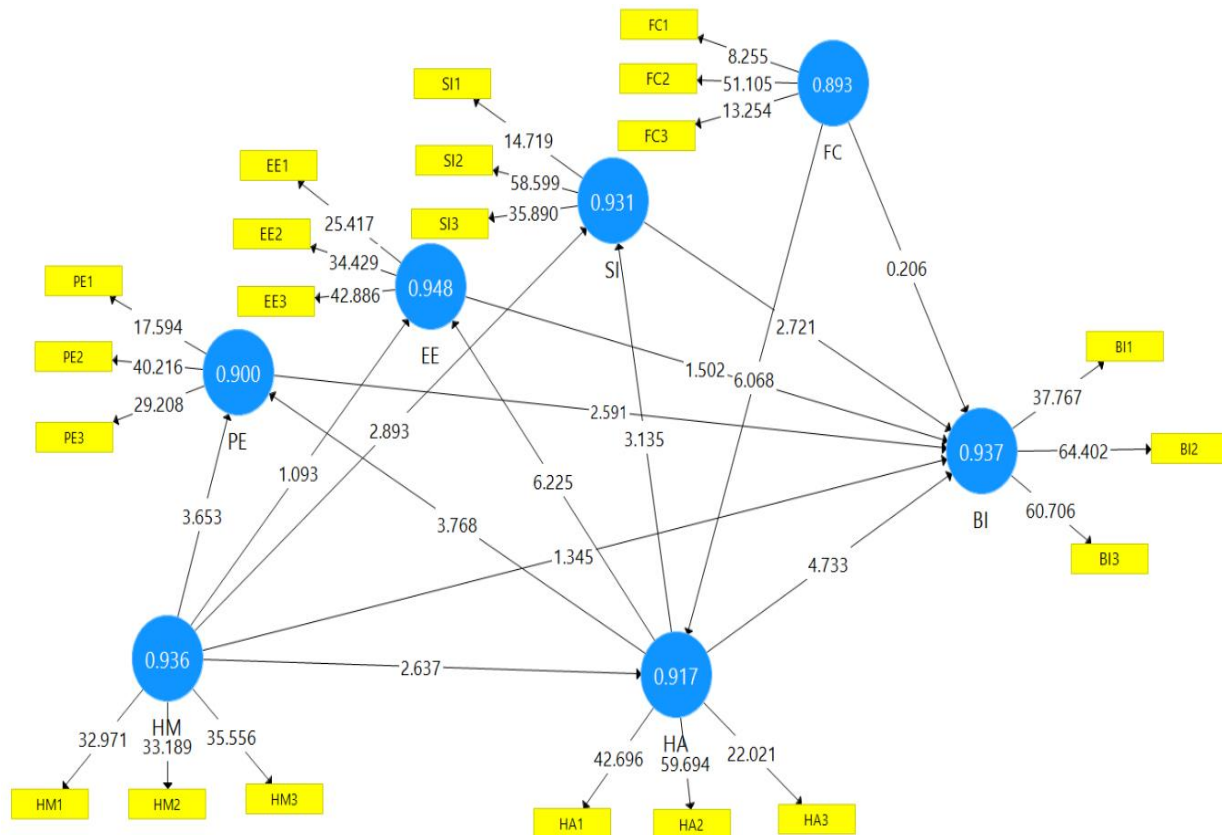


Figura 4. Imagen de bootstrap para análisis de ruta. Los valores que aparecen en el modelo interno y externo pertenecen a los valores t de los constructos y reactivos.

3.3.2 Varianza total explicada

El coeficiente de determinación (R^2) mide la varianza que se explica en los constructos dependientes de UTAUT2, en otras palabras, es una medida del poder explicativo del modelo o poder predictivo dentro de la muestra de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato. Los valores de R^2 varían de 0.75, 0.50 y 0.25, considerándose como sustanciales, moderados y débiles, respectivamente [20].

Con base a estos rangos, la varianza total explicada por el modelo es relativamente moderada. El modelo propuesto representó el 61.6% de la varianza en la BI de usar la plataforma GC. Los valores del R^2 para EE ($R^2=0.404$), HA ($R^2=0.481$), PE ($R^2=0.481$) y SI ($R^2=0.265$) también se encontraron dentro del umbral moderado (Tab 8).

Tabla 8. Varianza explicada por el modelo.

Constructo	R^2	R^2 ajustada
BI	0.616	0.592
EE	0.404	0.392
HA	0.481	0.471
PE	0.481	0.471
SI	0.265	0.25

Nota: Elaboración propia.

3.3.3 Relevancia predictiva del modelo estructural

Otra forma de determinar la relevancia predictiva del modelo estructural es mediante el valor de Q^2 . Según Hair et al. (2019) [20], el Q^2 no es una medida de predicción fuera de la muestra, sino que combina aspectos de predicción fuera de la muestra y poder explicativo dentro de la muestra. Como regla general, los valores de Q^2 superiores a 0, 0.25 y 0.50 representan una relevancia predictiva pequeña, mediana y grande, respectivamente.

La tabla 9 muestra el valor de Q^2 de los constructos dependientes del modelo propuesto. En general, los constructos dependientes tuvieron una relevancia predictiva mediana. Salvo SI, que se mantuvo en el rango de relevancia pequeña ($Q^2=0.23$).

Tabla 9. Valores de la relevancia predictiva del modelo.

Constructo	Q^2
BI	0.363
EE	0.443
HA	0.44
PE	0.484
SI	0.23

Nota: Elaboración propia.

3.3.4 IPMA

El IPMA compara los efectos totales del modelo estructural en un constructo objetivo específico (en este estudio el constructo específico es la BI) con las puntuaciones promedio de los constructos predictores [20] y de esta manera determinar cuál es el factor más importante de la BI. La figura 5 muestra el IPMA del modelo estructural propuesto, siendo HA el factor más importante para determinar la BI (0.716: 78.012), seguido por FC (0.421: 85.873).

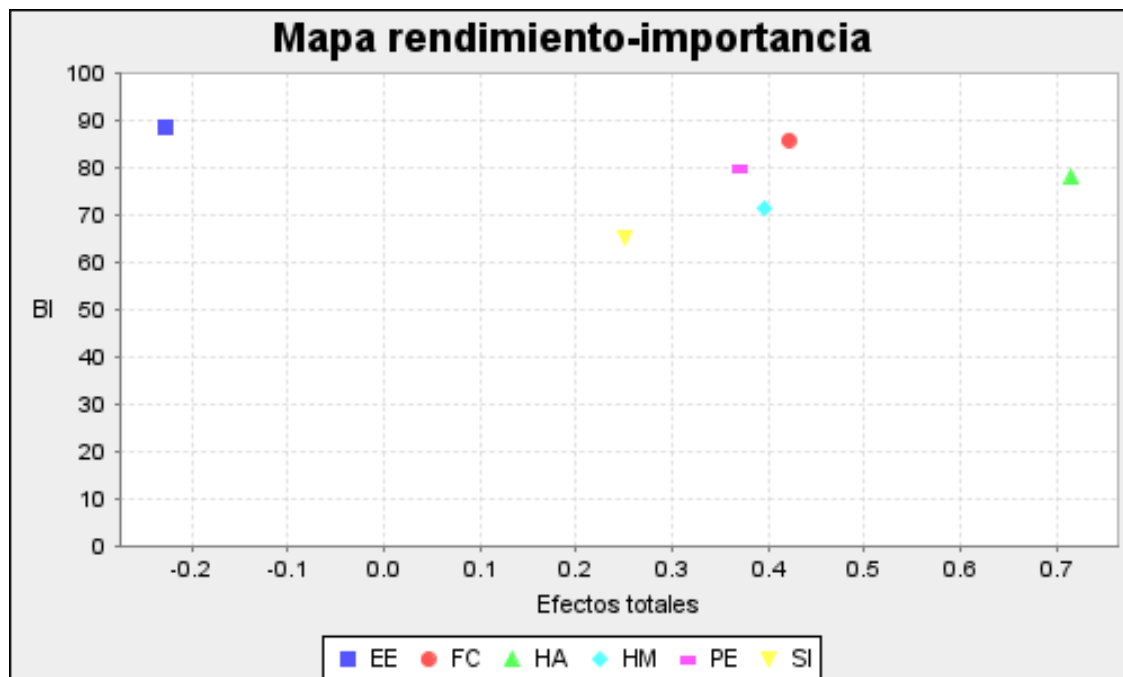


Figura 5. IPMA de la BI para usar GC.

IV. Discusión de resultados

4.1 Hallazgos

Este estudio aplicó la extensión del modelo de UTAUT2 de Venkatesh et al. (2012) [7], propuesto por Bervell & Kumar (2019) [17] y utilizado por Alotumi (2022) [19], para alcanzar los siguientes objetivos específicos de investigación: 1) identificar los factores de UTAUT2 que determinan la BI de estudiantes

de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC y 2) distinguir los factores de UTAUT2 más importantes que determinan la BI de estudiantes de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC.

En un primer análisis de frecuencia estadística, se realizó un sondeo demográfico de la muestra de 102 estudiantes de 6° semestre de bachillerato del CAG. Se

encontró que la mayoría de los estudiantes tienen una edad de 18 años, son de género femenino y ya habían tenido experiencia al utilizar la plataforma GC antes de la pandemia de COVID-19.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el método de PLS-SEM. Primero, se determinó la consistencia interna y validez convergente del modelo estructural, mediante la determinación de CR y AVE. Todos los valores de cargas, CR y AVE se encontraron dentro del rango permitido. En segundo lugar, se determinó la validez discriminante mediante la ratio HTMT. Finalmente, se determinó la validez interna por medio del análisis de la multicolinealidad del modelo, a partir del factor de VIF. Los valores de VIF, se encontraron dentro del rango permitido, lo que indicó ausencia de multicolinealidad.

Para cumplir con los objetivos, se realizó una valoración del modelo estructural propuesto. Respecto a la primera pregunta, con los datos cuantitativos obtenidos, se encontró que el predictor directo de la BI para usar GC, fue principalmente el hábito. Resultado que también fue reportado por Bervell & Kumar (2019) [17], Bervell, Kumar, Arkorful et al. (2022) [25] y Alotumi (2022) [19]. Sin embargo, a diferencia de las investigaciones anteriores, en este estudio se encontró que la relación indirecta más significativa de todos los constructos, fue entre el hábito con expectativa de esfuerzo. En otras palabras, el hábito sigue siendo el principal predictor tanto directa como indirectamente, por medio de la expectativa de esfuerzo en la BI para usar GC. Por otra parte, la segunda relación indirecta significativa en el estudio fue entre condiciones facilitadoras con el hábito, resultado que es similar al de Bervell et al (2022) [25], donde esta relación también ocupó el segundo lugar de significancia, lo que demuestra que condiciones facilitadoras tienen un papel preponderante en la BI para

usar GC en los estudiantes de 6° semestre de bachillerato.

Por otro lado, se halló que la motivación hedónica no tiene una relación directa significativa sobre la BI al igual que los hallazgos reportados por Alotumi (2022) [19], pero que va en contra de lo discutido por Bervell & Kumar (2019) [17] y Bervell et al (2022) [25]. Sin embargo, los resultados de este estudio demuestran que la motivación hedónica incide de manera indirecta en la BI para usar GC, a través de expectativa de desempeño y hábito. No obstante, una relación que no tuvo significancia, fue motivación hedónica sobre expectativa de esfuerzo, hallazgo que coincide con Alotumi (2022) [19].

La expectativa de esfuerzo y condiciones facilitadoras tampoco tuvieron una relación directa significativa sobre la BI, resultado que coincide con los hallazgos de Bervell et al. (2022) [25] y Alotumi (2022) [19]. A diferencia de expectativa de desempeño e influencia social que si fueron predictores directos de BI. En el caso de la influencia social, los resultados de este estudio, son contrarios a las investigaciones de Bervell et al (2022) [25] y Alotumi (2022) [19], en donde dicho factor no fue un predictor directo del modelo estructural.

Con respecto al segundo objetivo, este estudio obtuvo que el hábito es el factor más importante y de mayor eficacia para determinar la BI de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato en el uso de GC, hallazgo que es congruente con los análisis estadísticos que responden al primer objetivo. Este factor es seguido por condiciones facilitadoras. Lo que respalda la asociación indirecta entre condiciones facilitadoras y BI propuesta por el modelo estructural de Bervell et al (2022) [25]. Sin embargo, el resultado es inverso al estudio de Alotumi (2022) [19], en donde el factor de mayor

relevancia fue condiciones facilitadoras, seguido del hábito. Se puede concluir de manera general que ambos factores son los más importantes en este modelo propuesto.

4.2 Implicaciones

Desde un enfoque teórico, este estudio refuerza la idea de que la UTAUT2 tiene una fuerte plasticidad y moldeamiento en la forma en que se pueden establecer las relaciones entre los constructos que determinan la intención y el uso de una tecnología o aplicación digital. En ese sentido, la mayoría de las relaciones tanto directas como indirectas ayudaron a explicar la BI en el uso de GC. Esto implica que se deben seguir haciendo estudios de la UTAUT2 que incluyan correlaciones no lineales o indirectas para explicar determinadas conductas que estén condicionadas por diversos y complejos factores.

En una perspectiva pedagógica, este estudio ha reforzado la idea de que el determinante principal en la intención de usar GC es el hábito que tienen los estudiantes de bachillerato al utilizar la plataforma, seguido de las condiciones externas al estudiante, pero que influyen en el uso de la misma. Esto implica que los docentes de educación media superior, que buscan implementar GC como un sistema de gestión del aprendizaje (LMS) complementario a las clases presenciales, deben esforzarse por generar contenidos y actividades de manera regular con el fin de que los estudiantes generen la costumbre y rutina en su uso. A su vez, si la plataforma se utiliza en las instituciones escolares, estas deben facilitar las condiciones para su uso, tales como el internet inalámbrico, ordenadores y soporte técnico y pedagógico.

4.3 Limitaciones y Sugerencias para Futuras Investigaciones

Este estudio, analizó la intención de utilizar GC desde un enfoque esencialmente

cuantitativo. Se recomienda que, en futuras investigaciones, se emplee una metodología mixta, en donde se realicen entrevistas a los estudiantes mediante estudios de caso y generar categorías de análisis, con el objetivo de respaldar y contrastar la información obtenida con las correlaciones identificadas en los datos cuantitativos. En otras palabras, con una perspectiva mixta se profundizaría en la percepción que tienen los estudiantes sobre la intención conductual para el uso de la plataforma académica.

Otra limitación radica en el tamaño de la muestra misma que está un poco por debajo de lo sugerido con por parámetros, por ejemplo, el software *WarpPLS* donde se sugiere un mínimo de 120 participantes para este modelo en concreto.

Finalmente, el estudio se limitó solo a analizar la perspectiva de los estudiantes de 6° semestre de bachillerato del CAG. Se recomienda que en un estudio posterior también se considere el punto de vista de los docentes. Ya que ellos también utilizan la plataforma en el diseño de contenidos, actividades, revisión de tareas y ponderación de calificaciones. Un estudio que aborde ambas perspectivas puede ser más enriquecedor y podría ayudar para hacer un contraste de la información en relación a la intención conductual de utilizar GC.

V. Conclusiones

Con la aplicación de una extensión del modelo de UTAUT2, este estudio investigó los factores que influyen en la BI para usar GC en alumnos de bachillerato, con ello se analiza una brecha en la literatura de este modelo ya que son escasas las investigaciones en México sobre la aceptación y uso de GC en la EMS. La muestra fue conformada por alumnos de bachillerato de 6° semestre del CAG, que utilizaron el LMS, durante la pandemia de

COVID-19, del periodo 2020-2022. Tres factores afectaron directamente la intención de utilizar GC, el hábito, la expectativa de desempeño y la influencia social. Siendo el hábito, el principal predictor de la BI. Por el contrario, los otros tres factores, no tuvieron un impacto directo en la intención de los estudiantes para utilizar GC. Sin embargo, las condiciones facilitadoras y motivación hedónica son precursores directos para generar hábitos en los estudiantes en el uso de la plataforma. Los hallazgos encontrados pueden ayudar a las instituciones educativas de EMS para implementar de manera consistente y frecuente los LMS y generar las condiciones de internet, equipos y soporte técnico y pedagógico para su utilización en el aula. Esta investigación se suma a otras investigaciones que han adoptado extensiones de UTAUT2 para el estudio de una tecnología.

VI. Referencias

- [1] Caroline. (11 de febrero de 2022). *¿Qué es un sistema de gestión del aprendizaje? ¿Definición, significado y todo lo que necesitas saber!*. EasyLMS. <https://www.easy-lms.com/es/centro-de-conocimiento/centro-de-conocimiento-lms/que-es-un-sistema-de-gestion-del-aprendizaje/item10182>
- [2] Statista Research Department. (21 de marzo de 2020). Uso de algunas plataformas educativas en línea por estudiantes universitarios en México en 2020. <https://es.statista.com/estadisticas/1196293/uso-plataformas-educativas-online-universitarios-mexico-2020/>
- [3] Pérez, E. (18 de febrero de 2021). Google redobla su apuesta por la educación: hasta 100 TB para colegios, Classroom con extensiones y un asistente para cuando no esté el profesor. Xataka.com. <https://www.xataka.com/servicios/google-redobla-su-apuesta-educacion-100-tb-para-colegios-classroom-extensiones-asistente-para-cuando-no-este-profesor>
- [4] Statista Research Department. (14 de abril de 2022). Interés a lo largo del tiempo de las búsquedas vía Google de una selección de plataformas educativas en línea en México de 2020 a 2022. <https://es.statista.com/estadisticas/1196353/busqueda-plataformas-educacion-online-mexico/>
- [5] Tarango, J., Machin, J. & Romo, J. (2019). Evaluación según diseño y aprendizaje de Google Classroom y Chamilo. *IE Revista de Investigación Educativa de la REDIECH*, 10(19), 91-104. : <https://doi.org/10.33010/ierierediech.v10i19.518>
- [6] Collantes, E. & Collantes, Z. (2022). Impacto de la plataforma google classroom en las competencias matemáticas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(1), 293-315. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i1.1499
- [7] Venkatesh, V., Thong, J. Y. L., & Xu, X. (2012). Consumer Acceptance and Use of Information Technology: Extending the Unified Theory of Acceptance and Use of Technology. *MIS Quarterly*, 36(1), 157–178. <https://doi.org/10.2307/41410412>
- [8] Madera, M., Torres, L. & Quevedo, L. (2012). Estudio de traducción y confiabilidad del instrumento de la Teoría Unificada de la Aceptación y Uso de la Tecnología (UTAUT). *Apertura*, 4(2), 96-105. <http://www.udgvirtual.udg.mx/apertura/index.php/apertura/article/view/319/285>
- [9] Rogers, E. M. (1995). *Diffusion of innovations* (3a ed.). Macmillan Publishing Co.
- [10] Fishbein, M., & Ajzen, I. (1975). *Belief, Attitude, Intention, and Behavior: An Introduction to Theory and Research*. Reading, MA: Addison-Wesley.

- [11] Ajzen, I. (1991). The theory of planned behavior. *Organizational Behavior and Human Decision Processes*, 50(2), 179-211. [https://doi.org/10.1016/0749-5978\(91\)90020-T](https://doi.org/10.1016/0749-5978(91)90020-T)
- [12] Davis, F. D. (1989). Perceived Usefulness, Perceived Ease of Use, and User Acceptance of Information Technology. *MIS Quarterly*, 13(3), 319-340. <https://doi.org/10.2307/249008>
- [13] Bandura, A. (1986). *The social foundations of thought and action*. Prentice Hall
- [14] Thompson, R. L., Higgins, C. A., & Howell, J. M. (1991). Personal Computing: Toward a Conceptual Model of Utilization. *MIS Quarterly*, 15(1), 125-143. <https://doi.org/10.2307/249443>
- [15] Taylor, S., & Todd, P. (1995). Assessing IT Usage: The Role of Prior Experience. *MIS Quarterly*, 19(4), 561-570. <https://doi.org/10.2307/249633>
- [16] Vallerand, R.J. (1997). Toward A Hierarchical Model of Intrinsic and Extrinsic Motivation. *Advances in Experimental Social Psychology*, 29, 271-360. [https://doi.org/10.1016/S0065-2601\(08\)60019-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2601(08)60019-2)
- [17] Bervell, B. & Kumar, J. (2019). Google Classroom for mobile learning in higher education: Modelling the initial perceptions of students. *Educ Inf Technol*, 24, 1793-1817. <https://doi.org/10.1007/s10639-018-09858-z>
- [18] Venkatesh, V., Morris, M., Davis, G. & Davis, F. (2003). User acceptance of information technology: Toward a unified view. *Mis Quarterly*, 27(3), 425-478. <https://www.jstor.org/stable/30036540>
- [19] Alotumi, M. (2022). Factors influencing graduate students' behavioral intention to use Google Classroom: Case study-mixed methods research. *Educ Inf Technol*. <https://doi.org/10.1007/s10639-022-11051-2>
- [20] Hair, J.F., Risher, J.J., Sarstedt, M. & Ringle, C.M. (2019). When to use and how to report the results of PLS-SEM. *European Business Review*, 31(1), pp. 2-24. <https://doi.org/10.1108/EBR-11-2018-0203>
- [21] Martínez, M. & Fierro, E. (2019). Aplicación de la técnica PLS-SEM en la gestión del conocimiento: un enfoque técnico práctico. *Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, 8(16). <https://doi.org/10.23913/ride.v8i16.336>
- [22] Ramírez, P.E., Melo, A. & Salazar, E.A. (2014). Propuesta Metodológica para aplicar modelos de ecuaciones estructurales con PLS: El caso del uso de las bases de datos científicas en estudiantes universitarios. *Revista ADMpg*, 7(2), 133-139. http://www.admpg.com.br/revista2014_2/Artigos/15%20%20-%20Artigo_15.pdf
- [23] Cepeda, G. & Roldán J.R. (2004). Aplicando en la práctica la técnica PLS en la administración de empresas. *Universidad de Sevilla*. <https://hdl.handle.net/11441/76333>
- [24] Fornell, C., & Larcker, D. F. (1981). Evaluating structural equation models with unobservable variables and measurement error. *Journal of Marketing Research*, 18(1), 39-50. <https://doi.org/10.2307/3151312>
- [25] Bervell, B., Kumar, J., Arkorful, V., Agyapong, E. & Osman, S. (2022). Remodelling the role of facilitating conditions for Google Classroom acceptance: A revision of UTAUT2. *Australasian Journal of Educational Technology*, 38(1), 115-135. DOI: <https://doi.org/10.14742/ajet.7178>

VII. Apéndice

Captura de pantalla de cuestionario de aceptación de GC.

Encuesta sobre Google Classroom 2° semestre

Responde de manera sincera y honesta las siguientes preguntas.

 edgar.toledo@s-anahuac.edu.mx (no se comparten) 

[Cambiar cuenta](#)

***Obligatorio**

Nombre completo (opcional)

Tu respuesta

Número de teléfono (opcional)

Tu respuesta

Género *

☐ Masculino

☐ Femenino

☐ Prefiero no decirlo

Edad *

☐ 14 años

☐ 15 años

☐ 16 años

☐ 17 años

¿Tuviste alguna experiencia de aprendizaje en línea con Google Classroom antes de la pandemia? *

☐ Sí

☐ No

Este cuestionario contiene 21 preguntas (1-21). Por favor dinos que tanto estás de acuerdo o en desacuerdo con las siguientes declaraciones, simplemente haciendo clic en el círculo correspondiente. *

	Totalmente en desacuerdo	En desacuerdo	Neutral	De acuerdo	Totalmente de acuerdo
1. Google Classroom me resulta útil en mis clases	☐	☐	☐	☐	☐
2. El uso de Google Classroom me ayuda a hacer las tareas más rápido	☐	☐	☐	☐	☐
3. Si uso Google Classroom, mejoraré mis posibilidades de aprobar una asignatura	☐	☐	☐	☐	☐
4. Aprender a usar Google Classroom es fácil para mí	☐	☐	☐	☐	☐
5. Encuentro Google Classroom fácil de usar	☐	☐	☐	☐	☐
6. No tengo problema para volverme hábil en el uso de Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
7. Las personas que son importantes para mí, piensan que debería usar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
8. Las personas que influyen en mi comportamiento, piensan que debería usar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
9. Las personas cuyas opiniones aprecio, prefieren que use Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐

10. Tengo los recursos necesarios para realizar las actividades de Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
11. Poseo las habilidades necesarias para utilizar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
12. Puedo obtener ayuda de otros cuando tengo dificultades para utilizar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
13. Comparado con las actividades tradicionales (presenciales), encuentro más divertido utilizar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
14. Usar Google Classroom es mas agradable si lo comparo con las actividades de clase tradicionales (presenciales)	☐	☐	☐	☐	☐
15. Comparado con las actividades tradicionales (presenciales), Google Classroom es más atractivo de usar	☐	☐	☐	☐	☐
16. El uso de Google Classroom se ha convertido en un hábito para mí	☐	☐	☐	☐	☐
17. Se ha vuelto natural para mí usar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
18. Siento que tengo que usar Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
19. En el futuro, yo seguiré usando Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
20. En mis clases, haré todo lo posible por seguir usando Google Classroom	☐	☐	☐	☐	☐
21. Pretendo seguir utilizando Google Classroom con regularidad	☐	☐	☐	☐	☐

Enviar **Borrar formulario**

Nunca envíes contraseñas a través de Formularios de Google.

El formulario se creó en ANAHUAC CHAPALITA 14PES0205R. [Denunciar abuso](#)

Google Formularios



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Reducing the complexity of implementing the vehicle routing problem using evolutionary strategies and fuzzy logic

Reducción de la complejidad de implementar el problema de ruteo de vehículos usando estrategias evolutivas y lógica difusa

Montes-Dorantes, P.N.^{a*}, Ireta-Sanchez, P.H.^b, Méndez, G.M.^c

^a Universidad Autónoma del Noreste. División de Estudios de posgrado e investigación. Blvd. José Musa de León y General Medardo de la Peña S/N Col. Los Pinos, 25100, Saltillo, Coahuila, México.

^b Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Saltillo. Blvd. V. Carranza No. 2400, Col. Tecnológico, CP. 25280 Saltillo, Coah. México.

^c Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Nuevo León, Av. Eloy Cavazos 2001, Guadalupe Nuevo León, México, Posgrado en Ingeniería Mecatrónica.

pascualresearch@gmail.com*; pireta@itsaltillo.edu.mx; gmm_paper@yahoo.com.mx

Technological innovation: Optimization of distribution routes in logistics.

Industrial application area: Distribution and logistics.

Received: february 26th, 2022

Accepted: november 13th, 2022

Resumen

El problema de ruteo de vehículos (VRP) clásico, también llamado problema del agente viajero (TSP) es uno de los casos más estudiados de problemas polinomiales no determinísticos (NP) - completos. Para resolver un problema NP-completo en un escenario del mundo real (problema práctico), es necesario generar una solución inicial seguida de una optimización para reducir el costo en el consumo de recursos. En este trabajo se propone un algoritmo híbrido que combina una estrategia evolutiva (ES) para la generación de rutas que representan la entrada para un sistema difuso (FLS) que posteriormente es optimizado por la misma ES una vez resuelto por el sistema difuso. Esta técnica de optimización heurística resuelve el VRP encontrando la ruta que minimiza los costos como objetivo. La unión de las ES con la lógica difusa reduce la complejidad de un sistema difuso puro ya que sólo necesita la distancia en las conexiones entre los vértices para obtener la solución de una función que define el sistema, en comparación con la combinación factorial utilizada en algunas de las metaheurísticas. Esa propuesta pone a prueba el cómputo suave

(SC) y su capacidad para resolver problemas combinatorios con mejor precisión que un enfoque metaheurístico como el recocido simulado (SA) y el problema del camino más corto (SP) o modelo de Dijkstra. Los resultados muestran una precisión mayor al 80% que es habitual en las redes neuronales artificiales (ANN), adicionalmente este enfoque dedica sólo el 10% del tiempo computacional requerido por el SA y el SP para obtener una solución factible.

Palabras clave: Cómputo evolutivo, estrategias evolutivas, lógica difusa tipo 1, modelo híbrido, problema de ruteo de vehículos.

Abstract

The classical vehicle routing problem (VRP) also called travelling salesman problem (TSP) is one of the most studied cases of nondeterministic polynomial (NP)-complete problems. To solve the NP-complete problem in a real-world scenario (practical problem), it is necessary to generate an initial solution followed by an optimization to reduce the cost in resource consumption. In this paper we propose a hybrid algorithm that combines an evolutionary strategy (ES) for the generation of routes that represent the inputs to a fuzzy logic system (FLS) that is subsequently optimized by the same ES once solved by the fuzzy system. This heuristic optimization technique solves the VRP by finding the route that minimizes the costs as a goal. The union of ES with FLS reduces the complexity of a pure FLS as it only needs the distance in the connections between vertexes to obtain the solution of a system-defining function in comparison to the factorial combination used in some metaheuristics. This proposal tests soft computing (SC) and its capacity to solve combinatorial problems with better precision than a metaheuristic approach such as simulated annealing (SA) and shortest path problem (SP) or Dijkstra model. The results show an accuracy higher than 80% that is usual in the artificial neural networks (ANN); additionally, this approach spends only the 10% of computational time required by SA and SP to obtain a feasible solution.

Keywords: Evolutionary computing, evolutionary strategies, hybrid model, Type-1 singleton fuzzy logic system, vehicle routing problem.

1. Introduction

The VRP was systematically studied by Dantzig and Ramser in [1] when they studied the fuel distribution for gas stations. Since then, many variants of the VRP problem have been presented. Every variant added constraints to the studied model. In [2] the following classification is presented: Capacitated VRP (CVRP), VRP with time windows (VRPTW), Stochastic (SVRP), VRP with pick-up and deliveries (VRPPD), multiple depot VRP (MDVRP), time-dependent travel time VRP (TD-VRP),

heterogeneous fleet (HFVRP), mixed fleet VRP (MFVRP), among others. The basics of modeling this class of problems is by the establishing Hamiltonian paths [3].

Studies presented in the literature shows that there are a few approaches to solve these problems with hybrid models [4-5]. Existing approaches provide a solution via metaheuristics (SA, tabu search, genetic algorithms, ant colony and GRASP), exact methods and hybrid methods. These hybrid combinations are produced by metaheuristic

and exact methods; however, soft computing approaches are not mentioned. On the other hand, in [2, 6] these methods are defined as differential evolution, including a soft computing branch of evolutionary computation that contains several metaheuristics (ant colony optimization, bee colony, partial swarm, genetic algorithm). Evolutionary computing also contains bio inspired algorithms (ant colony, particle swarm, bee algorithm, bacterial foraging optimization, memetic algorithms, cultural algorithms, harmonic search and artificial immune systems, among others). Currently, the use of bio inspired algorithms to solve combinatorial problems is a common tool that provides solutions close to the optimal value. For example, a hybrid Bat algorithm added by: Kassem et al in [7]. Although all the mentioned algorithms provide satisfactory results, accuracy and runtime represent a challenge for the mentioned methods.

Today, emergent economies produce around 50% of the goods distributed in a global economy. This is important because the composition of these economies is mainly based on small and medium-sized enterprises (SMES) that operate on small budgets and require the implementation of scientific and technological tools. SMES require the use of tools that allow them to provide quick and low-cost solutions without the complications of more complex mathematical models that lead to loss of profit. The SMES regularly operate with a single vehicle or a couple of vehicles to generate their distribution routes. Because of this, it is necessary to simplify the mathematical models and algorithms to reduce the cost of development and the requirements for specialized software and expensive hardware. A developed solution was proposed in [8]. This tool is widely used by SMES due to its easy use and maintenance. Recently, logistics has gained importance because the costs associated with

the distribution of goods represent up to 40% of the total product cost [9].

On one hand, no instances were found for the classical VRP model, the existent instances are either capacitated or CVRP. On the other hand, different approaches show different instances sizes as corroborated by literature. Classical instances as used in [10] to evaluate several routing problems are not for classical VRP approaches. Table 1 shows that there is no uniformity or criteria to decide what is the adequate number of clients for an instance. Also, small routes (less than 30 clients) are missing and classic approach of VRP and reality show that with more than 50 clients as example, a large vehicle is required that is not suitable for the small enterprises. It is an opportunity to develop new approaches to solve problems with small sizes. The actual literature also shows small sizes as demonstrated by this proposal in [11]:

“We generated a number of test instances based on real data from industry partners and it was shown that both the proposed heuristics and the MIP solver are able to find high quality solutions in reasonable time for small problem instances with less than 20 orders. However, for larger instances with 20 to 60 orders...”

In [12] small instances are used to test the proposal, that consists in a non-deterministic demand using fuzzy systems and subsequently optimized using a genetic algorithm. In [13] small instances are used to test the model using instances of size 30 to 80 obtained from [10]. Also, it is mentioned that “due the combinatorial nature of these problems, the use of exact resolution approaches is often limited by the size of the problem”. In [14] the instances are small from 25, 50 and 100.

Table 1. Size of instances for CVRP. Adapted from [10].

Author	Size of instance
Augerat, 1965	32-80
Augerat, 1995	31-78
Chistofides and Eilon, 1969	45, 72, 135
Fisher, 1994	45, 72, 135
Chistofides, Mingozi and Toth, 1979	101-200
Augerat, 1995	16-101
Chistofides, Mingozi and Toth, 1979	50-199
Rochat and Taillard, 1995	75-385
Golden et al. 1998	240-480
Li et al, 2005	560-1200
Uchoa et al, 2014	100-1000
Arnold, Gendreau and Sörensen, 2017	6000-30000
DIMACS, 2021	400-1000
Solomon, 1987	100
Homemberg and Gehring, 1999	200-1000

Literature review and related work

In [12] it is mentioned that the fuzzy logic is used to avoid a non-deterministic demand in a multi depot and multi facility and later optimized by a genetic algorithm in a CVRP. In [13] the fuzzy numbers are used to evaluate and optimize: travel time, service time, or customer demands. A scholar bus route is designed in [14] and the fuzzy model is used to optimize and determine the optimal number of stops in relation to the required walking distance for students. Also, the number of clients of the instances is small to medium from 25 to 100. In [15] a model that uses fuzzy logic to determinate the costs (energy, service time, travel time) in electric vehicles is proposed but it is a TWCVRP called electric vehicle routing problem with time windows (EVRPTW). Is remarkable that fuzzy logic is only used to evaluate the fuzziness of times, demands or services but not of the routes.

It is important to mention that fuzzy logic in particular type-1 fuzzy numbers, that are used in several VRP applications are not capable to handle uncertainty as is mentioned by Mendel in [16]. These values can be treated as fuzzy numbers, but the uncertainty in this class of problems cannot be treated.

Ant colony optimization is another model used to optimize the VRP models. In [17] fuzzy logic is used to evaluate the evaporation of the pheromone parameters. The research in [18] presents a case for route cost optimization in CVRP and other variants in the same work. In [19] a VRP with fuzzy demands at a minimum cost is presented using trapezoidal functions, travel times, stochastic demands and processing times, while in [20] they are processed by fuzzy logic, but the trapezoidal functions maintain a vertex of the same value in most of their forms. It is remarkable that all previous works using fuzzy numbers as triangular membership functions, while this proposal presents a novelty with the use of Gaussian membership functions.

Cost, speed and distance are hierarchized in [21] with fuzzy. In [22] the VRP problem is oriented to the postman problem, it considers that the distance between nodes is not crisp and the travel times are uncertain. The food elaboration and delivery is treated as a VRP using fuzzy to avoid the uncertainty in production [23]. The milk delivery VRP is used to design a distribution network using fuzzy to maximize the satisfaction and reduce the time window of delivery [24].

In related work, the use of the SC to evaluate non-deterministic demands, uses fuzzy triangular membership functions to collect the quantities demanded by the clients,

however there are uncertainties on the loads to generate the final solution [25]. See (Fig. 1).

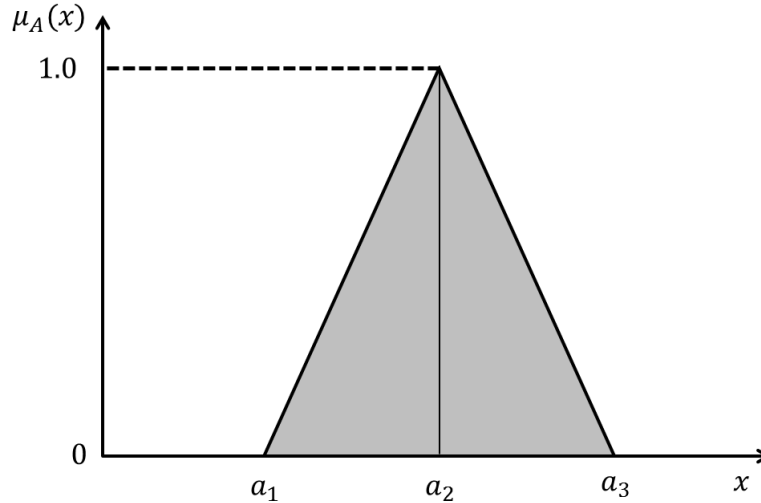


Figure 1. Triangular Fuzzy set. Adapted from: [25].

In a multi objective model, the fuzzy logic is used to generate a prediction of the demand in order to determine the class of vehicle used, and the defined route, both based on the amount of goods required by the client and by his fuzzy demands. In this sense [26] presents a CVRP-based model to produce a priori optimal route with stochastic demands. In this work the FLS is used to generate a response time evaluation for each client or node. In [26] the time window serves as a complementary parameter to evaluate the system [27]. The multi-attribute case is composed by several techniques: heuristics, metaheuristics and soft computing techniques such as GA and ANN. The GA method is used to generate the necessary knowledge, but they have memory loss, it is to say that only the latest results are available in [28] and their computational process could be more than a SC model as shown in [3, 8]. Green vehicle routing uses fuzzy distances to try to reduce gas emissions by route optimization [29].

Intelligent approaches are used to add a safety factor to the model as the VRP is invaded by uncertainty. This factor helps to consider the traffic risks, accidents, deadlines, delays, etc. But, these approaches are not used to create the routes. In addition, the fuzzy models are used to generate a numerical scale to evaluate the factors mentioned above that could be complex to establish as crisps values.

The real demands and routes necessary to satisfy the problems of the industry are committed by smaller route sizes, i.e. less than 50. In [11] the routes of a real industrial problem as in this work are used, for less than 20 orders and from 20 to 60 orders or clients. In [13] again small instances (30-80) are used and in [14] the instances are small of 25, 50 and 100.

2. Equipment, materials and methods

2.1 Equipment

The application of the proposal was carried out in MatLab R2009a using a laptop with intel® CORE™ i5 processor @ 2.5 GHz, 4

MB RAM and windows® 7 Professional as the operating system.

2.2 Materials

To test the materials, a database, extracted from the dissertation in [30] is used as the distance matrix to test the proposal. This database is asymmetric and the information was adapted using the upper part to produce a symmetric matrix with no capacity limit. The database provides the distance matrix necessary to generate the routes and obtain the costs to be optimized.

2.3 Methods

To solve this problem, it is necessary to find the route that implies the lowest cost. One of the proposed approaches is use of the graph theory, which can be implemented in the form of polygons where the routes can be calculated as a result of the union of two points or vertexes (clients). Examples of this are the Hamilton's puzzle, Hamiltonian cycle or Hamiltonian path. Hamiltonian path is restricted to visiting every vertex only once. This path is equivalent a route as shown in (Fig. 2). Although the polygon has more connections (six) than vertexes (four). The number of combinations is four, and the number of permutations is 1296 [3], which is given by (Eq. 1),

$$v = \{1, 2, \dots, n\} \quad c^v \quad (\text{Eq. 1})$$

Where: c is the number of connections in the graph and v are the set of vertices of the Hamiltonian path.

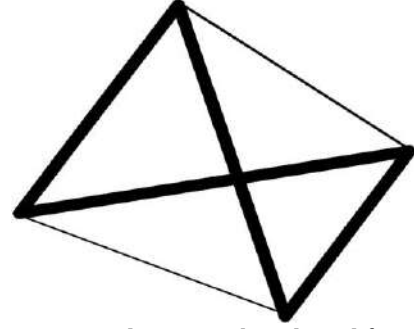


Figure 2. Hamiltonian path. Adapted from: [3].

From the total number of permutations, several of them are eliminated because they are not viable. These permutations or states do not meet the constraints of the model that yields (Eq. 2),

$$\min \sum_{\{i,j\} \in n} c_{ij} y_{ij} \quad (\text{Eq. 2})$$

Where: C_{ij} = transport cost of the connection between two nodes; i is the client or start node for $i \in \{1, 2, \dots, n\}$, j is the end node for $j = n$, n is the total number of clients, and y is a binary variable that assigns the path given by (Eq. 3),

$$y_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{if the path from node } i \text{ to node } j \text{ is taken} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (\text{Eq. 3})$$

Subject to:

$$\sum_{k \in K} x_{ij}^k = y_{ij}; \quad \forall \{i, j\} \in n \quad (\text{Eq. 4})$$

Where: x defines the assignation of a vehicle to the route between node i and j (Eq. 5), and k is the number of vehicles used in a fleet to distribute the goods for, $k \in \{1, 2, \dots, k\}$.

$$x_{ij}^k = \begin{cases} 1 & \text{if the vehicle } k \text{ is assigned to traverse the arch from node } i \text{ to node } j \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (\text{Eq. 5})$$

The displacement between nodes is given by (Eq. 6, 7), these equations are formulated to ensure transit between the rows and columns

of the cost matrix (represented economically or distance).

$$\sum_{j \in n} y_{ij} = 1; \forall \{i\} \in n \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\sum_{i \in n} y_{ij} = 1; \forall \{j\} \in n \quad (\text{Eq. 7})$$

One of the main constraints of the VRP problem is that the route begins at the depot and ends at the same point, assured by (Eq. 8, 9).

$$\sum_{j \in n} y_{oj} = k \quad (\text{Eq. 8})$$

$$\sum_{i \in n} y_{io} = k \quad (\text{Eq. 9})$$

The o index means that all routes start at the depot and returns to the it once finished. The capacity of the vehicle must be taken into account and it is given by (Eq. 10),

$$\sum_{i \in n} \sum_{j \in n} d_i x_{ij}^k \leq u; \forall \{k\} \in K \quad (\text{Eq. 10})$$

Where: d_j is the demand of the j node; u is the capacity of the vehicle k

The optimized route is verified by (Eq. 11) that assures that the route is not defined by a complete sequence, e.g. $1, 2, \dots, n$ that does not satisfy the constraint because the solution is exactly Q and not a subset of Q .

$$\sum_{i \in Q} \sum_{j \in Q} y_{ij} \leq |Q| - 1; \forall \subseteq Q \{1, 2, \dots, n\} \quad (\text{Eq. 11})$$

The possible values for the variable y are given by Eq. (Eq. 12, 13), and defined in (Eq. 3).

$$y_{ij} \in \{0, 1\}; \forall \{i, j\} \in n \quad (\text{Eq. 12})$$

$$x_{ij}^k \in \{0, 1\}; \forall \{i, j\} \in n, \forall k \in K \quad (\text{Eq. 13})$$

From the constraints presented, some of the permutations do not start or end at the depot and do not fulfill the constraints of the VRP model (Eq. 8) and (Eq. 9). From these restrictions the total permutations that could meet the criteria presented in the case of a polygon of Fig.1 and Eq.1 are only six.

Due to the complexities of the previous mathematical model, their solutions require hard mathematical work in the modeling phase, multiple mathematical calculations to obtain an evaluation that meet the constraints as (Eq. 3-13). The use of unconventional techniques is convenient when large instances or real-world problems are being solved. The enterprises that need these models do not have the mathematical knowledge or the mathematical qualifications to create and solve the algorithms presented in the literature. As is the case here, a medium sized enterprise in emergent markets does not have the necessary knowledge, time and budgets to develop or to purchase these kinds of classical systems. The use of heuristics or metaheuristics represents a challenge for enterprises to obtain feasible solutions in terms of time and quality among other aspects. Good solutions in a lot of cases are systematically adjusted by trial and error until a specific solution that meets the enterprise policies is obtained, regardless of whether it is the best solution or not.

2.3.1 Evolutionary strategies

As in nature, ES are methods used to finding solutions to several combinatorial problems [31]. Similar to the genetic algorithms the evolutionary strategies are mainly based on the studies of Charles Darwin, who stated that the strongest individuals survive and some characteristics remain over time [32]. The work of Gregor Mendel [33] affirms that some characteristics pass or conserved through generations, few characteristics are obtained from the father and the rest of the mother. The ES is a black-box optimization algorithm. Basically, the concept of the ES consists in comparing an individual with another that contains the same parameters, but in different combinations or in order to obtain the best individual that fits with an objective function. It uses repetitive test to

obtain the best combination (optimal or near to optimal) to solve the objective function.

2.3.2 Evolutionary strategy algorithm

There is not a standardized model for ES, but it can be adapted from the literature forms [3]. The basic evolutionary strategy algorithm in its several forms consists of the following steps:

- A. Initialize a parent population of size μ (Eq. 14),

$$P_\mu = \{a_1, a_2, \dots, a_\mu\} \quad (\text{Eq. 14})$$

Where: P is the population matrix and $\mu=1, 2, \dots, n$ marks the number of parents. $a_i = \{x_1, x_2, \dots, x_\mu\}$; x_μ represents a variable.

- B. Generate λ offspring $\tilde{a}$ forming the offspring population, e.g. (Eq. 15), where each offspring of $\tilde{a}$ is generated by:

$$\tilde{P}_\lambda = \{\tilde{a}_1, \tilde{a}_2, \dots, \tilde{a}_\lambda\} \quad (\text{Eq. 15})$$

1. Select ρ parents from (Eq. 14). If $\rho = \mu$ take all parental individuals instead.
2. Recombine the ρ selected parents a to create a recombinant individual r , $\tilde{a}_i = 1, 2, \dots, n$.

From

$$\rho = \{\tilde{a}_1, \tilde{a}_2, \dots, \tilde{a}_i\}$$

to

$$\rho = \{\tilde{a}_1, \tilde{a}_6, \dots, \tilde{a}_i\}$$

Where: $\tilde{a}_1 = \{x_1, x_2, \dots, x_i\}$ becomes $r_1 = \{x_7, x_1, \dots, x_i\}$

3. Mutate the strategy parameter, set a_i to the recombinant r_1 .
4. Mutate the objective parameter, set a_i of the recombination r_1 , and then use the mutated strategy parameter set to control the statistical properties.

- C. Select new parent population (using deterministic truncation selection) from either:

1. The offspring population $\tilde{P}_\lambda$ (this is referred to as *the comma -*

selection, usually denoted as “ $(\mu, -\text{selection})$ ”).

2. The offspring $\tilde{P}_\lambda$ and parent P_μ population (this referred to as *plus-selection*, usually denoted as “ $(\mu + \lambda, -\text{selection})$ ”).

- D. Go to B, until a stop criterion fulfilled.

2.3.3 1 + 1 Evolutionary strategy

The ES is assembled by a vector that contains characteristics of an individual that fulfill all variables of a function. The parent generates a couple of matrices by recombination of the original parent (vector r). The pair of matrices represent the parents and the children. Both matrices have the same size. A pair of individuals (one of every matrix) is evaluated by a Hamming distance [34] with a fitness function. Because the evolutionary strategy has no stopping criterion, it is necessary generate multiple options as a solution of a function. The most used stop criterion is the restriction of the number of generations. See Fig. 3.

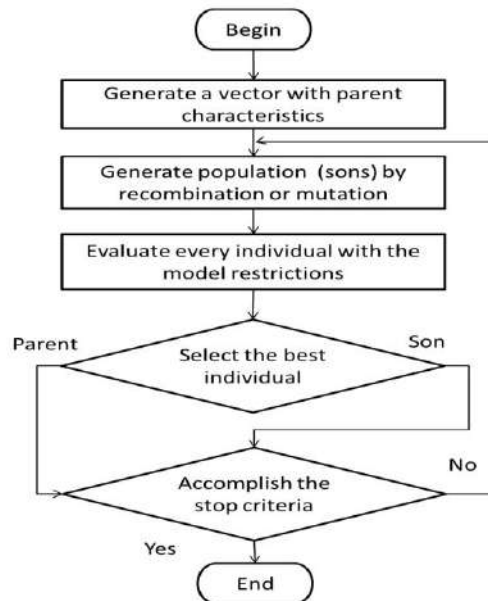


Figure 3. Block diagram of evolutionary strategy.

2.3.4 Fuzzy logic

The FLS's are proposed to improve and control some processes as can be seen in [35].

Fuzzy logic type-1 owes its growth to [36] who developed fuzzy logic controller (FLC) that is the basis of all FLS's. This control is assembled in four modules as a function of the variables. It contains a fuzzifier, a fuzzy rule base in the form (Eq. 16). It is used for generating the inputs and an evaluation inference module that has a defuzzifier used as a translator. The type-1 FLS's are still in use. Some industrial applications of type-1 in various fields are shown in [3, 10, 35, 37, 39].

Rule n: IF X_1 is A_1 and ... and X_n is A_n , Then Y_n = B_n (Eq. 16)

Where: X_n represents the fuzzy input variables, A_n represents the inputs, Y_n represents the fuzzy output and B_n represents the crisp output.

2.3.4.1 Fuzzy implications

The fuzzy implication is a combination of N rules that generates an output answer, the inference engine is operated by T-norm, for example, the maximum T-norm operator is given by (Eq. 17) or the minimum operator S-norm yields (Eq. 18). The T-norm and/or the S-norm operators represent the "if" part of the fuzzy rules, however in the literature there are a number of operators that can be applied as is shown in [37],

$$T[\mu_A(x), \mu_B(x)] = \max_{\mu_{A \cap B}}(x) \quad (\text{Eq. 17})$$

Where: $\mu_A(x), \mu_B(x)$ represents the membership of x_i , respectively to their fuzzy set x_i , S represents the S-norm and $\mu_A(x), \mu_B(x)$ both of which, yields (Eq. 19),

$$S[\mu_A(x), \mu_B(x)] = \min_{\mu_{A \cup B}}(x) \quad (\text{Eq. 18})$$

$$\mu_{x_i} = -\frac{e^{-(x_i - \bar{x}_i)^2}}{2\sigma^2} \quad (\text{Eq. 19})$$

Where: μ_{x_i} represents the membership value of x_i , $\bar{x}_i$ represents the mean of the fuzzy set, x_i represents the input and σ represents the

standard deviation or the spread of the fuzzy set.

The fuzzy value for the output or the firing strength for every rule is generated by Sup★star composition in according to the equation (Eq. 20), extracted from [17] and [37]. This relation produced the fuzzy output for the whole system in the "if" part of the product of all variables present in the rule.

$$\mu_{R \circ S}(x, z) = \sup_{y \in v} [\mu_R(x, y) * \mu_S(y, z)] \quad (\text{Eq. 20})$$

Where: $*$ denotes product, μ_R, μ_S represents the universe of the input variables and their relations.

2.3.4.2 Fuzzy basis function

Reported in the literature [35] uses the IBI (Individual Base Inference) model that is the basis for the proposed approach (See section 3), where each rule is performed using all inputs and gives a value as a consequent. Each value is a partial rule and each rule is defined by a fuzzy set. The Fuzzy basis function (FBF) combines all fuzzy rules outputs that are activated as shown in the equation (Eq. 20). This is defined in [17], [37] by:

Definition 1: The set of fuzzy systems with a singleton fuzzifier, product inference, centroid defuzzifier, and Gaussian membership function consist of all fuzzy basis functions (FBF) of the form (Eq. 21),

$$FBF = \frac{\sum_{j=1}^M \bar{z}^j (\prod_{i=1}^n \mu_i^j(x_i))}{\sum_{j=1}^M (\prod_{i=1}^n \mu_i^j(x_i))} \quad (\text{Eq. 21})$$

Where: $\bar{z}^j$ is the output for a point in the space R , $\mu_i^j(x_i)$ represents the output of the rule: R_i , $i=1, \dots, j$.

3. Experimental method

The proposal uses classic VRP with one vehicle and unlimited capacity. Uncertainty is

not present due to only is required the optimization of the route.

The proposal uses 1+1 ES to generate routes provided to a fuzzy system and then the best routes are selected by the 1+1 ES, so we referred to it as Evolutionary Strategy of fuzzy logic vehicle routing problem (ESFLSVRP). The fuzzy system evaluates the possible routes and later uses the 1+1 ES to select the best option. The methodology consists in the following steps:

- Determine the number of clients.
- Make a row vector from 1 to n , (Eq. 22),

$$r = (x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (\text{Eq. 22})$$

Where: x is a client and n represent the number of clients, r represents a route in the form of a vector that is a route that forms part of the population that requires optimization to reduce costs.

- From (Eq. 22) is obtained a vector m that is recombined to generate the one

Table 3. Address vector.

Address															
0	1	2	3	10	11	12	13	20	21	22	23	30	31	32	33

- Calculate the distance matrix (Table 4); this is obtained with the values of the arches or connections between two vertexes. E.g. (Eq. 23) for $n=3$. The first column represents the distance between the depot and the client i .

Table 4. Cost matrix.

Client	0	1	2	3
0	-	4	5	8
1	4	-	3	7
2	5	3	-	1
3	8	7	1	-

- Convert the cost matrix (Table 5) to a column vector (Table 6). The

that represents the possible routes to be evaluated. The matrix generated ($n \times m$; $n=m$) is symmetric (Eq. 23).

$$\begin{vmatrix} 0 & 4 & 5 & 8 \\ 4 & 0 & 3 & 7 \\ 5 & 3 & 0 & 1 \\ 8 & 7 & 1 & 0 \end{vmatrix} \quad (\text{Eq. 23})$$

- Arrange a coordinate matrix with the vertices of the connection to obtain an address (x, y) as shown in (Table 2). e. g. Coordinate (1, 1) generates “11” as an address.

Table 2. Coordinate matrix.

Client	0	1	2	3
0	00	01	02	03
1	10	11	12	13
2	20	21	22	23
3	30	31	32	33

- Transform the coordinate matrix (Table 2) to a vector for every client with the addresses (Table 3).

conversion is done when the columns, two to n are placed in order over the preceding column.

- Table 4 is generated using the data of the generated route, i.e. Distance between the client 1 and client 6.
- The connections are obtained using the distance from client to client. E.g. From client 10 to depot, depot to client 2, etc. obtaining all distances between client to client, depot to client and client to the depot.

Table 5. Costs vector (Transposed).

Distance															
0	4	5	8	4	0	3	7	5	3	0	1	8	7	1	0

- Assign to each coordinating distance variable. (Table 5).

Table 6. Relation matrix (Address/distance).

Address	Distance
0	0
1	4
2	5
3	8
10	4
11	0
12	3
13	7
20	5
21	3
22	0
23	1
30	8
31	7
32	1
33	0

- Create a parent with a randomly ordered vector; do this to obtain the set number of parents.
- Do the ES steps.
 - Fix: number of parents and children, clients, and generations.
 - Create input matrices (Parents and children) of size (Eq. 24), e.g. Parent (Eq. 25), children (Eq. 26).

$$M = n \times m \quad (\text{Eq. 24})$$

$$\begin{bmatrix} x_1 & x_2 & x_3 \\ x_1 & x_3 & x_2 \\ x_3 & x_1 & x_2 \end{bmatrix} \quad (\text{Eq. 25})$$

$$\begin{bmatrix} x_1 & x_3 & x_2 \\ x_2 & x_3 & x_1 \\ x_3 & x_1 & x_2 \end{bmatrix} \quad (\text{Eq. 26})$$

- Assemble the route (Eq. 27)

There are some computational constraints that require unconventional solutions such as:

the use of 0 (Zero) at the beginning of a number in order to avoid the use of zero, the solution is generated using numbers >1 , then a x_0 is added at the beginning and the end of the route vector (Eq. 28), which represents the arches that connect the first and the last client to the depot, this fulfills the constraints (Eq. 8 and Eq. 9).

$$R_i = \{x_1, x_2, x_3\} \quad (\text{Eq. 27})$$

$$R_i = \{x_0, x_1, x_2, x_3, x_0\} \quad (\text{Eq. 28})$$

- Create with (Table 6) the fuzzy rule base.

Make the fuzzy system to obtain the costs of routes (Eq. 29).

$$\sum_{i=1}^n x_i, \forall x_i \in R_i \quad (\text{Eq. 29})$$

Use the tournament selection to select the minimum cost route with ES.

3.1 Procedure

The simplest way to define the proposal is in a multiple input, single output (MISO) system (Fig. 4), which consists in n inputs provided by ES and one output given by fuzzy model and optimized by ES.

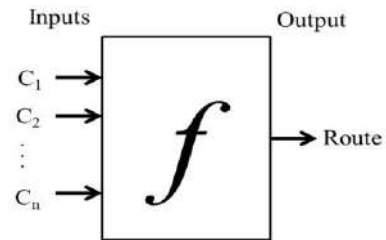


Figure 4. Multiple input single output system.
Adapted from: [38].

The simplest way to evaluate is by testing all possible solutions to obtain an optimal route with the minimum cost, but spending a lot of resources. The ESFLSVRP uses graph theory

on Platonic solids (Fig. 5) to generate bigger problems with every solid simulating a scenario or instance to make decisions. This approach expends only seconds in execution

time for emulate the routes. The ESFLSVRP arises as new metaheuristic to the most commonly used models.

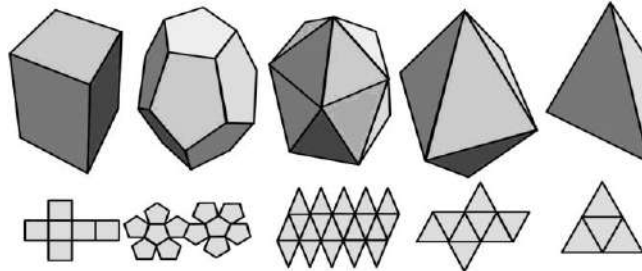


Figure 5. Platonic solids. Adapted from: [39].

Experimental tests were implemented in MatLab R2009a with a 1+1 ES and type-1 singleton fuzzy logic system. The experiments were conducted as follows: every experiment was tested with 2, 5, 10, 25, 50 and 200 generations with 10 individuals per generation, 4 times for networks with more than 10 individuals.

The model was tested using platonic solids (PS) for creating a priori route. The database used was adapted from [40] to meet the requirements of the platonic solids. The icosahedron and the 30 client were extracted from [30] because the database of [40] has only 18 clients plus the depot. In the experiment the depot is represented as a client and the matrix is symmetric. The experimented cases are: They are described in the next paragraphs.

3.2 Platonic solids

The platonic solids are regular polyhedral [41] used to graphically establish by the Hamiltonian paths and are a reference in graph theory and routing problems. In this case they are used as instances to compare the performance of the proposed model against the SA from [42, 43], the shortest path (SP) or Dijkstra algorithm [44], and are tested and compared with the exact Branch and Bound method (B&B) [45].

3.2.1 Tetrahedron

The tetrahedron has 6 connections (01, 02, 03, 12, 13, and 23) as shown in (Fig. 6a) and 4 vertices described graphically in (Fig. 6b), client 0 is the depot, and the rest represent a regular client. Routes for the three clients should be made (Fig. 6 c).

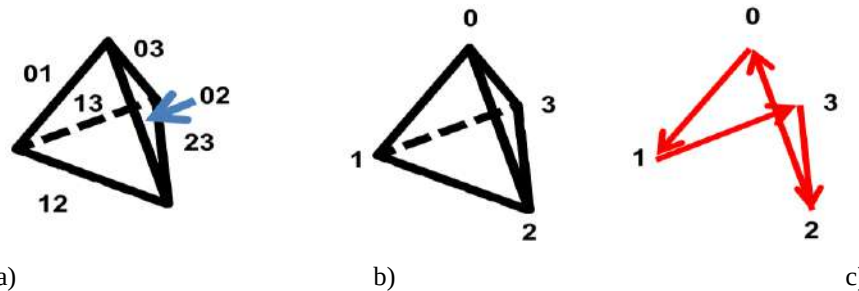


Figure 6. Tetrahedron. a) Arches or connections, b) Vertices, c) Sample route. Source: authors.

3.2.2 Cube

The cube, due to its geometry, presents more complexity because of the number of connections; the final count has 16

connections including internal diagonals, (See Fig. 7a) and 8 vertexes (Fig. 7b) to make a route of 7 clients (Fig. 7c).

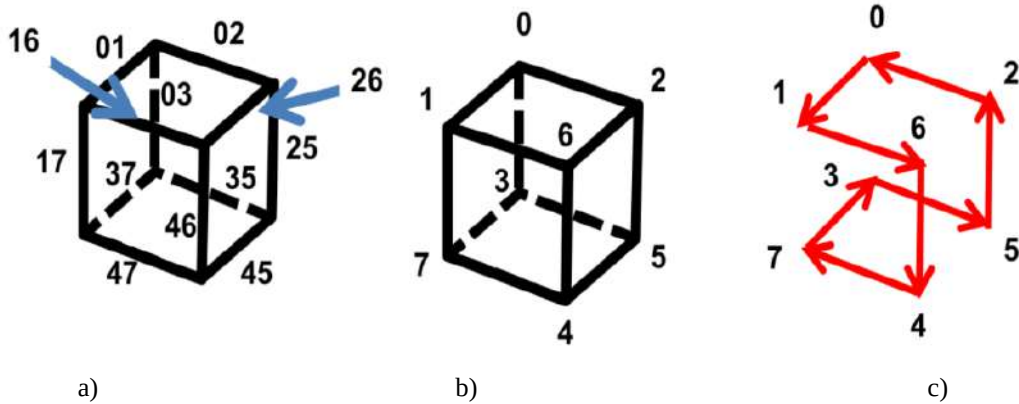


Figure 7. Cube. a) Arches or connections b) Vertexes, c) Sample route. Source: authors.

3.2.3 Octahedron

The octahedron with its number of faces and vertexes (Fig. 8a and Fig. 8b) has only one

route for five clients (Fig. 7c). In this case the number of vertexes restricts the number of clients without worrying of the connections.

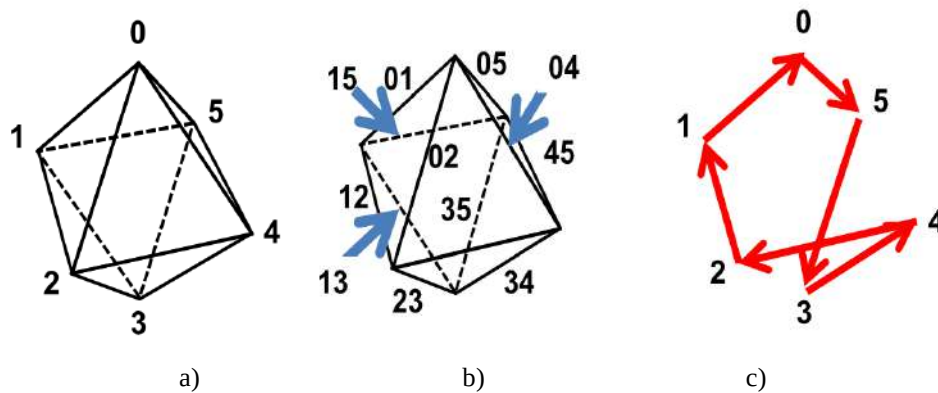


Figure 8. Octahedron. a) Vertexes, b) Arches or connections, c) Sample route. Source: authors.

3.2.4 Dodecahedron

The dodecahedron creates 30 connections (Fig. 9) and 19 clients by their number of

vertexes. In this case the number of vertexes restricts the number of clients without worrying of the connections.

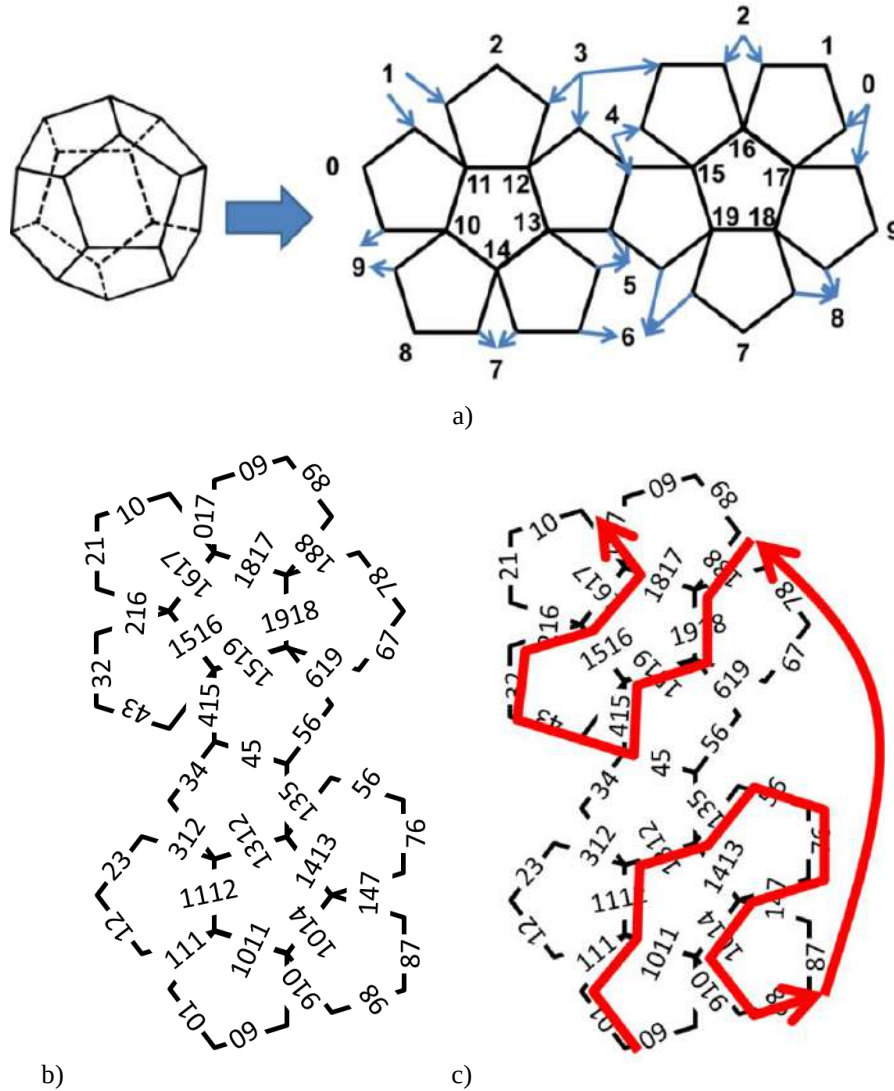


Figure 9. Dodecahedron. a) Vertices, b) Connections, c) Sample route. Source: authors.

3.2.5 Icosahedron

Icosahedron creates a route for 11 clients with multiple connections. The proportion between connections and vertices are 2.5 and despite having multiple connections per node

(> 2), these are not relevant since only one is used to define the arc between vertices to make a route, so the clients are restricted only by the nodes without worrying the about connections.

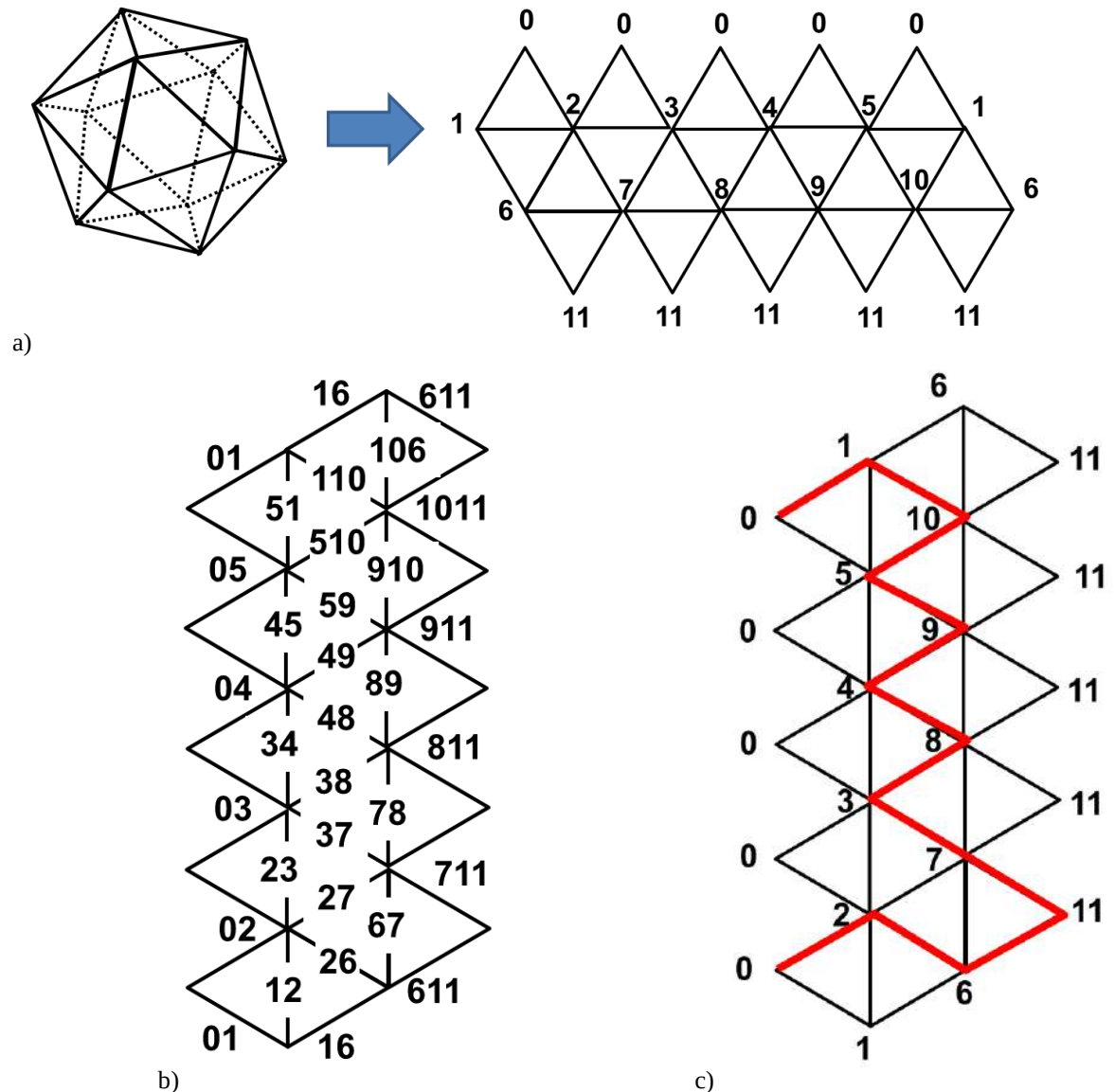


Figure 10. Icosahedron. a) Vertexes, b) Arches or connections, c) Sample route. Source: authors.

3.3. 30 Clients Route

To evaluate the proposal with a bigger problem, 10 and 200 generations with 10 individuals were tested. As benchmarking the SA metaheuristic was tested using an adaptation instance generating the first thirty data with lower triangular matrix data provided by [30] (Table 7).

The behavior of the larger instances can be observed in the results section. But the behavior of a bigger instances shows a tendency to reduce the error gap and maintain an error rate below 20% as is shown in (Tables 8 and 9). The value mentioned in last sentence is a normal error rate as shown in literature [13, 46].

Table 7. Instance matrix. Adapted from: [30].

Clients	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
0	0																													
1	37	0																												
2	35	36	0																											
3	36	34	37	0																										
4	34	40	35	36	0																									
5	36	37	39	38	37	0																								
6	36	42	40	38	35	38	0																							
7	35	42	40	37	38	37	36	0																						
8	41	47	40	42	37	38	34	37	0																					
9	41	48	41	46	35	42	34	39	32	0																				
10	38	45	39	41	34	37	34	37	34	37	0																			
11	36	39	36	38	39	35	36	34	37	41	38	0																		
12	44	45	41	38	41	43	47	43	49	52	50	41	0																	
13	36	33	39	35	37	39	45	41	44	48	43	39	44	0																
14	34	35	40	32	36	40	42	40	45	47	44	40	44	35	0															
15	39	39	41	40	44	43	46	44	49	51	46	44	46	37	39	0														
16	42	35	41	38	39	40	46	42	45	49	44	40	42	38	39	37	0													
17	38	44	46	43	38	50	50	46	51	53	49	44	42	40	46	38	37	0												
18	45	41	46	42	42	46	50	48	51	55	50	46	41	37	43	36	37	38	0											
19	44	44	47	43	41	47	48	46	50	54	50	47	44	39	43	36	39	40	38	0										
20	45	45	49	40	47	47	50	48	56	54	53	50	42	43	46	41	43	4	40	39	0									
21	46	42	45	39	47	47	46	44	49	51	48	46	46	40	39	43	46	46	45	39	37	0								
22	45	43	41	35	44	42	46	43	46	49	44	41	40	38	39	35	32	41	37	39	44	45	0							
23	40	35	41	37	46	43	38	39	49	51	48	44	45	38	38	37	40	44	45	39	40	39	40	0						
24	37	37	38	41	43	41	44	40	46	47	44	41	47	32	36	36	42	42	40	39	45	42	41	37	0					
25	42	42	47	39	39	43	48	46	50	50	50	47	48	37	41	37	40	45	44	39	43	40	41	41	37	0				
26	37	43	40	40	45	39	41	38	43	46	42	41	51	42	40	43	46	48	47	45	47	44	44	44	43	39	45	0		
27	39	43	41	41	39	37	40	37	42	44	41	39	50	42	40	42	46	45	47	45	47	44	44	44	44	39	46	32	0	
28	40	43	41	43	39	39	42	40	44	46	44	41	51	39	40	39	42	47	45	41	44	42	43	39	39	42	36	34	0	
29	41	47	44	39	37	41	43	40	46	48	44	43	52	43	43	43	46	51	49	44	43	40	47	40	43	42	38	37	36	0

4. Discussion and Results

The results obtained show that it is possible to generate a satisfactory route (Table 8) with a few individuals (10 individuals) per generation and a few generations (10 generations) to obtain an accuracy higher than 80% (Table 9). In most cases the generated approximation is satisfactory and it is not necessary to add more individuals or generations in the optimization process to obtain better solutions. The improvement represents a 5% in comparison with the 10

generations test and the route does not show a significant change. The results obtained by the recombination process and the new randomly generated individuals present patterns that conforms optimal sub-routes that are repetitive. For this cause the model cannot evolve to better solutions and requires many generations to evolve to optimal solutions which are not feasible in real life enterprises. The use of more than 10 generations does not provide a substantial gain when compared with the computational time spent in order to generate the route.

Table 8. Total distance (With depot as a client).

Method	Clients						
	4	6	8	12	18	20	30
SP	58	94.5	102	165.5	329	757	1117
ESFLSVRP 200 Generations	58	94.5	134	208.25	414	777	1194.5
ESFLSVRP 10 Generations	58	94.5	134	208.25	439.25	798	1228.5
SA	58	94.5	133	179	395.3	823	1298
Exact method (Branch and bound)	58	94.5	133	182.5	260	715	1073
ANFIS 10 Generations	58	95.5	150.5	250.2	435	765	1377
ANFIS 200 Generations	58	95.5	134	221.5	412	764.5	1302

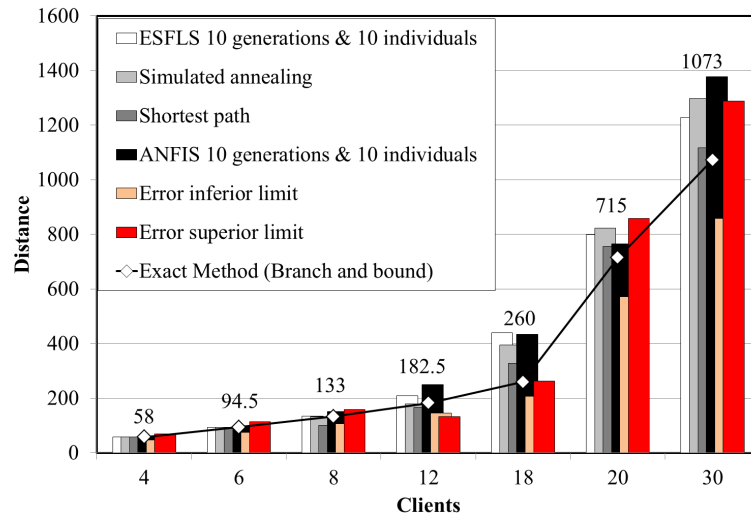
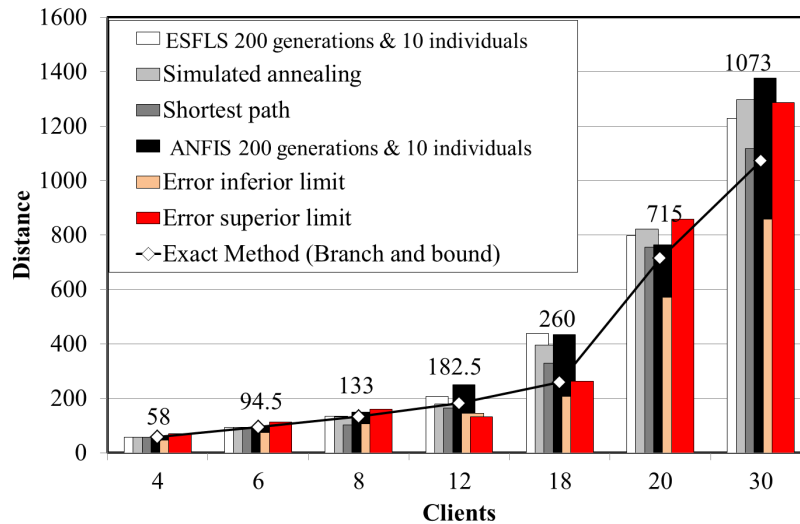
Table 8 presents a comparative result using classical approaches such as: the exact method, SA, SP and ANFIS algorithms versus the ESFLSVRP its depiction is shown in (Fig. 11) for 10 generations and 10 individuals, and (Fig. 12) for 10 individuals and 200 generations of evolution using the proposed system and a neuro-fuzzy model as benchmark. The ESFLSVRP algorithm presents a better solution compared to the SA heuristic solution, also the ESFLSVRP reduces the total cost in distance of this particular case in an interval between 3 to 7% for small instances, 20 or 30 clients. The routes obtained to 4 and 6 clients converge to

the same value in any of the used methods as shown in (Table 9). The solution for 18 clients with the ESFLSVRP model shows less accuracy when it is compared against the SA and the exact method as is shown in (Fig. 13) and (Fig. 14). This fact is a particular case that could be generated by the five connections on each node of the route as can be seen in (Fig. 9). Additionally, the obtained error rates are inside the interval determinate by [46] for an approximation of the optimal route. Also, the big error rates on 18 clients route are inside of interval [33.53% 62.75%] mentioned in [13] when comparing a method with a classical instance.

Table 9. Error of the model ESFLSVRP vs. Heuristics and ESFLSVRP vs. ANFIS (%).

	Heuristic Generations	SA 200	SP 200	BB 200	ANFIS 200	SA 10	SP 10	BB 10	ANFIS 10
Clients	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	1.04*	0	0	0	1.04*
	8	0.7	31	0.75	0	0.7	31	0.75	10.96*
	12	16	25	14.1	5.98*	16	25	14.1	16.76*
	18	47.3	25.83	59.23	0.48	11.18	33.5	68.9	0.97
	20	5.58*	2	11.61	1.63	3.04*	5	11.61	4.31
	30	7.97 *	6	14.49	8.25*	5.35*	9	14.49	10.78*

The * denotes an improvement in the optimization and presents the least cost on the route.

**Figure 11.** Experimental results of ESFLSVRP with 10 individuals and 10 generations of evolution versus metaheuristics and exact method Branch and Bound. In distance.**Figure 12.** Experimental results of ESFLSVRP with 10 individuals and 200 generations of evolution versus metaheuristics and exact method Branch and Bound. In distance.

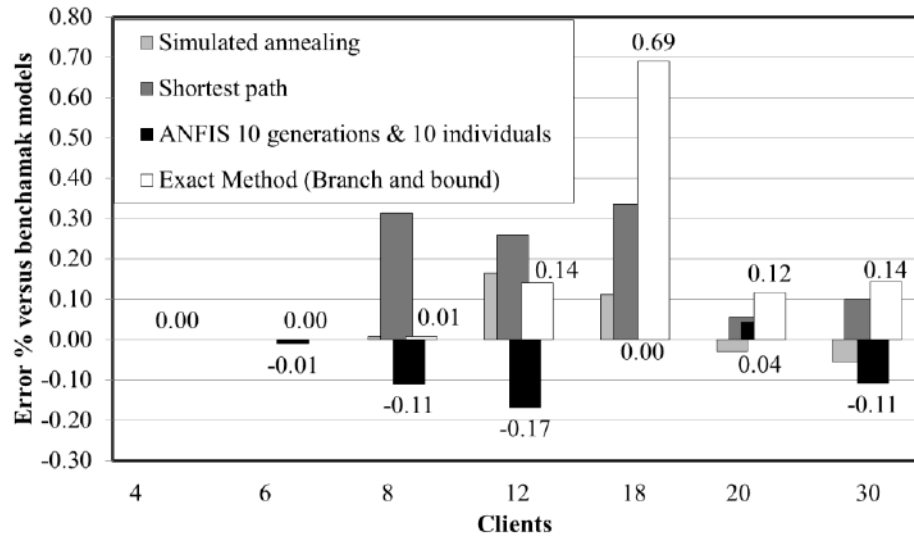


Figure 13. Error rates or enhancements (negative values) of ESFLSVRP with 10 individuals and 10 generations of evolution versus metaheuristics and exact method Branch and Bound. In Percentage.

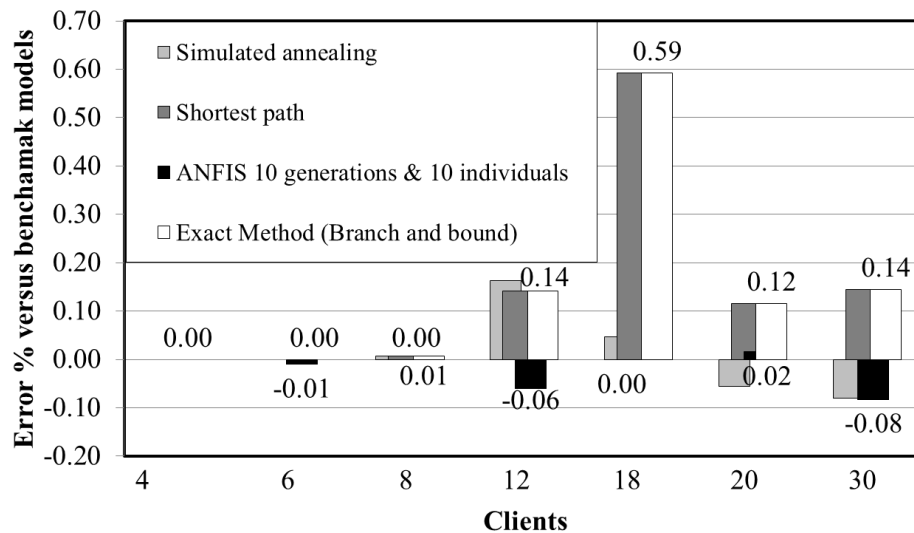


Figure 14. Error rates or enhancements (negative values) of ESFLSVRP with 10 individuals and 200 generations of evolution versus metaheuristics and exact method Branch and Bound. In Percentage.

The exposed results (Figs. 11 to 14) show that the gap between the SA approximations versus the ESFLSVRP model grows up when more clients are added and it represents an enhancement. The proposal shows better accuracy and fitting when it is compared with the SA and at least the same error of SP solution. It corroborates the statement of [47] that the ANN accuracy is less than or close to by not higher than 80%.

The results depicted in (Fig. 12 and 13), show the behavior of the proposed method that presents a trend to generate a better approximation than a metaheuristic method as in this case when it is compared to benchmark models. The report presented by [3] mentions that the behavior for an unknown data set solved by approximation presents an accuracy between 65-71% which shows a decrement in the accuracy of at least 15% versus the proposed model. (Fig. 13)

presents the error percentages obtained with 200 generations of the ESFLSVRP model showing an error rates of less than 20%, that is reported in the literature as a normal gap in the approximation or the path calculation [11, 46].

Table 10 presents the computational time consumed by the ESFLSVRP to generate a route. The SA for small instances (20 or 30 clients) spends 140 seconds in execution time while the ESFLSVRP requires only 13.44 seconds. This represents a saving of 90% in execution time which is an enhancement in the creation of the routes: In-[13] it is shown that their approach requires 100 seconds tested five times for small instances. Furthermore, our approach presents a better accuracy when an optimal route is generated using only 10 generations (Fig. 15). The case of 200 generations requires more time as 20

minutes that is less than the one presented in [11] of one hour. Also [48] mentions that one hour is required to obtain a result with an exact method such as B&B. In [13] a gap interval of 33.53% to 62.75% on the error compared with a classic instance is mentioned. In this case it is a CVRP compared with the instances generated by Augerat [10]. An error of 30% on the route prediction is presented in the proposal of [18]. This quantity of time 1,203 seconds is generated by the nature or evolution of algorithm used by the generations require 20 individuals with 30 nodes obtaining 1,200 evaluations with the fuzzy model and 80 by the ES per generation and this is multiplied by 200 generations produce 256,000 mathematical operations that could be limited by the computer capacities but, with these restrictions are three times less than the exposed in literature [11 and 48].

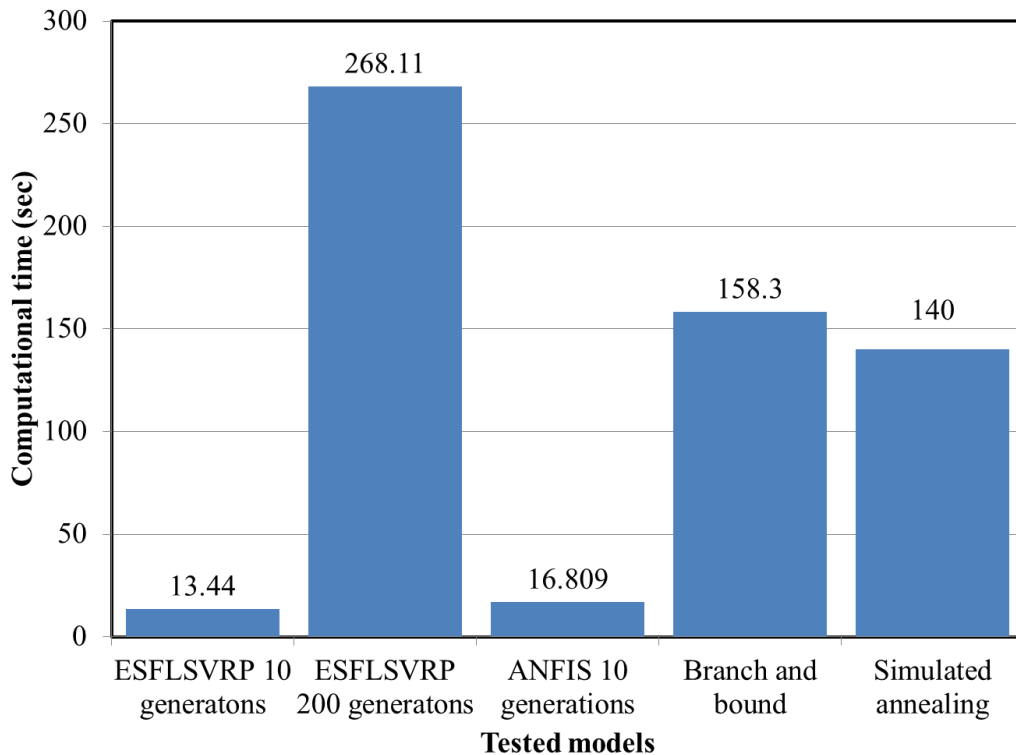


Figure 15. Approximation of the ESFLSVRP for 20 clients.

The waiting time in the SA is produced because its algorithm requires a lot of time to

generate the cooling factor that reduces the temperature in the order of 5 degrees per

iteration. This is caused by the initial temperature that usually is fixed to 10,000 degrees. Also, the lead time is produced by the repetitive calculation of the route in every tested combination, the tests are produced by

trial and error and the stopping criteria is zero degrees or close to zero. Additionally, the solution is saved if and only if it presents better results than the previous saved route.

Table 10. The computational time consumed.

Clients	Time (Sec.)						
	4	6	8	12	18	20	30
ESFLSVRP 10 gen.	0.96	1.37	1.7	1.7	16.6	13.44	62
ESFLSVRP 200 gen.	18.86	26.67	33.89	33.89	301.58	268.11	1203
ANFIS 10 gen.	0.77	1.16	1.55	2.28	14.8	16.6	1197.3

Table 9 presents the comparison between two approaches of the proposed hybrid intelligent system model (ESFLSVRP) with 10 generations of optimization versus 200 generations of optimization. The results show that the proposal provides an accuracy over 84% that is better than a common metric to evaluate intelligent systems as ANN as [3 and 47] mentioned, also the neural networks shows a chaotic behavior as shown in (Fig. 14) that shows the accuracy of the prediction model ESFLSVRP with 10 and 200 generations of optimization, the gap in the accuracy of the model with 10 generations versus 200 is too small in comparison with the computational time spend on the approximation. In this table could be observe that the errors are very similar to reported in the literature by [46] where it is mentioned “the average Gap of each set is more than 13.2% and up to 20.0%” it is practically

equivalent to the error or gap obtained in the tests of 14.49% for the 10 generations and is equal with 200 generations in the worst case (excluding the case f 18 clients because it is a particular case due to their multiple connections and need to be studied in future works). These results are within the variations that appear in the literature as a gap between 13.2 to 20% in [46] and higher than 1,700% than the optimal cost as mentioned by [11], [13] corroborate this with the affirmation that the exact methods require a lot of time to generate a feasible solution with bigger instances (<50).

A similar behavior is presented in this case because of its random nature the optimal solution could not be found, and the stopping criterion established is the number of generations.

Table 9. Accuracy of the proposed model (%).

Model	Clients						
	4	6	8	12	18	20	30
ESFLSVRP 10 Generations	100	100	99.248	85.89	31.06	88.392	85.508
ESFLSVRP 200 Generations	100	100	99.020	84.441	40.77	91.810	89.123
ANFIS 10 Generations	100	98.94	52.45	48.82	98.9	98.94	76.72

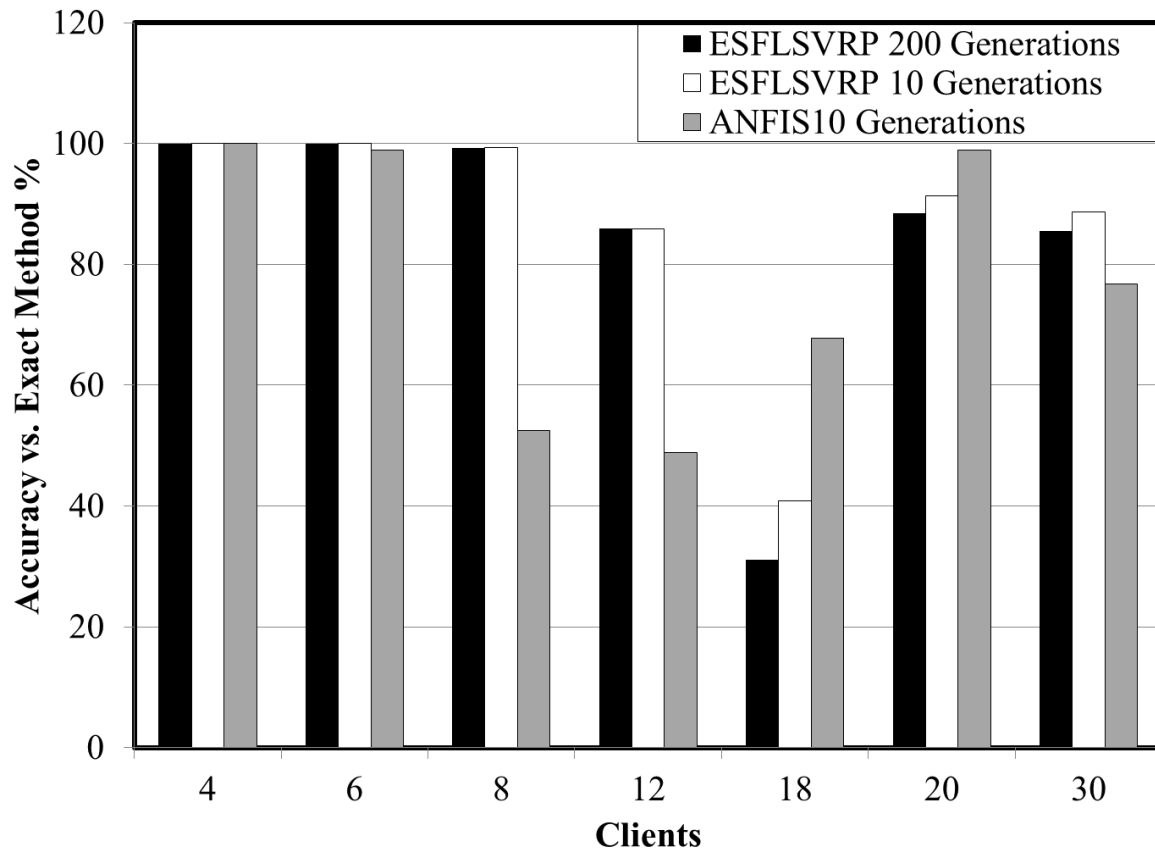


Figure 14. Accuracy of the proposed model.

5. Conclusion

As is shown in the literature, the classical VRP is only used in small and medium sized enterprises. Also, the literature does not report instances to evaluate new proposals and these instances need to be developed and tested with several methods to create an accurate evaluation.

The literature does not show the use of fuzzy models to solve the routes, they are only used to avoid uncertain parameters. In contrast as mentioned in Mendel [16], the type-1 fuzzy systems are not capable to manage the uncertainties. But can evaluate fuzzy numbers.

The instances used are small with less than 100 customers as shown in [11-14]. With less than 50 clients.

The random nature of the evolutionary strategy provides an option to explore all possibilities in the combinatorial production of different Hamiltonian cycles that provide a sample route to be evaluated by fuzzy logic. While the fuzzy logic in this approach provides the possibility to evaluate all combinations in a phase by marking one route without worrying about the complexity (size of the matrix) of the problem used on the fuzzy rule base.

The proposed approach generates two solutions because of its formulation that forms a Hamiltonian path starting and ending at the same point (Depot). The optimal route can be placed in inverse order without changing the total distance needed to complete it.

The computational times reported in the literature [13] are as much as six times longer than the obtained times for small instances.

The principal risk of implementing the ANN model is the problem of its premature convergence that means that it does not reach the optimum and gets trapped in a local optimum. Also, it spends a lot of time and only gets accuracy of less than 80% because it is trapped in a local optimum and repeats these cycles until the stopping criterion is met if it exists [47]. Because of this the pure ANN is not used for the model.

As future work is the use of the proposed model with pure neural networks to evaluate the convergence and precision generated as in [47]. Also, is the test of it using bigger instances.

References

- [1] Dantzig, G., Ramser, J., (1956). "The truck dispatching problem." *Managements Science* 6(1), Pp. 80-91. <https://doi.org/10.1287/mnsc.6.1.80>
- [2] Erdelić, T. & Carić, T., (2019). "A survey on the electric vehicle routing problem: variants and solution approaches". *Journal of Advanced Transportation*, 2019, Pp.1-48, <https://doi.org/10.1155/2019/5075671>
- [3] Montes Dorantes P.N., Ireta Sánchez P.H., Velarde Cantú J.M., Liñán García E., Méndez G.M. (2018). "Design and optimization of Distribution Routes Using Evolutionary strategy and Type-1 Singleton Neuro-fuzzy systems". *IEEE LATIN AMERICA TRANSACTIONS*, 16(5), Pp. 1499-1507. DOI: 10.1109/TLA.2018.8408447.
- [4] Goel R. & Maini R. (2017). "Vehicle routing problem and its solution methodologies: a survey". *International Journal Logistics Systems and Management*. 28(4), Pp. 419-435. <https://doi.org/10.1504/IJLSM.2017.087786>
- [5] Han, M. & Wang, Y. (2018, December). "A survey for vehicle routing problems and its derivatives". In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 452(4), Pp. 042024. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/issn.1757-899X>
- [6] Bhuvaneswari, M., Eswaran, S., & Rajagopalan, S. P. (2018). "A survey of vehicle routing problem and its solutions using bio-inspired algorithms". *International Journal of Pure and Applied Mathematics*, 118(9), Pp. 259-64.
- [7] Kassem, S., Korayem, L., Khorshid, M., & Tharwat, A. (2019, October). "A hybrid bat algorithm to solve the capacitated vehicle routing problem". In 2019 Novel Intelligent and Leading Emerging Sciences Conference (NILES) (Vol. 1, pp. 222-225). IEEE.
- [8] Ireta Sanchez P.H., Montes Dorantes P.N., Mendoza A. y Solis R. G. (2019). "Problema de trazo de rutas vehiculares con terminación diferente al depósito central". En: Sánchez Lara B, Torres Mendoza R.M., Gómez Maturano J., Cedillo Campos M.G. (eds) *Innovación Logística en América Latina: Nuevas Perspectivas*. Asociación Mexicana de logística y cadena de suministro A.C., Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN 978-607-96403-1-6, pp. 82-88.
- [9] Pérez-Salas G., González-Ramírez R.G., Cedillo-Campos M.G. (2014). "A holistic approach for measuring the international logistics costs". *2nd International*

Congress on Logistics & Supply Chain, (CiLOG2014) proceedings of, Universidad Anahuac. Huixquilucan, Estado de México. October 16-17. 2014.

- [10] <http://vrp.atd-lab.inf.puc-rio.br/index.php/en/>
- [11] Brekkå, I., Randøy, S., Fagerholt, K., Thun, K., & Vadseth, S. T. (2022). "The Fish Feed Production Routing Problem". *Computers & Operations Research*, 144, Pp. 105806. <https://doi.org/10.1016/j.cor.2022.105806>
- [12] Aliahmadi, S. Z., Barzinpour, F., & Pishvaei, M. S. (2020). "A fuzzy optimization approach to the capacitated node-routing problem for municipal solid waste collection with multiple tours: A case study". *Waste Management & Research*, 38(3), Pp.279-290. <https://doi.org/10.1177/0734242X19879754>
- [13] Tordecilla, R. D., Martins, L. D. C., Panadero, J., Copado, P. J., Perez-Bernabeu, E., & Juan, A. A. (2021). "Fuzzy simheuristics for optimizing transportation systems: Dealing with stochastic and fuzzy uncertainty". *Applied Sciences*, 11(17), Pp.7950. <https://doi.org/10.3390/app11177950>
- [14] Sánchez-Ansola, E., Pérez-Pérez, A. C., & Rosete, A. (2020). "School Bus Routing Problem with Fuzzy Walking Distance". *Polibits*, 62, Pp.69-75. <https://doi.org/10.17562/PB-62-8>
- [15] Zhang, S., Chen, M., Zhang, W., & Zhuang, X. (2020). "Fuzzy optimization model for electric vehicle routing problem with time windows and recharging stations". *Expert systems with applications*, 145, Pp.113123.

<https://doi.org/10.1016/j.eswa.2019.113123>

- [16] Mendel J. M. (2017). Uncertain rule-based fuzzy systems. Introduction and new directions, Springer.
- [17] Goel, R. (2019). "Fuzzy based parameter adaptation in ACO for solving VRP". *International Journal of Operations Research and Information Systems (IJORIS)*, 10(2), Pp. 65-81. DOI: 10.4018/IJORIS.2019040104
- [18] Kondratenko, Y., Kondratenko, G., Sidenko, I., & Taranov, M. (2020, July). "Fuzzy and evolutionary algorithms for transport logistics under uncertainty". In *International Conference on Intelligent and Fuzzy Systems* (pp. 1456-1463). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51156-2_169
- [19] Jin, C. X., Zhang, Y., & Li, F. C. (2021, June). "Research on Path Optimization Problem Based on Satisfaction Degree in Fuzzy Demand Environment". In *Journal of Physics: Conference Series* 1955(1), Pp. 012056. IOP Publishing. doi: 10.1088/issn.1742-6596
- [20] Oliva, D., Copado, P., Hinojosa, S., Panadero, J., Riera, D., & Juan, A. A. (2020). "Fuzzy simheuristics: Solving optimization problems under stochastic and uncertainty scenarios". *Mathematics*, 8(12), Pp. 2240. <https://doi.org/10.3390/math8122240>
- [21] Peker, I., Caybasi, G., Buyukozkan, G., & Gocer, F. (2019, July). "Evaluation of home health care vehicle routing methods by intuitionistic fuzzy AHP". In *International Conference on Intelligent and Fuzzy Systems* (pp. 607-615).

Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-23756-1_74

<https://doi.org/10.1057/s41274-016-0170-7>

- [22] Yılmaz, M. (2021). "Hierarchical Chinese postman problem with fuzzy travel times". *Iranian Journal of Fuzzy Systems*, 18(5), Pp. 87-105. DOI: 10.22111/IJFS.2021.6257
- [23] Zheng, J., Wang, S., Wang, L., Chen, J. F., Wang, L., Hao, J. & Sun, Z. (2020, July). "A two-stage algorithm for fuzzy online order dispatching problem". In *2020 IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC)*. Pp. 1-8. IEEE. DOI: 10.1109/CEC48606.2020.9185858
- [24] Çakır, E., Ulukan, Z., Kahraman, C. (2022). "A Fuzzy Modeling for Time Constrained Vehicle Routing Problem". In: Kahraman, C., Cebi, S., Cevik Onar, S., Oztaysi, B., Tolga, A.C., Sari, I.U. (eds) *Intelligent and Fuzzy Techniques for Emerging Conditions and Digital Transformation. INFUS 2021. Lecture Notes in Networks and Systems*, 307. Pp.511-519. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85626-7_60
- [25] Zacharia, P., Drosos, C., Piromalis, D., & Papoutsidakis, M. (2021). "The vehicle routing problem with fuzzy payloads considering fuel consumption". *Applied Artificial Intelligence*, 35(15), Pp. 1755-1776. <https://doi.org/10.1080/08839514.2021.1992138>
- [26] Wang, K., Lan, S., & Zhao, Y. (2017). "A genetic-algorithm-based approach to the two-echelon capacitated vehicle routing problem with stochastic demands in logistics service". *Journal of the Operational Research Society*, 68(11), Pp. 1409-1421.
- [27] Zhang, S., Chen, M., Zhang, W., & Zhuang, X. (2020). "Fuzzy optimization model for electric vehicle routing problem with time windows and recharging stations". *Expert systems with applications*, 145, 113123. <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2019.113123>
- [28] Karimi-Mamaghan, M., Mohammadi, M., Meyer, P., Karimi-Mamaghan, A. M., & Talbi, E. G. (2022). "Machine learning at the service of meta-heuristics for solving combinatorial optimization problems: A state-of-the-art". *European Journal of Operational Research*, 296(2), Pp. 393-422. <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2021.04.032>
- [29] Gupta, P., Govindan, K., Mehlawat, M. K., & Khaitan, A. (2022). "Multiobjective capacitated green vehicle routing problem with fuzzy time-distances and demands split into bags". *International Journal of Production Research*, 60(8), Pp. 2369-2385. <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2021.04.032>
- [30] Villalva, J. R., Monserrate, G. J., (2013). "Optimización del plan de visitas de inspección en el servicio de mantenimiento de áreas verdes de la ciudad de Guayaquil". (Master dissertation, ESPOL).
- [31] Rechenberg, I. (1973) *Evolutionsstrategie, Optimierung technischer Systeme nach Prinzipien der biologischen Evolution*. Stuttgart: Frommann Holzboog
- [32] Darwin, C.R. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the*

- struggle for life. 1st edn. London: John Murray.
- [33] Mendel, J. G. (1865) Versuche über Pflanzenhybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn, Bd. IV für das Jahr, Abhandlungen: P.p. 3-47.
- [34] Droste, S., Jansen, T., Wegener, I. (2002). "On the analysis of the (1 + 1) evolutionary algorithm". *Theoretical Computer Science*, 276, Pp.51-81, [https://doi.org/10.1016/S0304-3975\(01\)00182-7](https://doi.org/10.1016/S0304-3975(01)00182-7).
- [35] Montes-Dorantes, P. N., Santoyo, A. M., & Méndez, G. M. (2018). "Modeling Type-1 Singleton Fuzzy Logic Systems using statistical parameters in foundry temperature control application". *Smart and Sustainable Manufacturing Systems*. 2(1), Pp. 180-20. <https://doi.org/10.1520/SSMS20180031>
- [36] Mandami, E. H., Assilian, S. (1975). "Experiment in Linguistic Synthesis with a Fuzzy Logic Controller", *International Journal of Man-Machine Studies*, 7(1), Pp. 1-13, [https://doi.org/10.1016/S0020-7373\(75\)80002-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7373(75)80002-2).
- [37] Mendel, J. M. (2001). *Uncertain Rule-Based Fuzzy Logic Systems: Introduction and New Directions*, Prentice.
- [38] Joshaghan, M. A., Kamyad, A. V., Razavi, A. R., Norouzy, (2014). "A. Evaluation of the Nutritional Effects of Fasting on Cardiovascular Diseases, Using Fuzzy Data Mining." *Journal of Fasting and Health*, 3(1), Pp. 14-21.
- [39] Weisstein, E. W. Platonic Solid. MathWorld: A Wolfram Web Resource. [Online], [date of reference February 24th of 2022]. Available at: <http://mathworld.wolfram.com/PlatonicSolid.html>.
- [40] Brito, J., Campos, C., Castro, J.P., Martínez, F.J., Melián, B., Moreno, J.A., Moreno, J.M. (2008). "Fuzzy Vehicle Routing Problem with time windows", *Proceedings of IPMU'08*, Pp. 1266-1273.
- [41] Slodowy, P. (1983). Platonic solids, Kleinian singularities, and Lie groups. In *Algebraic geometry*. Pp. 102-138. Springer Berlin Heidelberg.
- [42] S. Kirkpatrick, C. C. D. Gelatt & M. P. Vecchi, (1983). "Optimization by Simulated Annealing. Science". *Science, New Series*, 220(4598), pp. 671-680.
- [43] V. Cerny, (1985). "Thermodynamical Approach to the Traveling Salesman Problem: An Efficient Simulation Algorithm". *Journal of Optimization Theory and Applications*, 45(1), Pp. 41-51, 1985. <https://doi.org/10.1007/BF00940812>
- [44] Huang, C. Y. R., Lai, C. Y., & Cheng, K. T. T. (2009). Fundamentals of algorithms. In *Electronic design automation*. Pp. 173-234. Morgan Kaufmann.
- [45] Fox, B. L., Lenstra, J. K., Rinnooy Kan, A. H. G. and Schräge, L. E. (1978). "Branching from the largest upper bound: folklore and facts". *European Journal of Operational Research*. 2, Pp. 191-194. [https://doi.org/10.1016/0377-2217\(78\)90092-9](https://doi.org/10.1016/0377-2217(78)90092-9)
- [46] Chevroton, H., Kergosien, Y., Berghman, L., & Billaut, J. C. (2021). "Solving an integrated scheduling and routing problem with inventory, routing and penalty costs". *European Journal of Operational Research*, 294(2), Pp. 571-589. <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2021.02.012>

[47] Anderson, J.A. Redes Neurales. (2007), Alfaomega.

[48] Forget, N., Gadegaard, S. L., Klamroth, K., Nielsen, L. R., & Przybylski, A. (2022). “Branch-and-bound and objective branching with three or more objectives”. *Computers & Operations Research*, 148, Pp. 106012. <https://doi.org/10.1016/j.cor.2022.106012>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the release of phytochemicals from nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) fruit

Efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* sobre la liberación de fitoquímicos del fruto de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.)

Agredano-De la Garza, C.S.^{1ID}, Berumen-Varela, G.^{2ID}, León-Fernández, A.E.^{2ID}, Bautista-Rosales, P.U.^{1,2ID}, Balois-Morales, R.^{1,2*}

¹ Programa de Doctorado en Ciencias Biológico-Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit. Carretera Tepic-Compostela, Km. 9. C.P. 63780. Xalisco, Nayarit, México.

² Unidad de Tecnología de Alimentos-Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit. Ciudad de la Cultura SN, C.P. 63000. Tepic, Nayarit; México.

cindyagredano@gmail.com; guillermo.berumen@uan.edu.mx; andres_leon@uan.edu.mx; ubautista@uan.edu.mx; rmbalois@uan.edu.mx*

Technological innovation: New evidence on stability during gastrointestinal digestion stages and consumption as a source of compounds with health benefits.

Field of Industrial application: development of products with functional properties.

Received: june 30th, 2022

Accepted: december 23th, 2022

Resumen

El fruto de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) representa una importante fuente nutritiva por su alto contenido de fibra, vitaminas y minerales, así como también de fitoquímicos con actividad biológica. El objetivo de esta investigación fue evaluar la liberación de fitoquímicos durante la digestión gastrointestinal utilizando un modelo de digestión *in vitro* que simula las condiciones químicas y biológicas, además de estudiar los cambios en la actividad antioxidante durante el proceso de digestión. Los resultados de la investigación mostraron que los frutos de la selección UAA1 presentaron el mayor contenido de fenoles solubles totales en la extracción química (35 mg EAG/g), así como en la etapa gástrica (11.02 mg EAG/g) e intestinal (8.9 mg EAG/g). La transición del ambiente ácido a las condiciones alcalinas causó una disminución en la cantidad de polifenoles hidrolizables. En cuanto a los flavonoides totales estos se incrementaron al pasar a la fase intestinal.

La estabilidad de los compuestos fenólicos a los cambios de pH en las diferentes etapas de digestión afectó la biodisponibilidad de los mismos, aun cuando cerca del 35 al 45% del contenido de fenoles totales fue liberado en la etapa gástrica, estos compuestos disminuyeron al pasar a la etapa intestinal. Los cambios en la actividad antioxidante durante la digestión *in vitro* se correlacionaron con los cambios en la concentración de flavonoides, así como con el pH. Los frutos de la selección UAA1 presentaron la mayor capacidad antioxidante tanto a nivel gástrico como intestinal. Para ensayo ABTS los frutos de la selección UAA1 presentaron una mayor capacidad antioxidante en la etapa gástrica (561 mmol ET/g). En cuanto a la etapa intestinal, la selección UAA1 presentó mayor capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH (763 mmol ET/g) y FRAP (1326 mmol ET/g). El extracto químico de la selección UAA1 mostró una actividad antioxidante medida con el ensayo FRAP de 1442 mmol ET/g de nanche en base seca. La actividad antioxidante medida al final del procedimiento de digestión fue de 1326 mmol ET/g de nanche en base seca, correspondiente a 91% de la actividad antioxidante total en el extracto químico. En conclusión, por sus características intrínsecas, los frutos de nanche de la selección UAA1 podrían ser aprovechados para la obtención de fitoquímicos con aplicaciones en el desarrollo de alimentos funcionales.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, fitoquímicos.

Abstract

The nanche fruit (*Byrsonima crassifolia* L.) represents an important nutritional source due to its high content of fiber, vitamins and minerals, as well as phytochemicals with biological activity. The objective of this investigation was to evaluate the release of phytochemicals during gastrointestinal digestion using an *in vitro* digestion model that simulates chemical and biological conditions, and to study changes in antioxidant activity during the digestion process. The results of the research showed that the fruits of the UAA1 selection showed the highest content of total soluble phenols in the chemical extraction (35 mg EAG/g) as well as in the gastric (11.02 mg EAG/g) and intestinal (8.9 mg GAE/g) stages. The transition from the acid environment to alkaline conditions caused a decrease in the amount of hydrolysable polyphenols. As for total flavonoids, these increased when passing to the intestinal phase. The stability of phenolic compounds to pH changes in the different stages of digestion affected their bioavailability, even though about 35 to 45% of the total phenol content was released in the gastric stage, these compounds decreased when passing to the intestinal stage. The changes in antioxidant activity during *in vitro* digestion correlated with changes in flavonoid concentration as well as pH. The fruits of the UAA1 selection showed the highest antioxidant capacity both gastric and intestinal levels. For the ABTS test, the fruits of the UAA1 selection presented a higher antioxidant capacity in the gastric stage (561 mmol ET/g). Regarding the intestinal stage, the UAA1 selection showed higher antioxidant capacity in the DPPH (763 mmol ET/g) and FRAP (1326 mmol ET/g) assays. The chemical extract of the UAA1 selection showed an antioxidant activity measured with the FRAP assay of 1442 mmol TE/g of nanche on a dry basis. The antioxidant activity measured at the end of the digestion procedure was 1326 mmol TE/g of butter on a dry basis, corresponding to 91% of the total antioxidant activity

in the chemical extract. In conclusion, due to their intrinsic characteristics, the nanche fruits of the UAA1 selection could be used to obtain phytochemicals with applications in the development of functional foods.

Keywords: Antioxidant capacity, *Byrsonima crassifolia*, phenolic compounds, phytochemicals.

1. Introduction

Plant foods are products of great interest since macronutrients and micronutrients contain a series of substances that can have a significant impact on the course of some diseases and may be indispensable in the long term for our health. These bioactive substances are called phytochemicals (Palafox-Carlos *et al.*, 2011). Tropical fruits have been especially noted for being a rich source of a wide variety of biological active phytochemicals, such as phenolic compounds, phytosterols, carotenoids, and some vitamins (De La Rosa *et al.*, 2010). The fruit of the nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) is a tropical species native to Mexico and Central America (CONABIO, 2019), which is highly valued as a food supplement for its great contribution of dietary fiber, vitamins, and minerals, as well as phytochemicals, especially phenolic compounds. Compounds such as gallic acid and quercetin have been mainly identified as well as catechin, epicatechin, rutin and kaempferol (Pires *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2016) as well as ferulic acid, resveratrol, and caffeic acid (Mariutti *et al.*, 2013; López *et al.*, 2014). Several properties have been attributed to phenolic compounds. In this regard, one of the most important is the antioxidant capacity. This activity seems to be related to its chelating capacity, lipoxygenase inhibition, and free radical scavenging (Alamed *et al.*, 2009). However, these properties depend on how bioaccessible these compounds are at the time of digestion for absorption (Saura-Calixto *et al.*, 2007; Bohn, 2014). The bioavailability of a compound depends on its digestive stability, its release

from the food matrix (known as bioaccessibility), and the efficiency of its transepithelial passage. Bioavailability differs greatly from one phenolic compound to another, and for some compounds, it depends on the food source (Manach *et al.*, 2005). In addition, most polyphenols exist in foods as esters, glycosides, or polymers that cannot be absorbed in their native form (Crozier *et al.*, 2009). Only aglycones and some glycosides can be absorbed in the small (Bouayed *et al.*, 2012). The most important factors to determine the possible beneficial effects of phenolic compounds and ensure their bioavailability are stability and bioaccessibility in gastrointestinal conditions, in this sense, the phytochemical compounds present in nanche fruit will be stable to the conditions of gastrointestinal digestion *in vitro*, increasing their bioaccessibility. Therefore, the aim of this research was to evaluate the release of phytochemicals using an *in vitro* gastrointestinal digestion model that simulates chemical (pH, temperature) and biological (gastric and enzyme) conditions as well as to study the changes in antioxidant activity in the digestion process.

2. Materials and methods

2.1 Material

The fruits of selections UAA1, UAA6, UAA15 were collected from trees after natural abscission located in the germplasm bank of the Academic Unit of Agriculture of the Autonomous University of Nayarit (21.42555° LN, 105.89103° LO, 966 masl) during the agricultural cycle August-October, 2019. This germplasm bank has a semi-warm sub-humid climate with an annual rainfall of

1,267.3 mm and an average annual temperature of 20.5 °C.

For this research, 30 fruits per tree were selected according to size, color, maturity for consumption and without apparent mechanical damage. The fruits were transferred in polyethylene bags (18 x 20 cm) to the laboratory of the Food Technology Unit of the Autonomous University of Nayarit on the same day of harvesting. The fruits were washed with water and sodium hypochlorite solution at 1% for 10 min. Then, the seed was removed to grind the pulp and shell. The paste obtained was lyophilized (Labconco® Free zone 2.5) and stored at -20 °C until further analysis.

2.2 *In vitro* gastrointestinal digestion

The nanche selections were subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion using the method described by Saura-Calixto *et al.* (2000) with modifications by Blancas-Benítez *et al.* (2018). Each stage of the digestion was performed separately to ensure a better interpretation of the results. For the simulation of the gastric phase, 150 mg of nanche fruits were incubated on a dry basis with pepsin (300 mg/mL, in HCl-KCl buffer, pH 1.5, 40° C, 1 h, P-7000, Sigma-Aldrich). After the gastric phase, nanche selections were subjected to the simulated intestinal phase with pancreatin solution (5 mg/mL in phosphate buffer, pH 7.5, 6 h, 37 °C, P-1750, Sigma-Aldrich) containing α - amylase (120 mg/mL in Tris-maleate buffer, pH 6.9, 16 h, 37 °C, A-6255, Sigma-Aldrich). Extractable polyphenols (EP, mg GAE/g) from the supernatant of each stage of the *in vitro* gastrointestinal digestion were considered as the phenolic compounds present in the gastric fraction (GasF) and in an intestinal fraction (IntF).

2.3 Chemical extraction (CE)

An aqueous organic extraction was performed with an acidified methanol-water solution (50:50 v/v) (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008). 250 mg of nanche fruit were weighed on a dry basis in 50 mL centrifuge tubes to make an organic extraction of the total extractable polyphenols. 10 mL of the acidified methanolic solution were added, and the tubes were kept under constant agitation at 25 °C $\pm$ 2 °C for 1 h. Afterwards, the samples were centrifuged at 3000 rpm, at 4 °C for 10 min and the supernatants were separated into 25 mL volumetric flasks. Then, 10 mL of acetone-water solution were added to the residue of the previous extraction and kept under stirring at 25 °C $\pm$ 2 °C for 1 h. The supernatant was recovered in the same 25 mL flask to mix the extracts and made up to volume with the methanol/HCl/water, acetone-water solution (50:50 v/v). Non-extractable polyphenols (NEPs) were obtained by hydrolysis from the residues of the aqueous organic extraction and the digested fractions by the method described by Hartzfeld *et al.* (2002). The NEPs were spread with a glass rod and 20 mL of methanol, as well as 2 mL of H₂SO₄, were carefully added. Subsequently, they were incubated in a shaking bath at 85°C for 20 h. After the incubation time, the tubes were allowed to cool at 25 °C $\pm$ 2 °C and then centrifuged at 3000 rpm for 10 min, recovering the supernatant in a 50 mL flask. Subsequently, the residues were washed twice with 10 mL of distilled water, centrifuging under the same conditions between each of the washes. The supernatants were mixed and made up to 50 mL.

2.4 Determination of phenolic compounds, hydrolyzable polyphenols, and flavonoids

The content of extractable polyphenols (EP) in the extracts of the digested and chemically digested fractions obtained were quantified

by the Folin-Ciocalteu method (Montreau, 1972), measuring the absorbance at 765 nm with a microplate reader (Biotek, Synergy HT, USA). The gallic acid was used as standard and the results were expressed as mg GAE/g dw. NEPs were quantified as hydrolyzable polyphenols (HP). The quantification was carried out with the same methodology described above for EPs and the results were expressed in mg GAE/g dw according to a gallic acid curve. Total polyphenols (TP, mg GAE/g dw) were calculated as EP + NEP. Total flavonoids (TF) content was evaluated according to the colorimetric method described by Oomah *et al.* (2005). Briefly, 50 μ L of the digested fractions and chemically extracted samples were placed in 180 μ L of distilled water. Then, 20 μ L of 1% 2-aminoethyl-diphenylborate solution was added. The absorbance was read in a microplate reader (Biotek, Synergy HT, USA) at 404 nm, and the total flavonoid content was expressed as mg Rutin equivalents (RE)/g dw.

2.5 Antioxidant activity

Reducing capacity and radical scavenging activity of digested fractions and chemically extracted samples were measured. The determination of the reducing capacity was carried out using the protocol based on the ferric antioxidant/reducing power assay (FRAP) described by Benzi and Strain (1996). Briefly, 900 μ L of FRAP reagent, TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine), FeCl_3 , acetate buffer, and 90 μ L of distilled water were mixed with 30 μ L of the extract and then the absorbance was measured at 595 nm every 20 s for 30 min at 37 °C. Radical scavenging was evaluated by the ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) colorimetric method (Re *et al.*, 1999). Briefly, 7 mmol/L of ABTS solution and 2.45 mmol/L of potassium persulfate were mixed in a 1:1 ratio and allowed to stand in the dark for 12-16 h to produce the ABTS

radical cation. This solution was diluted with acidified methanol and acetone: water to reach an absorbance of 0.07 ± 0.02 at 734 nm. Subsequently, 30 μ L of extract and 250 μ L of the radical were added to a microplate and incubated in the dark for 7 min. The decrease in the absorbance of the sample at 734 nm was observed. The radical scavenging activity was determined following the method of (Brand-Williams *et al.*, 1995). A solution of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) containing 3.9 mg/100 mL of methanol 80% was stirred for 60 min. Subsequently, it was diluted with methanol (80%) until reaching an absorbance of 0.07 ± 0.02 at 515 nm. An aliquot of 30 μ L was added to 250 μ L of the DPPH solution to incubate in the dark for 30 min. The decrease in the absorbance of the sample at 515 nm was observed. The absorbances were observed in a microplate reader (Biotek, Synergy-HT, USA). Results were expressed as mmol of Trolox equivalents (TE)/g dw.

2.6 Statistical analysis

Data were analyzed by a completely randomized design using analysis of variance (ANOVA). Comparison of means of the Tukey test with 5% significance level was performed when ANOVA showed significant differences. The JMP 11.0 software (SAS, Institute Inc., 2013) was used for all statistical analysis. Results were expressed as the mean values of three biological replicates $\pm$ standard deviation (SD).

3. Results

3.1 Phenolic compounds, hydrolyzable polyphenols, and flavonoids

The content of TSP released during *in vitro* gastrointestinal digestion and by CE is shown in Figure 1. Regarding CE, the UAA1 selection (35 ± 1.6 mg GAE/ g dw) showed significant differences ($P < 0.05$) compared to the other selections. It should be noted that the amount of bioaccessible polyphenols in

food can differ quantitatively and qualitatively from the polyphenols extracted with chemical methods, so not all the polyphenols present in the food matrix, but only those that are released in the gastrointestinal tract are actually bioaccessible in the intestine and, therefore, potentially bioavailable (Tagliazucchi *et al.*, 2010). Regarding the different stages of *in vitro* digestion, the highest quantification of soluble phenols occurred in the gastric phase. These results could be due to the hydrolysis of some phenolic compounds linked to some other component of the food matrix such as proteins and/or carbohydrates, mainly due to the acidic pH and the action of digestive enzymes that hydrolyze the non-covalent bonds between the hydroxyl groups of phenolic compounds and the polar groups of polysaccharide molecules; while in proteins, they hydrolyze the hydrogen bridging bonds between the hydroxyl groups and carboxyl groups of the peptide bonds (Saura-Calixto *et al.*, 2007; Palafox-Carlos *et al.*, 2011; Rodríguez-Roque *et al.*, 2013). High concentrations of phenols have been reported in gastric conditions, in contrast to the intestinal phase (Rodríguez-Roque *et al.*, 2013). Likewise, an absorption of phenolic

acids in the gastrointestinal tract has been reported within the first and second hour after ingestion, therefore, they are the first compounds to be released in the gastric phase. Once these compounds are subjected to a drastic pH change in the intestine (pH 7.5), can undergo degradation (Lafay and Gil-Izquierdo, 2008). As for the nanche selections in the GasF, a higher content of soluble phenols was found in the UAA1 selection (11.02 ± 0.01 mg GAE/g dw, presenting significant differences ($P < 0.05$) compared to the UAA6 selection. These results may be related to the pH of the fruits; which indicates the presence of acid groups, including organic acids, phenols, and amino acids (Paull, 1997). In fact, the UAA1 selection is characterized by having an acidic pH (Agredano-De La Garza *et al.*, 2021). In addition, the UAA1 selection (8.9 ± 2.9 mg GAE/g dw) continues to present higher content of soluble phenols in the IntF, although there are no significant differences in comparison with the other selections. The bioavailability of these compounds will vary widely and will depend on various factors such as the food source and chemical interactions with other phytochemicals and biomolecules (Manach *et al.*, 2005).

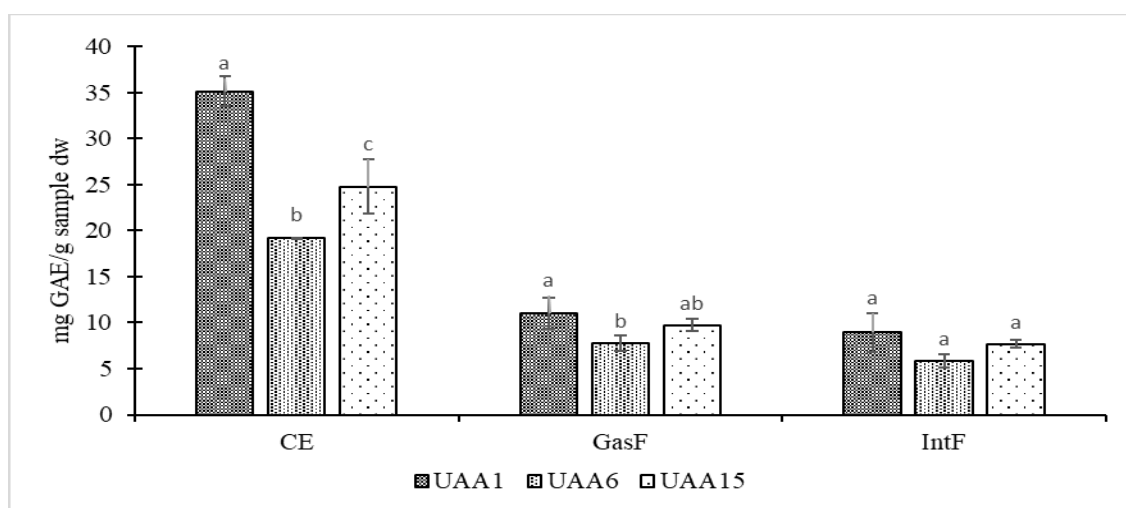


Figure 1. Total soluble phenols of the nanche selections during the chemical extraction, *in vitro* gastric phase and intestinal phase. Different letters per selection indicate a significant difference ($P < 0.05$). Vertical lines mean the SD of three replicates. CE=Chemical extraction, GasF=Gastric fraction, IntF=Intestinal fraction. UAA represents the different nanche selections.

The content of HP obtained in the CE (2.2 mg GAE/g dw) of nanche fruits was lower than those of the GasF (2.9 mg GAE/g dw) (Fig 2). It has been shown that the phenolic compounds that are released by chemical extraction and hydrolysis may differ from those released in the human intestine, possibly because these procedures involve different sample treatments (Arranz *et al.*, 2010). In addition, these compounds are made up of phenolic acid polymers, which form larger complexes with the food matrix, making them difficult to extract them by conventional methods. However, during the *in vitro* digestion process, the food matrix is transformed due to the interaction of the medium and digestive enzymes, which facilitates or increases the release of these compounds (García-Gutiérrez *et al.*, 2017). The content of some HP in the first stage is possibly related to ellagitannins when exposed to acids, ester bonds are hydrolyzed and ellagitannins are rearranged into ellagic acid, which generates an increase release of

hydrolyzable tannins in the gastric phase (Alminger *et al.*, 2014). The transition from acidic to alkaline conditions caused a decrease in the amount of HP. This behavior is similar to that reported by Krook and Hagerman (2012) who showed that some hydrolyzable tannins such as penta-galoyl glucose are unstable at pH greater than 7, causing degradation. Therefore, since the intestinal phase takes place at 7.5 pH, all those compounds of this nature were less stable when entering this stage. On the other hand, the UAA6 selection (2.9 ± 0.1 GAE/g dw) presented significant differences ($P < 0.05$) compared to the UAA1 and UAA15 selection in the IntF. This may be due fact that the fruit of the UAA6 selection is characterized by having a high lignin content, which is highly related to the fiber content in the fruit peel. The HP are mainly found in the fruit peel, it should be noted that in this research the peel and pulp of nanche were analyzed.

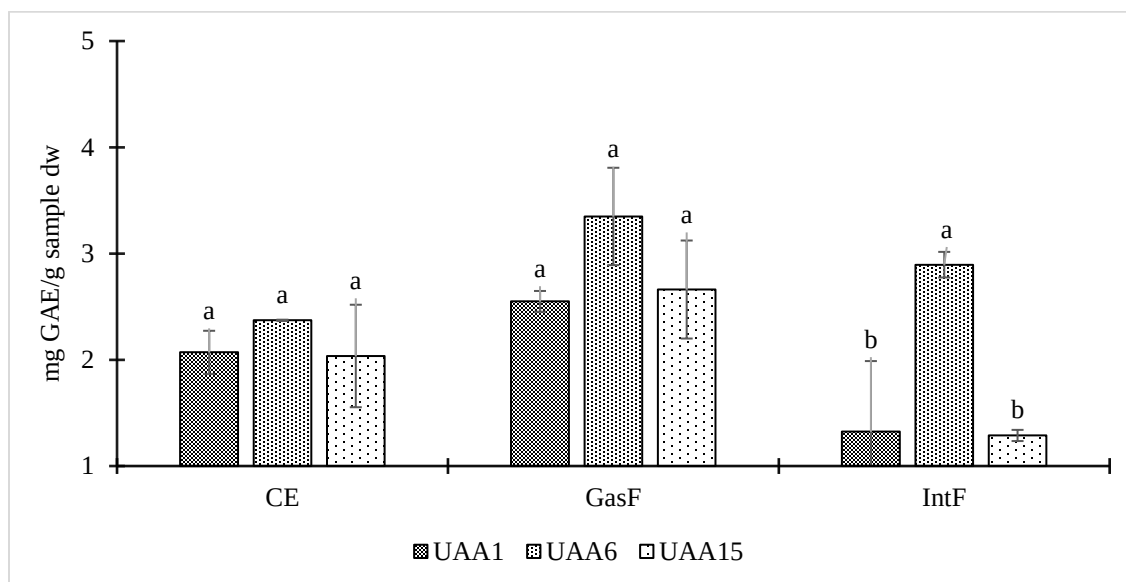


Figure 2. Hydrolyzable polyphenols of the nanche selections during chemical extraction (CE), *in vitro* gastric phase and intestinal phase. Different letters per selection indicate a significant difference ($P < 0.05$). Vertical lines mean the SD of three replicates. CE=Chemical extraction, GasF=Gastric fraction, IntF=Intestinal fraction. UAA represents the different nanche selections.

According to the results of this research, TF increased when passing to the intestinal phase (Fig 3). In fruits, flavonoids can be found in free form (aglycones), as linked to sugars to form heterosides, which is the most frequent (Crozier *et al.*, 2009). Some flavonoids are released more rapidly as aglycones than those that are glycosylated, and these tend to be better absorbed in the small intestine (Bouayed *et al.*, 2012). Glycosides generally resist acid hydrolysis in the stomach and reach the duodenum intact (Gee *et al.*, 1998). On the other hand, gastric absorption of flavonoids has been observed in mice surgically treated so that absorption is restricted to the stomach, showing that absorption at gastric level is possible for some flavonoids, but not for their glycosides (Crespy *et al.*, 2002). Therefore, glycosylation clearly influences its absorption. As for the flavonoids present in the GasF, higher values were observed for the

UAA15 selection (3.2 ± 0.6 mg RE/g dw) as well as for the IntF (6.2 ± 1.6 mg RE/g dw), although there are no significant differences in comparison with the other selections (Fig 3). Various flavonoid compounds form bonds between lignin fragments through ether bonds, which limits their absorption and release in the gastric phase (Bily *et al.*, 2003); the selections within their phytochemical characterization showed a high content of lignin (0.30 g/100g dw), which could cause a limited bioavailability at the gastric level. Nanche also has abundant flavonoid compounds, especially rutin (quercetin-3-rutinoside), a glycosylated compound that, when hydrolyzed, releases its aglycone (quercetin) (Pires *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2016). Hence, some of the glycosylated compounds that are present in the fruit could resist gastric digestion to be bioavailable in the intestinal phase.

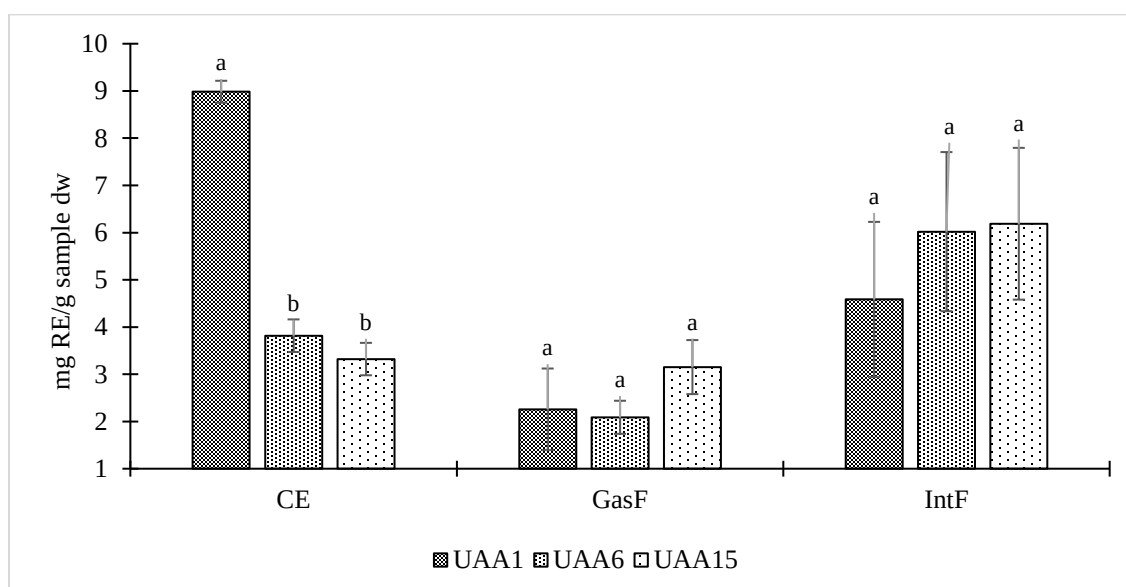


Figure 3. Flavonoids of the nanche selections during chemical extraction, *in vitro* gastric phase and intestinal phase. Different letters per selection indicate a significant difference ($P < 0.05$). Vertical lines mean the SD of three replicates. CE=Chemical extraction, GasF=Gastric fraction, IntF=Intestinal fraction. UAA represents the different nanche selections.

In the intestinal phase, the release of phytochemical compounds is affected by changes in pH and the action of the enzymes pancreatin and α -amylase, responsible for

hydrolyzing starch into its simpler constituents (Hur *et al.*, 2011). Tagliazucchi *et al.* (2010) evaluated the bioavailability of phenolic compounds during *in vitro* digestion

of grapes. The authors showed that incubation with pancreatic solution increased the bioaccessibility of total flavonoids after two hours of digestion, increasing by 7.44 mg catechin/100 g grapes (an increase of 20.5%). They also suggest that flavonoids other than anthocyanins are stable at alkaline pH since these were greatly affected, with a loss of

58%. Total polyphenol content was quantified by obtaining all those extractable and non-extractable phenolic compounds (Fig 4). In this sense, the UAA1 selection was significantly ($P<0.05$) higher in the release of total phenols in both the gastric (13.6 mg GAE/g dw) and intestinal (10.2 mg GAE/g dw) fractions.

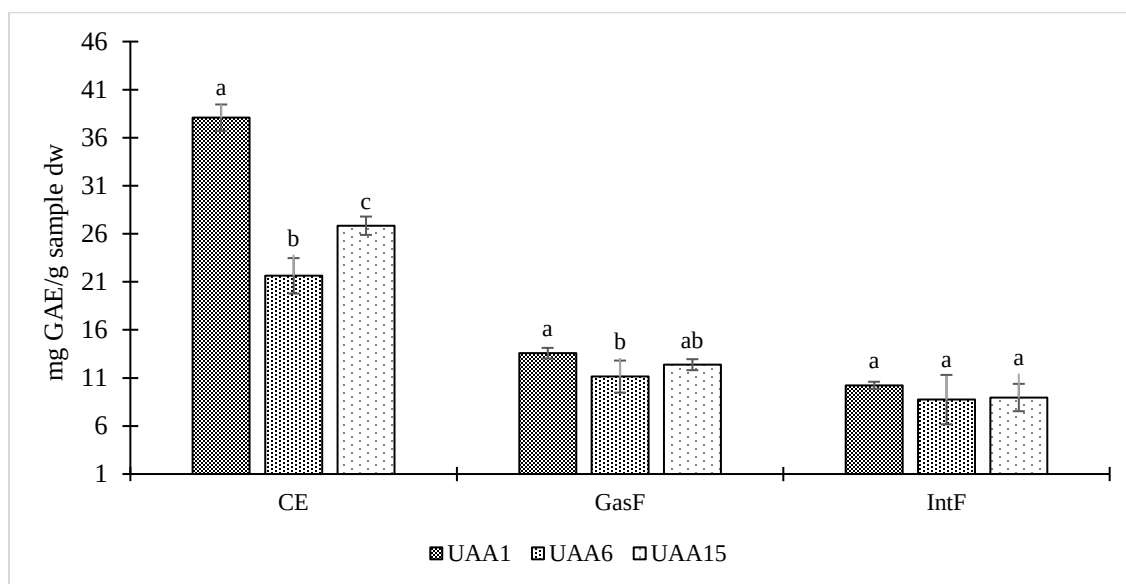


Figure 4. Total polyphenols of the nanche selections during chemical extraction, *in vitro* gastric phase and intestinal phase. Different letters per selection indicate a significant difference ($P<0.05$). Vertical lines mean the SD of three replicates. CE=Chemical extraction, GasF=Gastric fraction, IntF=Intestinal fraction. UAA represents the different nanche selections.

The stability of phenolic compounds to changes in pH in the different stages of digestion affects their bioavailability, and this is reflected in the results found, since they showed differences between the stages of digestion (gastric and intestinal). Although about 35 to 45% of the total phenol content was released in the gastric phase, these compounds decreased in the intestinal phase. This behavior is similar to the reported by Hernández-Maldonado *et al.*, (2019), who showed that in the *in vitro* digestion of a mango snack, the content of phenolic compounds in the gastric phase was slightly higher than the observed in the intestinal phase. Kosinska-Cagnazzo *et al.* (2015) point out that this behavior could be due to the incomplete release of phenols from the matrix

due to possible interactions with other compounds, such as fiber, proteins, and lipids, poor enzymatic hydrolysis, and, especially, instability in alkaline conditions. Considering the amount, the total polyphenols quantified by the CE, only 64, 91, and 80% of the selections UAA1, UAA6, and UAA15, respectively were bio-accessible and therefore potentially bioavailability, while the rest could have been degraded and partly not extracted from the food matrix.

3.2 Antioxidant activity

The bioaccessibility of phytochemical compounds is extremely important to counteract the oxidative damage generated throughout the gastrointestinal tract,

promoting good intestinal health due to the antioxidant capacity of the compounds (Masibo and He, 2008). Table I shows the antioxidant capacity evaluated by the ABTS, DPPH, and FRAP methods in the different stages of *in vitro* digestion. The antioxidant activity of the nanche selections increased significantly ($P < 0.05$) during the transition from acidic gastric environment to the alkaline intestinal environment. This could be attributed to the increased release of TF in the intestinal phase (Fig 3). From the point of

view of antioxidant activity, the solubility of flavonoids is important, since the aglycon structure offers better antioxidant properties than the glycosides. The alkaline pH favored the solubility of these compounds, as most of them are poorly soluble in neutral aqueous solutions, but are soluble in alkaline aqueous solutions. In this way, the equilibrium structures (neutral or ionized) that predominate in a solution are totally dependent on pH (Jovanovic *et al.*, 1994).

Table I. Antioxidant capacity of the nanche selections during chemical extraction, *in vitro* gastric phase and intestinal phase.

	ABTS (mmol TE/g dw)	%CV	DPPH (mmol TE/g dw)	%CV	FRAP (mmol TE/g dw)	%CV
Chemical extraction (CE)						
UAA1	582 ± 8.5 ^a	1.5	608 ± 13.6 ^a	2.2	1442 ± 4.1 ^a	0.3
UAA6	581 ± 7.2 ^a	1.2	605 ± 10.8 ^a	1.8	908 ± 0.7 ^b	0.1
UAA15	584 ± 6.0 ^a	1.0	613 ± 8.3 ^a	1.3	1274 ± 3.6 ^a	0.3
Gastric fraction (GasF)						
UAA1	561 ± 28 ^a	5	556 ± 34 ^a	6.1	465 ± 28 ^a	6.1
UAA6	536 ± 5 ^{ab}	0.97	540 ± 10 ^a	1.9	301 ± 7 ^b	2.4
UAA15	507 ± 13 ^b	2.58	466 ± 24 ^b	5.1	341 ± 18 ^b	5.3
Intestinal fraction (IntF)						
UAA1	820 ± 38 ^a	4.63	763 ± 25 ^a	3.3	1326 ± 10 ^a	0.7
UAA6	823 ± 49 ^a	5.89	666 ± 48 ^b	7.1	1286 ± 37 ^b	2.9
UAA15	821 ± 28 ^a	3.41	541 ± 9 ^c	1.6	1305 ± 15 ^b	1.1
<i>MSD CE</i>	14.6		22.2		639.6	
<i>MSD GasF</i>	36.22		49.34		42.21	
<i>MSD IntF</i>	53.85		40.95		47.07	

Values are means of three repetitions ± SD, different letters per column indicate a significant difference ($P < 0.05$), MSD; Minimum significant difference.

According to Martínez-Flórez *et al.*, (2002) the acid-base properties of some flavonoids show that phenoxyl radicals are neutral in an acid medium and acquire a negative charge at pH 7. This means that at physiological pH of plant tissues (5-7.5) and human plasma (7.4), the most likely way to find these flavonoids is as a phenoxide anion. Such is the case with quercetin, since it has been shown that its

catechol group is completely deprotonated at physiological pH, which implies that it can exert a high antioxidant activity within the human body. However, these properties do not apply to all flavonoids, since these properties vary according to the structure. Also, the transition from gastric environment to the alkaline intestinal environment can induce structural changes in the phenolic

molecules, which is mainly attributed to the ionization of the hydroxyl groups present in the aromatic rings of the phenolic compounds, generating changes in the antioxidant activity in relation with the variation in the pH value (Mukai *et al.*, 1997). This behavior was demonstrated by Tagliazucchi *et al.* (2010) in a grape extract that was subjected to *in vitro* digestion, showing a significant increase in antioxidant activity during the transition from gastric to intestinal environment. These changes can be studied with the ABTS assay since it is carried out in an alkaline medium (pH 7-7.5). In the GasF, the UAA1 selection (561 ± 28 mmol TE/g dw) presented the highest antioxidant capacity by ABTS. This selection has a higher content of phenolic compounds which could influence the total antioxidant capacity. On the other hand, the antioxidant activity of the nanche selections evaluated with FRAP and DPPH assays showed a similar trend with respect to the ABTS assay during gastric digestion. Regarding the IntF, the UAA1 selection showed significant differences ($P < 0.05$) compared to the other selections evaluated using the DPPH (763 ± 25 mmol TE/g dw) and FRAP (1326 ± 10 mmol TE/g dw) assays. The FRAP method is a method that does not evaluate the free radical neutralizing capacity but rather its reducing capacity by electron transfer, specifically capable of reducing the ferric ion to the ferrous state. In this context, the antioxidant activity of flavonoids results from their chelating properties of metal ions, such as Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . Hence, the significant ($P < 0.05$) increase in antioxidant activity in the intestinal phase by FRAP assay ($r^2 = 0.80$) has been attributed to this property. The chemical extract of the UAA1 selection showed antioxidant activity by FRAP assay of 1442 mmol TE/g dw of nanche. The antioxidant activity measured at the end of the digestion procedure was 1326 mmol TE/g dw, corresponding to 91% of the total antioxidant activity in the chemical extract.

4. Conclusions

The stability of the phytochemical compounds present in the nanche fruits was affected by changes in pH at different stages of *in vitro* gastrointestinal digestion, minimizing their bioaccessibility at the intestinal level. The CE of the nanche fruits of the UAA1 selection showed a high content of TSP. This action was also observed in the different stages of *in vitro* gastrointestinal digestion. Indeed, with this same extraction, there is a minimal release of HP due to its chemical composition; increasing the bioaccessibility of TF during the transition from the acidic gastric environment to the alkaline intestinal environment, promoting a significant increase in antioxidant capacity. The UAA1 selection presented the highest antioxidant activity at the gastric and intestinal phase.

Acknowledgments

The first author thanks the National Council of Science and Technology (CONACyT) for the scholarship granted.

References

1. Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J.F and González-Aguilar, G.A. (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. *Journal of Food Science*, 76(1):R6-R15. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x>
2. De La Rosa, L.A., E. Álvarez-Parrilla y G. González-Aguilar. (2010). Fruit and Vegetable Phytochemicals: *Chemistry, Nutritional Value and Stability*. Wiley-Blackwell, 367.
3. CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2020. Catálogo de autoridades taxonómicas de especies de flora y fauna con distribución en

- México. Base de datos SNIB-CONABIO Internet: https://www.snib.mx/descargasSNIBmx/SNIBTaxonomia_20220504_162249.zip (Accessed September 20, 2020)
4. Pires, F. C. S., Silva, A. P. de S. e, Salazar, M. de los A. R., Costa, W. A. da, Costa, H. S. C. da, Lopes, A. S., Carvalho Junior, R. N. de. (2019). Determination of process parameters and bioactive properties of the murici pulp (*Byrsonima crassifolia*) extracts obtained by supercritical extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 146, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.01.014>
 5. Rodrigues, S. M., Moura, E. F., Ramos, G. K., Oliveira, M. S. (2016). Genetic variability analysis of *Byrsonima crassifolia* germplasm collected in Pará state using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 15(4). <https://doi.org/10.4238/gmr15048887>
 6. Mariutti, L. R. B., Rodrigues, E and Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids from *Byrsonima crassifolia*: Identification, quantification and *in vitro* scavenging capacity against peroxy radicals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.005>
 7. López, E., Navarro, A., Manchón, N and Herrera, J. (2014). Componentes funcionales en Nanche (*Byrsonima crassifolia* (L) Kunth). Ciencias Agropecuarias, Handbook, ed. ECORFAN, Valle de Santiago, Guanajuato, 6-22.
 8. Alamed, J., Chaiyasit, W., McClements, D. J. and Decker, E. A. (2009). Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2969-2976. <https://doi.org/10.1021/jf803436c>
 9. Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*. 101, 492-501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
 10. Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition Reviews*. 72, 429–452. <https://doi.org/10.1111/nure.12114>
 11. Manach, C., G. Williamson, C. Morand, A. Scalbert and C. Rémésy. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1):230S-242S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.230S>
 12. Crozier, A., Jaganath, I., B, Clifford, M., N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26, 1001–1043. <https://doi.org/10.1039/b802662a>
 13. Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L. and Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
 14. Saura-Calixto, F., Garcia-Alonso, A., Goni, I., Bravo, L. (2000). *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: An alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 3342–3347. <https://doi.org/10.1021/jf0000373>

15. Blancas-Benitez, F.J.; Pérez-Jiménez, J.; Montalvo-González, E.; González-Aguilar, G.A.; Sáyago-Ayerdi, S.G. (2018). *In vitro* evaluation of the kinetics of the release of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *J. Funct. Foods*, 43, 139–145.
16. Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M.E., Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research*. 41, 274–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004>
17. Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M.D., and Hagerman, A.E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7):1785-1790. <https://doi.org/10.1021/jf0111155>
18. Montreau, F. (1972). Sur le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins par la méthode Folin-Ciocalteu. *Connais Vigne Vin*, 24, 397-404.
19. Oomah, B.D., Cardador-Martínez, A. and Loarca-Piña, G. (2005), Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 935-942. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2019>
20. Benzie, I and Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of Antioxidant Power. The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
22. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
23. Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D. and Conte, A. (2010). *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry* 120(2):599-606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
24. Rodríguez-Roque, M. J., Rojas-Graü, M. A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. (2013). Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food chemistry*, 136(1), 206-212. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.115>
25. Lafay, S and Gil-Izquierdo, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*. 7(2):301-311. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9077-x>
26. Paull, R. E. (1997). Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits. In S. K. Mitra (Ed.). *Pineapple* (pp.123-143). New York: CAB INTERNATIONAL.
27. Agredano-De la Garza, C.S., Balois-Morales, R., Berumen-Varela, G., León-Fernández, A.E., Bautista-Rosales, P.U., López-Guzmán, G.G., Pérez-Ramírez, I.F.(2021).

- Physicochemical characterization and dietary fiber of 15 Nance (*Byrsonima crassifolia* L.) fruits selections from Nayarit. *Scientia Horticulturae*. 289, Article 110460. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110460>
28. Arranz, S. and Saura-Calixto, F. (2010). Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: a study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. *Journal of Cereal Science*, 51, 313-318. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.006>
 29. García-Gutiérrez, N., Maldonado-Celis, M.E., Rojas-Lopez, M., Loarca-Pina, G.F. and Campos-Vega, R. (2017). The fermented non-digestible fraction of spent coffee grounds induces apoptosis in human colon cancer cells (SW480). *Journal of Functional Foods*, 30, 237-246. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.014>
 30. Alminger, M., Aura, A. M., Bohn, T., Dufour, C., El, S. N., Gomes, A., Karakaya, S., Martínez-Costa, M. C., McDougall, G. J., Requena, T., Santos, C. N. (2014). *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 413-436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>
 31. Krook, M. A and Hagerman, A. E. (2012). Stability of polyphenols epigallocatechin gallate and pentagalloyl glucose in a simulated digestive system. *Food Research International*, 49(1), 112-116. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.004>
 32. Gee J., M, Dupont M., S, Rhodes M., JC, and Johnson I., T. (1998). Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(1): 19-25. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00020-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00020-3)
 33. Crespy, V., Morand, C., Besson, C., Manach, C. (2002). Quercetin, but not Its Glycosides, Is Absorbed from the Rat Stomach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(3): 618-621. <https://doi.org/10.1021/jf010919h>
 34. Bily, A. C, L. M. Reid, H. H. Taylor, D. Johnston, C. Malouin, A. J. Burt, B. Bakan, C. Regnault-Roger, K. P. Pauls, J. T. Arnason, and B. J. R. Philogene. (2003). Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: resistance factors to *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, 93 (6): 712-719. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.6.712>
 35. Hur, S.J., B.O. Lim, E.A. Decker and D.J. McClements. (2011). *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, 125(1):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.036>
 36. Hernández-Maldonado, L.M., Blancas-Benítez, F.J., Zamora-Gasga, V.M., Cárdenas-Castro, A.P., Tovar, J., Sáyago-Ayerdi, S.G. (2019). *In vitro* Gastrointestinal Digestion and Colonic Fermentation of High Dietary Fiber and Antioxidant-Rich Mango (*Mangifera indica* L.) “Ataulfo”-Based Fruit Bars. *Nutrients*, 11, 1564. <https://doi.org/10.3390/nu11071564>
 37. Kosinska-Cagnazzo, A., Diering, S., Prim, D and Andlauer, W. (2015). Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in *in vitro*

- digestion/Caco-2 absorption model. *Food chemistry*, 170, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.070>
38. Masibo, M. and Q. He. (2008). Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 7(4):309-319. DOI:[10.1111/j.1541-4337.2008.00047.x](https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2008.00047.x)
39. Jovanovic, S.V, Steenken, S., Simic, M. G and Hara, Y. (1998). Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. In: Rice Evans C, Parker L (eds.): *Flavonoids in health and disease*. Marcel Dekker, Nueva York, 137-161.
40. Martínez-Flórez, S., J. González-Gallego, J.M. Culebras & M^a J. Tuñón. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. XVII. 6: 271-278.
41. Mukai, K., Oka, W., Watanabe, K., Egawa, Y., and Nagaoka, S. (1997). Kinetic study of free-radical-scavenging action of flavonoids in homogeneous and aqueous triton X-100 micellar solutions. *Journal of Physical Chemistry A*, 101, 3746–3753. <https://doi.org/10.1021/jp9706745>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Reducción de partes defectuosas fabricadas a base de resina fenólica moldeadas por inyección durante el proceso de acabado “shot-blasting”

Reduction of defective injection molded phenolic resin -based during the "shot-blasting" finishing process.

Arguelles-Ojeda, J.L.*, Pineda-Rico, Z.

Ingeniería Mecánica Administrativa. Coordinación Académica Región Altiplano, Carr. Cedral Km. 5+600, CP 78700, Matehuala, S.L.P.
luis.arguelles@uaslp.mx; zaira.pineda@uaslp.mx

Innovación tecnológica: Aplicación de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) y de la Excelencia Operacional (OPEX) a procesos de moldeo por inyección de plástico.

Área de aplicación industrial: Calidad, procesos de manufactura, moldeo por inyección de plástico.

Recibido: 30 marzo 2022

Aceptado: 01 diciembre 2022

Abstract

Phenol formaldehyde resins are synthetic polymers obtained by the reaction of phenol or substituted phenol with formaldehyde and have been used constantly in the plastics industry since the early 20th century. They are used for the production of molded products, mainly in the manufacture of circuit boards, electrical components and motors. One of the most common problems in the plastic injection molding industry is the economic loss due to product failures during manufacture, coupled with the ecological problem represented by the huge amounts of scrap generated by non-conforming products.

The methodologies of Surface Response (MSR) and Operational Excellence (OPEX) are used in the present work to seek to reduce the defective parts per million (PPM) that occur in the manufacturing lines of the E series half shell component a product used to cover electrical switches. Defects range from scratches or cracks to broken parts, which must be reworked or thrown away.

The OPEX methodology, seeks to find the root cause that is causing the half shell to crack, fissure or break. The experimentation is carried out using the Response Surface Methodology (RSM), a methodology that has proven its effectiveness in optimizing processes by choosing the most significant factors that directly affect the response of the experiment and allows the number of tests be kept to a generating significant savings in resources.

In this way, the process map, the functional diagrams and the Failure Mode and Effects Analysis (FMEA) are carried out to find that the root cause of the defects is the shot blasting process to which the piece is subjected. Once the process and its factors (Machine speed, process time and quantity of pieces) have been analyzed, the MSR is applied to these factors, resulting in the process time being the most significant factor for the generation of defects. Using the same methodology, the optimal combination of factors is reached, setting the machine speed at 15 rpm, the process time at 1 minute and the number of pieces at 56, factors that were previously chosen at random. By implementing this combination, up to 90% of the defect production is eliminated, saving \$150,000 USD.

Keywords: RSM, OPEX, defect reduction, phenolic resin.

Resumen

Las resinas de fenol formaldehído son polímeros sintéticos obtenidos por la reacción de fenol o fenol sustituido con formaldehído y se vienen utilizando de forma constante en la industria de los plásticos desde principios del siglo XX. Se utilizan para la producción de productos moldeados, principalmente en la fabricación de placas de circuitos, componentes eléctricos y motores. Uno de los problemas más comunes en la industria de la inyección de plástico es la pérdida económica debido a fallas en el producto durante su fabricación, aunado al problema ecológico que representan las enormes cantidades de *scrap* que se generan por producto no conforme.

Las metodologías de Superficie de Respuesta (MSR) y la de Excelencia Operacional (OPEX), son utilizadas en el presente trabajo para buscar reducir las partes por millón defectuosas (PPM) que se presentan en las líneas de fabricación del componente *half shell* de la serie E, producto que sirve para cubrir interruptores eléctricos. Los defectos incluyen desde ralladuras o fisuras hasta piezas rotas, que se deben retrabajar, reprocesar o tirar.

Por medio de la metodología OPEX se busca encontrar la causa raíz que está generando que la *half Shell* se ralle, se fisure o se rompa. La experimentación se realiza mediante la Metodología de superficie de Respuesta (MSR), una metodología que ha comprobado su eficacia para optimizar procesos por medio de la elección de los factores más significativos que afectan directamente a la respuesta del experimento y permite que el número de pruebas sea el mínimo generando un importante ahorro en los recursos.

De esta manera, se realizan el mapa de procesos, los diagramas de funciones, y el Análisis del Modo y Efectos de las Fallas (AMEF) para encontrar que la causa raíz de los defectos es el proceso de granallado al que se somete la pieza. Una vez que se analiza dicho proceso y sus factores (Velocidad de máquina, tiempo de proceso y cantidad de piezas), se procede a aplicar la MSR en los mencionados factores, dando como resultado que el tiempo de proceso es el factor más significativo para la generación de los defectos. Por medio de la misma metodología se llega a la combinación de los factores, fijando la velocidad de máquina en 15 rpm, el tiempo de proceso en 1 minuto y la cantidad de piezas en 56, factores que anteriormente se elegían al azar. Por medio de la implementación de esta combinación, se elimina hasta el 90% de producción de defectos, ahorrando un estimado de 150,000 USD.

Palabras clave: MSR, OPEX, reducción de defectos, resina fenólica.

I. Introducción

En la actualidad cada día es más evidente el daño medio ambiental que se está causando a el planeta debido a la contaminación por residuos plásticos, una cantidad de 8.3 mil millones de toneladas de residuos plásticos fueron producidas desde la década de 1950; de esa cantidad solo el 9% de esa cantidad han sido reciclados [1-8].

Las resinas termoestables de fenol formaldehído se utilizan de forma común para la producción de productos moldeados por inyección de plástico, principalmente en la fabricación de placas de circuitos, cubiertas de componentes eléctricos y motores. Son altamente resistentes a cualquier tipo de tratamiento para ser degradadas, lo que las hace difíciles de reciclar, constituyendo un problema que trae consecuencias graves de contaminación y de salud [9,10].

Una de las formas de evitar los altos niveles de *scrap* o retrabajos en los procesos de moldeo por inyección, es lograr que la pieza sea fabricada con las especificaciones de diseño y calidad a la primera corrida de producción y así mismo incrementar la productividad implementando alguna metodología de vanguardia con resultados

comprobados [11-15]. Es por eso que, en el presente trabajo, se aplican las herramientas de la Excelencia Operacional y de la Metodología de Superficie de Respuesta para optimizar un proceso de moldeo por inyección de plástico donde se fabrica la *half Shell*, una pieza que recubre los interruptores eléctricos de los productos denominados familia E, en una empresa de manufactura de interruptores. En diversas investigaciones recientes, se han utilizado metodologías de mejora de calidad para optimizar los procesos mencionados, por lo que a continuación se mencionan algunas de las más relevantes.

Méndez [16], logra incrementar la Eficiencia General de los Equipos (OEE), en un proceso de moldeo por inyección de plástico de un 44% a un 88.44% por medio de la metodología DMAIC y de las herramientas de manufactura esbelta como diagramas de Pareto, diagramas de Ishikawa, diseños de experimentos (DOE), análisis de capacidad, cambio de matriz en menos de 10 minutos (SMED) y 5's.

Núñez et al [17], presentan un análisis de las actividades requeridas para minimizar el tiempo del cambio de herramientas en el área de moldeo por inyección de plásticos de un proceso. Mediante un evento de

mejoramiento continuo, se utilizan la metodología DMAIC, técnicas enfocadas a la reducción del tiempo de cambio de herramientas (SMED), la organización y limpieza de áreas de trabajo (5'S), los sistemas de gestión de inventarios (FIFO). De esta forma, se logra la disminución del tiempo promedio invertido en el cambio de herramientas en un 20%, lo que mensualmente permitirá disponer de 180 horas adicionales para dedicarlas a actividades de producción, incrementando la productividad.

Asencio [18], aplica la metodología de Lean Manufacturing en una empresa de inyección de plásticos para identificar aquellas partes del proceso que no aplican valor al producto para posteriormente, reducirlos, optimizarlos o (si es posible) eliminarlos con el uso de técnicas propias del Lean Manufacturing, estudiando el flujo de valor en el proceso.

Gualteros et al [19], llevan a cabo la implementación de la técnica de las 3 "M" (Muda, Mura y Muri) para determinar las causas que ocasionan desperdicios dentro de procesos de inyección de plástico en una empresa. De esta manera, proponen una alternativa para evitar la emisión de desperdicios que podría llevar a la empresa a ahorrar alrededor de 1,500,000 USD anuales para así incrementar su productividad.

Barzola [20], utiliza la metodología Seis sigma para proponer mejoras en el área de producción de envases en una empresa con procesos de inyección de plástico. Con las herramientas de la metodología se evidencia que hay falta de control en la mano de obra y así mismo un plan de mantenimiento preventivo de las máquinas y moldes. Debido a la deficiencia se genera un 20% de productos no conformes al año lo que representa una pérdida de \$ 73,060.00 para la empresa. Luego de haber analizado la situación actual de la empresa se determinó

que el nivel Sigma es de 2.88 de 6, cuyo rendimiento es de 91,54% de Porcentaje de Calidad. Con una inversión inicial para realizar los cambios de \$11,954.00 se calcula un TIR (Tasa Interna de Retorno) del 52% y el periodo de retorno de la inversión será durante el segundo año.

Una vez mencionado lo anterior, en este trabajo se lleva a cabo la propuesta de reducir el porcentaje de piezas defectuosas de la *Half Shell*, pieza que se fabrica por moldeo de inyección de plástico. Cabe mencionar que además de las características dimensionales que la pieza debe cumplir, están las características de estética, como el brillo y la ausencia de ralladuras o fisuras. Las herramientas consideradas en esta propuesta y su orden de aplicación son: El mapa de procesos, diagramas de funciones, el Análisis del Modo y Efectos de las Fallas (AMEF), y la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR).

II. Materiales y equipos

Para llevar a cabo la experimentación del proyecto son necesarios diversos equipos/materiales:

- Máquina de limpieza por chorro marca Goff modelo 2-1/2 Cu. Ft.
- 1000 piezas *Half Shell* para pruebas no destructivas (Se regresan a producción).
- Software Statgraphics Centurion.

III. Métodos experimentales

Como primer paso, se procede a realizar el mapa de procesos para familiarizarse con los diferentes procesos que el producto debe recorrer para su fabricación, posteriormente se realizan los diagramas de funciones, que son el preámbulo para el AMEF.

Una vez que se tienen realizados el AMEF y el mapa de procesos, se procede a escoger de estos los factores más significativos, los

cuales son velocidad de máquina, tiempo de funcionamiento y cantidad de piezas y se elabora la MSR, fijando el número de pruebas en 16, incluyendo los mencionados factores. La tabla #1 muestra el orden de las corridas y los valores de los factores para las 16 pruebas.

Tabla 1. Pruebas de la MSR.

Prueba	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	Cantidad (u)
1	20	3.5	72
2	25	5	88
3	20	5.4	72
4	20	1.5	72
5	15	2	56
6	14	3.5	72
7	15	5	88
8	20	3.5	92
9	26	3.5	72
10	15	5	56
11	25	5	56
12	15	2	88
13	20	3.5	51

14	25	2	88
15	25	2	56
16	20	3.5	72

IV. Resultados y discusión

4.1 Mapa de procesos

Para llevar a cabo un conocimiento completo del proceso, se realizan los mapas de procesos de todas las estaciones por donde la *half shell* debe pasar para su fabricación. En la figura 1 se muestra únicamente el mapa de procesos de moldeo, ya que en esta área es donde se ubica la causa raíz del problema, definida después del estudio del proyecto. La nomenclatura de las letras que se colocan antes de cada operación en las estaciones del proceso es de acuerdo a:

S- Operaciones estándares, C- Operaciones controladas, N- Ruido u operaciones que no pertenecen al proceso ideal, X- Variables estadísticas [21].

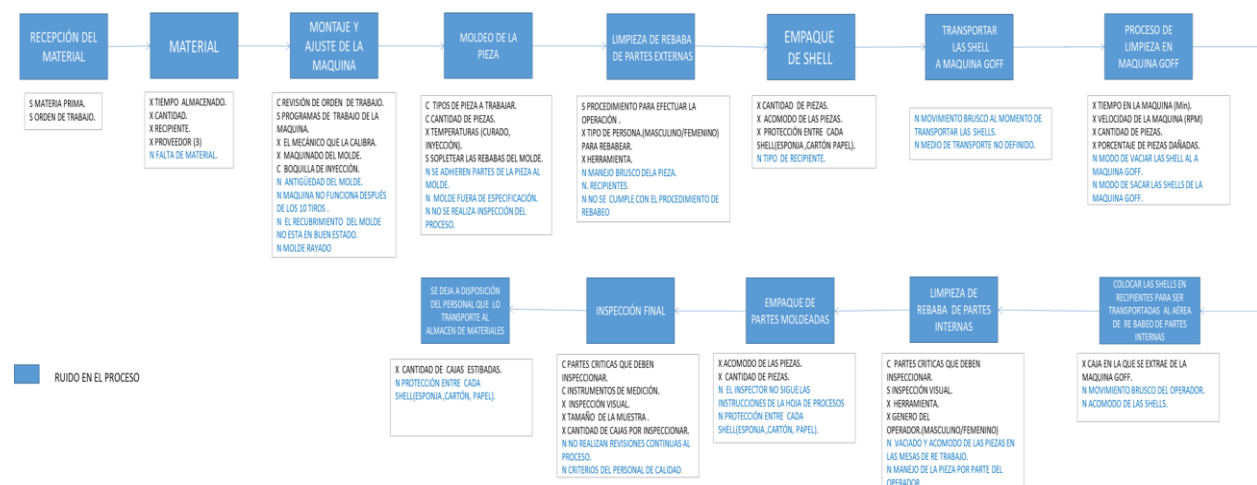


Figura 1. Mapa de procesos del área de moldeo.

Como se puede apreciar en la figura 1, el mapa de procesos del área de moldeo incluye varias operaciones, por lo que la figura 2 muestra una ampliación de la porción del mapa donde se detecta la causa raíz del problema, la operación de la máquina Goff. La operación de la máquina Goff es necesaria para la *half Shell*, ya que en esta parte del proceso las piezas se

limpian y se pulen, hasta que tengan brillo, el cual está definido como un Crítico de Calidad (CTQ) por el cliente, la pieza no debe empacarse sin esta característica. Mencionar que en el momento en que se realizó el presente estudio, el operador de la máquina no tenía los parámetros de velocidad de máquina, tiempo de operación y cantidad de piezas definido, lo decidía de

acuerdo a la carga de trabajo que él tuviera, casi al azar, lo que causa variación en el proceso. Podemos apreciar que los mencionados parámetros aparecen en el

mapa como variables estadísticas (X), así como el resultado de la operación, el porcentaje de piezas dañadas.

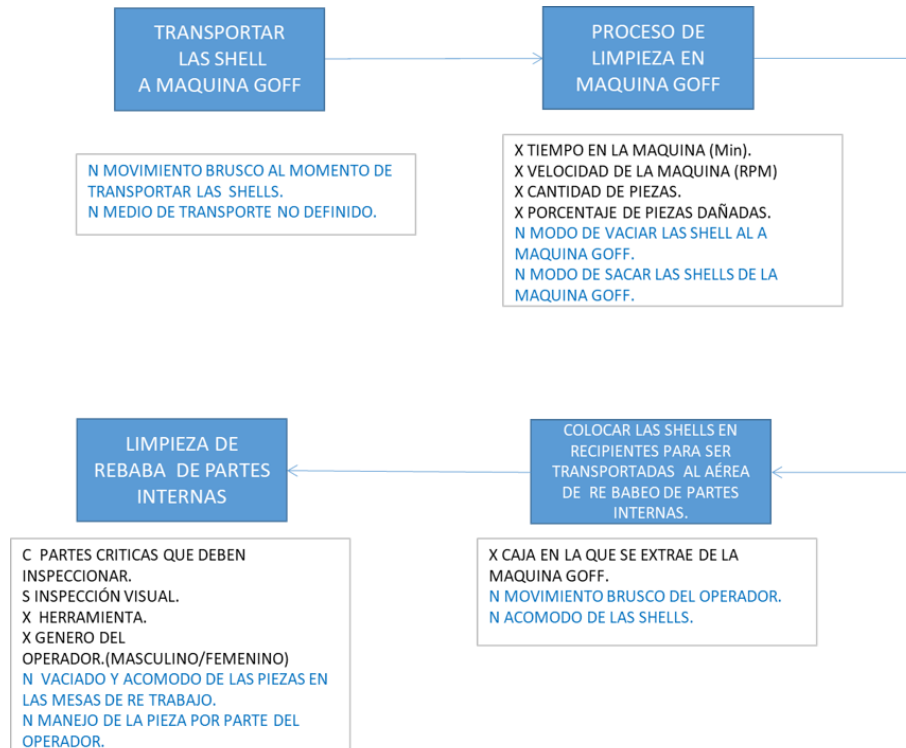


Figura 2. Proceso de la máquina Goff y sus variables.

Además, la figura dos, muestra algunas otras hipótesis de la causa raíz, que en su momento descartaron, como el acomodo de las piezas para su transporte, movimientos bruscos en el transporte y modo de vaciado y extracción de piezas. Es así como el mapa de procesos constituye una guía que va encerrando la causa raíz del problema, al analizar concienzudamente cada proceso, paso a paso, agregándole variables, ruidos, etc.

4.2 Diagrama de funciones

Se realizan los diagramas de las funciones que debe cumplir cada uno de los procesos por donde la pieza es fabricada/ensamblada. Al igual que en el mapa de procesos, aquí solo mostraremos el diagrama de funciones del área de moldeo ya que la causa raíz es el proceso de acabado en la máquina Goff, según se dijo antes. La figura 3 lo ilustra.

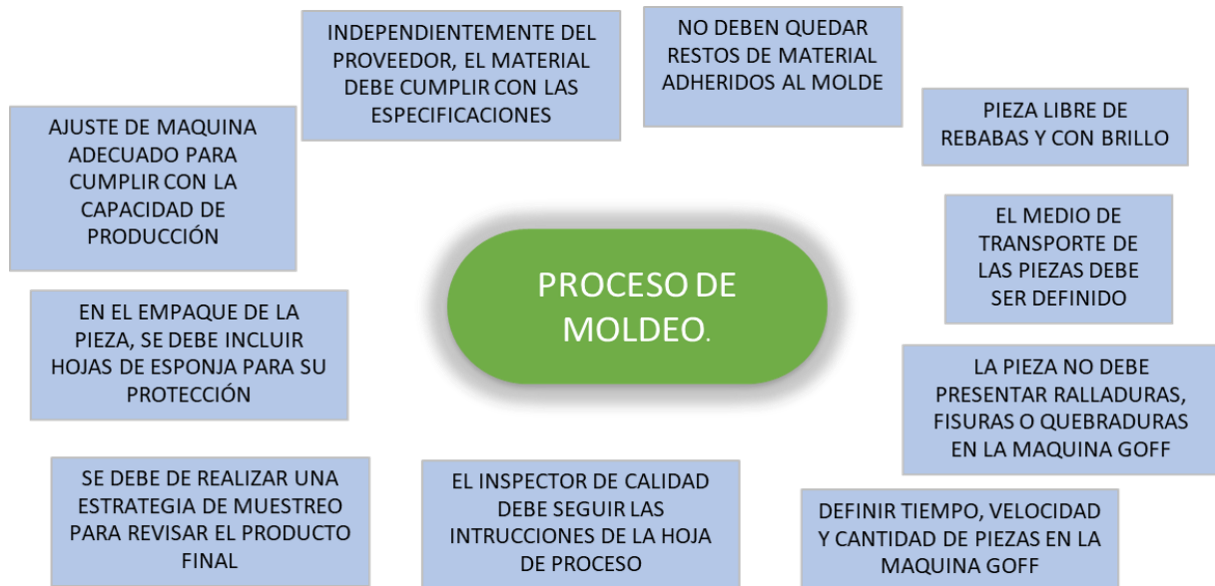


Figura 3. Diagrama de funciones del proceso de moldeo.

En la figura 3 podemos observar que una de las funciones que debe estar definida son los parámetros de velocidad de máquina, tiempo de operación y cantidad de piezas. Una de las funciones básicas para el cliente (CTQ), también está incluida, la pieza no debe presentar ralladuras, fisuras o quebraduras, el cual sí está identificado como condición de rechazo de pieza. El resto de las funciones que se muestran deberán ser cumplidas, para evitar retrasos, retrabajos o rechazos de piezas. Cabe mencionar que los diagramas de funciones, son herramientas

base para la realización del Análisis del Modo y Efecto de la Falla (AMEF), ya que de ahí obtendremos las funciones del proceso y por ende el modo de Falla.

4.3 Análisis del Modo y Efecto de la Falla (AMEF)

Al igual que lo venimos realizado en el proyecto, se realizan los AMEF de todos los procesos involucrados, pero aquí solo mostramos una porción del AMEF del proceso de la máquina Goff, en la figura 4.

	Num de Proceso/ Descripción del proceso	Función del Proceso	Modo de Falla Potencial	Efectos Potenciales de la Falla	S e v	Causa Potencial / Mecanismo de la Falla	O c u	Controles de proceso Actuales	D e t	N P R	Acciones Recomendadas	Responsable y Fecha	Acciones Tomadas	S e v	O c u	D e t	N P R
Á R E A D E M O L D E O	7	PROCESO DE LIMPIEZA EN MAQUINA GOFF.	PIEZA LIBRE DE REBABAS Y CON BRILLO	PARTES CON REBABA	RETRABAJO	6	FALTA DE ARENA (WALL NUT)	2	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0007	6	72	CUMPLIR CON PI-INY- 0007	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE				
				ARENA DESGASTADA	RETRABAJO	6	ARENA DESGASTADA	2	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0008	6	72	CUMPLIR CON PI-INY- 0008	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE				
				PROBLEMAS DE APARIENCIA	RETRABAJO	6	VARIACIÓN EN CRITERIO DE ACEPTACIÓN.	5	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0009	6	180	CUMPLIR CON PI-INY- 0009	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE				
			DEFINIR TIEMPO, VELOCIDAD Y CANTIDAD DE PIEZAS	PARAMETRO S SON PROGRAMA DOS AL AZAR	PIEZA RALLADA, FISURADA, ROTA O SIN BRILLO	7	PIEZAS SE GOLPEAN ENTRE SI POR EXCESO DE TIEMPO, VELOCIDAD O CANTIDAD	8	NO EXISTE	4	224	REALIZAR UNA SUPERFICIE DE RESPUESTA O DISEÑO DE EXPERIMENTOS	J. ARGUELLES 15 NOV				
			LA PIEZA NO DEBE PRESENTAR RALLADURAS FISURAS O QUEBRADURAS	PIEZAS RALLADAS, FISURADAS O ROTAS	RECHAZOS.	6	VARIACIÓN EN LOS PARAMETROS DE MAQUINA	4	NO EXISTE	6	144	OPTIMIZAR LOS VALORES DE LOS PARAMETROS	J. ARGUELLES 15 NOV				
						6	VACIADO DE SHELL	3	NO EXISTE	6	108	IMPLEMENTAR HOJA DE PROCESO	MANUFACTURA 25 NOV				
						6	ACOMODO INCORRECTO DE SHELL	1	NO EXISTE	6	36	IMPLEMENTAR HOJA DE PROCESO	MANUFACTURA 25 NOV				

Figura 4. AMEF para proceso de limpieza en máquina Goff.

La figura 4 muestra el proceso de limpieza en la máquina Goff. En la función de pieza libre de rebabas y con brillo, el Número Prioritario de Riesgo (NPR) más alto que tenemos es en el modo de falla de problemas de apariencia (180) ya que el operador revisar que el brillo de la pieza cumpla con las especificaciones del cliente, en caso de que no se cumpla, la pieza se puede volver a meter a la máquina, pero con el riesgo de que por el exceso de tiempo/velocidad se ralle, se fisure o se quiebre, en dado caso, la pieza ya sería *scrap*.

Para la función de definir tiempo, velocidad y cantidad de piezas, tenemos que el modo de falla es que dichos parámetros son programados al azar, lo que causa una variación, ya que las combinaciones que el operador puede escoger son múltiples, ocasionando fallas. El NPR es el más alto detectado en los AMEF realizados, 224, por este motivo, este modo de falla nos marca que este modo de falla debe ser disminuido como primera prioridad en el proyecto. Hay que diseñar el experimento para la superficie de respuesta lo más pronto posible, para disminuir la variación, el *scrap* generado en esta operación de limpieza y optimizar los

parámetros de la máquina, que sean parámetros fijos, y que operador no decida de acuerdo a su carga de trabajo. Caso muy similar se presenta en la función de la pieza no debe presentar ralladuras, fisuras o quebraduras, donde el NPR máximo de 144 se presenta en la causa de la variación de los parámetros, y se sugiere su optimización.

Cabe mencionar que los NPR del proceso de limpieza en la máquina Goff que muestra la figura 4, son los más altos de todos los AMEF. También mencionar que las columnas de acciones tomadas, severidad, ocurrencia, detección y NPR que aparecen vacías en la figura 4, se llenarán y se presentarán una vez que se haya cumplido con las acciones recomendadas.

4.4 Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)

Se aplica la Metodología de Superficie de Respuesta para la optimización de los factores incluidos, en base a los valores obtenidos del porcentaje de defectos de las pruebas, los cuales se muestran en la tabla #2.

Tabla 2. Resultados del porcentaje de defectos en las pruebas.

Prueba	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	Cantidad (u)	% de piezas defectuosas
1	20	3.5	72	25
2	25	5	88	40
3	20	5.4	72	29
4	20	1.5	72	20
5	15	2	56	20
6	14	3.5	72	24
7	15	5	88	34
8	20	3.5	92	26
9	26	3.5	72	35
10	15	5	56	27
11	25	5	56	50
12	15	2	88	19
13	20	3.5	51	24
14	25	2	88	25
15	25	2	56	24
16	20	3.5	72	26

Con base a esta información, se presentan a continuación las diferentes gráficas y resultados generados.

4.5 Discusión de resultados.

La figura 5 nos muestra el diagrama de Pareto para los factores más significativos en el % de piezas defectuosas, donde podemos ver que el tiempo de proceso es el factor más

significativo para el resultado. La velocidad de la máquina es el segundo en significancia, el efecto cuadrático de la velocidad de máquina es el tercero, seguido de la interacción entre tiempo de proceso y velocidad de máquina; dejando en ultimo termino la cantidad de piezas como factor menos significativo.

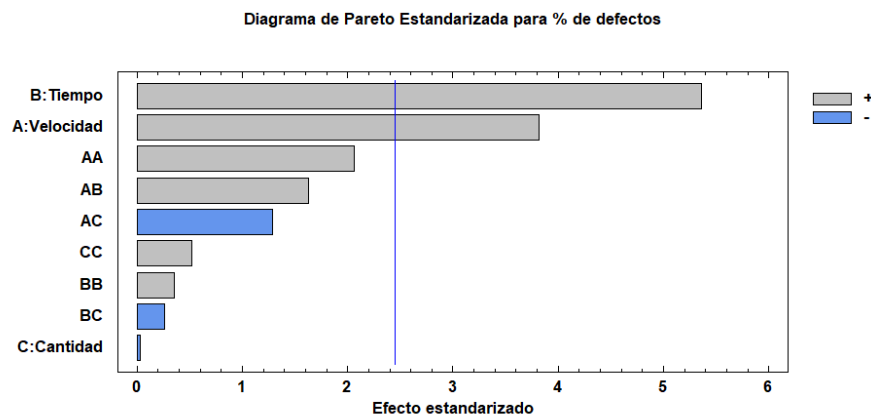


Figura 5. Diagrama de Pareto de los factores.

La figura 6 nos muestra la gráfica de efectos principales, donde entre más inclinada esta la línea más fuerte es el efecto individual de cada factor, podemos observar que la línea recta que describe el tiempo de proceso y la curva de la velocidad de máquina están más

inclinadas que la curva de la cantidad de piezas, lo que coincide con la gráfica de Pareto, indicándonos el tiempo de proceso como el factor más significativo, seguida muy de cerca de la velocidad de máquina.

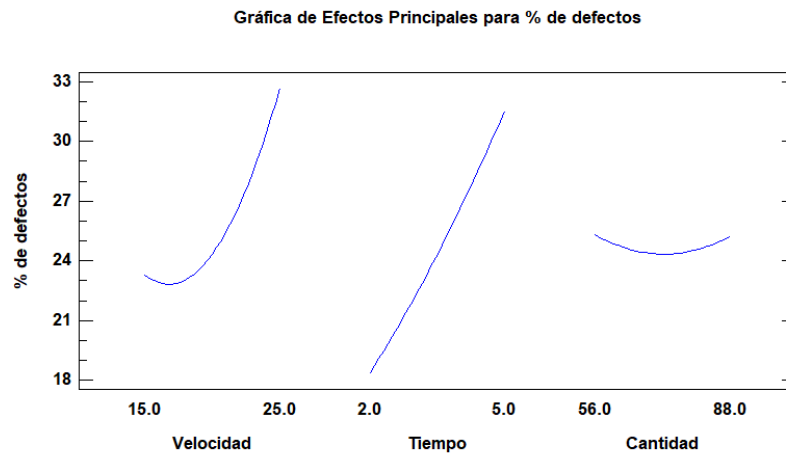


Figura 6. Gráfica de los efectos principales.

La figura 7 nos muestra la gráfica de superficie con la cantidad de piezas de 72, donde se puede apreciar que conforme se incrementa el tiempo de proceso, también el porcentaje de piezas defectuosas aumenta, mismo caso que sucede con la velocidad,

siendo lo mejor valores entre 15 rpm y 20 rpm. Observamos que, si el operador se decide por la combinación de mayor tiempo y velocidad, se pueden generar más del 50% de defectos, es decir, enviar a *scrap* la mitad de las piezas de una corrida de producción.

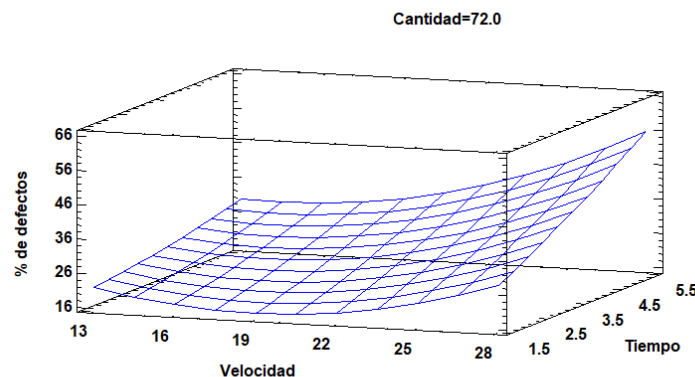


Figura 7. Gráfica de superficie.

El modelo finalmente utilizado en términos de los tres factores, tiempo de proceso (T), velocidad de máquina (V) y cantidad de piezas (C) fue el siguiente:

$$\begin{aligned} \% \text{ de defectos} = & 55.0406 - 4.301 * V - 2.74109 * T \\ & + 0.00280131 * C + 0.145498 * V^2 \\ & + 0.316667 * V * T - \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & 0.0234375 * V * C + 0.275387 * T^2 - \\ & 0.015625 * T * C + 0.0035992 * C^2 \end{aligned}$$

El valor de los coeficientes de determinación $R^2 = 89.7\%$ y $R_{aj}^2 = 74.26\%$ son aceptables al ser mayores de 70%, significando que los factores explican un alto porcentaje de la variabilidad observada en la variable de

respuesta. Los resultados óptimos para la reducción de defectos que arroja el software en la ejecución de la MSR son:

- Velocidad de 15 rpm
- Tiempo de 1.56 min
- Cantidad de piezas de 51

En base a los resultados obtenidos se corren dos pruebas más, con una réplica cada una, en busca de un mejor resultado que el 19%, el cual fue el menor porcentaje de defectos en las 16 pruebas. Cabe mencionar que 19% de defectos por corrida aún les parece a los dueños del proceso un número alto. La primera prueba se corre a 15 rpm, 1 min y 56 piezas, obteniendo un 9% de defectos, y en la réplica se obtiene 8%. La segunda prueba se corre a 15 rpm, 1 min y 88 piezas, obteniendo un 20% de defectos, y en la réplica se obtiene 18%. La opción de que la

cantidad de piezas se maneje así, es porque la empresa cuenta con dos tipos de contenedores de *Half Shell*, el contenedor de 56 piezas y el de 88 piezas. Con estos últimos resultados basados en los resultados de la MSR, se recomienda a la empresa implementar que el proceso se controle con los parámetros de Velocidad de máquina a 15 rpm, Tiempo de proceso de 1 min y Cantidad de piezas de 56. Es cierto que el número de piezas será el menor posible, pero el tiempo de proceso y la velocidad de máquina también, lo que ayudará a que este proceso no sea un cuello de botella, sino que tenga el operador el tiempo suficiente para llevar a cabo el proceso de limpieza.

La figura 8 muestra el AMEF completo para el proceso de limpieza en la máquina Goff.

		Num de Proceso/ Descripción del proceso	Función del Proceso	Modo de Falla Potencial	Efectos Potenciales de la Falla	S e v	Causa Potencial / Mecanismo de la Falla	O c u	Controles de proceso Actuales	D e t	N P R	Acciones Recomendadas	Responsable y Fecha	Acciones Tomadas	S e v	O c u	D e t
Á R E A D E M O L D E O	7	PROCESO DE LIMPIEZA EN MAQUINA GOFF	PIEZA LIBRE DE REBABAS Y CON BRILLO	PARTES CON REBABA	RETRABAJO	6	FALTA DE ARENA (WALL NUT)	2	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0007	6	72	CUMPLIR CON PI- INY-0007	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE	HOJA DE PROCESO A PIE DE MAQUINA	6	1	6
						6	ARENA DESGASTADA	2	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0008	6	72	CUMPLIR CON PI- INY-0008	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE		6	1	6
				PROBLEMAS DE APARIENCIA	RETRABAJO	6	VARIACIÓN EN CRITERIO DE ACEPTACIÓN.	5	INSTRUCCIÓN DE TRABAJO PI-INY-0009	6	180	CUMPLIR CON PI- INY-0009	OPERADOR DE MAQUINA/SIEMPRE	INSTRUCCIÓN PARA APARIENCIA	6	2	12
			DEFINIR TIEMPO, VELOCIDAD Y CANTIDAD DE PIEZAS	PARAMETROS SON PROGRAMADOS AL AZAR	PIEZA RALLADA, FISURADA, ROTA O SIN BRILLO	7	PIEZAS SE GOLPEAN ENTRE SI POR EXCESO DE TIEMPO, VELOCIDAD O CANTIDAD	8	NO EXISTE	4	224	REALIZAR UNA SUPERFICIE DE RESPUESTA O DISEÑO DE EXPERIMENTOS	J. ARGUELLES 15 NOV	SE REALIZA MSR	7	1	7
			LA PIEZA NO DEBE PRESENTAR RALLADURAS, FISURAS O QUEBRADURAS	PIEZAS RALLADAS, FISURADAS O ROTAS	RECHAZOS.	6	VARIACIÓN EN LOS PARAMETROS DE MAQUINA.	4	NO EXISTE	6	144	OPTIMIZAR LOS VALORES DE LOS PARAMETROS	J. ARGUELLES 15 NOV	SE OPTIMIZAN LOS VALORES EN 1 MIN. 15 RPM Y 56 PIEZAS	6	1	6
						6	VACIADO DE SHELL	3	NO EXISTE	6	108	IMPLEMENTAR HOJA DE PROCESO	MANUFACTURA 25 NOV	HOJA DE PROCESO A PIE DE MAQUINA	6	2	12
						6	ACOMODO INCORRECTO DE SHELL	1	NO EXISTE	6	36	IMPLEMENTAR HOJA DE PROCESO	MANUFACTURA 25 NOV		6	2	12

Figura 8. AMEF completo.

Con la implementación de las acciones que se sugirieron por parte del equipo de trabajo en el AMEF en el área de moldeo y en el proceso de la máquina Goff, podemos observar en la figura 8, que el NPR final para cada modo de falla baja considerablemente. Principalmente en las funciones de definir tiempo, velocidad y

cantidad de piezas y la de la pieza no debe presentar ralladuras, fisuras o quebraduras, donde los NPR van de un valor de 224 a 7, de 144 a 6 y de 108 a 12. Considerar que la severidad en un modo de falla nunca se puede modificar, en lo que nos toca trabajar es en la ocurrencia y la detección del modo de falla.

V. Conclusiones

Por medio de los mapas de procesos, diagramas de funciones y AMEF, se determinó que el proceso de limpieza de las *Half Shell* en la máquina Goff es la causa raíz del problema, es el proceso donde se están generando los defectos.

Se llevaron a cabo en total 20 pruebas en la máquina Goff, esto apoyándose en la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR). En las primeras 16 pruebas el menor porcentaje de defectos que se obtuvo fue del 19% de piezas no conformes (ralladas, fisuradas o quebradas), lo que para los dueños del proceso es un porcentaje alto para cuestiones de retrabajos o *scrap*.

Por medio de los resultados de la MSR, se define que el tiempo de proceso es clave para la generación de defectos y se fijan los parámetros de tiempo de proceso en 1 min, velocidad de máquina en 15 rpm y cantidad de piezas en 56, obteniendo como mejor resultado un 8% de defectos. Mencionar que los valores de 1 min de tiempo de proceso y de 15 rpm en la máquina Goff son los menores a los que puede trabajar, se recomienda a la empresa buscar otra opción para limpiar y abrillantar las piezas, ya sea una máquina que se pueda programar a menor tiempo de proceso y menor velocidad u otro método, lo que seguramente bajará el porcentaje de piezas defectuosas, ya que como se demostró, cuando se corre el proceso a más de 15 rpm de velocidad y más de 1 minuto de tiempo, la cantidad de piezas defectuosas pueden llegar hasta el 50% de piezas, por corrida de producción.

Por medio de la implementación de la mencionada combinación, se elimina hasta el 90% de producción de defectos, ahorrando un estimado de 150,000 USD.

Agradecimientos

- Agradecer al personal de la empresa Carling Technologies por las facilidades para que el presente proyecto fuera analizado e implementado.
- A la Lic. Jenny Calvillo Alba por su apoyo en la edición de textos y figuras.

VI. Referencias

- [1] Navarro, L., Cordero, A., Nolasco, C., Collado, L. (2022). *Degradación química de pet y su metabolismo por consorcios fúngicos*. South Florida Journal of Development, 3(1), p.1492-1506, DOI: 10.46932/sfjdv3n1-114
- [2] Rodríguez, J. (2021). *Propuesta para la creación de una planta de recuperación y procesamiento de plástico en la vega Cundinamarca*, Tesis de licenciatura. Universidad Santo Tomás. <http://hdl.handle.net/11634/43436>
- [3] Cantor, J., Peña, M. (2021). *Revisión de los procesos para la producción de combustibles provenientes de residuos plásticos*, Tesis de licenciatura. Universidad Antonio Nariño. <http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/5005>
- [4] Cedeño, G., Crooks, K., Soto, M., Terán, N., & Walters, A. (2022). *Conciencia ambiental frente al inadecuado manejo del plástico por el ser humano*. Las Enfermeras De Hoy, 1(2), 44–58. <http://200.75.215.107/index.php/edh/article/view/35>
- [5] Jiménez J., Ramos, C., Sánchez, B., Vial, A. (2021). VEOC. Ingenia Materiales, Num.3, 57-58. http://polired.upm.es/index.php/ingenia_materiales/article/view/4649

- [6] Medina, J. (2021). *Propuesta de proceso verde aplicado al aprovechamiento de residuos y transformación de micro plásticos*. Tesis de maestría, Universidad EAN. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10882/10894>
- [7] Ojeda, J., Mercante, I. (2021). *Reciclaje de residuos plásticos para la producción de agregados livianos*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 37, 489-499. <https://doi.org/10.20937/RICA.54081>
- [8] Sandoval, J., Bermúdez, D. (2021). *Degradación del polietilentereftalato por medio de microorganismos*. Informador Técnico, 85(2), 219-229. <https://doi.org/10.23850/22565035.3592>
- [9] Rojas, W., Palacios, J., Miranda, M. (2022). *Sistema automático de adquisición y análisis de datos con machine learning para el control de calidad en una máquina de inyección de plástico*. Polo del conocimiento, 7(2), 1298-1311. <http://dx.doi.org/10.23857/pc.v7i2.3647>
- [10] Estrella, M. (2020). *Predicción de esfuerzos residuales y deformaciones resultantes en partes moldeadas por inyección mediante análisis numérico*. Tesis de doctorado. ITESM. <https://hdl.handle.net/11285/637479>
- [11] Mital, J. (2021). *Análisis del sistema logístico e implantación de un proyecto de Renauot mediante uso de técnicas de lean manufacturing en un proveedor del sector del automóvil*. Tesis de licenciatura. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/164051>
- [12] Giraldo, R., Martín, L. (2021). *Tempus: simplificación de procesos y tiempos de producción convencional de piezas plásticas por inyección para la industria nacional, mediante el desarrollo tecnológico de la fabricación aditiva*. Tesis de Maestría. <http://hdl.handle.net/20.500.12010/22276>
- [13] Aguirre, R., Redosado, L. (2021). *Implementación de la metodología PHVA para mejorar la productividad del proceso de producción de piezas en PRFV en el área de fibra de vidrio en una empresa del sector automotriz*. Tesis de licenciatura, Universidad Privada del Norte. <https://hdl.handle.net/11537/29626>
- [14] Benitez, A., Vargas, C., Montealegre, W. (2020). *Simulación de moldeo por inyección basado en el Método de Volúmenes Finitos (FVM) Mold Injection Simulation based on Finite Volume Method (FVM)*. INGE CUC, vol. 16 no. 2, pp. 119-130. DOI: <http://doi.org/10.17981/ingecuc.16.2.2020.08>
- [15] Hernández, R., Bustos, J., Núñez, M., Ramos, V. (2018). *Control de variables en el proceso de inyección de probetas plásticas*. Pistas Educativas, 38(118).
- [16] Méndez, U. (2021). *Incremento en el OEE del modelo Quick Connector por medio de herramientas de manufactura esbelta*. Semana Académica, 1(1). <https://ingenieriaindustrialitt.org/publicacion/semana-academica/article/view/37>
- [17] Núñez, J., Pérez, I., Méndez, L., Rodríguez, L. (2021). *Eliminación de Desperdicios y Ahorro de Recursos en Áreas de Moldeo por Inyección de Plásticos Basado en la Metodología SMED*. Memorias del Congreso Internacional de Investigación Academia Journals Autónomo 2021, Vol. 13, No. 2, 172-181. <http://cathi.uacj.mx/20.500.11961/18468>
- [18] Asencio, D. (2021). *Aplicación de técnicas de Lean Manufacturing en empresa de inyección de plásticos*. Tesis de licenciatura. Universitat Politècnica de

Catalunya.

<http://hdl.handle.net/2117/347930>

[19] Gualteros, K., Valencia, K. (2020). *Estrategia para la reducción de desperdicios en procesos de inyección de plástico en la empresa Proenfar SAS*. Tesis Doctoral, Editorial Universitaria San Mateo. <http://localhost:80/jspui/handle/123456789/233>

[20] Barzola Pincay, W. I. (2021). *Propuesta de metodología de trabajo Six Sigma en el área de producción de envase de la Empresa Industria Plásticas Josa Cía. Ltda.* Tesis Doctoral, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Industrial. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/52597>

[21] Arguelles, J., Pineda, Z., Cruz, C. (2021). *Medición, análisis y rediseño de parrillas de horno aplicando metodología Seis Sigma*. Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica, Vol. 9, No. 53, pp. 12-26. https://riiit.com.mx/apps/site/files_v2450/parrillas_uaslp_2_riiit_nov-dic_2021.pdf



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Inmunolocalización celular de una enzima participante en la ruta de degradación del Naftaleno

Cellular immunolocalization of an enzyme involved in the Naphthalene degradation pathway

Camacho-Morales, R.L.^{a*}, Cárabez-Trejo, A.^b

^a Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California; C.P.21705, Mexicali, Baja California.

^b Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Boulevard Juriquilla 3001, Juriquilla, Querétaro, México, C.P. 76230, Querétaro, México.

lucero.camacho@uabc.edu.mx*; carabez1@servidor.unam.mx

Innovación tecnológica: Método de inmunolocalización celular de enzimas de la degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos.

Área de aplicación industrial: Industria de reciclaje/descontaminación.

Recibido: 28 mayo 2022

Aceptado: 18 octubre 2022

Abstract

Oil spill contamination is one of the problems that we commonly face today, one of the methods that have been proposed for the reduction of soil contaminants is the use of fungal-mediated bioremediation, *Mucor circinelloides* is a fungus capable of growing and metabolizing petroleum residues such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), specifically naphthalene. As a fundamental part of knowing about the metabolism process of HPAs, in this work the identification of the presence of the second enzyme that participates in the naphthalene degradation route, dihydrodiol dehydrogenase (DD), was carried out, its location by means of labeled antibodies and its distribution by transmission electron microscopy was observed. The results show that the DD enzyme is located in the cell cytoplasm in electron-dense particles that are different from peroxisomes. These findings can help improve the outlook for bioremediation of recalcitrant petroleum derived compounds.

Keywords: Biochemistry, bioremediation, immunolocalization, naphthalene.

Resumen

La contaminación por derrames de petróleo es uno de los problemas a los que comúnmente nos enfrentamos hoy en día, uno de los métodos que se ha planteado para la reducción de los contaminantes del suelo es el uso de biorremediación mediada por hongos, *Mucor circinelloides* es un hongo capaz de crecer y metabolizar residuos de petróleo como los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs), específicamente el naftaleno. Como una parte fundamental de conocer el proceso de metabolismo de los HPAs, en este trabajo se llevó a cabo la identificación de la presencia de la segunda enzima que participa en la ruta de degradación de naftaleno, la dihidrodiol deshidrogenasa (DD), su localización mediante anticuerpos marcados y su distribución mediante microscopía electrónica de transmisión, obteniendo que la enzima DD se encuentra localizada en el citoplasma celular en partículas electrodensas que son diferentes a los peroxisomas, estos hallazgos pueden ayudar a mejorar el panorama de biorremediación de compuestos recalcitrantes derivados del petróleo.

Palabras clave: Bioquímica, biorremediación, Inmunolocalización, naftaleno.

1. Introducción

Cuando se habla de la contaminación generada por petróleo, lo primero en lo que se piensa es en los derrames producidos en alta mar, que ocasionan problemas que van desde el daño a pequeña escala hasta la desaparición de todas las especies que viven en una comunidad biológica [1]. Sin embargo, el daño que causa este tipo de contaminación también se extiende al suelo debido a los derrames del crudo mismo y de los residuos generados en su refinamiento, que también pueden afectar al aire. La naturaleza requiere de alrededor de 10 años para recuperarse de un problema de contaminación [2]. Algunos autores consideran que no hay una relación determinada entre el tamaño del derrame y lo grave que son los daños que ocasiona, pero se sabe que otros factores pueden influir en la gravedad del daño y el tiempo de recuperación, así como las condiciones ambientales, y la presencia de flora y fauna de la región [3]–[5].

La descontaminación de un espacio, puede llevarse a cabo por diferentes aproximaciones como son el confinamiento, la limpieza y la estrategia de respuesta, estos métodos varían

en su porcentaje de acción y metodología específica[6]. Estos pueden ser de tipo físicos, químicos o biológicos, y pueden realizarse en el sitio de contaminación o de forma ex situ [7]. Hace ya varios años que se ha estudiado el uso de la biorremediación para procesos que son mediados por organismos vivos: bacterias, algas, hongos y plantas, que son capaces de disminuir la concentración de diversos contaminantes debido a su metabolismo[8], [9].

La mayoría de los estudios de biorremediación se han realizado en bacterias debido a su facilidad de cultivo y a que existe una gran cantidad de herramientas para analizar su metabolismo y genómica que permitan estudiar sus vías metabólicas e identificar los compuestos que pueden degradar [10], [11]. Sin embargo, los hongos poseen también una gran capacidad de degradar y metabolizar compuestos recalcitrantes, lo que los dota de un gran potencial como parte de los procesos de microrremediación [12]. El potencial de los hongos se fundamenta en su sistema enzimático y en su velocidad de crecimiento y capacidad de crecer en una gran cantidad de

sustratos ya que pueden acceder a los diferentes compuestos que contaminan el suelo. Además, se ha encontrado que los hongos pueden acumular metales como el cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc, debido a que se ha analizado la presencia de estos en aislamientos de hongos provenientes del suelo de minas [13].

Otro grupo de interés lo constituyen los hongos de podredumbre blanca (basidiomicetos) que disponen entre otras, de una importante capacidad para la degradación de la lignina, que es un polímero que compone los sustratos lignocelulósicos [14]. Para llevar a cabo esta degradación, se necesita de diversas enzimas que oxidan los anillos aromáticos que constituyen este polímero, algunas de estas son: lignina peroxidasa, lacasa, manganeso peroxidasa y aril alcohol oxidasa [15]. Esta inespecificidad química les proporciona el poder degradativo necesario para transformar xenobióticos como los pesticidas, hidrocarburos aromáticos, compuestos orgánicos clorados, azocolorantes, etc. [16]–[18].

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) representan uno de los principales componentes del petróleo y por tanto una fuente importante de contaminación durante los derrames, específicamente el naftaleno es un compuesto altamente tóxico, que por su naturaleza resulta de difícil manejo y degradación [19], [20]. La primera enzima que participa en la ruta de degradación del naftaleno, la dioxigenasa, ha sido identificada como la responsable de la formación de cis-dihidrodiol, y no sólo es utilizada en la degradación del naftaleno, sino que también interactúa con otros HPAs como es el caso del fenantreno y el pireno [21]. Esta enzima se ha considerado como de gran importancia en los procesos de biorremediación [22].

En cuanto a la segunda enzima, la cis-dihidrodiol deshidrogenasa (DD), ha sido

ampliamente descrita en sistemas bacterianos, pero poco estudiada en hongos. La actividad de esta enzima consiste en la deshidrogenación del cis-1,2 dihidroxi-dihidro naftaleno a 1,2 dihidroxi naftaleno, y esta reacción requiere de NAD⁺ o NADP⁺ como cofactor [22], [23].

Los cis-dihidrodiol han sido identificados como intermediarios en la oxidación no sólo del naftaleno, sino también en el metabolismo del tolueno, benceno, p-clorotolueno, metilbenceno y piridazinona [21]. Y por tal motivo resulta muy importante su estudio.

Las enzimas cis-naftalendiol deshidrogenasa y cis-toluenediol deshidrogenasa de *Pseudomonas putida*, fueron purificadas y caracterizadas bioquímicamente, permitiendo dilucidar la vía de degradación de hidrocarburos aromáticos que ahora conocemos [24].

Por lo tanto, uno de los puntos clave del proceso de degradación de los HPAs implica la ubicación de la enzima en la célula, para esto en trabajos previos ya se había realizado la purificación y caracterización de la enzima [25], por tal motivo se decidió analizar mediante microscopía electrónica de transmisión, la localización de la enzima y si esta se encuentra dentro de los peroxisomas como una referencia de su posible localización.

2. Materiales y métodos

2.1 Microorganismos

Se empleó un hongo aislado de suelos contaminados con petróleo denominado YR-1 y clasificado taxonómicamente como *Mucor circinelloides* [26].

El medio de cultivo empleado para la propagación del microorganismo fue una variante del medio mínimo de Lee [27] (2.5 g de KH₂PO₄, 0.2 g de MgSO₄, 5 g de

(NH₄)₂SO₄, 5 g de NaCl), suplementado con peptona al 0.1%, al cual se le denominó MMSP y como fuente de carbono se agregó naftaleno al 1%.

2.2 Obtención de anticuerpos

Para llevar a cabo la producción de anticuerpos se inmunizaron dos conejos utilizando una preparación que contenía 300 µg de la enzima di hidrodio deshidrogenasa, que previamente había sido purificada [25], para esto la proteína pura se homogeneizó en un ml de regulador de fosfatos pH 8.5 50 mM. En el caso de la primera inmunización se agregaron a la solución 500 µL de adyuvante completo de Freund (para cada dosis). Se realizaron cuatro inmunizaciones (una cada mes) y posteriormente se purificaron parcialmente las inmunoglobulinas. El manejo de los animales para experimentación se realizó basado en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y en los estándares internacionales y sus especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio se adecuó el trato digno y correcto de los animales para los ensayos experimentales.

2.3 Procesamiento de muestras para microscopía electrónica de transmisión (MET)

La preparación de la muestra para MET, se realizó siguiendo la metodología planteada por [28], con las siguientes modificaciones. Las células miceliales fueron crecidas en las diferentes fuentes de carbono: glucosa (control) y naftaleno 1% durante 12 y 24 h respectivamente, se filtraron y los paquetes celulares se resuspendieron en agarosa de bajo punto de fusión, una vez gelificados, se cortaron en cubos de 1 mm³ y se transfirieron a viales de vidrio conteniendo 2.5 ml de gluraldehído (Electron Microscopy Sciences) al 3% en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1 M, pH 7.4, y se incubaron por 4 h a 4 °C.

Las muestras se fijaron y deshidrataron según el protocolo antes descrito. Inmediatamente después de la fijación y deshidratación, las muestras se resuspendieron en una mezcla etanol-resina (LR-White, Polysciences, Inc.) en relación 2:1 y se dejaron a 4 °C durante 4-6 días hasta que los cubos de la muestra se tornaron transparentes. Las muestras se transfirieron a capsulas de gelatina y se polimerizaron a 60 °C por 12 h.

Los bloques se seccionaron en un ultramicrotomo (Ultracut Reichert-Jung), obteniendo cortes finos con color de interferencia plateados (50 a 70 nm) y se colocaron en rejillas de níquel cubiertas con membranas de FormVAR.

Para los ensayos de inmunohistoquímica, las rejillas con los cortes finos se hidrataron con agua y se bloquearon con 1% de suero de albúmina bovina en regulador de fosfatos (PBS-BSA). Posteriormente se llevaron a cabo las incubaciones con los anticuerpos (anti-DD y anti-Peroxidasa) diluidos 1:100 y 1:50 respectivamente en PBS-BSA. Después, las rejillas se lavaron y se incubaron en gotas con el segundo anticuerpo acoplado a oro coloidal (anti-conejo acoplado a oro de 15 nm o anti-ratón acoplado a oro de 25 nm en una dilución de 1:200 cada uno) durante 2 h, en cámara húmeda, a temperatura ambiente. Al término de este proceso las rejillas se observaron en un microscopio electrónico de transmisión Modelo Jeol (JEM-1010 Electron Microscopy). Se analizaron 10 células por corte, en total se contabilizaron 50 células por muestra, cada corte representa un bloque individual.

3. Resultados y discusión

Se realizaron ensayos de inmunolocalización por microscopía electrónica de transmisión, para lo cual las muestras del crecimiento del hongo tanto en glucosa (control) como en naftaleno (agente inductor), fueron fijadas

con glutaraldehído al 3% y polimerizadas en resina LRW.

En primera instancia se realizaron ensayos usando solamente anticuerpos contra la DD, tanto en muestras del crecimiento del hongo en glucosa como en muestras del crecimiento en naftaleno (Figuras 1-4).

Las células de *M. circinelloides* que fueron crecidas en glucosa, presentan menor detección de la enzima DD (figura 1), lo que concuerda con los análisis de la actividad realizados anteriormente y en donde se observa que no existe actividad DD cuando se utiliza glucosa [25], lo que sugiere que las enzimas que pudieran estar presentes se encuentran de manera basal en la célula y por lo tanto no están en su forma activa.

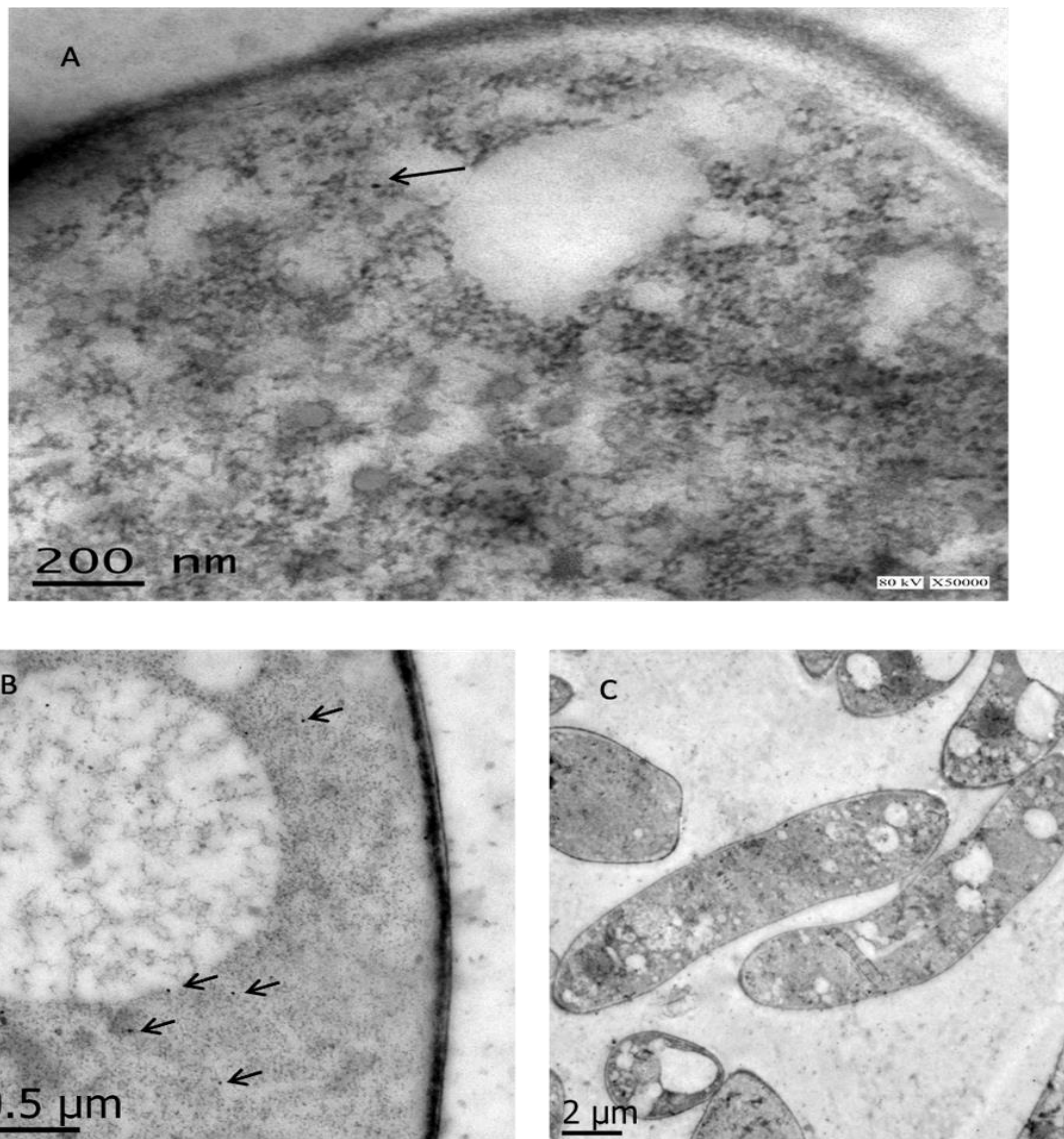


Figura 1. Inmunolocalización de la DD en células de *M. circinelloides* en glucosa. Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con glucosa como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a Inmunodetección con un anticuerpo contra la DD, el segundo anticuerpo utilizado estaba acoplado a partículas de oro de 15 nm, las flechas indican la señal de la enzima. Páneos A y B muestran acercamientos de las células a altas ampliificaciones. El panel C muestra un grupo de células.

Para el caso de las células crecidas en naftaleno, se observa una mayor detección DD y por lo tanto una mayor cantidad de partículas de oro. Fue posible observar la detección de la enzima en pequeñas vesículas electrodensas, que contienen una o más señales de oro, estas vesículas están distribuidas a lo largo de todo el citoplasma de la célula, pero en más del 80% de los campos observados, se pudo apreciar la

presencia de la marca muy cerca de la pared celular de *M. circinelloides* (figuras 2-4). La repetición de este fenómeno permite inferir el papel que juegan estas vesículas en el transporte del naftaleno dentro de la célula, sin embargo, al no tener referencias acerca de cómo se lleva a cabo éste transporte, no se puede asegurar que el fenómeno que se observa es totalmente cierto.

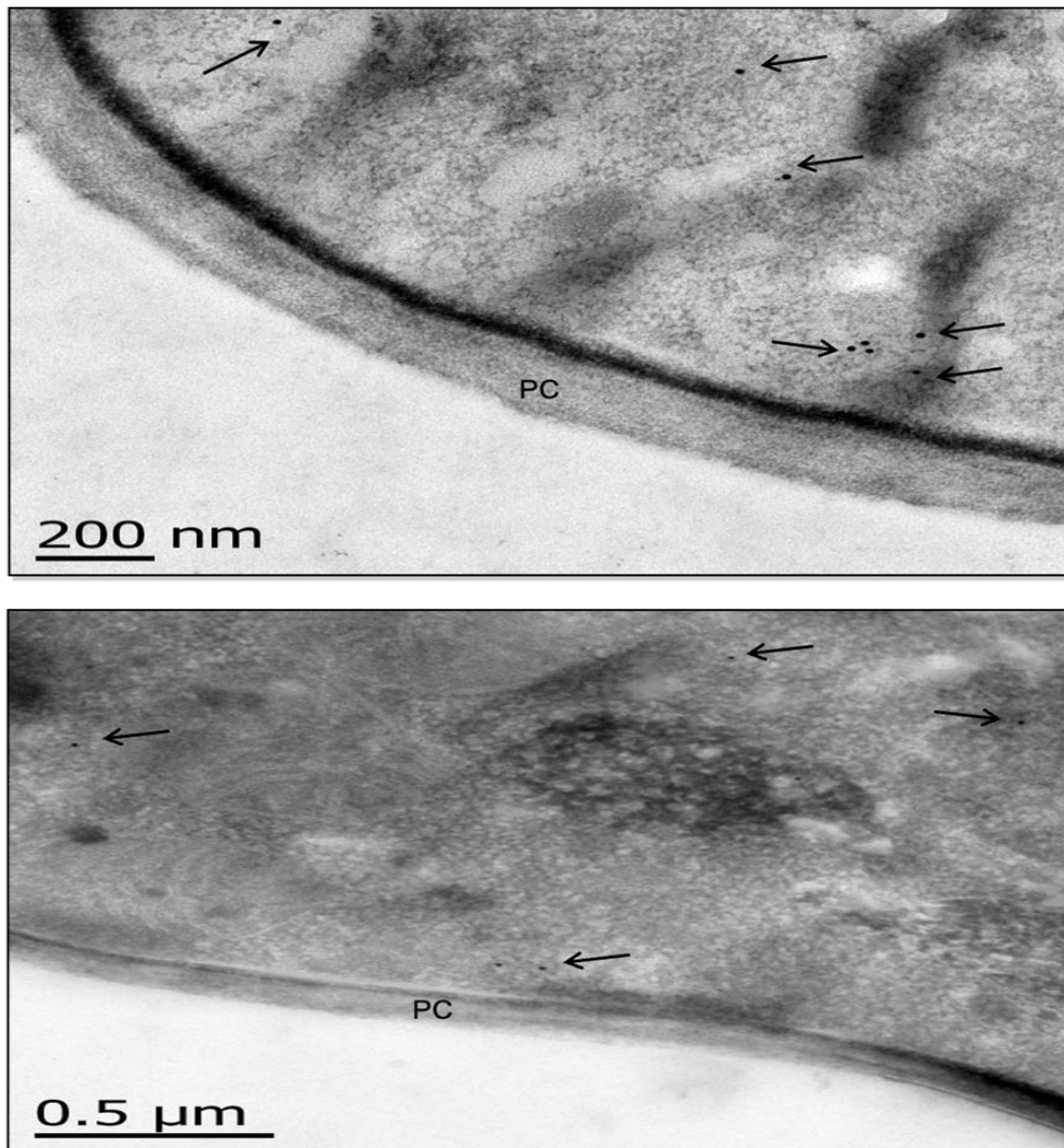


Figura 2. Inmunolocalización de la DD en células de *M. circinelloides* crecidas en naftaleno (1). Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a Inmunodetección con un anticuerpo contra la DD, el segundo anticuerpo utilizado estaba acoplado a partículas de oro de 15 nm, las flechas indican la señal de la enzima.

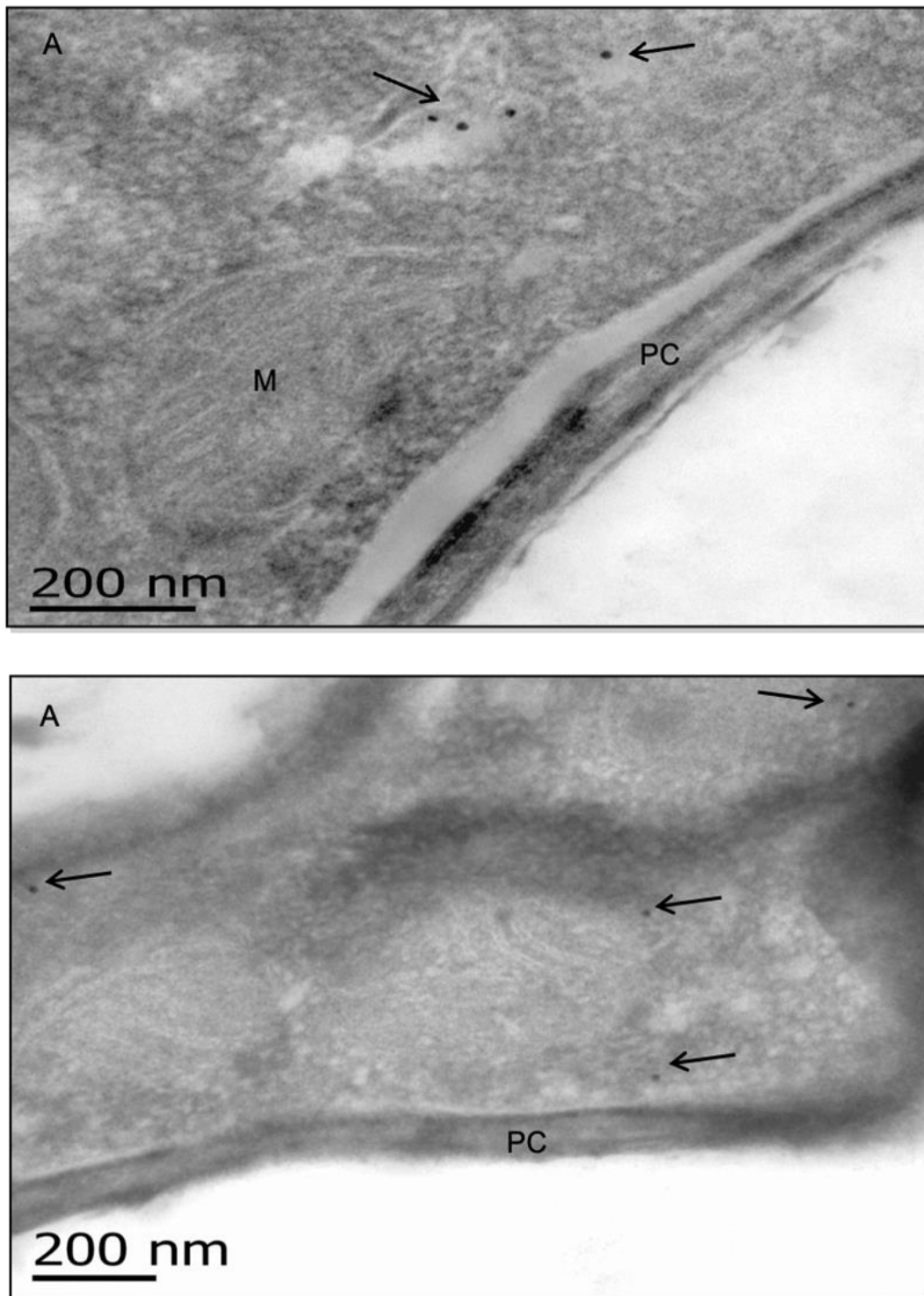


Figura 3. Inmunolocalización de la DD en células de *M. circinelloides* en naftaleno (2). Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a Inmunodetección con un anticuerpo contra la DD, el segundo anticuerpo utilizado estaba acoplado a partículas de oro de 15 nm, las flechas indican la señal de la enzima.

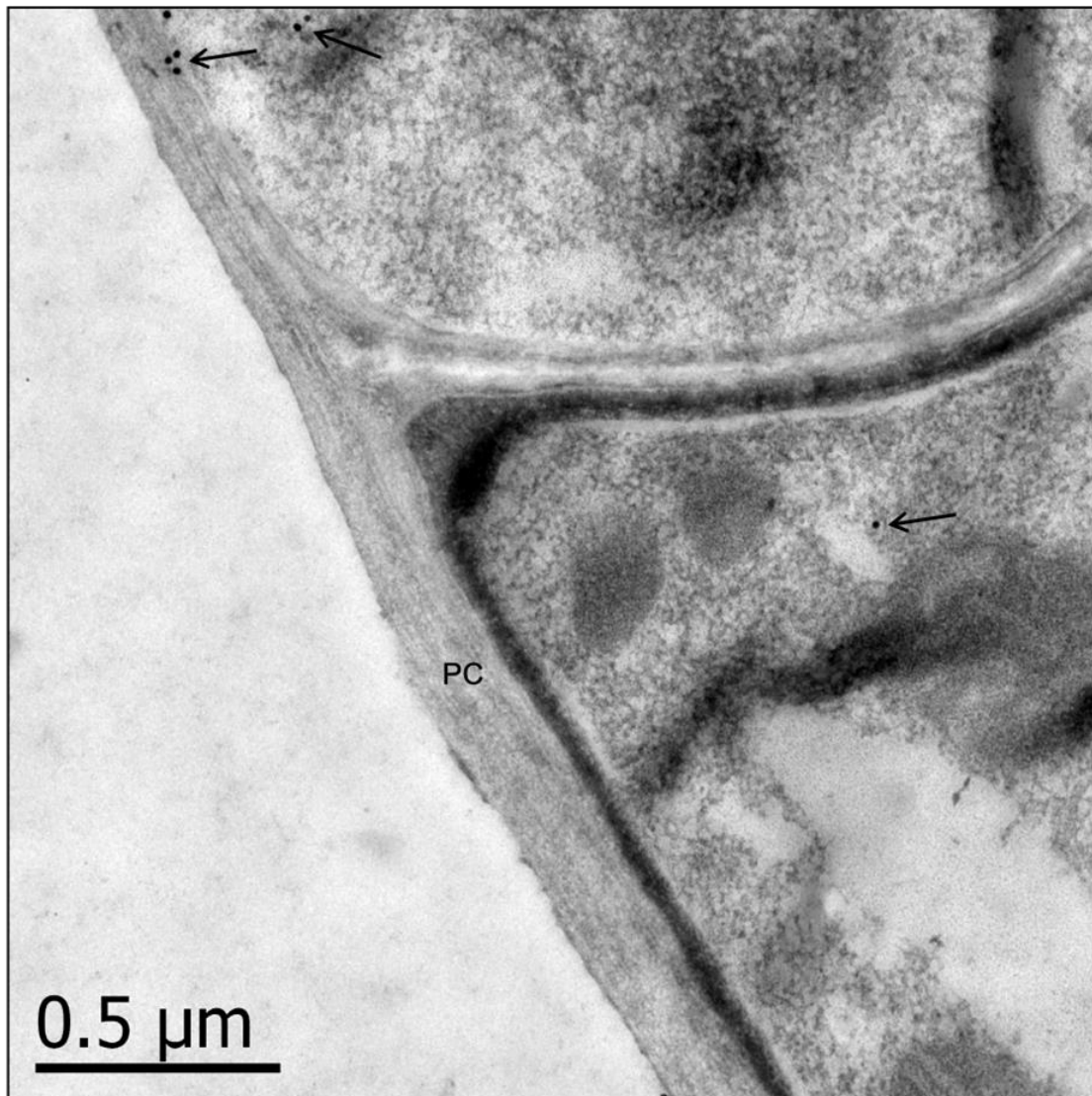


Figura 4. Inmunolocalización de la DD en células de *M. circinelloides* crecidas en naftaleno (detalle de la pared). Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a Inmunodetección con un ab contra la DD, el segundo ab utilizado estaba acoplado a partículas de oro de 15 nm, las flechas indican la señal de la enzima.

Sin embargo, se puede fácilmente formular la hipótesis de que estas vesículas contienen dentro las primeras enzimas que son las encargadas de metabolizar el naftaleno que está presente en el medio y posteriormente llevarlo al citoplasma en su forma menos tóxica para que pueda ser integrado al metabolismo normal del hongo por medio del cual obtiene energía.

Un análisis más detallado de las microfotografías permitió la observación de diferencias importantes en la pared celular de glucosa y de naftaleno, presentando en el caso del naftaleno una pared más gruesa que la de glucosa (Figuras 1-4).

Posteriormente, se planteó realizar una co-inmunodetección utilizando los anticuerpos contra la DD que ya habían sido probados y anticuerpos contra peroxidasa como

marcador, con la finalidad de determinar si la enzima DD está presente en los peroxisomas.

Por lo tanto, células provenientes tanto del crecimiento en glucosa como del crecimiento en naftaleno, fueron polimerizadas en resina LRW y se sometieron a una inmunodetección

primeramente con el anticuerpo contra la DD, seguido de la detección con anticuerpo contra la peroxidasa. De la misma forma se utilizaron dos anticuerpos secundarios, uno con partículas de 15 nm cabra-anti-conejo y el otro con partículas de 25 nm cabra-anti-ratón (Figuras 5-8).

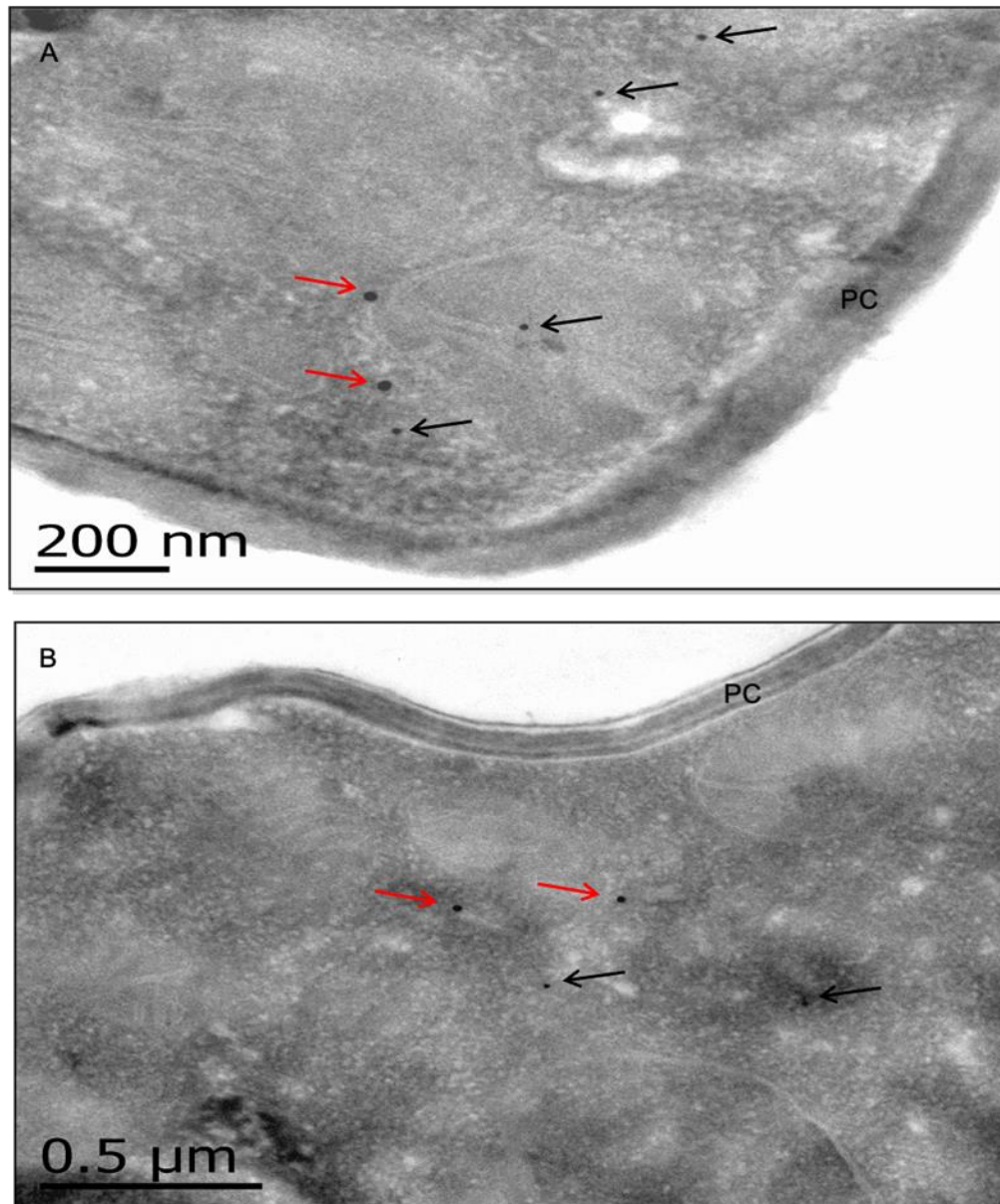


Figura 5. Inmunolocalización de DD y peroxidasa en células de *M. circinelloides* crecidas en naftaleno. Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a una doble Inmunodetección con dos anticuerpos primarios: el primero α DD y posteriormente otro α peroxidasa, los segundos anticuerpos utilizados estaban acoplado a partículas de oro de 15 y 25 nm respectivamente, las flechas negras indican detección de DD y las flechas rojas detección de peroxidasa. Páneos A y B muestran acercamientos de las células.

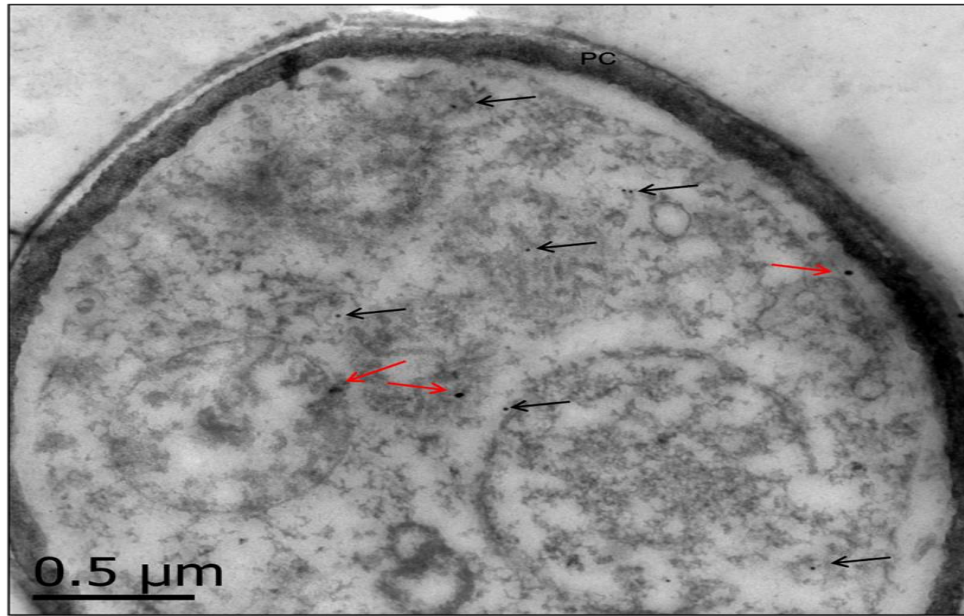


Figura 6. Inmunolocalización de DD y peroxidasa en células de *M. circinelloides* crecidas en naftaleno (vista completa de la célula). Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a una doble Inmunodetección con dos anticuerpos primarios: el primero α DD y posteriormente otro α peroxidasa, los segundos anticuerpos utilizados estaban acoplados a partículas de oro de 15 y 25 nm respectivamente, las flechas negras indican detección de DD y las flechas rojas detección de peroxidasa.

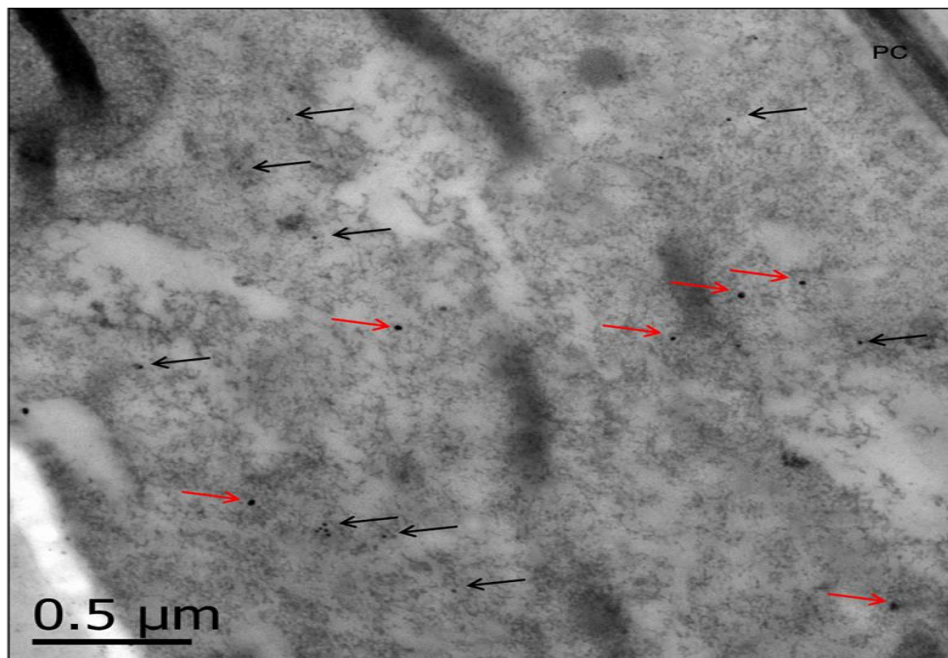


Figura 7. Inmunolocalización de DD y peroxidasa en células de *M. circinelloides* crecidas en naftaleno (detalle central de la célula). Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con naftaleno como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a una doble Inmunodetección con dos ab primarios: el primero α DD y posteriormente otro α peroxidasa, los segundos ab utilizados estaban acoplado a partículas de oro de 15 y 25 nm respectivamente, las flechas negras indican detección de DD y las flechas rojas detección de peroxidasa.

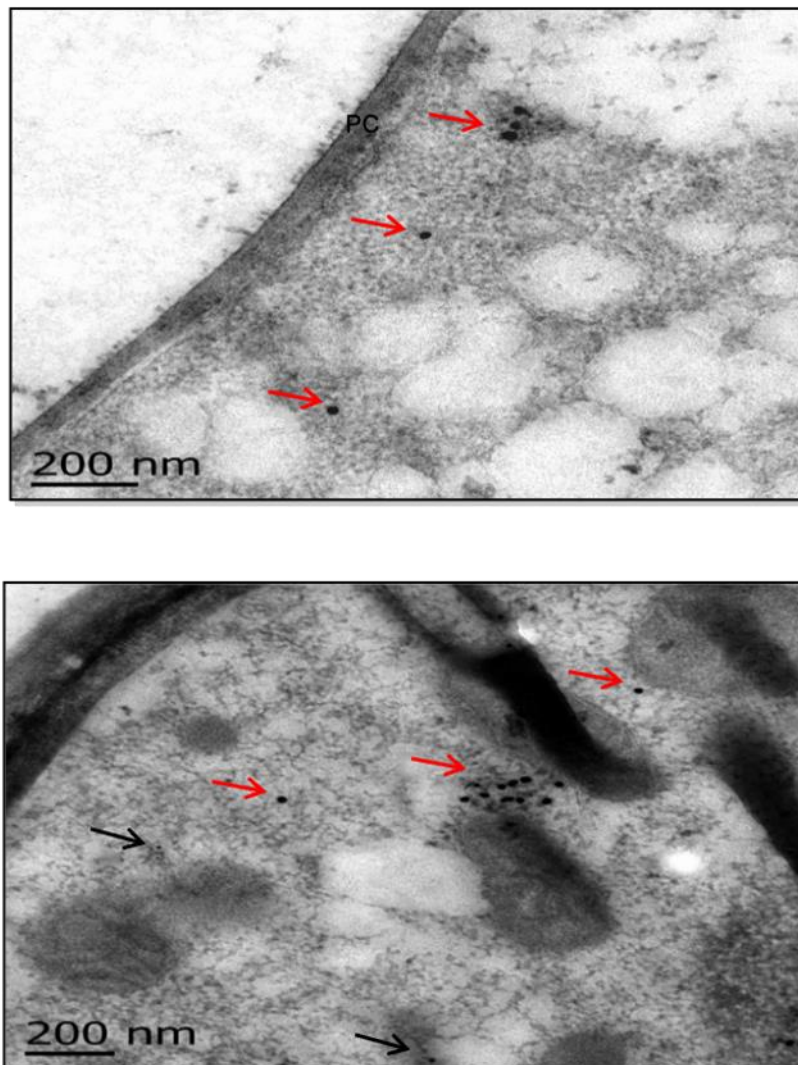


Figura 8. Inmunolocalización de DD y peroxidasa en células de *M. circinelloides* crecidas en glucosa. Esporas de YR-1 fueron crecidas en MMSP suplementadas con glucosa como única fuente de carbono; el micelio fue filtrado, lavado, fijado y preparado para realizar cortes para microscopía electrónica como se describe en Materiales y Métodos. Una vez que los cortes se realizaron, se sometieron a una doble Inmunodetección con dos ab primarios: el primero α DD y posteriormente otro α peroxidasa, los segundos ab utilizados estaban acoplado a partículas de oro de 15 y 25 nm respectivamente, las flechas negras indican detección de DD y las flechas rojas detección de peroxidasa.

Los resultados obtenidos durante la observación de los diferentes cortes microscópicos, muestran que en el 76% de los campos observados no se detectó una co-localización entre ambos anticuerpos, la señal de DD estaba localizada en vesículas muy específicas, al igual que la señal de la peroxidasa, y en ningún caso las marcas se encontraron juntas en la célula (Tabla 1).

La mayoría de las enzimas oxidorreductasas que son responsables del metabolismo de degradación de hidrocarburos, han sido encontradas en el citoplasma de las células o formando parte del complejo p450 dentro del peroxisoma [29]–[32]. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo (Figuras 1,3-8) muestran que la DD de *M. circinelloides*, está localizada en el citoplasma, pero contenida en pequeñas vesículas, que son de un tamaño parecido a

los peroxisomas y que tienen una densidad de flotación muy cercanas a la peroxidasa. Estas vesículas, ya habían sido observadas con anterioridad para YR-1 [33], en donde se encontró la actividad Alcohol oxidasa asociada a pequeñas vesículas que poseían una densidad diferente a los peroxisomas y que al observarse al microscopio electrónico eran electrodensas. En *Aspergillus sydowii*, se realizó un análisis transcriptómico en donde se evaluaron aquellos genes diferencialmente expresados durante la degradación de HPAs en medio hipersalino, encontrando una gran cantidad de genes involucrados en el proceso [34]. Seguramente muchas de las respuestas involucradas en la localización de estas enzimas se encuentran en el ámbito de la metagenómica. Y en el caso de bacterias como *Geobacillus sp.* ya se tiene bien determinada la secuencia del gen que codifica para la naftalendiol deshidrogenasa [35], sin embargo, aún no se conoce su localización y si está también está compartimentalizada en el citoplasma.

Para el caso de *M. circinelloides*, los resultados apuntan a que la presencia de estas enzimas dentro de compartimentos específicos, podría estar relacionado con el

sistema de entrada y transporte del naftaleno dentro de la célula. Cuando se realizó la inmunodetección de las células de YR-1 crecidas en naftaleno, se observó la presencia de la marca de oro de 15 nM correspondiente a la enzima DD, en posiciones muy cercanas a la pared celular, éste fenómeno se observó en el 75% de las células. Por lo tanto, se propone la participación de estas vesículas en la captura y transporte del naftaleno dentro de la célula.

La vía de entrada del naftaleno al interior de la célula sería mediante difusión pasiva [36]–[38] e inmediatamente las vesículas se fusionarían con la membrana para atrapar el naftaleno y encapsularlo al momento de separarse de la membrana; dentro de estas vesículas, las enzimas que participan en el proceso de degradación del naftaleno, como es el caso de la dioxigenasa y la dihidrodiol deshidrogenasa, degradarían el naftaleno hasta la formación del catecol, para posteriormente liberarlo al citoplasma y que a su vez sea transformado en piruvato y acetil coenzima A, que en la mitocondria proporcionará a la célula energía necesaria para su sobrevivencia [30].

Tabla 1. Análisis cuantitativo de la distribución intracelular de la enzima DD en *Mucor circinelloides* crecido en naftaleno.

Muestra 1					Muestra 2				
Numero de corte	Colocaliza con Peroxisomas		Está cerca de la pared		Numero de corte	Colocaliza con Peroxisomas		Está cerca de la pared	
	Si	No	Si	No		Si	No	Si	No
1	2	8	6	4	1	4	6	7	3
2	3	7	8	2	2	1	9	7	3
3	3	7	6	4	3	1	9	6	4
4	2	8	8	2	4	4	6	8	2
5	3	7	4	6	5	1	9	7	3
Total	13	37	32	18	Total	11	39	35	15
Colocaliza con el peroxisoma: No en un 76%					Se localiza cerca de la pared celular: Si en un 67%				
Se analizaron 10 células por corte, en total se contabilizaron 50 células por muestra Cada corte representa un bloque individual.									

En los últimos años, el estudio de los procesos de biorremediación ha aumentado de manera importante, sobre todo por la atención que se da a la protección del ambiente en la actualidad, lo que ha estimulado entre otras posibilidades la búsqueda de nuevos organismos que cumplan esta función [39]–[41]. Debido a esto, se han tenido diversos acercamientos que permiten ahondar en el conocimiento de la forma en la cual los microorganismos son capaces de crecer y asimilar los contaminantes presentes en el medio; este amplio conocimiento ha sido perfectamente elucidado para bacterias, como es el caso de *Pseudomonas putida* [42], [43]. Los reportes en hongos son aún muy limitados, algunos de los trabajos se han centrado en el importante papel de *Cunninghamella elegans*, para el metabolismo de antraceno y fenantreno [44] y de hongos comestibles como es el caso de los trabajos realizados con *Pleurotus ostreatus* [45].

El uso del género *Mucor*, en biodegradación ha sido poco estudiado, y las investigaciones realizadas se centran en la degradación de petróleo crudo y no en sus derivados [46] y de algunos colorantes [47]. El presente trabajo aporta el esclarecimiento del potencial de este hongo como micorremediador de HPAs, específicamente del naftaleno, sin embargo, aún se requiere una mayor investigación en esta área, que logre elucidar por completo la forma en la cual hongos como *Mucor circinelloides* realizan su proceso de degradación de manera intracelular.

4. Conclusiones

Se encontró que la enzima dihidrodiol deshidrogenasa se localiza en compartimentos específicos y bien definidos, de carácter electrodensos que pudieran ser diferentes a los peroxisomas.

En este sentido, se podría proponer a la cepa YR-1 de *M. circinelloides* como un potencial biorremediador de sitios contaminados, sin embargo, todavía hacen falta una mayor cantidad de estudios para establecer el mecanismo por el cual realiza el proceso de biodegradación de hidrocarburos particularmente aromáticos y es indispensable continuar con la investigación de la ruta de biodegradación de hidrocarburos aromáticos.

5. Referencias

- [1] M. D. King, J. E. Elliott, and T. D. Williams, “Effects of petroleum exposure on birds: A review”, *Science of The Total Environment*, vol. 755, p. 142834, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142834.
- [2] L. Mondragón-Camarillo, S. R. Zaragoza, Ma. R. Mendoza-López, N. Cabirol, and M. Macek, “Recovery of Soil Protozoan Community Structure Promoted by *M. sativa* After a Strong Pulse of Hydrocarbon Contamination”, *Water Air Soil Pollut*, vol. 231, no. 6, p. 283, 2020, doi: 10.1007/s11270-020-04618-7.
- [3] D. B. Gleeson *et al.*, “Natural attenuation of legacy hydrocarbon spills in pristine soils is feasible despite difficult environmental conditions in the monsoon tropics”, *Science of The Total Environment*, vol. 799, p. 149335, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2021.149335.
- [4] J.-W. Liu *et al.*, “Surfactant-enhanced remediation of oil-contaminated soil and groundwater: A review”, *Science of The Total Environment*, vol. 756, p. 144142, 2021, doi:

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144142>.
- [5] H. Luo, H. Wang, L. Kong, S. Li, and Y. Sun, “Insights into oil recovery, soil rehabilitation and low temperature behaviors of microwave-assisted petroleum-contaminated soil remediation”, *J Hazard Mater*, vol. 377, pp. 341–348, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.092>.
- [6] A. Dhaka and P. Chattopadhyay, “A review on physical remediation techniques for treatment of marine oil spills”, *J Environ Manage*, vol. 288, p. 112428, Jun. 2021, doi: [10.1016/J.JENVMAN.2021.112428](https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.112428).
- [7] P. E. Ndimele, A. O. Saba, D. O. Ojo, C. C. Ndimele, M. A. Anetekhai, and E. S. Erundu, “Remediation of Crude Oil Spillage”, *The Political Ecology of Oil and Gas Activities in the Nigerian Aquatic Ecosystem*, pp. 369–384, Jan. 2018, doi: [10.1016/B978-0-12-809399-3.00024-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809399-3.00024-0).
- [8] A. Shah and M. Shah, “Characterisation and bioremediation of wastewater: A review exploring bioremediation as a sustainable technique for pharmaceutical wastewater”, *Groundw Sustain Dev*, vol. 11, p. 100383, Oct. 2020, doi: [10.1016/J.GSD.2020.100383](https://doi.org/10.1016/J.GSD.2020.100383).
- [9] C. M. Quintella, A. M. T. Mata, and L. C. P. Lima, “Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils”, *J Environ Manage*, vol. 241, pp. 156–166, Jul. 2019, doi: [10.1016/J.JENVMAN.2019.04.019](https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2019.04.019).
- [10] I. M. Gillespie and J. C. Philp, “Bioremediation, an environmental remediation technology for the bioeconomy,” *Trends Biotechnol.*, vol. 31, pp. 329–332, 2013.
- [11] N. Akhtar and M. A. Mannan, “Mycoremediation: Expunging environmental pollutants”, *Biotechnology Reports*, vol. 26, p. e00452, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00452>.
- [12] A. Ratnasari, A. Syafiuddin, A. B. H. Kueh, S. Suhartono, and T. Hadibarata, “Opportunities and Challenges for Sustainable Bioremediation of Natural and Synthetic Estrogens as Emerging Water Contaminants Using Bacteria, Fungi, and Algae”, *Water Air Soil Pollut*, vol. 232, no. 6, pp. 1–23, Jun. 2021, doi: [10.1007/S11270-021-05183-3/FIGURES/5](https://doi.org/10.1007/S11270-021-05183-3/FIGURES/5).
- [13] S. Verma and A. Kuila, “Bioremediation of heavy metals by microbial process”, *Environ Technol Innov*, vol. 14, p. 100369, May 2019, doi: [10.1016/J.ETI.2019.100369](https://doi.org/10.1016/J.ETI.2019.100369).
- [14] J. A. Mir-Tutusa, R. Baccar, G. Caminal, and M. Sarra, “Can white-rot fungi be a real wastewater treatment alternative for organic micropollutants removal? A review”, *Water Res*, vol. 138, pp. 137–151, Jul. 2018, doi: [10.1016/J.WATRES.2018.02.056](https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2018.02.056).
- [15] Y. Wang, S. Chen, J. Zhou, X. Fan, L. He, and G. Fan, “Enhanced degradation capability of white-rot fungi after short-term pre-exposure to silver ion: Performance and selectively antimicrobial

- mechanisms”, *Science of the Total Environment*, vol. 818, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151672.
- [16] A. C. del Álamo, M. I. Pariente, R. Molina, and F. Martínez, “Advanced bio-oxidation of fungal mixed cultures immobilized on rotating biological contactors for the removal of pharmaceutical micropollutants in a real hospital wastewater”, *J Hazard Mater*, vol. 425, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.128002.
- [17] L. Palli, A. Gullotto, S. Tilli, D. Caniani, R. Gori, and A. Scozzafava, “Biodegradation of 2-naphthalensulfonic acid polymers by white-rot fungi: Scale-up into non-sterile packed bed bioreactors”, *Chemosphere*, vol. 164, pp. 120–127, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.08.071.
- [18] Y. Ding, K. Cui, X. Liu, Q. Xie, Z. Guo, and Y. Chen, “Lignin peroxidase-catalyzed direct oxidation of trace organic pollutants through a long-range electron transfer mechanism: Using propranolol as an example”, *J Hazard Mater*, vol. 431, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.128544.
- [19] Y. Lee, Y. Lee, and C. O. Jeon, “Biodegradation of naphthalene, BTEX, and aliphatic hydrocarbons by *Paraburkholderia aromaticivorans* BN5 isolated from petroleum-contaminated soil”, *Scientific Reports* 2019 9:1, vol. 9, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2019, doi: 10.1038/s41598-018-36165-x.
- [20] S. Kumari, R. K. Regar, and N. Manickam, “Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria”, *Bioresour Technol*, vol. 254, pp. 174–179, Apr. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2018.01.075.
- [21] A. Imam, S. Kumar Suman, P. K. Kanaujia, and A. Ray, “Biological machinery for polycyclic aromatic hydrocarbons degradation: A review”, *Bioresour Technol*, vol. 343, p. 126121, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2021.126121.
- [22] W. Wang, L. Wang, and Z. Shao, “Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation pathways of the obligate marine PAH degrader *Cyclocasticus* sp. strain P1”, *Appl Environ Microbiol*, vol. 84, no. 21, Nov. 2018, doi: 10.1128/AEM.01261-18/SUPPL_FILE/ZAM021188824S1.PDF.
- [23] K. Nomura *et al.*, “Identification of New Dioxygenases Able to Recognize Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with High Aromaticity”, *Catalysts* 2022, Vol. 12, Page 279, vol. 12, no. 3, p. 279, Mar. 2022, doi: 10.3390/CATAL12030279.
- [24] J. E. Rogers and D. T. Gibson, “Purification and properties of cis-toluene dihydrodiol dehydrogenase from *Pseudomonas putida*”, *J Bacteriol*, vol. 130, no. 3, pp. 1117–1124, 1977, doi: 10.1128/JB.130.3.1117-1124.1977.
- [25] R. L. Camacho-Morales, V. Zazueta-Novoa, J. L. G. Casillas, E. A. Ballesteros, J. A. O. Bote, and R. Zazueta-Sandoval, “Purification and characteristics of an inducible by polycyclic aromatic hydrocarbons NADP+-dependent naphthalenediol

- dehydrogenase (NDD) in *Mucor circinelloides* YR-1”, *Protein Expr Purif*, vol. 97, pp. 1–8, May 2014, doi: 10.1016/J.PEP.2014.02.001.
- [26] Y. Alvarado-Caudillo *et al.*, “Presence and physiologic regulation of alcohol oxidase activity in an indigenous fungus isolated from petroleum-contaminated soils”, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2002 98:1, vol. 98, no. 1, pp. 243–255, 2002, doi: 10.1385/ABAB:98-100:1-9:243.
- [27] K. L. Lee, H. R. Buckley, and C. C. Campbell, “An amino acid liquid synthetic medium for the development of mycellal and yeast forms of *Candida albicans*”, *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, vol. 13, no. 2, pp. 148–153, Jan. 1975, doi: 10.1080/00362177585190271.
- [28] A. Rosas-Arellano *et al.*, “A simple solution for antibody signal enhancement in immunofluorescence and triple immunogold assays”, *Histochemistry and Cell Biology* 2016 146:4, vol. 146, no. 4, pp. 421–430, May 2016, doi: 10.1007/S00418-016-1447-2.
- [29] P. Sawulski, B. Boots, N. Clipson, and E. Doyle, “Differential degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures by indigenous microbial assemblages in soil”, *Lett Appl Microbiol*, vol. 61, no. 2, pp. 199–207, Aug. 2015, doi: 10.1111/lam.12446.
- [30] Sakshi and A. K. Haritash, “A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation”, *Arch Microbiol*, vol. 202, no. 8, pp. 2033–2058, Oct. 2020, doi: 10.1007/s00203-020-01929-5.
- [31] R. H. Peng *et al.*, “Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons”, *FEMS Microbiol Rev*, vol. 32, no. 6, pp. 927–955, Nov. 2008, doi: 10.1111/J.1574-6976.2008.00127.X.
- [32] D. Miyazawa *et al.*, “Isolation and Characterization of Genes Responsible for Naphthalene Degradation from Thermophilic Naphthalene Degradar, *Geobacillus* sp. JF8”, *Microorganisms*, vol. 8, no. 1, Jan. 2020, doi: 10.3390/MICROORGANISMS8010044.
- [33] H. Silva-Jiménez and R. Zazueta-Sandoval, “Intracellular fate of hydrocarbons: possible existence of specific compartments for their biodegradation”, *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 121–124, no. 1–3, pp. 205–217, 2005, doi: 10.1385/ABAB:121:1-3:0205.
- [34] H. Peidro-Guzmán *et al.*, “Transcriptomic analysis of polyaromatic hydrocarbon degradation by the halophilic fungus *Aspergillus sydowii* at hypersaline conditions”, *Environ Microbiol*, vol. 23, no. 7, pp. 3435–3459, Jul. 2021, doi: 10.1111/1462-2920.15166.
- [35] J. N. Bateman, B. Speer, L. Feduik, and R. A. Hartline, “Naphthalene association and uptake in *Pseudomonas putida*”, *J Bacteriol*, vol. 166, no. 1, pp. 155–161, 1986, doi: 10.1128/JB.166.1.155-161.1986.
- [36] B. Mohapatra and P. S. Phale, “Microbial Degradation of

- Naphthalene and Substituted Naphthalenes: Metabolic Diversity and Genomic Insight for Bioremediation”, *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 9, p. 144, Mar. 2021, doi: 10.3389/FBIOE.2021.602445/BIBTEX.
- [37] A. Choudhary, H. Purohit, and P. S. Phale, “Benzoate transport in *Pseudomonas putida* CSV86”, *FEMS Microbiol Lett*, vol. 364, no. 12, Jul. 2017, doi: 10.1093/FEMSLE/FNX118.
- [38] V. Kumar and S. K. Dwivedi, “Mycoremediation of heavy metals: processes, mechanisms, and affecting factors”, *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, no. 9, pp. 10375–10412, 2021, doi: 10.1007/s11356-020-11491-8.
- [39] A. K. Rathankumar *et al.*, “Surfactant-aided mycoremediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs): progress, limitation, and countermeasures”, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 97, no. 2, pp. 391–408, Feb. 2022, doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.6721>.
- [40] H. Park and I.-G. Choi, “Genomic and transcriptomic perspectives on mycoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons,” *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 104, no. 16, pp. 6919–6928, 2020, doi: 10.1007/s00253-020-10746-1.
- [41] F. Song, Y. Shi, S. Jia, Z. Tan, and H. Zhao, “Advances of naphthalene degradation in *Pseudomonas putida* ND6”, *AIP Conf Proc*, vol. 1944, no. 1, p. 020074, Mar. 2018, doi: 10.1063/1.5029792.
- [42] B. Mohapatra and P. S. Phale, “Microbial Degradation of Naphthalene and Substituted Naphthalenes: Metabolic Diversity and Genomic Insight for Bioremediation”, *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 9, p. 144, Mar. 2021, doi: 10.3389/FBIOE.2021.602445/BIBTEX.
- [43] A. K. Shankhwar and R. Paliwal, “Fungi in bioremediation of soil: Mycoremediation of PAHs compounds”, *Fungi Bio-prospects in Sustainable Agriculture, Environment and Nano-technology: Volume 2: Extremophilic Fungi and Myco-mediated Environmental Management*, pp. 157–170, Jan. 2021, doi: 10.1016/B978-0-12-821925-6.00008-3.
- [44] S. C. Chun, M. Muthu, N. Hasan, S. Tasneem, and J. Gopal, “Mycoremediation of PCBs by *Pleurotus ostreatus*: Possibilities and Prospects”, *Applied Sciences*, vol. 9, no. 19, p. 4185, Oct. 2019, doi: 10.3390/app9194185.
- [45] E. Azin, K. Jenab, and H. Moghimi, “Biodegradation of crude oil by a halotolerant and biosurfactant producing strain of *Mucor circinelloides* in different microcosm conditions,” <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1828385>, 2020, doi: 10.1080/03067319.2020.1828385.
- [46] E. Azin and H. Moghimi, “Efficient mycosorption of anionic azo dyes by *Mucor circinelloides*: Surface

functional groups and removal
mechanism study”, *J Environ Chem
Eng*, vol. 6, no. 4, pp. 4114–4123,

Aug. 2018, doi:
10.1016/J.JECE.2018.06.002.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Caracterización y prevalencia de los polimorfismos de los farmacogenes *CYP2C8* y *CYP2C9* implicados en el metabolismo de anti-inflamatorios no esteroideos en población del norte de México

Characterization and prevalence of polymorphisms of *CYP2C8* and *CYP2C9* pharmacogenosy involved in the metabolism of non-steroidal anti-inflammatory drugs in a northern Mexican population

Michel-Martínez, H.^a, González-Galarza, F.F.^a, López-Márquez, F.C.^a, Prieto-Hinojosa, A.I.^a, Argüello-Astorga, J.R.^{a,b}, Arellano-Pérez Vertti, R.D.^{a*}

^a Facultad de Medicina-Unidad Torreón, Universidad Autónoma de Coahuila. Torreón, México.

^b Instituto de Ciencia y Medicina Genómica, Torreón, Coahuila, México.

hadamimar@gmail.com; faviel.gonzalez@uadec.edu.mx; francisco.lopez@uadec.edu.mx; adprietoh@uadec.edu.mx; rafael_arguello@hotmail.com; danielarellano@uadec.edu.mx*

Aplicación empresarial: Diseño de aplicaciones de software que permitan analizar variantes genéticas relacionadas al metabolismo de fármacos.

Innovación tecnológica: Caracterización de la diversidad genética en los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* en una población del norte de México.

Área de aplicación industrial: La innovación presentada puede aplicarse en la práctica clínica. Al conocer la frecuencia de los diferentes fenotipos metabolizadores en una muestra de la población mexicana, es posible tener un panorama más real de los diferentes metabolismos y, por consiguiente, realizar una mejor prescripción, teniendo como fin que el paciente consuma sólo la dosis necesaria por sus características genéticas y que evite la aparición de efectos no deseados o que no logre obtener el efecto terapéutico deseado.

Recibido: 22 febrero 2022

Aceptado: 11 octubre 2022

Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) constitute a group of drugs that differ in their therapeutic efficacy and toxicity. The P450 superfamily (CYP) enzyme system is the main system involved in the metabolism of these drugs. Different polymorphisms in the *CYP2C8* and *CYP2C9* genes code for this enzyme system, which is involved in the first metabolic steps of these drugs, which is reflected in the bioavailability, pharmacokinetics and risk of adverse events. There is a wide variation of frequencies in different ethnic groups for genetic variants in *CYP2C8* and

CYP2C9. For this reason, the objective of this research was to report the frequencies of the *1, *2 and *3 alleles of the CYP2C8 and CYP2C9 genes in a mestizo Mexican population residing in northern Mexico. Additionally, we compare these allelic frequencies with those reported in other regions

232 blood samples from mestizo Mexican individuals from northern Mexico, were analyzed and genotyped with the Affymetrix Axiom® Precision Medicine Research Array (PMRA) with approximately 900,000 SNPs. The frequency report was made by direct counting and compared with other Mexican and world populations. In this way, the polymorphisms of the CYP2C8 and CYP2C9 genes were characterized. The allele frequencies found were CYP2C9*1= 88.1% (normal), CYP2C9*2=8.0% (inactive), CYP2C9*3=3.9% (inactive), CYP2C8*1=88.8% (normal), CYP2C8*2=2.2% (inactive) and CYP2C8*3=5.2% (inactive). For CYP2C8, 18 genotypes (3.8%) generated could not be determined due to ambiguities at the time of identification.

In this study, it was possible to find genotypic and phenotypic frequencies similar to those reported in the Mexican population, but with a wide variability in the frequencies of the different alleles corresponding to the CYP2C8 and CYP2C9 genes for other ethnic groups; Given the wide variability of the drug efficacy and potential adverse events related to them, the foundation of this molecular information will allow us to use genomic data in the clinical processes of patients and the practice of precision medicine, and in this way be able to classify individuals according to their ability to metabolize NSAIDs, which will not only be reflected in expecting a better therapeutic response but also in estimating the probability of the risk of adverse events due to these drugs in each individual.

Key words: CYP2C8, CYP2C9, polymorphisms, NSAID, Mexican population.

Resumen

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen un grupo de fármacos que difieren en su eficacia terapéutica y toxicidad. El sistema enzimático de la superfamilia (CYP) P450 está involucrado principalmente en el metabolismo de estos fármacos. Los diferentes polimorfismos en los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* codifican para este sistema enzimático que participa en los primeros pasos metabólicos de estos medicamentos, lo que se refleja en la biodisponibilidad, farmacocinética y riesgo de eventos adversos. Existe una amplia variación de frecuencias en diferentes poblaciones en el mundo y en nuestro país para las variantes genéticas en *CYP2C8* y *CYP2C9*. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue reportar las frecuencias de los alelos *1, *2 y *3 de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* en población mexicana mestiza que reside en el norte de México. Adicionalmente comparamos estas frecuencias alélicas con las reportadas en otras regiones.

Se analizaron 232 muestras sanguíneas de individuos mexicanos mestizos del norte de México, las cuales se genotipificaron con el microarreglo Axiom® Precision Medicine Research Array de Affymetrix con aproximadamente 900,000 SNPs. El reporte de frecuencias se realizó por conteo

directo y se comparó con otras poblaciones mexicanas y del mundo. De esta manera, se caracterizaron los polimorfismos de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9*. Las frecuencias alélicas encontradas fueron *CYP2C9*1*= 88.1% (normal), *CYP2C9*2*=8% (inactivo), *CYP2C9*3*=3.9% (inactivo), *CYP2C8*1*=88.8% (normal), *CYP2C8*2*=2.2% (inactivo) y *CYP2C8*3*=5.2% (inactivo). En *CYP2C8*, no fue posible determinar 18 genotipos (3.8%) generados por presentar ambigüedades en el momento de la identificación.

En este estudio fue posible encontrar frecuencias genotípicas y fenotípicas similares a las reportadas en diferentes etnias de México, pero con una amplia variabilidad respecto a las frecuencias de los diferentes alelos correspondientes a los genes *CYP2C8* y *CYP2C9*, para otras poblaciones en el mundo; dada la amplia variabilidad de la eficacia de fármacos y potenciales eventos adversos relacionados a éstos, el fundamento de esta información molecular nos permitirá emplear datos genómicos en los procesos clínicos de los pacientes y la práctica de una medicina de precisión, y de esta manera poder clasificar a los individuos de acuerdo a su capacidad metabolizadora de los AINEs, lo que no solo se reflejará en esperar una mejor respuesta terapéutica sino en estimar la probabilidad en el riesgo de eventos adversos debidos a éstos fármacos en cada individuo.

Palabras clave: *CYP2C8*, *CYP2C9*, polimorfismos, AINEs, población mexicana.

Introducción

El citocromo P450 (*CYP450*), es una superfamilia de enzimas (Santes-Palacios *et al.*, 2016) con actividad metabólica determinada por los polimorfismos en los genes *CYP* (Sosa-Macías & LLerena, 2013). Estos polimorfismos determinan la variabilidad interindividual relacionada con la respuesta terapéutica y eventos adversos asociados a fármacos.

En el genoma humano existen 57 genes *CYP* activos divididos en 18 familias de enzimas y 43 subfamilias que codifican para proteínas (Mescher & Haarmann-Stemmann, 2018; Nebert, Wikvall, & Miller, 2013; Sim & Ingelman-Sundberg, 2010). En el metabolismo de fármacos, la familia *CYP450* 1, 2 y 3 son las que principalmente participan en el metabolismo de muchos compuestos endógenos y exógenos (Xing *et al.*, 2021). Las variantes de esta familia enzimática metabolizan diferentes tipos de

medicamentos tales como antihipertensivos, antidiabéticos, antineoplásicos, anticoagulantes, anticonvulsivos e indiscutiblemente, los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).

Los AINEs son fármacos que pertenecen a diferentes familias químicas, pero comparten tres acciones terapéuticas que los definen como grupo: analgésica, antiinflamatoria y antipirética, como, por ejemplo: ibuprofeno, ketorolaco, naproxeno y diclofenaco. Estos fármacos son ampliamente consumidos por la población, ya sea a través de prescripción médica o compra libre (Rollason, Flora Samer, Daali, & Alexandre Desmeules, 2014).

Los AINEs actúan principalmente a través de la inhibición de dos vías enzimáticas: ciclooxigenasa 1 (COX-1) y ciclooxigenasa 2 (COX-2). Aunque se consideran fármacos eficaces y seguros, la inhibición de estas dos vías enzimáticas también puede estar

asociada a diversos efectos adversos (Sostres, Gargallo, & Lanas, 2013).

Con el advenimiento en el estudio de la farmacogenética, se han podido establecer ciertos factores genéticos que influyen en el metabolismo de los AINEs. Los genes y sus polimorfismos, así como sus proteínas (enzimas) que de ellos derivan, generan variabilidad en las características

farmacocinéticas de los AINEs, lo que a su vez ocasiona diferencias en la eficacia y toxicidad de éstos (Wyatt, Pettit, & Harirforoosh, 2012).

Diferentes autores han estudiado las características farmacocinéticas de los AINEs a partir de diferentes variantes alélicas relacionadas a la superfamilia CYP450. La Tabla 1 muestra algunos ejemplos.

Tabla 1. Ejemplo de fenotipos metabolizadores y características farmacocinéticas de diferentes AINEs en relación a variantes alélicas de *CYP2C8* y *CYP2C9*.

Variante Alélica	Fenotipo metabólico	AINE	C _{max} (ng ml ⁻¹)	t _{max} (h)	AUC _{0-∞} (mean±S.D.) (g h/ml)	Referencia
CYP2C9*1/*13	Lento	Meloxicam	2270 _ 472 (1907, 2633)	4.0 (3.0–5.0)	109.7 ±15.8 (97.6, 121.8)	(J. W. Bae, Choi, Jang, & Lee, 2011)
CYP2C9*3	Lento	Celecoxib	469 (218–865)	2.0 (1.6–3.0)	4 (34–100)	(Kirchheiner et al., 2003)
CYP2C8 *1/*3	Rápido	Ibuprofeno	25.9±7.0	1.32±0.66	81±18	(López-Rodríguez et al., 2008)
CYP2C9 *1/*3	Lento	S-Ibuprofeno	30.350	2.50	182	(López-Rodríguez et al., 2008)
CYP2C9*1/*2	Lento	Piroxicam	2.2 _ 0.5		256 _ 97	(Perini, Vianna-Jorge, Brogliato, & Suarez-Kurtz, 2005)
CYP2C9*1/*3	Normal	Naproxeno	045.750 ± 003.90	000.710 ± 000.19	769.930 ± 102.50	(J.-W. Bae et al., 2009)
CYP2C9*2	Lento	Diclofenaco	2.3	0.4	3.0	(Yasar et al., 2001)

Por lo anterior, es importante comprender la farmacogenética y la farmacogenómica de los AINEs para que, por medio de una medicina más personalizada, se puedan obtener los mejores resultados terapéuticos con el menor riesgo de eventos adversos entre los que destacan: reacciones alérgicas, molestias digestivas, complicaciones cardiovasculares y renales, entre otras.

La familia de enzimas CYP2C son el sistema enzimático más importante que participan en el metabolismo de los AINEs. Sin embargo, la actividad de éstas es variable en los diferentes AINEs. Los dos genes más estudiados que participan en el metabolismo de los AINEs son *CYP2C8* y *CYP2C9*.

El gen *CYP2C8* se ubica en el cromosoma 10q24.1 y codifica un miembro de la superfamilia de enzimas CYP450, que se localiza en diferentes compartimentos (por ejemplo, la membrana del retículo endoplasmático) y es responsable del metabolismo oxidativo de xenobióticos, entre los que se incluyen más de 100 fármacos (Gustincich, Manfioletti, Del Sal, Schneider, & Carninci, 1991). Hasta este momento, han sido identificadas 18 variantes alélicas con diversas implicaciones clínicas (Adehin, Bolaji, & Kennedy, 2017).

En cuanto al gen *CYP2C9*, éste se localiza en el brazo largo del cromosoma 10q24.2,

formado por 10 exones e intrones de gran tamaño; su longitud es de 55,734 pb y codifica para una proteína de 490 aminoácidos (Alcazar-González *et al.*, 2013). Hasta la fecha, 71 alelos han sido reportados en la base de datos de PharmVar para *CYP2C9* (Adehin *et al.*, 2017).

Los diferentes polimorfismos en los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* codifican para las enzimas que participan en el proceso de biodisponibilidad, farmacocinética y riesgo de eventos adversos de los AINEs. Aunque estas enzimas son las principalmente involucradas en el metabolismo de dichos fármacos, su rol de participación en el metabolismo difiere para los diferentes AINEs.

Así, por ejemplo, *CYP2C8*, tiene un rol predominante (mayor a 90%) para metabolismo de ibuprofeno, entre 50% y 90% para diclofenaco y mínimo rol metabólico para dipirona (menos 50%). *CYP2C9* participa en > 90% del metabolismo de fármacos como celecoxib, ibuprofeno, lornoxicam y piroxicam; para otros como aceclofenaco, diclofenaco, flurbiprofeno, indometacina, meloxicam y tenoxicam, la participación de *CYP2C9* en el metabolismo es menor (50% a 90%); y, un tercer grupo de AINEs que son metabolizados solo parcialmente (menos de 50%), tales como aspirina y dipirona (Agúndez, García-Martín, & Martínez, 2009; García-Martín, Martínez, Tabarés, Frías, & Agúndez, 2004; Martínez *et al.*, 2005). (Stamer & StÜber, 2007).

Actualmente se sabe que la variabilidad (polimorfismos) en los genes que codifican para estos sistemas enzimáticos es uno de varios factores que influye en la farmacocinética de los AINEs, lo que puede contribuir a las diferencias en la respuesta terapéutica, la toxicidad y las reacciones adversas a los fármacos, de lo que depende su

uso clínico (Arnaldo, Thompson, Lopes, Suffys, & Santos, 2013).

Existen diferencias en las poblaciones del mundo y dentro de los diferentes grupos étnicos en México, en las frecuencias de los polimorfismos genéticos de *CYP450*, lo que a su vez influye en las variaciones de la biodisponibilidad de los fármacos. Esto se traduce en diferencias interindividuales en términos de la farmacocinética y respuesta a los medicamentos. Al respecto, los polimorfismos genéticos más frecuentes en el metabolismo de los AINEs son *CYP2C8*2* en población Africana (0.18%), *CYP2C8*3* y *CYP2C8*4* en caucásicos (0.095% a 0.17 % y 0.054% a 0.075%, respectivamente) y *CYP2C8*5* en población oriental (0.0025% a 0.009%) (García-Martín, Martínez, Ladero, & Agúndez, 2006).

Para *CYP2C9*, la mayoría de sus variaciones genéticas ocasionan una actividad enzimática disminuida para el metabolismo de AINEs. Las variantes más comunmente asociadas a una actividad enzimática disminuida son *CYP2C9*2*, *3, *5, *6 y *11. Asimismo, existe una amplia variación interétnica entre distintas poblaciones para *CYP2C9*. Por ejemplo, en individuos caucásicos las más comunes son *CYP2C9*2* (0.08% a 0.191%) y *CYP2C9*3*. En poblaciones orientales, *CYP2C9*2* está ausente y *CYP2C9*3* es poco frecuente (1-3%). En poblaciones africanas, las frecuencias de las variantes *CYP2C9*2*, *3, *5, *6 y *11, oscilan entre el 1 y el 3%. Adicionalmente, la frecuencia es muy variable entre americanos y británicos (8% y 19%, respectivamente) (García-Martín *et al.*, 2006; Xie, Prasad, Kim, & Stein, 2002).

En México, se ha reportado una frecuencia de 0.1%, con prevalencia heterocigota y homocigota de 14 y 3% para *CYP2C9*2* y 0.03% con 7% de heterocigosidad y sin homocigosidad para *CYP2C9*3*, siendo la prevalencia de *CYP2C9*2* muy parecida a la

de la población caucásica, y la de *CYP2C9**3 a la población asiática (Aguilar, Rojas, & Collados, 2008).

Adicionalmente, en un estudio en población mestizo-mexicana, mestizo-tepehuanes y españoles, los autores confirmaron estos hallazgos previos, respecto a una frecuencia alélica *CYP2C9**2 más baja en mexico-amerindios (Dorado *et al.*, 2011).

El objetivo de esta investigación fue reportar las frecuencias de los alelos *1, *2 y *3 de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* en población mexicana mestiza que reside en el norte de México y comparar el ajuste de las frecuencias alélicas con otras reportadas en México y otras partes del mundo.

Materiales y Equipos

Población de Estudio

Estudio transversal en el que se analizaron 232 muestras sanguíneas de individuos mexicanos mestizos (129 mujeres y 103 hombres) residentes de diferentes regiones del norte de México (principalmente de la región de la Comarca Lagunera incluyendo municipios de los estados de Coahuila y Durango), mayores de 18 años, sin parentesco sanguíneo, cuya ancestría fue descrita como mexicanos mestizos hasta la segunda generación (padres) y que aceptaron participar en el proyecto de investigación y firmaron la carta de consentimiento informado. El tamaño de la muestra se estimó en base a una población infinita. Para este cálculo se consideró la frecuencia para el alelo *CYP2C9**2 de 2.3% perteneciente a una muestra de individuos con ancestría mexicana que residen en los Ángeles, California (MXL) reportada en la base de datos HapMap, migrada posteriormente a la base de datos 1K genomes y disponible en Ensembl a través de su portal web (www.ensembl.org).

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina-Unidad Torreón de la Universidad Autónoma de Coahuila, con el número de referencia: C.B/01-05-21 y realizado de conformidad con los principios éticos para la investigación médica con seres humanos de la Declaración de Helsinki.

Métodos Experimentales

Obtención e Integridad del ADN

Se recolectaron muestras de sangre periférica en tubos con EDTA, mismos que se centrifugaron durante 10 minutos a 4000 rpm para separar los diferentes componentes. Para extraer la capa de leucocitos se usó una pipeta automática y puntilla estéril de 1000 µL. Los leucocitos obtenidos se conservaron en refrigeración a 4 °C, entre 24 y 72 horas, para la extracción del ADN. El ADN genómico se aisló de los leucocitos mediante el procedimiento estándar de extracción DTAB-CTAB (Gustincich *et al.*, 1991) que tiene como principio el uso de detergentes y solventes orgánicos para obtener ADN. Para comprobar la integridad y concentración del ADN, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1% y espectrofotometría, respectivamente.

Genotipificación

Para la genotipificación de todas las muestras se utilizó el microarreglo Axiom® Precision Medicine Research Array (PMRA) de Affymetrix con aproximadamente 900,000 SNPs.

Clasificación de Fenotipos Metabolizadores

Las muestras que presentaron el alelo *1 fueron portadoras del alelo silvestre o tipo salvaje (wild type), con genotipo homocigoto *1/*1 las cuales se identificaron como fenotipo metabolizador extensivo o normal. Los genotipos homocigotos *2/*2, *3/*3 y el heterocigoto *2/*3 fueron fenotipos

metabolizadores lentos (PM), mientras que los genotipos *1/*2 y *1/*3 se denominaron fenotipo metabolizador intermedio (IM).

Adicionalmente, se realizó la búsqueda de las frecuencias de los fenotipos metabolizadores de *CYP2C8* y *CYP2C9* en población mexicana, de diferentes grupos étnicos (mixteco, chontal, maya, teenek, entre otros), así como también las frecuencias reportadas en otras poblaciones del mundo (África, Brasil, India) todo esto con la finalidad de conocer el comportamiento de las frecuencias encontradas en esta investigación con lo reportado en dichas poblaciones.

Análisis Estadístico

Las frecuencias de alelos, genotipos, fenotipos metabolizadores y polimorfismos se generaron por conteo directo. Las distribuciones de frecuencia de genotipos se probaron para determinar la concordancia con el equilibrio de Hardy-Weinberg realizando la prueba de χ^2 . Adicionalmente, se llevó a cabo la comparación para bondad de ajuste con prueba χ^2 de la distribución de las frecuencias de *CYP2C8**2, *CYP2C8**3, *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3 con los resultados reportados en otras poblaciones (Brasil, África, India) y diferentes grupos étnicos de

México (Chontales, Mixtecos, Coras entre otros).

Resultados

En este estudio, se analizaron las frecuencias alélicas *1, *2 y *3 de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* de mexicanos mestizos.

En el análisis del polimorfismo en el gen *CYP2C8* se encontró una frecuencia de los alelos *1, *2 y *3 de 88.8%, 2.2 % y 5.2% respectivamente. Al revisar los alelos identificados, se procedió a clasificar a los individuos de acuerdo con su fenotipo metabolizador, donde se observó que aproximadamente el 79.7% de la muestra presentó un fenotipo metabolizador extensivo (*1/*1), 12.5% intermedio (*1/*2, *1/*3), mientras que ningún participante presentó un fenotipo de metabolismo lento (*2/*2, *3/*3, *2/*3) (Tabla 2). Asimismo, se observaron 18 genotipos que presentaron ambigüedad en la identificación de los alelos, lo cual impidió determinar con exactitud los alelos constituyentes. En este caso la ambigüedad es generada debido a que la combinación diferentes alelos son capaces de generar el mismo genotipo, por lo que no es posible hacer la diferenciación adecuada de los alelos formadores.

Tabla 2. Frecuencias alélicas y genotípicas del gen *CYP2C8* en 232 individuos mexicanos.

Alelo/ Genotipo	Fenotipo metabolizador	Frecuencia n	%
<i>CYP2C8</i> *1		206	88.8
<i>CYP2C8</i> *2		5	2.2
<i>CYP2C8</i> *3		12	5.2
No determinados (*?)		9	3.8
<i>CYP2C8</i> *1/*1	Extensivo	185	79.7
<i>CYP2C8</i> *1/*2	Intermedio	9	3.9
<i>CYP2C8</i> *1/*3	Intermedio	20	8.6
<i>CYP2C8</i> *2/*2	Pobre	0	0
<i>CYP2C8</i> *2/*3	Pobre	0	0
<i>CYP2C8</i> *3/*3	Pobre	0	0
<i>CYP2C8</i> *?/*3	No determinado	4	1.7
<i>CYP2C8</i> *1/*?	No determinado	13	5.6
<i>CYP2C8</i> *2/*?	No determinado	1	0.4

*?: alelo no identificado por presencia de ambigüedad.

En el *CYP2C9*, 205 (88.1%) de los individuos fueron wild type, mientras que para el alelo *2 se identificaron 19 individuos portadores (8.0%) y el alelo *3 solo se identificó en el 3.9 de la muestra. De acuerdo con su fenotipo metabolizador, el 76.7 % de los individuos genotipificados fueron identificados como

metabolizadores extensivos (*1/*1), el 22.8% se identificó como metabolizadores intermedios (*1/*2, *1/*3) y sólo el 0.4% correspondió a metabolizadores lentos pertenecientes solo al genotipo *3/*3 (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencias alélicas y genotípicas del gen *CYP2C9* en 232 individuos mexicanos.

Alelo/ Genotipo	Fenotipo metabolizador	Frecuencia n	%
<i>CYP2C9</i> *1		205	88.1
<i>CYP2C9</i> *2		19	8.0
<i>CYP2C9</i> *3		9	3.9
<i>CYP2C9</i> *1/*1	Extensivo	178	76.7
<i>CYP2C9</i> *1/*2	Intermedio	37	15.9
<i>CYP2C9</i> *1/*3	Intermedio	16	6.9
<i>CYP2C9</i> *2/*2	Pobre	0	0
<i>CYP2C9</i> *2/*3	Pobre	0	0
<i>CYP2C9</i> *3/*3	Pobre	1	0.4

Posteriormente, para *CYP2C8* se realizó una comparación de las frecuencias alélicas *2 y *3 de la muestra de estudio con respecto a datos publicados previamente alrededor del

mundo por otros autores, incluyendo una muestra de mexicanos mestizos y 7 muestras poblacionales de diferentes países (Figura 1, Tabla 4).

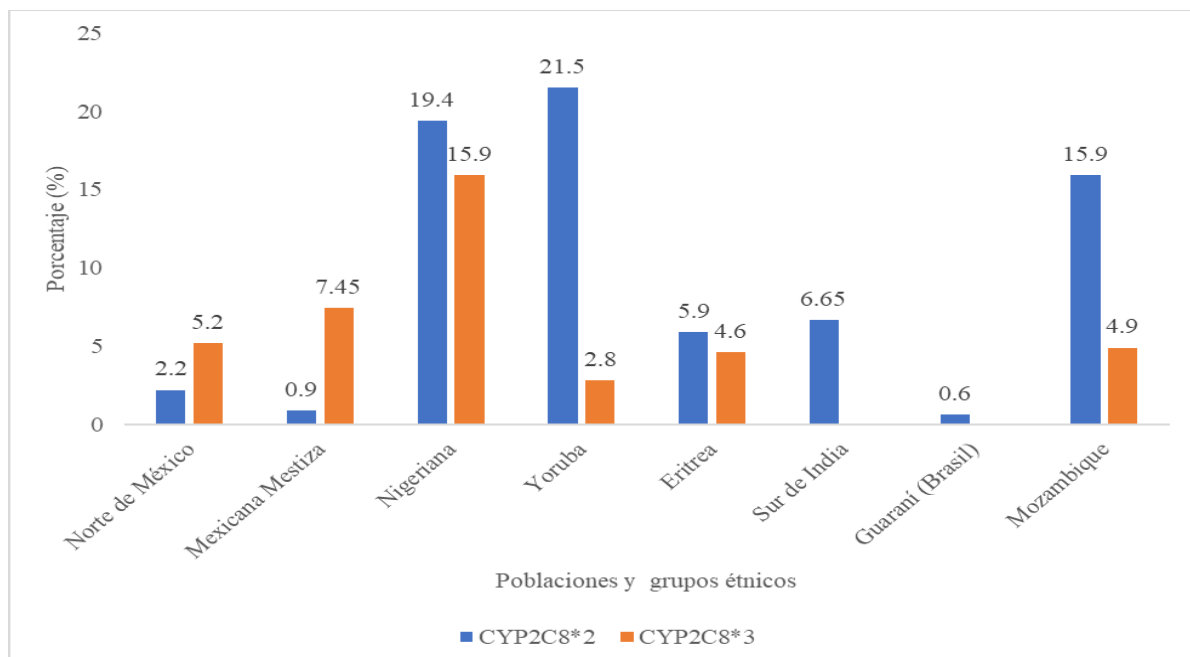


Figura 1. Distribución de las frecuencias (%) de los alelos *2 y *3 del gen *CYP2C8* en otras poblaciones a nivel global (Cuautle-Rodríguez *et al.*, 2019; Saldaña-Cruz *et al.*, 2016; Sánchez-Pozos *et al.*, 2016; Urrutia, Laytén, & Velarde, 2008; Vargens, Petzl-Erler, & Suarez-Kurtz, 2012; Yin *et al.*, 2017).

Tabla 4. Distribución de las frecuencias (%) de los alelos *2 y *3 del gen *CYP2C8* en otras poblaciones a nivel global.

Grupo étnico /Población	n	Mujeres / hombres	CYP2C 8*2	CYP2C 8*3	Año de publicación	Referencia
Norte de México	232	129 mujeres / 103 hombres	2.2	5.2		Esta investigación
Mexicana mestiza	241	241 mujeres	0.9	7.45	2013	Alcazar-González et al., 2013.
China (Han)	244	NR	0	0	2017	Yin et al., 2017
Nigeriana	178	57 mujeres / 121 hombres	19.4	15.9	2017	Adehin, Bolaji, & Kennedy, 2017.
Eritrea	380	220 mujeres / 160 hombres	5.9	4.6	2020	Habtemikael et al., 2020.
Guaraní (Brasil)	90	54 mujeres / 36 hombres	0.6	0	2012	Vargens, Petzl-Erler, & Suarez-Kurtz, 2012.
Mozambiqueña	360	99 mujeres / 261 hombres	15.9	0	2013	Arnaldo et al., 2013.

NR: no reportado

En la Tabla 5, se observa que al comparar las frecuencias de nuestro estudio y la de los otros grupos, el alelo *2 fue significativamente más frecuente en poblaciones africanas, excepto en la población eritrea ($p=0.659$); sin embargo, la frecuencia de este alelo en la región norte, fue significativamente mayor que en

comparación a una muestra mexicana mestiza y guaraní. Se muestra adicionalmente, con referencia al alelo *3 que sólo la población nigeriana mostró una diferencia significativamente mayor en la frecuencia de este alelo comparado a la muestra de nuestro estudio (Figura 1).

Tabla 5. Comparativo en la distribución de las frecuencias de *CYP2C8**2 y *CYP2C8**3 entre región del norte de México y otras poblaciones mundiales y de México.

<i>CYP2C8</i> *2	Región norte de México	Población nigeriana	Población Mexicana mestiza	Población mozambique	Población Guaraní (Brasil)	Población Eritrea
Frecuencia (%)	2.2	19.4	0.9	15.9	0.6	5.9
$p<0.05$		3.180×10^{-10} *	0.001 *	7.522×10^{-9} *	6.791×10^{-7} *	0.659
<i>CYP2C8</i> *3	Región norte de México	Población nigeriana	Población Mexicana mestiza	Población mozambique	Población Eritrea	Población Guaraní (Brasil)
Frecuencia (%)	5.2	15.9	7.45	4.9	4.6	NR 0
$p<0.05$		0.00004 *	0.130	0.953	0.737	

Prueba χ^2 para la bondad de ajuste. *Significativo. NR: no reportado.

Para el gen *CYP2C9* también se realizó la búsqueda y comparación de las frecuencias de los alelos *2 y *3 encontradas en esta investigación contra las reportadas en seis muestras de mexicanos mestizos y en seis

grupos étnicos de México de diferentes regiones (Figura 2, Tabla 6). Específicamente en el grupo étnico mazahua no se encontró ningún individuo portador del alelo *2 o *3.

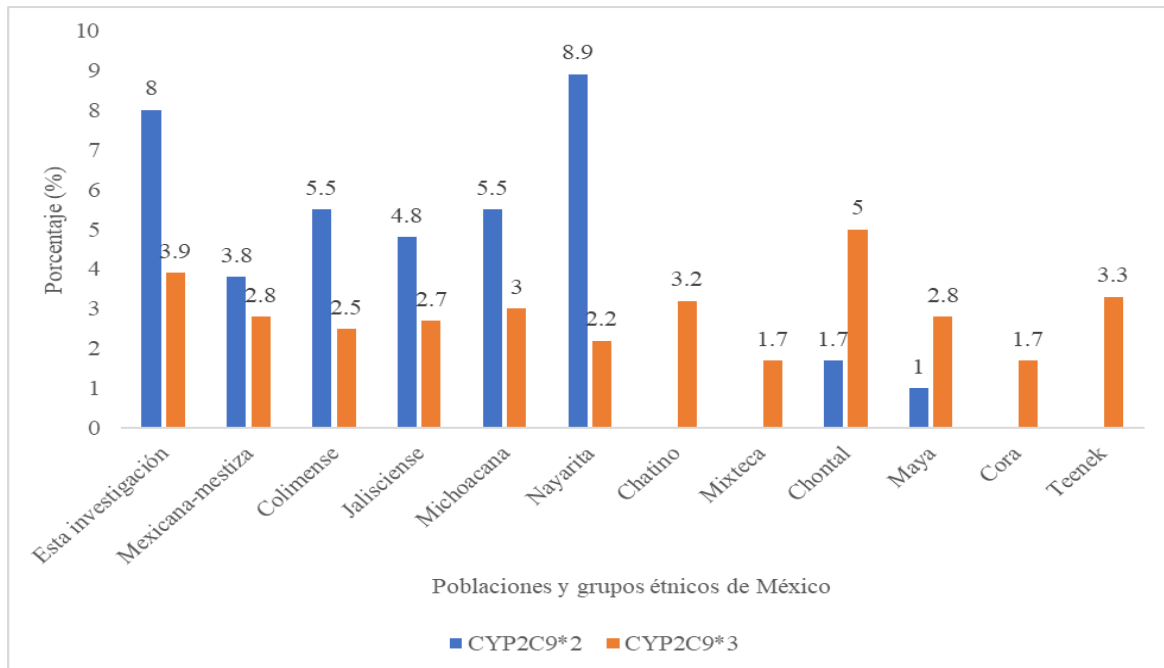


Figura 2. Distribución de las frecuencias alélicas (%) *2 y *3 del gen *CYP2C9* en poblaciones mexicanas (Saldaña-Cruz et al., 2016; Sánchez-Pozos et al., 2016)

Tabla 6. Distribución de las frecuencias alélicas (%) *2 y *3 del gen *CYP2C9* en poblaciones mexicanas.

Grupo étnico/ Población	n	Mujeres / hombres	CYP2C9 *2	CYP2C9 *3	Año de publicación	Referencia
Norte de México	23	129 mujeres / 103 hombres	8.0	3.9		Esta investigación
Mexicana-mestiza	24	79 mujeres / 169 hombres	3.8	2.8	2019	Cuautle-Rodríguez et al., 2019.
Colimense	10	NR	5.5	2.5	2016	Saldaña-Cruz et al., 2016.
Jalisciense	14	NR	4.8	2.7	2016	Saldaña-Cruz et al., 2016.
Michoacanense	11	NR	5.5	3.0	2016	Saldaña-Cruz et al., 2016.
Nayarita	7	NR	8.9	2.2	2016	Saldaña-Cruz et al., 2016.
Mazahua	3	NR	0.0	0.0	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Chatino	47	NR	0.0	3.2	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Mixteco	31	NR	0.0	1.7	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Chontal	30	NR	1.7	5.0	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Maya	19	NR	1.0	2.8	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Cora	9	NR	0.0	1.7	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.
Teenek	30	NR	0.0	3.3	2016	Sánchez-Pozos et al., 2016.

NR: no reportado

La Tabla 7, nos muestra la comparación en la distribución de las frecuencias de los alelos CYP2C9*2 y CYP2C9*3 de la muestra de nuestro estudio con otras poblaciones de México. Podemos observar que la frecuencia en la distribución del alelo *2, fue

significativamente mayor en la región norte que en otras poblaciones del país, excepto en Nayarit; sin embargo, para el alelo *3, la diferencia solo fue significativamente mayor respecto a poblaciones mixteca y cora.

Tabla 7. Comparativo en la distribución de las frecuencias de CYP2C9*2 y CYP2C9*3 entre región del norte de México y otras poblaciones mexicanas.

CYP2C9 *2	Norte México	Mexicana Mestiza	Colima	Jalisco	Michoacán	Nayarit	Chontal	Maya	Chatino	Mixteco	Coro
Frecuencia (%)	8.0	3.8	5.5	4.8	5.5	8.9	1.7	1.0	NR	NR	NR
p<0.05		0.00034*	0.026*	3.498 _{E-11*}	1.806 _{E-24*}	0.723	8,428 _{E-15*}	3.570 _{E-28*}			
CYP2C9 *3	Norte México	Mexicana Mestiza	Colima	Jalisco	Michoacán	Nayarit	Chontal	Maya	Chatino	Mixteco	Coro
Frecuencia (%)	3.9	2.8	2.5	2.7	3.0	2.2	5.0	2.8	3.2	1.7	1.7
p<0.05		0.308	0.178	0.278	0.427	0.064	0.433	0.300	0.552	0.010	0.010

Prueba χ^2 para la bondad de ajuste. *Significativo. NR: No reportado.

Discusión

En los últimos años un gran número de análisis genéticos han sido efectuados en el área de farmacogenética con el fin de analizar la variación en la respuesta a determinados fármacos. En el caso de los AINEs, los estudios han estado enfocados en conocer la gran variabilidad tanto en la respuesta como en el posible daño ocurrido en pacientes con un metabolismo lento o reducido.

En este estudio, los análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas fueron calculados con el propósito de caracterizar los polimorfismos en los genes CYP2C8 y CYP2C9 asociados al metabolismo de AINEs en población mexicana, principalmente examinando una muestra correspondiente a individuos que residen en el norte de México. Para el análisis se consideraron los diferentes genotipos generados por los alelos *1, *2 y *3 de los genes CYP2C8 y CYP2C9, así como su fenotipo en términos de metabolismo

(metabolizadores extensivos/normales, metabolizadores intermedios y metabolizadores lentos).

De acuerdo con la revisión de Guardado-Estrada (Guardado-Estrada, Queipo, Meraz-Ríos, & Berumen-Campos, 2008), México está conformado principalmente por el mestizaje de dos poblaciones (española y nativos americanos), y posteriormente con una contribución en menor proporción de la población africana, por eso la importancia de los estudios de variación genética para su aplicación en la farmacogenética.

Al contrastar las frecuencias reportadas en diferentes poblaciones del mundo con la obtenida en esta investigación respecto al alelo CYP2C9*2, se encontró que la población China Han (Wang et al., 2020), Kinh un grupo étnico de Vietnam, butanés, italiana, feroés, guaraní y ecuatoriana presentan una frecuencia menor al 8.0%. Por

otro lado, la población turca, serbia (Skadrić & Stojković, 2020), española, croata (Ganoci et al., 2017), serbo-bosniana, noruega, danés (Pedersen et al., 2010), rusa (Panchenko et al., 2020), han reportado una frecuencia alélica más grande a la analizada en este artículo. En cuanto al alelo *3, se identificó que, de las poblaciones mencionadas anteriormente, la ecuatoriana, guaraní, butanés reportaron frecuencias menores a 3.9% (Dorji, Wangchuk, Boonprasert, Tarasuk, & Na-Bangchang, 2019; Vargens et al., 2012; Vicente et al., 2014).

Solo la frecuencia alélica *2 del gen *CYP2C8*, reportada por Álcazar-Gonzalez y colaboradores en 2013 (Alcazar-González et al., 2013) presenta una frecuencia significativamente diferente respecto a la reportada en esta investigación. Es de resaltar las diferencias significativas de la distribución alélica *CYP2C9**2 entre la población del norte de México respecto a otras poblaciones del país (Mexicanos mestizos, Colima, Jalisco, Michoacán y las etnias Maya y Chontal).

Sin duda, los alelos de este gen, así como sus implicaciones en la salud han sido muy poco abordadas, lo cual puede ser una perspectiva de estudio para futuras investigaciones, al ser un gen que participa activamente en el metabolismo de fármacos para tratar la diabetes como es la pioglitazona, rosiglitazona, también con la ranitidina, paclitaxel, entre otros fármacos.

Conclusiones

En este proyecto de investigación se caracterizaron los polimorfismos de los genes *CYP2C8* y *CYP2C9* de 232 individuos mexicanos, las frecuencias alélicas encontradas fueron *CYP2C9**1= 88.1%, *CYP2C9**2=8.0%, *CYP2C9**3=3.9%, *CYP2C8**1=88.8%, *CYP2C8**2=2.2% y *CYP2C8**3=5.2%. En este estudio fue posible

encontrar diferencias significativas en la distribución alélica de *CYP2C9**2 con otras poblaciones mexicanas y amplia variabilidad en las frecuencias de los diferentes alelos correspondientes a los genes *CYP2C8**2 y *3, respecto a otros grupos étnicos en el mundo, lo que sin duda, resalta la importancia de considerar el fundamento de esta información molecular como parte de la medicina de precisión, puesto que poder clasificar a los individuos de acuerdo a su capacidad metabolizadora de los AINEs, no solo se reflejará en esperar una mejor respuesta terapéutica sino en estimar la probabilidad en el riesgo de eventos adversos debidos a estos fármacos.

Agradecimientos

Este estudio fue apoyado por el Fondo Destinado a Promover el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología en el Estado de Coahuila (FONCYT COAH-2020-C14-C044 asignado a RDAPV) y al Instituto de Ciencia y Medicina Genómica.

Declaración de Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses, así como también no existen intereses financieros en su realización y publicación.

Referencias Bibliográficas

- Adehin, A., Bolaji, O. O., & Kennedy, M. A. (2017). Polymorphisms in *CYP2C8* and *CYP3A5* genes in the Nigerian population. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 32(3), 189-191.
- Aguilar, B., Rojas, J. C., & Collados, M. T. (2008). Prevalence of *CYP2C9* variants in the Mexican population. *Archives of medical research*, 4(39), 463.
- Agúndez, J. A., García-Martín, E., & Martínez, C. (2009). Genetically

- based impairment in CYP2C8-and CYP2C9-dependent NSAID metabolism as a risk factor for gastrointestinal bleeding: is a combination of pharmacogenomics and metabolomics required to improve personalized medicine? *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 5(6), 607-620.
- Alcazar-González, G. A., Calderón-Garcidueñas, A. L., Garza-Rodríguez, M. L., Rubio-Hernández, G., Escorza-Treviño, S., Olano-Martin, E., . . . Le Brun, S. (2013). Comparative study of polymorphism frequencies of the CYP2D6, CYP3A5, CYP2C8 and IL-10 genes in Mexican and Spanish women with breast cancer. *Pharmacogenomics*, 14(13), 1583-1592.
- Arnaldo, P., Thompson, R. E., Lopes, M. Q., Suffys, P. N., & Santos, A. R. (2013). Frequencies of cytochrome P450 2B6 and 2C8 allelic variants in the Mozambican population. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 20(4), 13.
- Bae, J.-W., Kim, J.-H., Choi, C.-I., Kim, M.-J., Kim, H.-J., Byun, S., . . . Lee, S.-Y. (2009). Effect of CYP2C9* 3 allele on the pharmacokinetics of naproxen in Korean subjects. *Archives of pharmacal research*, 32(2), 269-273.
- Bae, J. W., Choi, C. I., Jang, C. G., & Lee, S. Y. (2011). Effects of CYP2C9* 1/* 13 on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of meloxicam. *British journal of clinical pharmacology*, 71(4), 550-555.
- Cuautle-Rodríguez, P., Rodríguez-Rivera, N., De Andrés, F., Castillo-Nájera, F., Llerena, A., & Molina-Guarneros, J. A. (2019). Frequency of CYP2C9 (* 2,* 3 and IVS8-109A> T) allelic variants, and their clinical implications, among Mexican patients with diabetes mellitus type 2 undergoing treatment with glibenclamide and metformin. *Biomedical Reports*, 10(5), 283-295.
- Dorado, P., Sosa-Macias, M. G., Peñas-Lledó, E., Alanis-Bañuelos, R., Wong, M., Licinio, J., . . . Llerena, A. (2011). CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *The pharmacogenomics journal*, 11(2), 108-112.
- Dorji, P. W., Wangchuk, S., Boonprasert, K., Tarasuk, M., & Na-Bangchang, K. (2019). Pharmacogenetic relevant polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A5 in Bhutanese population. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 34(4).
- Ganoci, L., Božina, T., Skvrce, N. M., Lovrić, M., Mas, P., & Božina, N. (2017). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 32(1), 11-21.
- García-Martín, E., Martínez, C., Ladero, J. M., & Agúndez, J. A. (2006). Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Molecular diagnosis & therapy*, 10(1), 29-40.
- García-Martín, E., Martínez, C., Tabarés, B., Frías, J., & Agúndez, J. A. (2004).

- Interindividual variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to interaction of cytochrome P450 2C8 and 2C9 amino acid polymorphisms. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 76(2), 119-127.
- Guardado-Estrada, M., Queipo, G., Meraz-Ríos, M., & Berumen-Campos, J. (2008). Diversidad genética en la población mexicana: Utilización de marcadores de ADN. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 71(3), 162-174.
- Gustincich, S., Manfioletti, G., Del Sal, G., Schneider, C., & Carninci, P. (1991). A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, 11(3), 298-300, 302.
- Kirchheiner, J., Störmer, E., Meisel, C., Steinbach, N., Roots, I., & Brockmöller, J. (2003). Influence of CYP2C9 genetic polymorphisms on pharmacokinetics of celecoxib and its metabolites. *Pharmacogenetics and Genomics*, 13(8), 473-480.
- López-Rodríguez, R., Novalbos, J., Gallego-Sandín, S., Román-Martínez, M., Torrado, J., Gisbert, J. P., & Abad-Santos, F. (2008). Influence of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms on pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of racemic and enantiomeric forms of ibuprofen in healthy volunteers. *Pharmacological research*, 58(1), 77-84.
- Martínez, C., García-Martín, E., Blanco, G., Gamito, F. J., Ladero, J. M., & Agúndez, J. A. (2005). The effect of the cytochrome P450 CYP2C8 polymorphism on the disposition of (R)-ibuprofen enantiomer in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology*, 59(1), 62-68.
- Mescher, M., & Haarmann-Stemmann, T. (2018). Modulation of CYP1A1 metabolism: From adverse health effects to chemoprevention and therapeutic options. *Pharmacology & Therapeutics*, 187, 71-87.
- Nebert, D. W., Wikvall, K., & Miller, W. L. (2013). Human cytochromes P450 in health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1612), 20120431.
- Panchenko, E., Kropacheva, E., Dobrovolsky, A., Titaeva, E., Zemlyanskaya, O., Trofimov, D., . . . Sinitsin, S. (2020). CYP2C9 and VKORC1 genotyping for the quality of long-standing warfarin treatment in Russian patients. *The pharmacogenomics journal*, 20(5), 687-694.
- Pedersen, R. S., Brasch-Andersen, C., Sim, S. C., Bergmann, T. K., Halling, J., Petersen, M. S., . . . Brøsen, K. (2010). Linkage disequilibrium between the CYP2C19* 17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *European journal of clinical pharmacology*, 66(12), 1199-1205.
- Perini, J. A., Vianna-Jorge, R., Brogliato, A. R., & Suarez-Kurtz, G. (2005). Influence of CYP2C9 genotypes on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of piroxicam. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 78(4), 362-369.

- Rollason, V., Flora Samer, C., Daali, Y., & Alexandre Desmeules, J. (2014). Prediction by pharmacogenetics of safety and efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Current drug metabolism*, 15(3), 326-343.
- Saldaña-Cruz, A. M., León-Moreno, L. C., Sánchez-Corona, J., Santiago, D. A. M.-d., Mendoza-Carrera, F., Castro-Martínez, X. H., . . . Flores-Martínez, S. E. (2016). CYP2C9 and CYP2C19 allele and haplotype distributions in four Mestizo populations from Western Mexico: an interethnic comparative Study. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 20(11), 702-709.
- Sánchez-Pozos, K., Rivera-Santiago, C., García-Rodríguez, M. H., Ortiz-López, M. G., Peña-Espinoza, B. I., Granados-Silvestre, M. d. l. Á., . . . Menjívar, M. (2016). Genetic variability of CYP2C9* 2 and CYP2C9* 3 in seven indigenous groups from Mexico. *Pharmacogenomics*, 17(17), 1881-1889.
- Santes-Palacios, R., Ornelas-Ayala, D., Cabañas, N., Marroquín-Pérez, A., Hernández-Magaña, A., del Rosario Olguín-Reyes, S., . . . Espinosa-Aguirre, J. J. (2016). Regulation of human cytochrome P4501A1 (hCYP1A1): a plausible target for chemoprevention? *BioMed Research International*, 2016.
- Sim, S. C., & Ingelman-Sundberg, M. (2010). The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature website: a peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects. *Human genomics*, 4(4), 1-4.
- Skadrić, I., & Stojković, O. (2020). Defining screening panel of functional variants of CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4 genes in Serbian population. *International Journal of Legal Medicine*, 134(2), 433-439.
- Sosa-Macías, M., & Llerena, A. (2013). Cytochrome P450 genetic polymorphisms of Mexican indigenous populations. *Drug metabolism and drug interactions*, 28(4), 193-208.
- Sostres, C., Gargallo, C. J., & Lanás, A. (2013). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage. *Arthritis research & therapy*, 15(3), 1-8.
- Stamer, U. M., & StÜber, F. (2007). The pharmacogenetics of analgesia. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 8(14), 2235-2245.
- Urrutia, L. A. M., Laytén, G. S., & Velarde, O. F. (2008). Perfil del consumidor de antiinflamatorios no esteroideos en Chiclayo y Cajamarca, Perú. *Acta médica peruana*, 25(4), 216-219.
- Vargens, D. D., Petzl-Erler, M. L., & Suarez-Kurtz, G. (2012). Distribution of CYP2C polymorphisms in an Amerindian population of Brazil. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 110(4), 396.
- Vicente, J., González-Andrade, F., Soriano, A., Fanlo, A., Martínez-Jarreta, B., & Sinués, B. (2014). Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: a comparative study.

- Molecular biology reports*, 41(3), 1267-1272.
- Wang, D., Dai, D.-P., Wu, H., Chong, J., Lü, Y., Yin, R., . . . Chen, H. (2020). Effects of rare CYP2C9 alleles on stable warfarin doses in Chinese Han patients with atrial fibrillation. *Pharmacogenomics*, 21(14), 1021-1031.
- Wyatt, J., Pettit, W., & Harirforoosh, S. (2012). Pharmacogenetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The pharmacogenomics journal*, 12(6), 462-467.
- Xie, H.-G., Prasad, H. C., Kim, R. B., & Stein, C. M. (2002). CYP2C9 allelic variants: ethnic distribution and functional significance. *Advanced drug delivery reviews*, 54(10), 1257-1270.
- Xing, S., Wang, Y., He, X., Yang, W., Hu, Q., He, Y., . . . Jin, T. (2021). CYP2C8 and CYP2E1 genetic variants increase risk of tuberculosis in northwest Chinese Han population. *Infection, Genetics and Evolution*, 95, 105022.
- Yasar, Ü., Eliasson, E., Forslund-Bergengren, C., Tybring, G., Gadd, M., Sjöqvist, F., & Dahl, M.-L. (2001). The role of CYP2C9 genotype in the metabolism of diclofenac in vivo and in vitro. *European journal of clinical pharmacology*, 57(10), 729-735.
- Yin, S.-J., Qi, H.-M., Wang, X., Zhang, P., Lu, Y., Wei, M.-J., . . . Lu, C. (2017). Effects of functional CYP2C8, CYP2C9, CYP3A5, and ABCB1 genetic variants on the pharmacokinetics of insulin sensitizer pioglitazone in Chinese Han individuals. *Pharmacogenetics and Genomics*, 27(4), 125-134.



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Desarrollo de un alimento para tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) con harina de larva de mosca soldado negro *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae)

Development of a feed for Tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) with black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae meal.

Sánchez-Velázquez, J.*, Nieto-Ramírez, M.I., Oviedo-Olvera, M.V., Ramírez-Ramírez, J.C., Peña-Herrejón, G.A., Feregrino-Pérez, A.A., García-Trejo, J.F.

Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, Universidad Autónoma de Querétaro, Carretera Chichimequillas, s/n km 1, C.P. 76265, Amazcala, El Marqués, Querétaro, México.

julietasanvel1@gmail.com; isabelnieto33@gmail.com; monica_oviedoo@hotmail.com; jose-carlos_r@hotmail.com; guillermoaph7@gmail.com; feregrino.angge@hotmail.com; fernando.garcia@uaq.mx

Innovación tecnológica: Generación de insumos de reemplazo a la harina de pescado para alimentación de tilapia.

Área de aplicación industrial: Formulación de alimentos con nuevos insumos para la producción acuícola.

Recibido: 19 julio 2022

Aceptado: 10 octubre 2022

Abstract

The larvae of the Black soldier fly (*Hermetia illucens*) is one of the most promising sources of protein sources for fish, due to its nutritional content and adequate digestibility. The objective of this study was to develop and evaluate a feed based on black soldier fly larvae meal for tilapia in the fingerling stage; with the aim of replacing the use of fish meal, which due to its cost and variable availability becomes a limiting factor for aquaculture. For this purpose, a feed of particle size HMS-R 585 μm and another of HMS-R 841 μm was produced from black soldier fly larvae fed with organic waste (HMS-R); both feeds were evaluated with respect to their proximate chemical composition, pellet density, bulk density, water absorption rate, solubility rate, swelling factor, and their effect on tilapia fingerling growth for 8 weeks. Commercial feed was used as control feed (AC) (malt-Cleyton 45%). HMS-R 841 μm feed showed lower pellet density compared to AC ($P < 0.05$), while HMS-R 595 μm showed lower buoyancy compared to AC ($P < 0.05$). Tilapia growth was higher with black soldier fly larva meal (3.24 ± 0.23 g) compared to commercial feed (1.14 ± 0.20 g). The Soldier fly larvae feed has potential use at the fingerling stage; however, it is

necessary to improve the quality of the pellet, increase buoyancy and reduce density with respect to water fed.

Key words: Aquaculture nutrition, Nile tilapia, alternative ingredients, *Hermetia illucens*.

Resumen

La larva de la mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) es una de las fuentes de proteína más prometedoras para peces, debido a su contenido nutricional y adecuada digestibilidad. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar y evaluar un alimento elaborado con base en harina de larva de mosca soldado para la tilapia en etapa alevín; esto con el objetivo de reemplazar el uso de la harina de pescado, que por su costo y disponibilidad variable se convierte un factor limitante para la acuicultura. Para ello, a partir de la larva de mosca soldado negro alimentada con residuos orgánicos (HMS-R), se elaboró un alimento de tamaño de partícula HMS-R 585 μm y otro de HMS-R 841 μm ; ambos alimentos fueron evaluados con respecto a su composición química proximal, densidad del pellet, densidad aparente, índice de absorción de agua, índice de solubilidad, factor de hinchamiento y su efecto en el crecimiento de alevines de tilapia por 8 semanas. Se utilizó alimento comercial como alimento control (AC) (malta-Cleyton 45%). El alimento HMS-R 841 μm mostró menor densidad del pellet en comparación con el AC ($P \leq 0.05$), mientras que HMS-R 585 μm presentó menor flotabilidad en comparación con el AC ($P \leq 0.05$). El crecimiento de la tilapia fue mayor (3.24 ± 0.23 g) en comparación con el alimento comercial (1.14 ± 0.20 g). El alimento con larva de mosca soldado tiene uso potencial para la tilapia en etapa alevín; sin embargo, es necesario mejorar la calidad del pellet, aumentar su flotabilidad y reducir la densidad con respecto a la del agua.

Palabras clave: Nutrición acuícola, tilapia del Nilo, alimentación alternativa, *Hermetia illucens*.

1. Introducción

Desde 1970, la acuicultura ha sido la industria de producción de alimentos con mayor crecimiento a nivel mundial, con una tasa promedio anual del 7.5% [1]. Cerca del 40% de los peces que se producen en la acuicultura corresponden a la tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae); ésta es la tercera especie más cultivada en todo el mundo después de la carpa *Ctenopharyngodon idellus* (Cypriniformes: Cyprinidae) y la carpa plateada *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae), debido a la viabilidad del cultivo y precios estables en el mercado [2][3]. Además, la tilapia es

considerada una especie que aporta significativamente a la seguridad alimentaria mundial, ya que se ha mostrado que su cultivo a nivel local y rural juega un papel importante para proveer alimentos de alta calidad, generar ingresos y promover la disponibilidad y el suministro de fuentes proteicas en mercados locales [4].

La demanda de tilapia a nivel global va en aumento, y para sostener la producción en la acuicultura es necesaria la provisión externa de nutrientes; en 1995, el 70% de la producción mundial de tilapia se basó en el suministro de alimentos comerciales, que aumentó a 85% en 2010, y se estimó que para

2020 esto alcanzaría un 95% [5]. Los alimentos comerciales para tilapia incluyen harina de pescado en porcentajes que van de 3 a 10%, como fuente de proteína y promotor de crecimiento [6]; pero el costo y la disponibilidad de dicho insumo en el mercado es variable [7][8].

Por lo anterior, se han realizado esfuerzos enfocados al reemplazo de la harina de pescado [6]. Se registran en trabajos desde 1975 con [9], quienes usaron ingredientes como soya, maíz, avena, levadura, alfalfa, así como sub-productos de origen animal, como carne y hueso, en la formulación de alimentos para *Salmo salar* (Salmoniformes: Salmonidae). En ese tiempo, el ingrediente que mayor atención atrajo fue la soya, debido a su amplia disponibilidad, suministro sostenible, precio razonable, alto contenido de proteína y perfil de aminoácidos que la hace nutricionalmente potencial para reemplazar a la harina de pescado [10]; adicionalmente, la soya contiene compuestos anti-nutricionales, las cuales por sí mismas o por sus productos metabólicos interfieren con la utilización del alimento, y afectan tanto la salud como la producción de los animales [11]. Por su parte, [12] presentaron importantes aportaciones en el pretratamiento con calor y extracción con solventes en soya para quitar anti-nutrientes y mejorar el aprovechamiento nutricional durante la alimentación de trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: Salmoidae), lo cual confirman [13] en el crecimiento de *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae). La levadura también se mostraba promisorio, por ello [14] iniciaron estudios referentes al tratamiento disruptivo de la pared celular de la levadura y su uso como fuente principal de proteína en alimentos para trucha arcoíris (*O. mykiss*). Precisamente, [15] concreta que los retos involucrados en el uso de nuevos ingredientes para la nutrición en la acuicultura están directamente relacionados con su naturaleza;

es decir, por su contenido de compuestos anti-nutricionales y/o polisacáridos sin almidón como en el caso de las plantas, paredes celulares en las levaduras, o en su caso, el costo que implica el desarrollo tecnológico y escalamiento para la producción de microalgas.

Ante este escenario, los insectos se encuentran entre las fuentes de proteína de origen animal más prometedoras para el desarrollo de nuevos alimentos acuícolas [16]. El uso de insectos en alimentos acuícolas se registra a partir del año 2000 [17]–[19]. Los insectos estudiados para reemplazar la harina de pescado incluyen *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), *Musca doméstica* (Diptera: Muscidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae), *Gryllodes sigillatus* (Orthoptera: Gryllidae), *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) y *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae).

En cuanto a los beneficios nutricionales que posee la larva de mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) es que su contenido de ceniza (>15%), y calcio (7.6% en materia seca) es mayor en comparación con otros insectos [20]. Además, la larva de mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) contiene asparagina, glutamato, leucina, tirosina, fenilalanina e isoleucina, aminoácidos que individualmente han sido adicionados a la alimentación de los peces para estudiar su efecto con resultados positivos en la proteica muscular, y en el alivio al estrés [21]–[24].

Se ha documentado el completo reemplazo de la harina de pescado por la de larva de mosca soldado negro sin perjudicar el crecimiento de la tilapia y su salud [25]–[27]. Los alimentos con base en harina de larva de mosca soldado negro que se desarrollan y en los que son estudiadas sus propiedades físicas

y químicas suelen elaborados mediante extrusión [28], [29], por ser un método de granulación basado en la aplicación de temperatura y presión que mejora sus propiedades nutricionales y funcionales [30]. Sin embargo, no hay reportes en los que sean evaluadas las propiedades físicas y químicas de un alimento elaborado por peletización, método que consiste según [31] en la aplicación de presión simple, sólo se ha determinado el efecto en la tilapia de un alimento peletizado con base en harina de larva de mosca soldado [32], [33]. En este trabajo se presenta el diseño y la evaluación química, física y biológica de un alimento peletizado con base en harina de larva de mosca soldado para la tilapia para cría de tilapia, como parte del desarrollo de alimentos en los que se reemplace el uso de la harina de pescado.

2 Metodología

2.1 Obtención de la harina de larva de mosca soldado negro

La harina de larvas de *Hermetia illucens* se obtiene de la planta piloto de producción en las instalaciones del Campus Amazcala que pertenece a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro. En la planta se lleva a cabo la reproducción, mantenimiento y desarrollo de los organismos bajo condiciones controladas. Los huevecillos recolectados de las jaulas de reproducción se mantienen por 7 días en condiciones de temperatura controlada (28 - 32 °C) hasta la eclosión. Las larvas recién eclosionadas se alimentaron por 10 días con dieta Gainsville la cual es usada como dieta control, que consta de 50% salvado de trigo, 30% alfalfa y 20% maíz [34]. Transcurrido el tiempo se consideraron dos grupos de larvas para llevarlas hasta prepupa; un grupo se alimentó con Gainsville (LMS-G) [35], y el segundo con residuos orgánicos (LMS-R). Ambos grupos de larvas se procesaron para obtener harina de larvas de moscas soldado

negro HMS-G y HMS-R, respectivamente. Para obtener las harinas se aplicó eutanasia por frío a las larvas de ambos grupos, y se desgrasaron por presión mecánica para mejorar el nivel de proteína como reportaron [36], [37]. La pasta obtenida se procesó en un molino Sagaon Tech pulverizador y el producto se hizo pasar por un tamiz malla #30. Tanto las larvas como las harinas obtenidas se almacenaron a 4 °C hasta su evaluación química. En el caso de la HMS-R se utilizó posteriormente en la elaboración del alimento peletizado para tilapia siguiendo la metodología de [33]. La formulación del alimento se realizó a partir de la composición química proximal de la HMS-R, y otras materias primas como harina de carne, pasta de soya, gluten de trigo, harina de maíz, para obtener una combinación o mezcla por aproximación, con el objetivo de cubrir los requerimientos nutricionales de la tilapia en etapa de alevín 40 – 50% de proteína, 10 – 15 % de grasa [38].

2.2 Evaluación química de ingredientes y alimento peletizado

[39], [40] menciona que es necesario determinar la composición química de los ingredientes propuestos para valorar si cuentan con los nutrientes que requiere la tilapia en etapa alevín. El análisis químico proximal se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioingeniería de la Facultad de Ingeniería, Campus Amazcala, y se aplicó para las larvas LMS-G, LMS-R (Tabla 1), las harinas HMS-G, HMS-R (Tabla 2), así como el alimento formulado para tilapia (AHMS-R) y del alimento comercial (Tabla 4).

Para obtener el porcentaje de proteína cruda en las muestras primeramente se realizó la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl [41]; para calcular el contenido de proteína cruda se utilizó el factor 6.25 establecido para alimentos. El análisis de grasas se realizó por medio de una

extracción soxhlet asistida con microondas marca Anton Paar por el método EPA 3546 utilizando como solución extractora hexanos y acetona (1:1). Para humedad se realizó el método reportado por la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1- 2002 para métodos de prueba fisicoquímicos. La determinación de cenizas por el método de la norma NMX- F-066-S-1978 para alimentos. Las calorías se determinaron de acuerdo al método isoperibólico en un calorímetro marca PARR modelo 6200 con ayuda de una bomba de combustión propia del equipo. En la Figura 1 se resume el proceso de producción y análisis del alimento peletizado.

2.3 Formulación y elaboración de alimento con larva de mosca soldado negro

A partir del análisis químico de la harina HMS-R (Tabla 2), se formuló un alimento balanceado (AHMS-R) con 45% de proteína para cubrir el requerimiento de la tilapia en etapa de alevín por el método de aproximación sucesiva (Tabla 3) [42], [43]. Para la elaboración del AHMS-R cada ingrediente fue procesado en un molino Sagaon Tech pulverizador, tamizado por una malla #30, y pesado con una balanza de precisión marca Precisa BJ610C; todos los ingredientes fueron mezclados con un homogeneizador industrial de acero inoxidable Morelli 10100 para 10 L, y se

adicionó agua hasta un 20 a 30 % de humedad. La mezcla fue procesada por una peletizadora en la cual se produjo un pienso de 15 mm de largo con 8.5 mm de diámetro. Los pellets fueron secados a temperatura ambiente durante 8 horas. Posteriormente, los pellets se molieron y tamizaron por una malla #30 (595 μm) y #20 (841 μm) para tener dos alimentos de diferente tamaño de partícula; estos alimentos son considerados, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) como alimentos de iniciación #0 y para alevines #1 respectivamente (FAO, 2011b). Los pellets manufacturados se almacenaron en bolsas de plástico a -4 °C.

2.4 Evaluación física del alimento con harina de mosca soldado negro (AHMS-R)

Los alimentos balanceados deben proveer los nutrientes necesarios para los animales, pero también deben cumplir con la calidad física para asegurar su consumo. Por ello se determinaron características físicas tanto del alimento AHMS-R como las del alimento comercial malta-Cleyton 45%. En las pruebas se incluyen tamaño de partícula, densidad del pellet [45], densidad aparente [46], índice de absorción en agua, índice de solubilidad en agua y factor de hinchamiento de acuerdo con la metodología reportada por [47], así como flotabilidad [48].

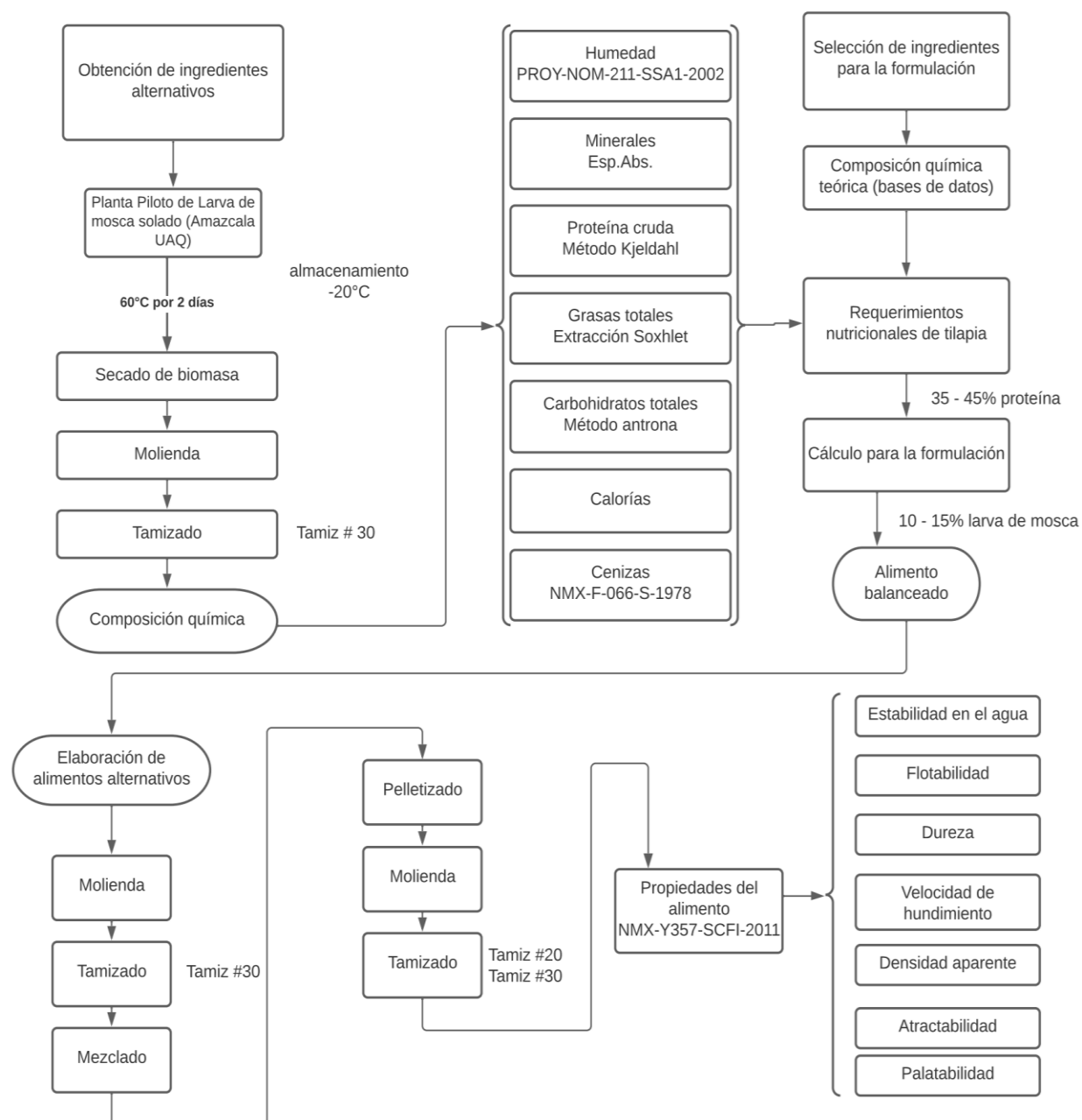


Figura 1. Diagrama general del proceso de producción y análisis del alimento acuícola elaborado con harina de larva de mosca soldado.

2.5 Evaluación biológica con AHMS-R

Se realizó una prueba de alimentación de tilapia de 8 semanas con modificación de la metodología que presentó [49]. Se utilizaron crías de tilapia obtenidas del sistema de producción acuícola del Campus Amazcala, de la Universidad Autónoma de Querétaro con de 3 semanas de edad y un peso a granel inicial de 0.023 ± 0.001 g. Los peces se

repartieron en 3 estanques de cemento cubiertos con geomembrana de 300 L por dieta; para un grupo se utilizó como alimento el AHMS-R, mientras que para el segundo se utilizó alimento comercial malta-Cleyton 45% de proteína. Durante el periodo de cultivo, el 75% de agua de los estanques fue reemplazada y recuperada con agua de la llave cada semana debido al tamaño pequeño

de las crías y la cantidad de alimento ofrecido. Cada estanque se mantenía con aireación y semanalmente se midieron las variables de la calidad de agua como temperatura, oxígeno disuelto y pH, todas las variables se encontraron dentro del intervalo de tolerancia para la tilapia [50]. Los peces en cada estanque eran alimentados manualmente tres veces por día (9:00 am, 12:00 pm y 15:00 pm) a saciedad visual aparente. Para la colecta de datos, durante el periodo de estudio, quincenalmente se obtuvieron muestras aleatorias de 30 de peces que se pesaron (g) utilizando una balanza Precisa BJ610C y se midió su longitud (mm) al inicio (12.03 ± 0.95 mm) y final del experimento con un vernier Mitutoyo Absolute IP67.

2.6 Análisis estadístico

Los resultados según la naturaleza de la prueba como análisis químico, pruebas físicas del alimento y biometrías se compararon para obtener diferencia significativa entre los tratamientos. Para la comparación de tratamientos se realizó la prueba de normalidad y homogeneidad con Levene y Shapiro-Wilk respetivamente, se realizó una prueba de T. Los valores de los resultados presentan promedio $\pm$ desviación estándar. El análisis de varianza y la significancia estadística de $p < 0.05$. Se utilizó el software Statgraphics centurion XVI.I para hacer el análisis estadístico.

3. Resultados y discusión

3.1 Composición química de la larva de mosca soldado negro

En el presente trabajo se muestra el análisis de la composición química de la larva de mosca soldado negro alimentada con la dieta control Gainesville (LMS-G). Esta dieta se usa para mantener las colonias, y evaluar tanto anomalías, como la calidad del lote de larvas [35]. Los resultados obtenidos indican

que la calidad de las larvas de este experimento coinciden con el nivel de proteína obtenido como control por [34], quienes obtuvieron 48% de proteína, lo que confirma que la obtención de la larva se realizó de manera adecuada. La atención puesta en el contenido de proteína, se debe a que es un componente costoso en la alimentación de los peces [51] y se sabe que el requerimiento de proteína de diferentes especies de peces es alrededor de 28 a 55 % de la dieta seca [52].

Por otra parte, la comparación de la composición química proximal de las larvas LMS-G entre aquellas larvas que resultan de otros trabajos en los que las han alimentado con residuos orgánicos, se muestra en la Tabla 1, y nos confirma que las larvas son capaces de convertir diferentes desechos orgánicos en biomasa de insectos, proteína y lípidos [53], por ejemplo [54] en sus resultados presentan niveles de proteína y grasa cercanos a los que obtuvimos con una dieta estandarizada como la Gainesville. Por su parte, [29] reporta que la composición química de la larva de mosca soldado puede mostrar niveles de proteína entre 31 a 59%, y de 11 a 49% de lípidos dependiendo de la alimentación. Por lo que, hay que resaltar, que la composición de las larvas dependerá de la calidad del alimento ingerido [55]. [29] con 42% proteína, 32% grasa, 9.25% de ceniza, y 8% de quitina se puede observar que hay variabilidad considerable con esta investigación. Así, el manejo de la alimentación en las larvas de mosca soldado se vuelve un factor importante para mostrar su potencial como fuente de nutrientes para dietas destinadas a la nutrición animal [56], [57]. Aunque [58] resumen que hay que considerar el establecimiento del cultivo de la larva, condiciones ambientales, alimentación, tiempo de cosecha, así como los métodos de cosecha y procesamiento.

Tabla 1. Composición química de la larva de mosca soldado del Laboratorio de Bioingeniería UAQ.

Composición química (%)	LMS-G	Referencias			
		[59] ^a	[60] ^b	[58] ^c	[54] ^d
Proteína	49.85±0.32	38.98	39.2	41.3	45.82
Grasa	24.90±0.43	32.65	28.4	31.04	25.78
Carbohidratos	ND	-	-	-	17.41
Humedad	66.91±1.64	-	-	-	4.14
Cenizas	19.38±0.29	14.61	8.3	11.6	6.85
Fibra cruda*	5.86±0.28	12.36	-	-	-

LMS-G = Larva de mosca soldado negro alimentada con dieta Gainesville, ^a = Larva de mosca alimentada con residuos de frutos y vegetales, ^b = larva alimentada con granos y ^c = larva alimentada con residuos orgánicos comunes. *Fibra cruda reportada como quitina y ND = no se detectó.

3.2 Composición química de la harina de larva de mosca soldado

Se presenta en esta sección del trabajo el análisis químico de la harina de larvas de moscas soldado negro alimentadas con residuos orgánicos (HMS-R) y se compara con las larvas alimentadas con una dieta control, así como con otros autores (Tabla 2). Se puede observar que la harina HMS-R mostró niveles de proteína inferiores con los reportados en literatura y altos para el nivel de grasa. Se podría sugerir con base en lo dicho por [61] que el contenido de grasa está relacionado con la cantidad de carbohidratos

de la dieta suministrada a las larvas, pero es necesario realizar evaluaciones al respecto para confirmar este hecho. [62] menciona que la variabilidad de la composición de los residuos orgánicos impacta en la calidad de la larva, en específico el contenido de grasa en la larva. El valor nutricional de los insectos, con énfasis en la composición química de la harina de insectos, puede estar afectado por su dieta y etapa de vida [63]. Lo anterior, se debe considerar para enfocar esfuerzos en aumentar la cantidad de proteína, cuando se trata del uso de harinas utilizadas en la alimentación animal.

Tabla 2. Composición de la harina de larva de mosca soldado por análisis químico proximal.

Composición química (%)	HMS-R	HMS-G	Referencias			
			[64]	[54]	Harina de pescado [65]	Harina de soya [66]
Proteína	33.63	62.09±0.45	56.9	56.11	65.70	43.8-49.9
Grasas	34.3	6.47±0.60	7.0	4.86	8.73	0.55-3.0
Carbohidratos	4.67	-	.	21.19	-	-
Humedad	7.64	7.51±0.11	-	6.46	9.27	-
Cenizas	5.73	24.13±0.39	10.2	11.39	12.5	5.6-7.2
Fibra cruda (Quitina)	6.32	7.30±0.35	6.3	-	-	4.3 – 7.2

AHMS-R = Harina de larva de mosca soldado negro alimentada con residuo y HMS-G = Harina de larva de mosca soldado negro alimentada con dieta Gainesville.

3.3 Alimento formulado y balanceado con harina de larva de mosca soldado negro (HMS-R)

Para el desarrollo de un alimento acuícola es importante considerar las fuentes de proteína que se utilizarán, al ser el macronutriente más importante para el desarrollo de los peces y el más costoso [67] (Tabla 4). De acuerdo con la información de la Tabla 3, los ingredientes utilizados para el alimento de este estudio fueron utilizadas fuentes de proteína animal, como harina de carne, y harina de larva de mosca soldado negro (HMS-R) y se complementó con fuentes de origen vegetal como pasta de soya, gluten de trigo y harina de maíz. En la revisión de otros trabajos que utilizan dietas libres de harina de pescado [49] presentan una dieta para tilapia con harina de larva de mosca soldado negro en mayor cantidad 423.59 g/kg, harina de soya 282.4 g/kg, trigo 164.70 g/kg, y germen de maíz 109.80 g/kg. Lo anterior sugiere que pueden ser utilizadas fuentes vegetales, y no necesariamente de origen animal como harina de carne, para la elaboración de alimentos acuícolas libres de harina de pescado y reemplazada por harina de larva de mosca soldado negro. De hecho, es posible utilizar larva de mosca soldado negro, aunque los hábitos alimenticios de los peces sean carnívoros, como el caso de [68] que muestran una dieta para salmón, utilizando concentrado de soya en 25% y harina de larva de mosca soldado negro 14.75%, seguido de gluten de maíz 7.5% y gluten de trigo 6.88%, principalmente; lo que sugiere que la harina de larva de mosca soldado negro podría considerarse como única fuente de proteína animal en las dietas para peces, pero se requieren más estudios para corroborar este hecho, aunque [26] muestran una dieta para

tilapia elaborada con soya 360 g/kg, harina de maíz 200 g/kg, harina de larva de mosca soldado negro 100 g/kg, salvado de arroz 253 g/kg, sin otra fuente de proteína animal, sin mostrarse efectos adversos en el desarrollo de los peces.

Por otra parte, el aceite de larva de mosca soldado es un subproducto de la obtención de la harina y es conocido por contener altos niveles de ácidos grasos, comparable con el aceite de soya, y este podría ser efectivamente utilizado por peces de agua dulce [68], [69]. Se han realizado estudios en los que se reemplaza el aceite de pescado por aceite de larva de mosca soldado negro en *Totoaba macdonaldi* (Perciformes: Sciaenidae) hasta un 30% [70], *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: salmonidae) recomiendan hasta un 13% [37], pero se requieren más trabajos para determinar el nivel de reemplazo del aceite de larva de mosca soldado en dietas tilapia y estudiar los beneficios, pues [71] estudiaron a *Cyprinus carpio* var. *specularus* (Cypriniformes: Cyprinidae) (25 g/kg) y observaron que con la inclusión de aceite de larva de mosca soldado los peces presentaron un incremento en el rendimiento productivo y la utilización del alimento, en comparación con aquellos peces en los que se adicionó aceite de gusano de tenebrio o gusano de seda.

Como dieta base para continuar con los estudios de alimentación para tilapia con harina y aceite larva de mosca soldado se elaboró un alimento que presente los niveles de macronutrientes que requieren la tilapia, y que a su vez sean comparable con un alimento comercial, en la Tabla 4 se presenta los valores.

Tabla 3. Formulación del alimento balanceado con harina de mosca soldado negro alimentada con residuo (AHMS-R) para tilapia en etapa alevín.

Ingredientes (%)	Alimento	
	Comercial	HMS-R UAQ
Harina de larva de mosca soldado (HMS-R)	-	20
Harina de carne	*	30
Pasta de soya	*	28
Gluten de trigo	No contiene	11
Harina de maíz	*	2
Aceite de larva de mosca soldado	No contiene	6

AC = Alimento comercial malta-Cleyton 45% proteína, AHMS-R = Alimento con harina de larva de mosca soldado negro alimentada con residuo, harina de carne origen comercial. Ingredientes presentes en el alimento comercial (*), alimentos que no se presentan en el comercial (-).

Tabla 4. Composición proximal del alimento balanceado con HMS-R para tilapia en etapa alevín.

Composition proximal (g/100g)	Alimento comercial	Alimento HMS-R	Requerimiento para alevín <10 g
Proteína	42.65	44.16	40 – 50*
Grasas	11.67	11.40	10-15*
Carbohidratos	33.88	18.00	> 25 [‡]
Humedad	11	7.54	< 10
Cenizas	10.85	13.30	< 19
Fibra	0.95	4.07	< 5 ⁺

AC = Alimento comercial malta-Cleyton 45% proteína y AHMS-R = Alimento con harina de larva de mosca soldado negro alimentada con residuos orgánicos. * [38], ⁺ [42], [‡] [72].

3.4 Características físicas del AHMS-R

Los análisis físicos evaluados a los pellets incluyeron longitud, diámetro, flotabilidad, densidad del pellet y densidad aparente, así como análisis funcional de la dieta como el índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua y factor de hinchamiento. El pellet de AHMS-R fue molido y tamizado en mallas número 20 y 30. El alimento obtenido de la malla número 30 presenta un tamaño de partícula <0.600 mm, por lo que se considera alimento de iniciación #0 o migaja

#0 para peces con peso < 0.5 g; mientras que el alimento obtenido de la malla #20 presenta el tamaño de partícula de 0.600 - 0.841 mm, el cual se considera migaja #1 o alevín #1 usado en peces con peso entre 0.5 – 1 g. Ambos pellets se consideran de preiniciación por el nivel de proteína y tamaño [73].

La flotabilidad es uno de los criterios de calidad de gran importancia en el desarrollo de alimentos acuícolas, ya que permite controlar el suministro y administración del

alimento; a mayor flotabilidad será más fácil detectar el consumo de los pellets, la saciedad de los peces, evitar el desprendimiento del alimento que no será consumido, y la posibilidad de afectar la calidad del agua. La flotabilidad es la capacidad de un pellet para sostenerse en la superficie del agua debido a que la densidad del pellet es menor que la del agua [45], y según la FAO, en su apartado de control de calidad e insumos y dietas acuícolas, se calcula en términos de fuerza de flotación del pellet [48]. Si la fuerza de flotabilidad es negativa el cuerpo presenta baja flotabilidad. Tanto el alimento comercial como el alimento AHMS-R presentaron baja flotabilidad para ambos tamaños de partícula (Tabla 5). La flotabilidad también está relacionada con la densidad, puesto que a mayor densidad del pellet con respecto a la densidad del agua (1 g/mL) éste se hundirá [45].

Aunque hay diferencia significativa entre los valores del alimento comercial y el AHMS-R, la densidad de ambos se encuentran por encima de la densidad del agua (Tabla 5). Para el caso de la densidad aparente los alimentos hundibles presentan de 0.450 a 0.550 g/mL, valores similares se obtuvieron para los alimentos HMS-R para ambos tamaños de partícula (Tabla 5).

El índice de absorción de agua (IAA) representa el aspecto hidrofílico de la formulación de la mezcla de la dieta, mientras que el índice de solubilidad en agua (ISA) es considerada para medir su comportamiento hidrofóbico. El IAA es la habilidad del alimento de absorber agua cuando los gránulos de almidón están dañados, y se relaciona con el grado de hinchazón y gelatinización; así, mientras más bajo sea el valor de IAA, más compacto estará el alimento [74].

Tabla 5. Propiedades físicas del alimento peletizado, elaborado con HMS-R para tilapia en etapa alevín.

Variable del pellet	Alimento			
	Comercial	AHMS-R UAQ	Comercial	AHMS-R UAQ
Tamiz (μm)	841		595	
Longitud (mm)	1.31 $\pm$ 0.15	1.21 $\pm$ 0.15	-	-
Diámetro (mm)	0.63 $\pm$ 0.10	0.75 $\pm$ 0.08	-	-
Flotabilidad (kg/ms^2)	-0.03 $\pm$ 0.00 ^a	-0.03 $\pm$ 0.00 ^a	-0.06 $\pm$ 0.00 ^a	-0.04 $\pm$ 0.00 ^b
Densidad del pellet (g/mL)	1.25 $\pm$ 0.00 ^a	1.22 $\pm$ 0.23 ^b	1.45 $\pm$ 0.04 ^a	1.39 $\pm$ 0.37 ^a
Densidad aparente (g/mL)	0.54 $\pm$ 0.01 ^a	0.53 $\pm$ 0.00 ^a	0.53 $\pm$ 0.00 ^a	0.55 $\pm$ 0.01 ^a
Índice de absorción de agua (%)	4.49 $\pm$ 0.11 ^a	3.51 $\pm$ 0.29 ^a	3.68 $\pm$ 0.04 ^a	3.13 $\pm$ 0.15 ^a
Índice de solubilidad en agua (%)	11.35 $\pm$ 1.16 ^a	14.68 $\pm$ 0.89 ^a	13.96 $\pm$ 1.83 ^a	14.43 $\pm$ 0.50 ^a
Factor de hinchamiento	5.07 $\pm$ 0.06 ^a	4.11 $\pm$ 0.37 ^a	4.72 $\pm$ 0.08 ^a	3.65 $\pm$ 0.16 ^a

Se muestra la comparación por tamaño de partícula entre el alimento comercial 841 μm con AHMS-R UAQ 841 μm y del alimento comercial 595 μm con AHMS-R 595 μm . Los valores se presentan como promedio $\pm$ desviación estándar; n= 3, el superíndice indica la diferencia significativa obtenida por análisis de varianza (95%, $p < 0.05$).

3.5 Pruebas de alimentación en alevines de tilapia con el alimento HMS-R

Los resultados obtenidos del bioensayo de crecimiento se muestran en la Figura 2.

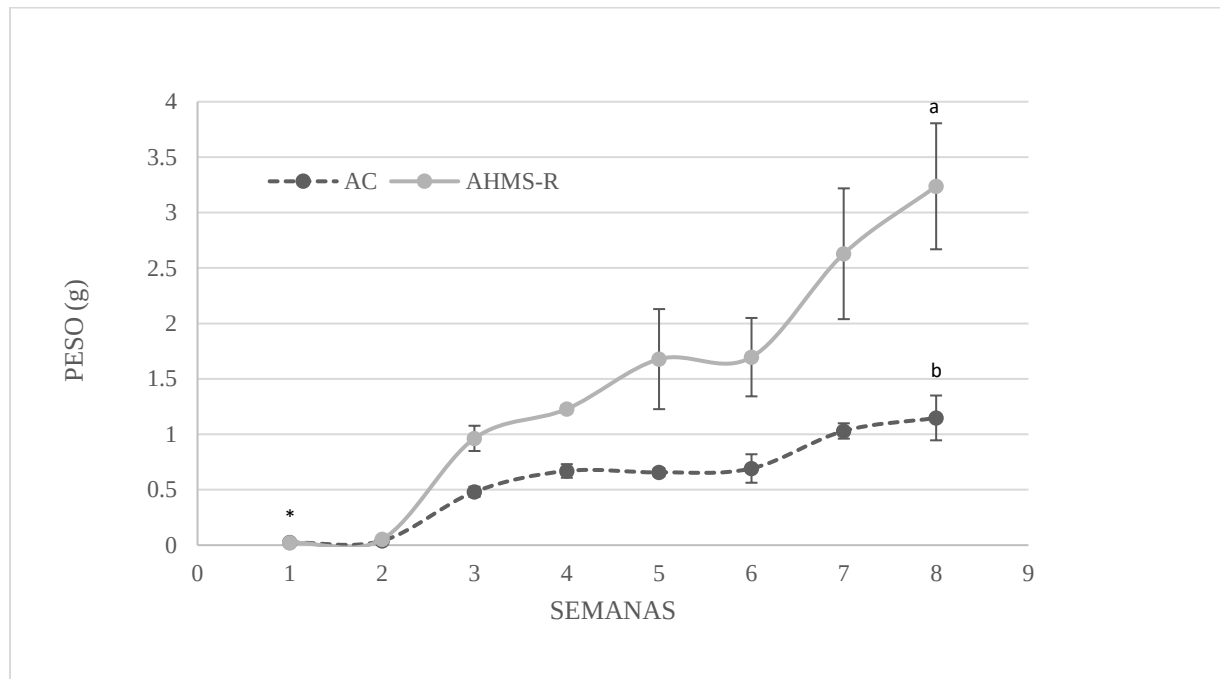


Figura 2. Peso de la tilapia en etapa alevín alimentada con alimento comercial AC y AHMS-R durante 8 semanas. AC = Alimento comercial, AHMS-R = Alimento con harina de larva de mosca soldado negro alimentada con residuo, n=30. * no hay diferencia significativa y las letras diferentes indica diferencia significativa con un nivel de 95% de confianza.

Los peces alimentados con la dieta experimental AHMS-R presentaron mayor ganancia en peso 3.2 ± 0.56 g en comparación con el alimento comercial (1.14 ± 0.20 g). La longitud final de los alevines con AHMS-R fue de 55.4 ± 2.59 mm, mientras que con el alimento comercial alcanzaron 41.49 ± 1.91 mm. [75] observaron el mayor peso en alevines de tilapia hormonados de 7 días de nacidos cuando se alimentaron con hojuelas suplementadas con harina de larva de mosca soldado negro y alimento comercial (peso final 5.88 ± 1.88 g), la cual fue alimentada con residuos de peces, aquellos alevines que fueron alimentados de harinas de larvas cultivadas en residuos orgánicos de restaurante y de fruta su peso final fue de 3.77 ± 2.15 y 4.14 ± 1.67 g respectivamente. Similares a nuestros resultados, [49] alimentaron alevines de tilapia con una dieta elaborada con harina larva de mosca soldado

negro en polvo sin peletizar, para 120 días de cultivo con un nivel hasta 100% de harina de larva de mosca soldado negro en la dieta, el mayor peso final fue de 3.39 ± 0.07 g.

4. Conclusión

El alimento elaborado con harina de mosca soldado negro evaluado en el presente trabajo mostró funcionalidad en el agua, pero es necesario trabajar las características exclusivas de calidad dirigidas a la alimentación de la tilapia en etapa alevín, para aumentar la flotabilidad y reducir la densidad del pellet asociado, quedando abiertos trabajos que utilicen aditivos. Por otra parte, la tilapia en etapa alevín mostró mayor crecimiento con el alimento de harina de larva de mosca soldado negro. En cambio, el crecimiento alcanzado en la etapa alevín con el alimento comercial, fue menor, de esta

manera, se corroboró la eficacia de la harina de larva de mosca soldado negro en la alimentación de la tilapia en etapa alevín.

Agradecimientos

El fondo para realizar este trabajo fue provisto parcialmente por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca de J. Sánchez-Velázquez durante estudios doctorales (632434) y por el Fondo para el desarrollo del conocimiento FONDEC-UAQ 2019 (FIN202008).

5. Referencias

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020*. FAO, 2020. doi: 10.4060/ca9229es
- Prabu E., Rajagopalsamy C. B. T., Ahilan B., Jeevagan I. J. M. A., and Renuhadevi M. "Tilapia – An Excellent Candidate Species for World Aquaculture: A Review" *Annual Research & Review Biology.*, 31:3, 1–14, 2019, doi: 10.9734/arrb/2019/v31i330052
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) "The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation", Rome, 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Nguyen V. H. and Tran H. C. "Freshwater aquaculture's contribution to food security in Vietnam: A case study of freshwater tilapia aquaculture in Hai Duong province", *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences*. 18:1. 2012. ISSN: 0859-3132
- Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), "Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: Trends and prospects", vol. 564. 2011. [Online]. Available: <http://www.fao.org/docrep/015/ba0002e/ba0002e.pdf>
- Sarker P. K., Kapuscinski A. R., McKuin B., Fitzgerald D. S., Nash H. M., and Greenwood C. "Microalgae-blend tilapia feed eliminates fishmeal and fish oil, improves growth, and is cost viable", *Scientific Reports*, 10:1, 19328, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-75289-x
- Jannathulla R., Rajaram V., Kalanjiam R., Ambasankar K., Muralidhar M., and Dayal J. S., "Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources", *Aquaculture Research*, 50:12, pp. 3493–3506, 2019, doi: 10.1111/are.14324
- Yogev U., Barnes A., Giladi I., and Gross A. "Potential environmental impact resulting from biased fish sampling in intensive aquaculture operations", *Science of The Total Environment*, vol. 707, p. 135630, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135630
- Rumsey G. L. and Ketola H. G., "Practical diets for Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) fry and fingerlings", *Progressive Fish-Culturist*, vol. 37, no. 4, pp. 253–256, 1975, doi: 10.1577/1548-8659(1975)37[253:pdfass]2.0.co;2.
- H. Ye *et al.*, "Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance, feed utilization and physiological status of juvenile obscure puffer, *Takifugu obscurus*", *Comparative Biochemistry and . Physiology Part C Toxicology and Pharmacology*, vol. 216, pp. 75–81, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.cbpc.2018.11.006
- Rumsey G. L., Hughes S. G., and Winfree R. A. "Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Animal Feed Science and Technology*, vol. 40, no. 2–3, pp. 135–151, Jan. 1993, doi: 10.1016/0377-8401(93)90152-A
- Tacon A. G. J., Haaster J. V., Featherstone P. B., Kerr K., and Jackson J. "Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout", *Bull. Japanese Soc. Scientific Fish.*, vol. 49, no. 9, pp. 1437–1443, 1983
- Galkanda-Arachchige H. and Davis D. A. "Evaluation of differently processed soybean meal products as ingredients in practical diets for

Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*", *Aquaculture Nutrition*, vol. 26, no. 2, pp. 287–295, Apr. 2020, doi: 10.1111/anu.12989

14. Rumsey G. L., Hughes S. G., Smith R. R., Kinsella J. E., and Shetty K. J. "Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Animal Feed Science and Technology*, vol. 33, pp. 185–193, 1991, [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(91\)90059-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(91)90059-2)

15. Bandara T. "Alternative feed ingredients in aquaculture: Opportunities and challenges", *Journal of Entomology and Zoology Studies*, vol. 6, no. 2, pp. 3087–3094, 2018. Available: <https://www.entomoljournal.com/archives/2018/vol6issue2/PartAJ/6-1-130-287.pdf> E-ISSN: 2320-7078
P-ISSN: 2349-6800

16. Nogales-Mérida S., Gobbi P., Józefiak D., Mazurkiewicz J., Dudek K., Rawski M., Kierończyk B., and Józefiak A. "Insect meals in fish nutrition", *Review Aquaculture*, vol. 11, no. 4, pp. 1080–1103, Nov. 2019, doi: 10.1111/raq.12281

17. Ogunji J. O., Kloas W., Wirth M., Schulz C., and Rennert B., "Housefly maggot meal (magmeal): An emerging substitute of fishmeal in tilapia diets", Conference on International Agricultural Research for Development 2006 7pp, ISSN: 1098-6596

18. Ogunji J. O., Nimptsch J., Wiegand C., and Schulz C., "Evaluation of the influence of housefly maggot meal (magmeal) diets on catalase, glutathione S-transferase and glycogen concentration in the liver of *Oreochromis niloticus* fingerling", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, vol. 147, no. 4, pp. 942–947, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.cbpa.2007.02.028

19. Ogunji J. O., Kloas W., Wirth M., Neumann N., and Pietsch C. "Effect of housefly maggot meal (magmeal) diets on the performance, concentration of plasma glucose, cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings", *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 92, no. 4, pp. 511–518, Aug. 2008, doi: 10.1111/j.1439-

0396.2007.00745.x

20. Alfiko Y., Xie D., Astuti R. T., Wong J., and Wang L., "Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends", *Aquaculture and Fisheries*, vol. 7, no. 2, pp. 166–178, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.aaf.2021.10.004

21. Manders R., Little J., Forbes S., and Candow D. "Insulinotropic and Muscle Protein Synthetic Effects of Branched-Chain Amino Acids: Potential Therapy for Type 2 Diabetes and Sarcopenia", *Nutrients*, vol. 4, no. 11, pp. 1664–1678, Nov. 2012, doi: 10.3390/nu4111664

22. Grisdale-Helland B., Takle H., and Helland S. J., "Aerobic exercise increases the utilization efficiency of energy and protein for growth in Atlantic salmon post-smolts", *Aquaculture*, vol. 406–407, pp. 43–51, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.002

23. Castillo S., Halligan S., and Gatlin D. M., "Growth Responses of Juvenile Red Drum *Sciaenops ocellatus* to Dietary Phenylalanine and Tyrosine Can Be Used to Calculate the Total Aromatic Amino Acid Requirement", *Journal of Nutrition*, vol. 145, no. 10, pp. 2341–2346, Oct. 2015, doi: 10.3945/jn.115.215848

24. Sambraus F., Fjelldal P.G., Remø S.C., Hevrøy E.M., Nilsen T.O., Thorsen A., Hansen T.J., and Waagbø R. "Water temperature and dietary histidine affect cataract formation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diploid and triploid yearling smolt", *Journal of Fish Diseases*, vol. 40, no. 9, pp. 1195–1212, Sep. 2017, doi: 10.1111/jfd.12594

25. Taufek N. M., Lim J. Z. Y., and Bakar N. H. A., "Comparative evaluation of *Hermetia illucens* larvae reared on different substrates for red tilapia diet: effect on growth and body composition", *Journal of Insects as Food Feed*, vol. 7, no. 1, pp. 79–88, Jan. 2021, doi: 10.3920/JIFF2019.0058

26. Tipayadara N., Dawood M. A. O., Krutmuang P., Hoseinifar S. H., Van Doan H., and Paolucci M., "Replacement of Fish Meal by Black Soldier Fly *Hermetia illucens* Larvae Meal: Effects on Growth, Haematology, and Skin Mucus Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*", *Animals*, vol. 11, no. 1, p. 193, Jan.

2021, doi: 10.3390/ani11010193

27. Panikkar P., Parakkandi J., Khan F., Kumar Das B., Udayakumar A., Eregowda V.M., Yandigeri M. "Use of black soldier fly *Hermetia illucens* prepupae reared on organic waste as feed or as an ingredient in a pellet-feed formulation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*", *Environmental Science and Pollution Research*, May 2022, doi: 10.1007/s11356-022-20926-3

28. Were G., Irungu F.G., Ngoda P., Affognon H., Ekesi S., Nakimbugwe D., Fiaboe K., Mutungi C. "Nutritional and microbial quality of extruded fish feeds containing black soldier fly *Hermetia illucens* L larvae meal as a replacement for fish meal for Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* and African sharp-tooth catfish *Clarius gariepinus*", *Journal of Applied Aquaculture*, pp. 1–17, May 2021, doi: 10.1080/10454438.2021.1922327

29. Weththasinghe P., Hansen J. Ø., Nøkland D., Lagos L., Rawski M., and Øverland M., "Full-fat black soldier fly larvae *Hermetia illucens* meal and paste in extruded diets for Atlantic salmon *Salmo salar*: Effect on physical pellet quality, nutrient digestibility, nutrient utilization and growth performances", *Aquaculture*, vol. 530, p. 735785, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735785

30. Gao S., Jin J., Liu H., Han D., Zhu X., Yang Y., Xie S. "Effects of pelleted and extruded feed of different ingredients particle sizes on feed quality and growth performance of gibel carp *Carassius gibelio* var. CAS V", *Aquaculture*, vol. 511, p. 734236, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734236

31. Irungu F.G., Mutungi C.M., Faraj A.K., Affognon H., Kibet N., Tanga C., Ekesi S., Nakimbugwe D., Fiaboe K.K.M. "Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly *Hermetia illucens* larvae and adult cricket *Acheta domesticus* meals", *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 4, no. 1, pp. 19–30, 2018, doi: 10.3920/JIFF2017.0008

32. Kurniawan D. R., Arief M., Agustono, and Lamid M., "Effect of maggot *Hermetia illucens* flour in commercial feed on protein retention, energy retention, protein content, and fat content

in tilapia *Oreochromis niloticus*", *IOP Conference Series: Earth Environmental Science in 7th ASEAN-FEN International Fisheries Symposium, IFS 2017 Batu City, East Java, Indonesia*, vol. 137, p. 012030, Apr. 2018, doi: 10.1088/1755-1315/137/1/012030

33. Nairuti R. N., Munguti J. M., Waidbacher H., and Zollitsch W., "Growth performance and survival rates of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. reared on diets containing Black soldier fly *Hermetia illucens* L. larvae meal", *Die Bodenkultur Journal for Land Management Food and Environment*, vol. 72, no. 1, pp. 9–19, Mar. 2021, doi: 10.2478/boku-2021-0002

34. Miranda C. D., Cammack J. A., and Tomberlin J. K., "Life-History Traits of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae), Reared on Three Manure Types", *Animals*, vol. 9, no. 5, p. 281, May 2019, doi: 10.3390/ani9050281

35. Bellezza Oddon S., Biasato I., Resconi A., and Gasco L., "Determination of lipid requirements in black soldier fly through semi-purified diets", *Scientific Reports*, vol. 12, no. 1, p. 10922, Dec. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-14290-y

36. Schiavone A., De Marco M., Martínez S., Dabbou S., Renna M., Madrid J., Hernandez F., Rotodlo L., Costa F., and Gasco L. "Nutritional value of a partially defatted and a highly defatted black soldier fly larvae *Hermetia illucens* L. meal for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility", *Journal of Animal Science and Biotechnology*, vol. 8, no. 1, p. 51, Dec. 2017, doi: 10.1186/s40104-017-0181-5

37. Dumas A., Raggi T., Barkhouse J., Lewis E., and Weltzien E. "The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae *Hermetia illucens* affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*", *Aquaculture*, vol. 492, pp. 24–34, 2018

38. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), Sistema de Información sobre Alimentos y Recursos para Acicultura. Nile

tilapia-Nutritional requirements.
<https://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/requerimientos-nutricionales/es/>. Última visita Septiembre 2022

39. Glencross B. D., Booth M., and Allan G. L., "A feed is only as good as its ingredients? a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds", *Aquaculture Nutrition*, vol. 13, no. 1, pp. 17–34, Feb. 2007, doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x

40. Glencross B. D., "A feed is still only as good as its ingredients: An update on the nutritional research strategies for the optimal evaluation of ingredients for aquaculture feeds", *Aquaculture Nutrition*, vol. 26, no. 6, pp. 1871–1883, Dec. 2020, doi: 10.1111/anu.13138

41. Gregorio J., Lanza P., Churión C., and Gómez N. "Comparación entre el método kjeldahl tradicional y el método dumas automatizado (n cube) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos", *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 28, no. 2, pp. 245–249, 2016, ISSN: 1315-0162

42. Kamal M., Kurt A., and Brown M. L. "Tilapia : Environmental Biology and Nutritional Requirements", 2010. Fact Sheets. Paper 164, http://openprairie.sdstate.edu/extension_fact/164 .

43. El-Sayed A.-F. M. "Intensive culture", in *Tilapia culture*, 2nd ed., Elsevier Science, 2020, p. 358. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816541-6.00006-4>

44. FAO, "Manual básico de piscicultura para Paraguay," 2011. <https://www.fao.org/3/as829s/as829s.pdf>

45. Cruz-Suárez L. E., Ruíz-Díaz P.P., Cota-Cerecer E., Nieto-Lopez M.G., Guajardo-Barbosa C., Tapia-Salazar M., Villareal-Cavazos D., Ricque-Marie D. "Revisión sobre algunas características físicas y control de calidad de alimentos comerciales para camarón en México", in *Avances en Nutrición Acuicola VIII. VIII Sposium Internacional de nutrición Acuicola*, Nuevo León, México, 2006, pp. 330–370, <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/>

[article/view/175](#)

46. Hoyos J. L., Villada H. S., and Fernández A., "Parámetros de Calidad y Metodologías para Determinar las Propiedades Físicas de Alimentos Extruidos para Peces", *Información Tecnológica*, vol. 28, no. 5, pp. 101–114, 2017, doi: 10.4067/S0718-07642017000500012

47. Rodriguez-Miranda J, Ramírez-Wong B., Vivar-Vera M.A., Solís-Soto A., Gómez-Aldapa C.A., Castro-Rosas J., Medrano-Roldan H., y Delgado-Licon E. "Efecto de la concentración de harina de frijol *Phaseolus vulgaris* L. contenido de humedad y temperatura de extrusión sobre las propiedades funcionales de alimentos acuícolas", *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 13, no. 3, pp. 649–663, 2014.

48. Toledo M., "Determinación de índices de calidad física de alimentos para peces. FAO". *En línea*, 1994. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S18.htm#ch17>

49. Limbu S.M. Shoko A.P. Ulotu E.E. Luvanga S.A. Munyi F.M., John J.O., and Opiyo M.A. "Black soldier fly *Hermetia illucens*, L. larvae meal improves growth performance, feed efficiency and economic returns of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, L. fry", *Aquaculture Fish and Fisheries.*, vol. 2, no. 3, pp. 167–178, Jun. 2022, doi: 10.1002/aff2.48.

50. INAPESCA, "Acuacultura Tilapia", 2018. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-tilapia>

51. Magee K., Halstead J., Small R., and Young I., "Valorisation of Organic Waste By-Products Using Black Soldier Fly *Hermetia illucens* as a Bio-Converter", *Sustainability*, vol. 13, no. 15, p. 8345, Jul. 2021, doi: 10.3390/su13158345

52. M. Henry M., Gasco L., Piccolo G., and Fountoulaki E. "Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future", *Animal Feed Science and Technology*, vol. 203, pp. 1–22, May 2015, doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001

53. Gligorescu A., Toft S., Hauggaard-Nielsen H., Axelsen J. A., and Nielsen S. A., "Development, metabolism and nutrient composition of black soldier fly larvae *Hermetia*

illucens (Diptera: Stratiomyidae) in relation to temperature and diet”, *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 4, no. 2, pp. 123–133, Jun. 2018, doi: 10.3920/JIFF2017.0080.

54. Zozo B., Wicht M. M., Mshayisa V. V., and Van Wyk J. “The Nutritional Quality and Structural Analysis of Black Soldier Fly Larvae Flour before and after Defatting”, *Insects*, vol. 13, no. 2, p. 168, Feb. 2022, doi: 10.3390/insects13020168

55. Barragan-Fonseca K. B., Dicke M., and Van Loon J. J. A. “Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review”, *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 3, no. 2, pp. 105–120, Jun. 2017, doi: 10.3920/JIFF2016.0055

56. Barragan-Fonseca K. B., Gort G., Dicke M., and Van Loon J. J. A., “Nutritional plasticity of the black soldier fly *Hermetia illucens* in response to artificial diets varying in protein and carbohydrate concentrations”, *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 7, no. 1, pp. 51–61, Jan. 2021, doi: 10.3920/JIFF2020.0034

57. Lu S., Taethaisong N., Meethip W., Surakhunthod J., Sinpru B., Sroichak T., Archa P., Thongpea S., Paengkoum S., Patindra Purba R.A., and Paengkoum P. “Nutritional Composition of Black Soldier Fly Larvae *Hermetia illucens* L. and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review”, *Insects*, vol. 13, no. 9, p. 831, Sep. 2022, doi: 10.3390/insects13090831

58. Shumo M., Osuga I.M., Khamis F.M., Tanga C.M., Fiaboe K.K.M., Subramanian S., Ekesi S., van Huis A., and Borgemeister C. “The nutritive value of black soldier fly larvae reared on common organic waste streams in Kenya”, *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 10110, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-46603-z

59. Nyakeri E. M., Ogola H. J., Ayieko M. A., and Amimo F. A., “An open system for farming black soldier fly larvae as a source of proteins for smallscale poultry and fish production”, *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 3, no. 1, pp. 51–56, Mar. 2017, doi: 10.3920/JIFF2016.0030

60. Liu X., Chen X., Wang H., Yang Q., ur

Rehman K., Li W., Cai M., Li Q., Mazza L., Zhang J., Yu Z., and Zheng L. “Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly”, *PLoS One*, vol. 12, no. 8, p. e0182601, Aug. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0182601

61. Danieli P.P., Lussiana C., Gasco L., Amici A., and Ronchi B. “The Effects of Diet Formulation on the Yield, Proximate Composition, and Fatty Acid Profile of the Black Soldier Fly *Hermetia illucens* L. Prepupae Intended for Animal Feed”, *Animals*, vol. 9, no. 4, p. 178, Apr. 2019, doi: 10.3390/ani9040178

62. Cohn Z., Latty T., and Abbas A. “Understanding dietary carbohydrates in black soldier fly larvae treatment of organic waste in the circular economy”, *Waste Management*, vol. 137, pp. 9–19, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.wasman.2021.10.013

63. El-Hack M. Abd. Shafi M.E., Alghamdi W.Y., Abdelnour S.A. Shehata A.M., Noreldin A.E., Ashour E.A., Swelum A.A., Al-Sagan A.A., Alkhateeb M., Taha A.E., Abdel-Moneim A-M. E., Tufarelli V., Ragni M. “Black Soldier Fly *Hermetia illucens* Meal as a Promising Feed Ingredient for Poultry: A Comprehensive Review”, *Agriculture*, vol. 10, no. 8, p. 339, Aug. 2020, doi: 10.3390/agriculture10080339

64. Caimi C., Biasato I., Chemello G., Oddon S.B., Lussiana C., Malfatto V.M., Capucchino M.T., Colombino E., Schiavone A., Gai F., Trocino A., Brugiapaglia A., Renna M., Gasco L. “Dietary inclusion of a partially defatted black soldier fly *Hermetia illucens* larva meal in low fishmeal-based diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*”, *Journal of Animal and Science. Biotechnology*, vol. 12, no. 1, p. 50, Dec. 2021, doi: 10.1186/s40104-021-00575-1

65. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), “Harina de pescado, 0/9/13”.
http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_par_a_piensos/harina-de-pescado-70913

66. Banaszkiwicz T. “Nutritional Value of Soybean Meal”, in *Soybean and Nutrition*, InTech, 2011. doi: 10.5772/23306

67. Craig S., Kuhn D., and Schwarz M. "Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding Steven", *Virginia Coop. Extension*, pp. 1–6, 2017
68. Li Y., Kortner T. M., Chikwati E. M., Belghit I., Lock E.-J., and Krogdahl Å. "Total replacement of fish meal with black soldier fly *Hermetia illucens* larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon *Salmo salar*", *Aquaculture*, vol. 520, p. 734967, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.734967
69. Fawole F.J., Labh S.A., Hossain M.S., Overtuf K., Small B.C., Welker T.L., Hardy R.W., and Kumar V. "Insect (black soldier fly larvae) oil as a potential substitute for fish or soy oil in the fish meal-based diet of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*", *Animal Nutrition*, vol. 7, no. 4, pp. 1360–1370, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.aninu.2021.07.008
70. Maldonado-Othón C. A., De La Re-Vega E., Perez-Velazquez M., and González-Félix M. L. "Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases", *Aquaculture*, vol. 552, p. 737985, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.737985
71. X. Xu, H. Ji, I. Belghit, and J. Sun, "Black soldier fly larvae as a better lipid source than yellow mealworm or silkworm oils for juvenile mirror carp *Cyprinus carpio* var. *specularis*", *Aquaculture*, vol. 527, p. 735453, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735453
72. A. Ali and N. A. Al-Asgah, "Effect of feeding different carbohydrate to lipid ratios on the growth performance and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings 1", *Anim. Res.*, vol. 50, no. 1, pp. 91–100, Jan. 2001, doi: 10.1051/animres:2001119
73. Ng W.K. and Romano N., "A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle", *Reviews in Aquaculture*, vol. 5, no. 4, pp. 220–254, Dec. 2013, doi: 10.1111/raq.12014
74. Pérez-Viveros K. J. *et al.*, "Effect of extrusion in the elaboration of an animal feed based on *Moringa oleifera* Lam and *Zea mays* as a partial substitute of fishmeal in the diet of the adult stage of *Oreochromis niloticus*", *Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal*, vol. 29, pp. 1–17, Nov. 2019, doi: 10.15174/au.2019.2266
75. Pacheco-Pérez R., Hinojosa-Garro D., Ruíz-Ortíz F., Camach-Chab J.C., Ortega-Morales B.O., Alonso-Hernández N., Fonseca-Muñoz A., Landera-Valenzuela N., Loeza-Concha H.J., Diego-Nava F., Arroyo-Balán F., and Granados-Echegoyen C.A. "Growth of the Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on Organic-Waste Residues and Its Application as Supplementary Diet for Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae)", *Insects*, vol. 13, no. 4, p. 326, Mar. 2022, doi: 10.3390/insects13040326



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Evaluación financiera-ambiental de tecnologías de aprovechamiento energético de RSU en el estado de Oaxaca

Financial-environmental evaluation of MSW energy recovery technologies in the state of Oaxaca

Escamilla-García, P.E.^{a*}, Morales-Castro, J.A.^b, Pérez-Soto, F.^c, Alvarado-Raya, H.E.^d, Estrada-Chavira, M.E.^e

^{a*} Centro de Estudios Científicos y Tecnológicos No. 13; Instituto Politécnico Nacional; C.P. 04250, Coyoacán, Ciudad de México.

^b Escuela Superior de Comercio y Administración Unidad Tepepan, Instituto Politécnico Nacional; C.P. 16020, Xochimilco, Ciudad de México.

^c División de Ciencias Económico-Administrativas; Universidad Autónoma Chapingo; C.P. 56230, Texcoco, Estado de México.

^d Centro de Investigaciones Económicas Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial; Universidad Autónoma Chapingo; C.P. 56230, Texcoco, Estado de México.

^e Tecnológico de Estudios Superiores de Ixtapaluca, C.P. 56580, Ixtapaluca, Estado de México.
peescamilla@ipn.mx*; jmorales@ipn.mx; perezsotofco@gmail.com; halvarador@chapingo.mx;
maria.ec@ixtapaluca.tecnm.mx

Innovación tecnológica: Desarrollo e implementación de tecnologías WTE con bajo impacto ambiental.

Área de aplicación industrial: Sector de gestión de RSU, Sector energético.

Recibido: 29 abril 2022

Aceptado: 05 octubre 2022

Abstract

This research evaluates the use of methane (CH₄) generated by the organic fraction of Municipal Solid Waste (MSW) as fuel for energy generation. Analysis were conducted to estimate biogas emissions at a landfill in the Mexican state of Oaxaca with a daily reception rate of 1666.51 tons of MSW. A first order decay model was used, resulting in an average generation of 2,932 ft³/min of CH₄, with a maximum flow of 4,072 ft³/min. The energy generation resulted in a total production of 554.85 GWh and an annual average of 36.99 GWh. In the environmental indicators, a value of 0.183 million metric tons of carbon dioxide equivalents (MMTCO₂E) avoided to the atmosphere with a reduction of carbon dioxide (CO₂) of 0.5 % out of the total MMTCO₂E generated by waste

in Mexico was obtained. The financial profitability was demonstrated by evaluating the net cash flows over 15 years and a discount rate of 15 % resulting in a Net Present Value of \$ USD 11,098,242.79, an Internal Rate of Return of 24% and an investment payback period of 9.4 years. These results contribute to research on the energy use of MSW in Mexico, which enables the implementation of comprehensive management systems with sustainability approaches and clean energy projects.

Keywords: waste, methane, landfill, biogas, GHG.

Resumen

Esta investigación evalúa el uso del metano (CH_4) generado por la fracción orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) como combustible para la generación de energía. Se condujeron análisis para estimar las emisiones de biogás en un relleno sanitario del estado de Oaxaca con una tasa de recepción diaria de 1666.51 toneladas de RSU. Se empleó un modelo de decaimiento de primer orden resultando en una generación promedio de 2,932 pies³/min de CH_4 , con un flujo máximo 4,072 pies³/min. La generación de energía resultó en producción total de 554.85 GWh y un promedio anual de 36.99 GWh. En los indicadores ambientales se obtuvo un valor de 0.183 millones de toneladas métricas de dióxido de carbono equivalente (MMTCO₂E) evitadas a la atmósfera con una reducción de dióxido de Carbono (CO₂) del 0.5% del total de MMTCO₂E generado por residuos en México. Se demostró la rentabilidad financiera evaluando los flujos netos de efectivo a 15 años y una tasa de descuento del 15%, con lo que se obtuvo un Valor Presente Neto de \$USD 11,098,242.79 una Tasa de Interna de Rendimiento de 24% y un periodo de recuperación de inversión de 9.4 años. Estos resultados aportan a las investigaciones sobre el aprovechamiento energético de los RSU en México, lo que permite la implementación de sistemas de gestión integral con enfoques de sustentabilidad y proyectos de energías limpias.

Palabras clave: residuos, metano, relleno sanitario, biogás, GEI.

I. Introducción

El cambio climático es una realidad que aqueja a las diferentes naciones del mundo. El mayor número de tormentas, inundaciones, así como crecimiento en los cuerpos acuáticos y el incremento de calor impactarán de forma significativa la forma de organización y el actuar cotidiano de las poblaciones (Hurlimann *et al.*, 2019). Los acuerdos internacionales han determinado limitar el calentamiento a menos de dos grados mediante la reducción entre un 40 y un 70% de los Gases de Efecto Invernadero

(GEI) (IPCC, 2014). En todo el planeta se han presentado olas de calor sin precedentes desde la década de los 50s y las cuales se han vinculado con una mayor cantidad de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera, de igual manera se han registrado incrementos progresivos promedio en niveles termales de tierra y agua de 0.74 °C en los últimos 100 años (SEMARNAT, 2009). De acuerdo con el último reporte del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (en inglés IPCC), en 2019, las concentraciones de metano (CH_4) en la

atmosfera alcanzaron 1866.3 (± 3.3) ppb (partes-por-billón). En la década de 1990, estas concentraciones se estabilizaron, pero comenzaron a aumentar nuevamente alrededor de 2007 a una tasa promedio de 7.6 ± 2.7 ppb/año⁻¹ (IPCC, 2021). Este crecimiento reciente está impulsado en gran medida por las emisiones de la explotación de combustibles fósiles, la actividad agrícola-ganadera y los residuos sólidos. Relativo a este último aspecto, Kaza *et al.*, (2018) han estimado que la generación de residuos en el mundo aumentará para 2050 un 70% con respecto a los niveles de 2016, pasando de 2.01 a 3.40 millones de toneladas.

En adición a lo anterior, en años recientes la disponibilidad de los combustibles fósiles ha disminuido por el agotamiento de yacimientos y el incremento en la complejidad de su extracción (Shafiee y Topal, 2009; Inman, 2013). Esto ha aumentado no solo los costos de extracción sino también los impactos ambientales asociados (Mansson, 2014; Schmidt, 2011). México fue, durante varios años un referente internacional en materia de producción y comercialización de petróleo. Sin embargo, en el año 2008, la producción de petróleo comenzó a disminuir alcanzando un punto crítico en 2019 con 1.701 miles de barriles por día (SENER, 2022). Las reservas de petróleo de México se estiman en 7200 millones de barriles cantidad que de no encontrar nuevas reservas y continuar con la tasa de consumo actual, solo podrían satisfacer la demanda nacional de aproximadamente 10 años (Alemán-Nava *et al.*, 2014).

Con lo anterior el desarrollo de sistemas de energía renovable ha cobrado relevancia y se ha vuelto foco de atención en las políticas públicas de los gobiernos en países desarrollados, favoreciendo no solo el aprovechamiento de recursos renovables como puede ser el sol y el aire, sino también

el potencial energético de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) (Ghosh *et al.*, 2019). En México, la composición de los RSU muestra una presencia importante de materiales plásticos con un 10.9%, papel y cartón 13.8%, vidrio 5.9%, aluminio y metales ferrosos 2.8%, textiles 1.4%, otros materiales 12.7% y residuos orgánicos 52.4% (SEMARNAT, 2020). No obstante, las bajas tasas de reciclaje y aprovechamiento de materiales valorizables en el país derivan en altos volúmenes dispuestos en rellenos sanitarios y sitios no controlados ya que son los sistemas de disposición y tratamiento final predominantes. Desde el año 2000 la utilización de sitios no controlados ha disminuido para favorecer la operación de rellenos sanitarios controlados acorde a los lineamientos establecidos por la NOM-083-SEMARNAT-2003. Sin embargo, las tendencias de generación, así como su tratamiento y disposición final están fuertemente vinculadas al proceso de urbanización. Esto implica que, si bien hay una mayor presencia de sitios controlados para la disposición final que en años previos, estos son exclusivos casi en su totalidad de poblaciones urbanas y zonas metropolitanas, mientras que en comunidades rurales los sitios no controlados y tiraderos a cielo abierto son preponderantes. Cuando los residuos sólidos se disponen en rellenos sanitarios no controlados, la descomposición anaeróbica produce lixiviados, compuestos volátiles y biogás. El dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄), son los componentes principales del biogás. De estos gases, el metano representa aproximadamente el 50-60 % en volumen (Spokas *et al.*, 2006) y contribuye alrededor del tres al cuatro por ciento de las emisiones antropogénicas mundiales de GEI (IPCC, 2021). La captura del biogás se ha considerado en muchos países como un método viable para recuperar energía y reducir las emisiones de GEI (Salomon y Silva, 2009; Munster y Meibom, 2011). Ante esto, Kumar *et al.* (2004) indican

que la producción de biogás en rellenos sanitarios alcanza un pico dentro de los primeros tres-seis años de la deposición de RSU, y luego disminuye lentamente hasta por 25 años o más. Ante esto, su aprovechamiento energético se puede realizar en proyectos de captura con periodos de vida que oscilan entre los 15 y 30 años.

El caso particular del estado de Oaxaca evidencia a una entidad federativa con una población de 3,967,889 habitantes y un índice de marginación del 2.06 (CONAPO, 2015), siendo así un estado con bajos niveles de desarrollo económico y social.

En complemento a lo anterior, el estado de Oaxaca reporta un Índice de Competitividad Estatal (ICE) de 37.14, valor con posiciona a la entidad en el penúltimo puesto en comparación con todos los demás estados del país (IMCO, 2016). Para los fines de esta investigación, este indicador cobra especial importancia no solo por evidenciar un rezago competitivo sino porque dentro de su ponderación se integran variables puntuales como las tasas de generación de RSU, las estrategias de cuidado ambiental y la diversidad en esquemas de generación de energía limpia. Con este panorama un proyecto que tenga como objetivo determinar

la factibilidad en aspectos técnicos, económicos y sobre todo ambientales de la valorización energética del metano resultante de los RSU en el estado de Oaxaca, se presenta como pertinente. Con esto se busca contribuir en el desarrollo de evaluaciones que permitan determinar beneficios económicos en función de la generación de energía (kWh) así como la mitigación de impactos ambientales asociados a la gestión de los RSU mediante la cuantificación de las emisiones CO₂ y CH₄ evitadas a la atmosfera.

II. Materiales y Métodos

Descripción del sitio de estudio

Para realizar la evaluación del proyecto de generación de energía por biogás se analizó un relleno sanitario del estado de Oaxaca con una extensión de 16 ha ubicado a 15 km al sureste de la capital en una latitud de 16.924471 y longitud de -96.685213 (16 ° 55'28.1 " N - 96 ° 41'06.6 " W). El sitio se localiza en una región geográfica con una precipitación pluvial promedio de 663.5 mm, una temperatura promedio de 22 °C y una elevación promedio de 1550 m (SEMAEDES, 2016). La tasa de recepción diaria del sitio es de 1661.5 ton/día con una caracterización de 47% residuos orgánicos y 53% de inorgánicos (ver tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de los RSU dispuestos en el relleno sanitario.

Tipo	Ton	%	Tipo	Ton	%
Residuo orgánico	681.22	41.00	Textiles	35.45	2.13
Aluminio	9.63	0.58	Vidro de color	18.09	1.09
Cartón	52.14	3.14	Vidro claro	49.16	2.96
Pieles	17.44	1.05	Algodón	27.49	1.65
Tetra Brik	85.45	5.14	Residuo fino	16.41	0.99
Latas	64.73	3.90	Fibra vegetal	18.97	1.14
Metales ferrosos	16.59	0.99	Fibra sintética	49.21	2.96
Papel	97.84	5.89	Hule	28.46	1.71
Película plástica	78.33	4.71	Cerámica	17.82	1.07
Plástico rígido	68.16	4.10	Pañales	49.22	2.96
PET	138.93	8.36	Otro	40.77	2.45

Cuantificación de biogás generado

Es importante mencionar que previo a iniciar los trabajos de instalación para la captura del biogás es fundamental conducir los estudios de estimación de generación. Esto debido a que la tasa de generación puede variar significativamente dado el tiempo de operación del relleno, así como el tiempo que han pasado los RSU en las celdas de disposición. Las emisiones de CH₄ de los rellenos sanitarios son complejas de medir y requieren el uso de modelos de orden cero, primer o segundo orden para la estimación. Amini, Reinhart y Mackie (2012) sugirieron que los resultados del modelo de orden cero no son confiables debido a errores relativamente altos, mientras que la aplicación de modelos de segundo orden complica el procedimiento y no mejora la precisión de los resultados. Por lo tanto, los modelos de generación de biogás de decaimiento de primer orden (FOD) que consideran el potencial de generación de CH₄ (L_o), el contenido de carbono orgánico degradable (DOC) y la tasa de generación de CH₄ (k) son ampliamente utilizados para

cuantificar la generación de biogás durante la vida útil del sitio (Krause, Chickering y Townsend, 2016). Para los fines de la evaluación se utilizó el modelo LandGEM. Este modelo diseñado y validado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) (ver Ec. 1). En donde Q_B se refiere a la cantidad de biogás en el relleno sanitario; i representa el incremento de tiempo de un año; n es el año del cálculo-año inicial de aceptación de residuos; j es incremento de tiempo de 0.1 años; k es la tasa de generación de CH₄ (1/año); L_o es la capacidad potencial de generación de CH₄ (pies³/ton); M_i es la masa de residuos sólidos eliminados en el i -ésimo año (toneladas) y t_{ij} es la edad de la j -ésima sección de la masa de residuos eliminada en el i -ésimo año (años decimales).

$$Q_B = \sum_{t=1}^n \sum_{j=0.1}^1 k L_o \left[\frac{M_i}{10} \right] (e^{-kt_{ij}}) \quad (\text{Ec. 1})$$

Los parámetros considerados para la modelación del metano generado y aprovechado se listan en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros técnicos para la evaluación.

Parámetro	Valor
Número de pozos de venteo	16
Tasa de recepción anual de RSU (ton/año)	606,451
Constante de generación de metano k (1/año)	0.04
Capacidad de generación de metano L_o (pies ³ /ton)	3,204
Contenido de metano en biogás	50 %
Profundidad promedio del terreno (pies)	65
Eficiencia de recolección	85 %
Utilización del potencial de vapor residual en tecnología CHP	100 %

La eficiencia de recolección de biogás se fijó en 85%. Este valor se seleccionó teniendo en cuenta que el equipo utilizado de recolección normalmente opera con eficiencias entre el 70 y el 95 % (EPA, 2005). Este valor es consistente con la eficiencia de recolección reportada por Jo y Kim (2018) para rellenos sanitarios con características similares al caso de estudio. El modelo utilizó una tasa constante de generación de metano k de 0.04

1/año y una capacidad de generación de metano L_o de 3.204 pies³/ton asumiendo un contenido de metano en el biogás del 50%, esto de acuerdo con lo recomendado por Salomon y Silva (2009).

Determinación de la reducción de emisiones GEI a la atmósfera

Parte de la evaluación ambiental involucró la determinación de beneficios ambientales representados por el CH₄ aprovechado y el CO₂ destruido, esto implica la cantidad de GEI evitados a la atmosfera. La estimación de la cantidad total anual de CH₄ que es utilizado en el proyecto y por tanto se evita su liberación a la atmosfera se calculó usando la

$$CH_4U = (BUE)(\%CH_4) \left(\frac{0.0423 \text{ lb } CH_4}{\text{pies}^3 CH_4} \right) \left(\frac{\text{short ton}}{2000 \text{ lb}} \right) \left(\frac{0.9072 MT}{\text{short ton}} \right) (PCGCH_4) \left(\frac{MMT}{10^6 MT} \right) \quad (\text{Ec. 2})$$

En lo que respecta a la cuantificación del dióxido de carbono evitado a la atmosfera, este se calculó considerando un tipo de tecnología de ciclo combinado, esto es que utiliza calor residual para la obtención de vapor como complemento a la energía eléctrica. El cálculo utilizó la Ec. 3 donde

$$CO_2 = \left(\left(\frac{1.18 \text{ lbs } CO_2}{\text{kWh}} \right) * (ENP) * \left(\frac{\text{short ton}}{2.000 \text{ lbs}} \right) * \left(\frac{0.9072 MT}{\text{short ton}} \right) * \left(\frac{MMT}{10^6 MT} \right) \right) + \left((AVP) * \left(\frac{0.12037 \text{ lbs } CO_2}{\text{pies}^3 (\text{gas natural})} \right) * \left(\frac{\text{short ton}}{2.000 \text{ lbs}} \right) * \left(\frac{0.9072 MT}{\text{short ton}} \right) * \left(\frac{MMT}{10^6 MT} \right) \right) \left(\frac{1}{0.80 (EVAP)} * \left(\frac{\text{pies}^3 \text{ gas natural}}{1.050 \text{ Btu}} \right) * \left(\frac{10^6 \text{ Btu}}{\text{millón Btu}} \right) \right) \quad (\text{Ec. 3})$$

Cálculo de indicadores financieros

Considerando el tipo de sistema de microturbinas CHP (en inglés Combined Heat and Power) el costo de capital promedio asumió un escalamiento de en \$USD 5.5 x kW y un costo promedio de operación y mantenimiento de \$USD 380 x kW, esto de acuerdo con las recomendaciones de la EPA (2005). Los resultados fueron modelados utilizando la herramienta LFGcost-WebV3.0 para la proyección de los costos de capital total, así como los beneficios económicos esperados en función del metano aprovechado. Las ventas promedio asumieron un precio de venta de \$USD 0.060 por kWh con una tasa de escalamiento del 1.0% anual. Para la evaluación de la rentabilidad financiera el proyecto se proyectó a 15 años con una tasa de descuento del 15%, la cual integra 3 veces la inflación promedio en México más una prima de riesgo. Se consideró igualmente un financiamiento a lo

Ec. 2 donde CH₄U es la cantidad total de metano utilizado reducido en el proyecto en millones de toneladas métricas de CO₂ equivalente por año (MMTCO₂E/año), BUE es el biogás utilizado efectivo, % CH₄ es la cantidad de metano en el biogás y PCGCH₄ es el potencial de calentamiento global del metano.

CO₂ es la cantidad total de CO₂ evitado a la atmosfera (MMTCO₂E/año), ENP es la energía neta producida, AVP es el total de agua y vapor residual producido (millones de Btu/año), EVAP es la eficiencia en la producción de vapor y agua del 80%.

largo del periodo de operación el cual integra una anualidad fija e intereses sobre saldos insolutos. Los indicadores de rentabilidad utilizados fueron el Valor Presente Neto (Ec. 4) y la Tasa Interna de Rendimiento (Ec. 5). Finalmente se estimó el Periodo de Recuperación de la Inversión (Ec. 6).

$$VPN = -P + \sum_{n=0}^N \frac{FNE_n}{(1+i)^n} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$TIR = 0 = VPN = -P + \sum \frac{FNE_n}{(1+i)^n} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$PRI = p + \frac{(1-FNE_a)}{FNE_b} \quad (\text{Ec. 6})$$

En donde VPN es el Valor Presente Neto; FNE representa el Flujo Neto de Efectivo en el periodo n; i es la tasa mínima aceptable de rendimiento y n representa los periodos de tiempo evaluados; TIR es la Tasa Interna de Rendimiento; PRI es el Periodo de

Recuperación de la Inversión; p es el periodo inmediato anterior en el cual se recupera la inversión; I representa la inversión inicial; FNE_a es el flujo de efectivo acumulado del periodo previo donde se recupera la inversión y FNE_b es el flujo de efectivo acumulado del periodo donde se recupera la inversión.

III. Resultados y Discusión

Generación de CH₄

Utilizando la Ec. 1 que asumió una constante de generación de CH₄ (k) 0.040 (1/año), la cual se fija en función de la precipitación pluvial de la zona en donde se ubica el relleno sanitario; y considerando una capacidad de generación de CH₄ (L_0) de 3.204 pies³/ton y un contenido de CH₄ del 50% en el biogás, el CH₄ generado y recolectado resultó valores como se puede observar en la tabla inferior (ver tabla 3).

Tabla 3. CH₄ generado y capturado en el proyecto (pies³/min).

	Generado	Capturado
Mínimo	1,578	1,341
Promedio anual	2,932	2,492
Máximo	4,072	3,461

La vida útil del proyecto considera un período de operación de 15 años. La tabla 3 muestra que la generación de CH₄ alcanza el pico máximo de 4,072 pies³/min. Es importante señalar que este valor máximo se alcanza hasta el final de los 15 años de operación y luego comienza un descenso. Esto está dado por se detiene la recepción de RSU al relleno y el biogás generado posterior a esa fecha solo proviene de los residuos ya almacenados en las celdas de disposición. Sin embargo, con una generación promedio de 2,932 pies³/min, se tiene que para una tecnología CHP, la utilización neta del metano alcanza un valor de máximo de 2,318 pies³/min. Estos valores implican una generación anual y un aprovechamiento de 1,541.05 y 1,218.34 millones de pies³ de CH₄ respectivamente. No obstante que el proyecto no se evaluó con una eficiencia del 100% esto no implica que el metano no capturado sea liberado a la atmósfera toda vez que el proyecto considera en su infraestructura un sistema de quema de gas no capturado.

Los resultados sobre la generación estimada de metano son consistentes con valores reportados en rellenos sanitarios con tasas de recepción y características similares (Fei *et al.*, 2019; Pillai y Riverol, 2018) lo que resulta en valores dentro del rango de rendimiento adecuado para los niveles de RSU manejados. Como se mencionó en la parte de materiales y métodos la eficiencia de recolección de biogás se fijó en 85%. Aunque se ha informado de la viabilidad económica de los proyectos con una eficiencia de recolección de hasta el 33% (Bolan *et al.*, 2013) la tasa de eficiencia de recolección utilizada siguió las recomendaciones de la EPA (2005) en términos de tamaño del proyecto y características climáticas de la región. Según Calabro (2009) la eficiencia de recolección que oscila entre el 80-90% es la alternativa que mejor se adapta para RSU en rellenos sanitarios equipados con tecnologías combinadas de última generación.

En lo que respecta al flujo máximo de CH₄ que resultó en 4,072 pies³/min se debe precisar que dicho valor se basa en las

condiciones climáticas de la región y su valor real podría variar si existen un cambio significativo en el nivel de precipitación pluvial y de la temperatura de la zona. Sin embargo, para fines demostrativos se asume que el valor obtenido es confiable para las estimaciones de generación de energía toda vez que se alinea con lo reportados investigaciones similares (Escamilla-García *et al.*, 2016). Debe enfatizarse que dadas las diferentes características climatológicas que se encuentran a lo largo de México, las emisiones de biogás proveniente de RSU pueden ser difíciles de extrapolar. Esto no solo por variaciones en el clima sino también a la composición de los RSU en todo el país. Por lo tanto, en este trabajo, las estimaciones de CH_4 se calcularon utilizando un valor L_0 de 3.204 pies³/tonelada que considera un contenido promedio de humedad en el residuo orgánico dispuesto, este valor se vincula con la tasa de generación de 0.040 k 1/año, asumiendo una precipitación acumulada de lluvia de 663.5 mm/año (SEMAEDES, 2016). Aunque algunos estudios sugieren que en los modelos de estimación de primer orden como el LandGEM, los valores de k inexactos pueden generar estimaciones poco realistas de CH_4 (Mou *et al.*, 2015), Escamilla-García (2019) sugiere que la tasa constante de generación de metano k debe fijarse en 0.04 cuando el área alrededor del relleno sanitario recibe 25 pulgadas o más de lluvia. Los 663.5 mm/año de precipitación pluvial en Oaxaca equivalen a 26.10 pulgadas de lluvia, por lo tanto, la constante k fue adecuada para el modelado.

Si bien con los resultados obtenidos se tiene valores confiables para realizar una estimación de generación energética, debe advertirse que para poner en marcha un proyecto real, se debe realizar una caracterización completa del biogás en el relleno en cuestión. Esto es debido a que el biogás, adicional a metano y dióxido de carbono, se compone en menor medida de otro tipo de gases como sulfuro de hidrogeno (H_2S) así como la presencia de impurezas como metilsiloxanos volátiles, los cuales pueden deteriorar un equipo de captura (Papadimas *et al.*, 2012). Para el propósito de este estudio, no se caracterizó el biogás, pero las estimaciones consideraron el uso de filtros de alta eficiencia para asegurar condiciones adecuadas para la generación de electricidad. La adición o descarte de dichos filtros puede determinar la viabilidad económica de un proyecto energético dado que el capital inicial requerido y los costos operativos pueden variar significativamente, sin embargo, su implementación depende directamente de una caracterización previa del biogás (Elwell *et al.*, 2018).

Generación de energía

En lo relacionado con la producción de energía eléctrica la evaluación resultó en una capacidad de generación total de 554,852,171 kWh (ver tabla 4) lo que equivale a 554.85 GWh con un promedio anual de 36.99 GWh. Estos valores son a una proyección de 15 años y consideran igualmente la producción total de vapor residual de 3,051,684 millones de Btu.

Tabla 4. Energía y vapor residual generados en el proyecto.

Parámetro	Valor
Electricidad total producida (kWh)	554,852,171
CHP vapor producido (millones de Btu)	3,051,684
Biogás utilizado (millones de pies ³)	1,218.6408

Para poner estos valores en contexto hay que precisar que de acuerdo con la última información disponible de la Secretaría de Energía de México (SENER), el consumo de electricidad promedio del estado de Oaxaca en 2017 alcanzó 2,517 GWh con un consumo promedio por hogar de 2,319.37 kWh (SENER, 2018). Por lo que el aprovechamiento energético anual de 606,451.15 toneladas de RSU resultaría en una aportación importante para cubrir la demanda energética local. En términos promedio se podría cubrir el 22.04% de la demanda regional lo que equivaldría a 239 mil hogares. Es importante señalar que estas estimaciones se basan en datos promedio y buscan solo mostrar un panorama del impacto que la generación de energía en la región podría tener en el consumo energético de Oaxaca. Sin embargo, en la práctica estos datos pueden variar en función de los acuerdos de interconexión y cogeneración que establezca la Comisión Federal de Electricidad (CFE) para pequeños generadores, así como a los rendimientos de metano que se obtengan en el sitio en cuestión.

En complemento a los resultados de energía, el proyecto considera el aprovechamiento de elementos residuales como vapor resultante de la quema del metano. En este aspecto el proyecto resultó en un promedio total de 3,051,684 millones de Btu para los 15 años de operación del sistema. Cabe precisar que los Btu refieren a las unidades británicas termales que es la unidad que mide la capacidad de calor de un sistema calefactor. Con esto, el proyecto podría representar dos opciones para el aprovechamiento de este elemento residual, primeramente, un escenario donde el vapor sea utilizado para los sistemas de calefacción de casas habitación en zonas

residenciales o comerciales cercanas al sitio de disposición. De acuerdo con Coll, Ruiz y Martínez (2012) un lugar con extensión promedio de 8-12m² requiere un total de 6 mil Btu para calefaccionar la totalidad del espacio. Por consiguiente, el proyecto representaría un aprovechamiento promedio del vapor residual para cubrir las necesidades de calefacción de 508 espacios con dichas características. Igualmente se debe enfatizar que estas estimaciones pueden variar en función del tipo de tecnología de calefacción que se utilice. En segunda instancia el proyecto podría destinar igualmente el vapor residual a algún parque industrial en donde sea utilizado como insumo en procesos productivos.

Beneficios ambientales

Asumiendo que el biogás en el relleno sanitario tiene un contenido de CH₄ del 50% y la eficiencia de recolección de fijó en 85%, la evaluación de los beneficios ambientales aplico la Ec. 2 y 3 y resultó en 0.183 MMTCO₂E de emisiones evitadas a la atmósfera. En términos de CO₂, el proyecto puede contribuir a reducir 0.5% del total de MMTCO₂E generado por residuos en México; ya que este valor se ha reportado en 32 MMTCO₂E (INECC, 2018). El metano recolectado y destruido en el proyecto también puede contribuir a reducir el 0.68% del metano total generado por los RSU en México, que alcanza un nivel de 27,391.442Gg (INECC, 2018). Durante la vida útil del proyecto, el CH₄ total recolectado y destruido fue de 9,824.47 millones de pies³, mientras que la reducción directa de CH₄ resultó en un total de 4.7 MMTCO₂E, el CH₄ total utilizado en el proyecto 3.9 MMTCO₂E, y el CO₂ total evitado fue de 0.2 MMTCO₂E (ver tabla 5).

Tabla 5. Reducción total y promedio de CH₄ y emisiones de CO₂ en el proyecto.

	CH ₄ capturado y destruido (pies ³)	Reducción directa de CH ₄ (MMTCO ₂ E)	CH ₄ utilizado en proyecto (MMTCO ₂ E)	Emisiones de CO ₂ evitadas (MMTCO ₂ E)
Promedio anual	654,964,665	0.314	0.259	0.013
Total, en 15 años	9,824,469,980	4.713	3.884	0.197

En adición a lo anterior, se debe mencionar que los beneficios ambientales de este tipo de proyecto representan impactos positivos complementarios vinculados a la gestión de RSU. Si bien estos no son cuantificados en el proyecto, existen beneficios como la reducción de la fauna nociva, así como los olores, siendo este último la principal afectación en poblaciones de acuerdo con la percepción del individuo (Santos *et al.*, 2020). Igualmente, con un sistema de captura de biogás se reducirían los riesgos de incendios y explosiones que se vinculan con la acumulación de biogás en sitios de disposición final de RSU. Finalmente existe evidencia que este tipo de modelos para la estimación de metano pueden igualmente aplicarse al procesamiento de lixiviados para obtener energía (Zairi *et al.*, 2014), mitigación de emisiones de amoníaco (Asadollahfardi *et al.*, 2019) y el tratamiento de aguas residuales y lodos activados (Mambeli *et al.*, 2018). Por lo anterior los beneficios ambientales pueden ser mayores a los reportados en este trabajo. Se sugiere la conducción de estudios adicionales de impacto ambiental como los análisis de ciclo de vida para cuantificar en mayor medida los beneficios al medio ambiente.

Resultados financieros

Considerando los parámetros para la evaluación económica, el proyecto resultó en un costo de capital instalado tanto para el sistema de tubería de recolección y para el sistema de quema de gas de \$USD 1,294,543, adicional el costo de capital para un conjunto de microturbinas en modalidad CHP se estimó en \$USD 7,737,364. Con esto, la

inversión inicial total de capital y activos diferidos ascendió a \$USD 9,031,907. Al evaluar los rendimientos por ventas de energía se observó que en el año de operación inicial se tiene pérdida neta de USD\$ 559,396 no obstante los flujos se estabilizan en los años posteriores de operación (ver tabla 6).

Dado la capacidad de recepción del relleno sanitario, el metano generado y la cantidad de energía y vapor producidos, la evaluación económica resultó en un flujo neto de efectivo promedio de \$USD 4,932,873.33, un VPN de \$USD 11,098,242.79 y una TIR de 24%. Dado que los criterios de aceptación para una rentabilidad financiera dictan que VPN > 0 y TIR > tasa de descuento (15%), el proyecto demuestra ser económicamente viable desde los criterios del VPN y TIR. Considerando una proyección de 15 años, el PRI del proyecto se estimó en 9.4 años. Estos resultados son consistentes y dentro del rango esperado para estimaciones económicas reportadas en estudios similares (Fei *et al.*, 2019; Ghosh *et al.*, 2019). Los resultados económicos obtenidos deben considerarse a luz de varias consideraciones, en primera instancia el precio de venta por kWh impacta significativamente en los resultados, por lo que se recomienda conducir análisis de sensibilidad para medir las variaciones con diferentes precios de venta. Igualmente, el proyecto consideró una distancia menor a 5 km con la central de interconexión de la CFE, por lo que, si la distancia fuese mayor, se incrementaría el costo de instalación y reduciría los beneficios económicos. Finalmente, la rentabilidad se demuestra a una tasa de descuento del 15%, sin embargo,

con una tasa mayor a la TIR obtenida del 24% el proyecto dejaría de ser viable ya que no se obtendrían las ganancias esperadas.

Tabla 6. Resultados económicos del proyecto (USD).

	Ingresos por venta de energía	Ingresos por venta de vapor	Ingreso neto	Flujos Netos de efectivo	Flujos acumulados
Promedio anual	\$ 1,479,268	\$ 913,280	\$ 1,072,098	\$ 1,031,943	\$ 3,534,854
Total, en 15 años	\$ 22,189,026	\$ 13,699,200	\$ 16,081,467	\$ 15,479,141	\$ 53,022,803

Posibilidad de escalamiento industrial

Los resultados obtenidos muestran un escenario prometedor al validar una factibilidad, técnica, económica y ambiental del aprovechamiento de biogás por RSU y su conversión en energía. No obstante, el escalamiento a nivel industrial y comercial tiene que considerar varias precisiones. Actualmente en el mercado es posible encontrar una oferta de diferentes tecnologías bioenergéticas con esquemas de cogeneración o bien de ciclos combinados. Estas tecnologías basan su operación en la quema del metano como combustible principal para generar la electricidad y productos residuales complementarios como agua y vapor. Sin embargo, su adaptación a contextos específicos puede ser un proceso complicado dadas las diferentes variables que impactarían el rendimiento de la tecnología. En primera instancia la tasa de generación de metano variará acorde a las condiciones climáticas de la región geográfica en cuestión, esto no solo por la temperatura y precipitación, sino también por los sistemas de tratamiento de residuos adoptados en el relleno sanitario. Otro aspecto importante a considerar para un escalamiento industrial tiene que ver con el mercado local de energía y las regulaciones aplicables. Si bien en México existe la posibilidad de esquemas de cogeneración con la Secretaría de Energía, las disposiciones actuales imposibilitan la comercialización directa de la electricidad, lo que puede reducir la rentabilidad final a un

nivel industrial. Aunado a lo anterior, la infraestructura de interconexión desde el relleno sanitario hasta la subestación eléctrica más cercana puede representar costos adicionales importantes que de no considerarse adecuadamente limitarían los beneficios económicos. Por otro lado, la evidencia documentada sugiere que tecnologías como un sistema a base de motores puede reportar eficiencias a nivel industrial (Abbasi et al., 2018) pero su uso resulta en una mayor concentración de contaminantes (Duarte et al., 2021). Por otro lado, tecnologías de ciclo combinado con set de turbinas igualmente pueden generar niveles adecuados para una comercialización a un nivel mayor, pero también son susceptibles de reducción en su eficiencia por aspectos como altitud y humedad en el aire (Grosshauser, 2016). Con las consideraciones anteriores, se establece que, si bien la generación de energía por metano de RSU tiene potencial de escalamiento industrial, se recomienda enfáticamente la conducción de estudios con variables acordes a la región donde se pretende llevar a cabo a fin de validar su desempeño y factibilidad en escalas macro.

IV. Conclusiones

En términos generales, la evaluación realizada permitió determinar una factibilidad tanto técnico-económica como ambiental para el procesamiento de RSU como recurso energético en Oaxaca. El biogás generado por

la fracción orgánica en un flujo de residuos demuestra ser un insumo de valor para la conformación de proyectos de energías limpias. Con este tipo de evaluación se abre la puerta a la configuración de sistemas integrales de gestión de residuos con enfoques sustentables que no solo reduzcan las afectaciones a la sociedad y los entornos urbanos por la incorrecta gestión de RSU, sino que también se contribuye en la mitigación del cambio climático por la reducción de GEI por residuos. De igual forma un proyecto de energía por biogás contribuiría en la matriz energética local y nacional lo que implicaría reducir la dependencia de combustibles contaminantes a base de petróleo. El estado de Oaxaca demuestra ser un entorno adecuado para el emprendimiento en este tipo de proyectos y así igualmente coadyuvar al incremento de los índices ambientales y de sustentabilidad del estado. A su vez en México se pueden conducir estudios similares de acuerdo con las características de cada región y la caracterización de los RSU locales, a fin de determinar parámetros técnicos, económicos y ambientales que incentive la inversión tanto con recursos privados o bien con fondos públicos en este tipo de tecnologías. Los resultados obtenidos del caso de estudio aportan a la discusión sobre la valorización de residuos para la generación de electricidad en economías emergentes bajo las diferentes agendas ambientales y de desarrollo que se alineen con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) en pro de mitigar el cambio climático.

V. Referencias

Abbasi, M., Chahartaghl, M. y Hashemian, S. (2018). Energy, exergy, and economic evaluations of a CCHP system by using the internal combustion engines and gas turbine as prime movers. *Energy Conversion and Management*, 173: 359-374.

<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.07.095>

Alemán-Nava, G., Casiano-Flores, V., Cárdenas-Chávez, D., Díaz-Chavez, R., Scarlat, N., Mahlknecht, J., Dallemand, J. y Parra, R. (2014). Renewable energy research progress in Mexico: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 140-153. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.004>

Amini, H., Reinhart, D. y Mackie, K. (2012). Determination of first-order landfill gas modeling parameters and uncertainties. *Waste Management*, 32, 305-316. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.09.021>

Asadollahfardi, G., Asadi, M., Youssefi, M., Elyasi, S. y Mirmohammadi, M. (2019). Mathematical and experimental study of hydrogen sulfide concentrations in the Kahrizak landfill, Tehran, Iran. *Environmental Engineering Research*, 24, 350-358. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.265>

Bolan, N., Thangarajan, R., Seshadri, B., Jena, U., Das, K., Wang, H. y Naidu, R. (2013). Landfills as a biorefinery to produce biomass and capture biogas. *Bioresource Technology*, 135, 578-587. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.135>

Calabro, P. (2009). Greenhouse gases emission from municipal waste management: The role of separate collection. *Waste Management*, 29, 2178-2187. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.02.011>

CONAPO. (2015). Datos abiertos del índice de marginación. Recuperado de

- [http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Datos Abiertos del Indice de Marginacion](http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Datos%20Abiertos%20del%20Indice%20de%20Marginacion)
- Duarte, J., Mendoza, D. y Valencia, G. (2020). Energy, exergy, and emissions (3e) assessment of a low-displacement engine powered by biodiesel blends of palm oil mill effluent (pome) and hydroxy gas. *Thermal Science and Engineering Progress*, 26: 101126. <https://doi.org/10.1016/j.tsep.2021.101126>
- Elwell, A., Elsayed, N., Kuhn, J. y Joseph, B. (2018). Design and analysis of siloxanes removal by adsorption from landfill gas for waste-to-energy processes. *Waste Management*, 73, 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.12.021>
- EPA. (2005). Landfill Gas Emissions Model (LandGEM) Version 3.02 User's Guide. Recuperado de <https://www3.epa.gov/ttnecat1/dir1/landgem-v302-guide.pdf>
- Escamilla-García, P.E., Tavera-Cortés, M., Sandoval-Gómez, R., Salinas-Callejas, E. y Alvarado-Raya, H. (2016) Economic feasibility analysis for electrical generation from biogas in waste disposal sites in Mexico City. *Applied Economics* 48, 5761-5771. <https://doi.org/10.1080/00036846.2016.1184378>
- Escamilla-García, P.E. (2019). Efficiency and reliability of theoretical models of biogas for landfills. *LA GRANJA: Revista de Ciencias de la Vida*, 29, 33-44. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.03>
- Fei, F., Wen, Z. y De-Clercq D (2019). Spatio-temporal estimation of landfill gas energy potential: A case study in China. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 103, 217-226. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.036>
- Ghosh, P., Shah, G., Chandra, R., Sahota, S., Kumar, H., Vijay, V. & Thakur, I. (2019). Assessment of methane emissions and energy recovery potential from the municipal solid waste landfills of Delhi, India. *Bioresource Technology*, 272, 611-615. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.069>
- Grosshauser, R., (2016). Turbines vs. Reciprocating engines. Recuperado de: <https://www.power-eng.com/coal/turbines-vs-reciprocating-engines/#gref>
- Hurlimann, A., Warren-Myers, G. y Browne, G. (2019). Is the Australian construction industry prepared for climate change?. *Building and Environment*, 153, 128-137. <https://doi.org/10.1016/j.buildenv.2019.02.008>
- IMCO. (2016). Índice de competitividad estatal 2016. Recuperado de <https://imco.org.mx/wp-content/uploads/2016/11/2016-ICE-Libro.pdf>
- INECC. (2018). Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero. Recuperado de <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-y-compuestos-de-efecto-invernadero>

- Inman, M. (2013). The true cost of fossil fuels. *Scientific American*, 308, 58-6. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0413-58>
- IPCC. (2014). Climate Change 2014 Synthesis Report. Recuperado de <https://archive.ipcc.ch/report/ar5/syr/>
- IPCC. (2021). Climate Change 2021 - The Physical Science Basis. Working Group I contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Recuperado de <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>
- Jo, J. y Kim, W. (2018). Market potential of biomethane as alternative transportation fuel in South Korea. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 20, 864-876. <https://doi.org/10.1007/s10163-017-0646-9>
- Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P. y Van, W. (2018). *What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050*. Washington: Banco Mundial.
- Krause, M., Chickering, G. y Townsend, T. (2016) Translating landfill methane generation parameters among first-order decay models. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 66, 1084-1097. <https://doi.org/10.1080/10962247.2016.1200158>
- Kumar, S., Gaikwad, S., Shekdar, A., Kshirsagar, P. y Singh, R. (2004). Estimation method for national methane emission from solid waste landfills. *Atmospheric Environment*, 38, 3481-3487. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.02.057>
- Mambeli, R., Tiago, G., Moreira, A., Ferreira, C., Fernandes, M., Sales, J., Sayuri, H., Martins, L., Silva, I., Martuscelli, E. y Rocha, J. (2018). A potential of the biogas generating and energy recovering from municipal solid waste. *Renewable Energy Focus*, 25, 4-16. <https://doi.org/10.1016/j.ref.2018.02.001>
- Mansson, A. (2014). Energy, conflict and war: Towards a conceptual framework. *Energy Research & Social Science*, 4, 106-116. <https://doi.org/10.1016/j.erss.2014.10.004>
- Mou, Z., Scheutz, C. y Kjeldsen, P. (2015) Evaluating the methane generation rate constant (k value) of low-organic waste at Danish landfills. *Waste Management*, 35, 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.10.003>
- Munster, M. y Meibom, P. (2011). Optimization of use of waste in the future energy system. *Energy*, 36, 1612-1622. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.12.070>
- Papadias, D., Ahmed, S. y Kumar, R. (2012). Fuel quality issues with biogas energy – An economic analysis for a stationary fuel cell system. *Energy*, 44, 257-277. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2012.06.031>
- Pillai, J. y Riverol, C. (2018). Estimation of gas emission and derived electrical power generation from landfills. Trinidad and Tobago as study case. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 29, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.08.004>

- Salomon, K. y Silva, E. (2009). Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. *Biomass and Bioenergy*, 33, 1101-1107.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.03.001>
- Santos, I., Barros, R., Geraldo, B. y Filho, T. (2020). Biogas Production From Solid Waste Landfill. *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*, 2, 11-19.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10585-5>
- Schmidt, C. (2011). Arctic oil drilling plans raise environmental health concerns. *Environmental Health Perspectives*, 119, 116-117.
<https://doi.org/10.1289/ehp.119-a116>
- SEMARNAT (2009). Cambio climático: Ciencia, evidencia y acciones. Recuperado de https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/cambio_climatico_09-web.pdf 15/05/2021
- SEMARNAT (2020) Diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos. Recuperado de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/555093/DiagnosticoBasicoGestionIntegralResiduosF.pdf.pdf>
- SEMAEDES0 (2016). Programa Estatal de Cambio Climático de Oaxaca 2016-2022. Recuperado de <http://www.medioambiente.oaxaca.gob.mx/wp-content/uploads/2018/12/PECC-Oaxaca-2016-2022.pdf>
- SENER (2018). Programa de Desarrollo del Sistema Eléctrico Nacional. Recuperado de <https://base.energia.gob.mx/prodesen/PRODESEN2018/PRODESEN18.pdf>
- SENER (2020). Producción de petróleo crudo por tipo y región. Recuperado de: <https://datos.gob.mx/busca/dataset?theme=Energ%C3%ADa+Y+Medio+Ambiente&tags=produccion>
- Shafiee, S., Topal, E. (2009). When will fossil fuel reserves be diminished? *Energy Policy*, 37, 181-189.
<https://doi.org/10.1016/j.enpol.2008.08.016>
- Spokas, K., Bogner, J., Chanton, J., Morcet, M., Aran, C., Graff, C., Golvan, Y. y Hebe, I. (2006). Methane mass balance at three landfill sites: What is the efficiency of capture by gas collection systems? *Waste Management*, 26, 516-525.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.021>
- Zairi, M., Aydi, A. y Dhia, H. (2014). Leachate generation and biogas energy recovery in the Jebel Chakir municipal solid waste landfill, Tunisia. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 16, 141-150.
<https://doi.org/10.1007/s10163-013-0164-3>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Producción de biodiésel y análisis de costos usando aceite de cocina

Biodiesel production and cost analysis using cooking oil

Riojas-González, H.H.^{a*}, Guerra-Bautista, R.^a, Ruiz H.A.^b, Rodríguez-Jasso, R.M.^b

^a Maestría en Energías Renovables, Universidad Politécnica de Victoria, Cd Victoria, Tamaulipas, México.

^b Grupo de Biorrefinería, Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, 25280, Saltillo, Coahuila, México.

hriojasg@upv.edu.mx*; 1819004@upv.edu.mx; rrodriguezjasso@uadec.edu.mx; hector_ruiz_leza@uadec.edu.mx

Innovación tecnológica: Producción de biocombustible líquido (biodiésel) a partir de materiales económicos y simples, con la proyección de utilizado como una fuente de negocio rural o familiar en el mercado y contexto mexicano.

Área de aplicación industrial: Proyección a nivel laboratorio para un escalamiento piloto o industrial considerando factores del biocombustible como las emisiones y el costo de producción.

Recibido: 28 julio 2021

Aceptado: 17 agosto 2022

Abstract

Biofuels are taking center stage in the energy scenario because they are renewable, being one of them biodiesel, can be obtained in several ways, among them is the process of transesterification of fatty acids which is a very representative technique due to its ease and practicality, the method used was generated with a constant agitation in a certain time, which turns out to be ideal for obtaining biodiesel from used cooking oil, the results in obtaining biodiesel were applied in an oil lamp, achieving a greater flash point (148 °C) than diesel (71 °C) greater practicality and lower soot concentration (216, 215 and 220 RGB), compared to conventional diesel (65, 64, 59 RGB), a cost analysis was carried out and it was concluded that a low-cost biofuel can be obtained due to the reduction of raw material costs, the latter being the greatest obstacle to the commercialization of biofuel, so it is claimed that a clean biofuel can be generated and that it is simple to produce and efficient in various applications.

Keywords: biofuels, used cooking oil, transesterification, soot.

Resumen

Los biocombustibles están tomando protagonismo en el escenario energético debido a que son renovables, siendo uno de ellos el biodiésel, se puede obtener de varias formas, entre ellas está el proceso de transesterificación de ácidos grasos el cual es una técnica muy representativa debido a su facilidad y practicidad, el método empleado fue generado con una agitación constante en un tiempo determinado, lo cual resulta ser idóneo para la obtención del biodiésel a partir del aceite usado de cocina, los resultados en la obtención del biodiésel fueron aplicados en una lámpara de aceite, logrando un mayor punto de inflamación (148 °C) que el diésel (71 °C), mayor practicidad y menor concentración de hollín (216, 215 y 220 de RGB) comparándolo con el diésel convencional (65, 64, 59 de RGB), se realizó un análisis de costos y se llegó a la conclusión que se puede obtener un biocombustible de bajo costo debido a la reducción del gasto de la materia prima, siendo esta última el mayor obstáculo para la comercialización del biocombustible, por lo que se afirma que se puede generar un biocombustible limpio, simple en su elaboración y eficiente en diversas aplicaciones.

Palabras clave: biocombustibles, aceite usado de cocina, transesterificación, hollín.

1. Introducción

Por muchos años los combustibles fósiles han sido las principales fuentes de energía en el mundo [1], los biocombustibles tienen la gran virtud de ser renovables y pueden llegar a ser los sustitutos de los combustibles fósiles [2]. De los biocombustibles, el biodiésel también llamado éster metílico de ácidos grasos [3], se puede obtener de cuatro materias primas; a) aceite vegetal comestible, b) aceite vegetal no comestible, c) aceite de reciclaje y desecho y d) grasas de animales [4]. Los Estados Unidos de América (EE. UU.), China, Japón, India y miembros de la Unión Europea consumen más de la mitad del aceite vegetal mundial, como consecuencia sus residuos son los más altos del mundo [5]. En el año 2016, la Unión Europea generó aproximadamente 1,660,000 ton/año del aceite de cocina usado total, con 854,000 ton/año en hogar y 806,000 ton/año en sector comercial. En Japón, la producción del aceite de cocina usado oscila entre 0.1 y 0.5 millones de toneladas/año [5]. Pero destaca China, la producción anual de aceite de cocina usado se estima en 5 millones de toneladas [6]. El gobierno de China ha ofrecido a los recicladores diversas subvenciones para fomentar la recogida y

gestión de residuos aceites y hacer retroceder el reciclaje ilegal del aceite de cocina usado [7]. Este producto de desecho puede servir como materia prima para la elaboración del biodiesel, logrando con esto, que el costo para su producción se reduzca y también se pueda disminuir el problema de su disposición [8]. La elección de la materia prima es muy importante para producir el biodiésel ya que está asociado a 2/3 del costo total de producción [9], para la producción del biodiesel, el costo de la materia prima representa el 75% del costo total de producción, el resto de la producción lo representa la purificación y el proceso de producción [10-13] de acuerdo con Xing y col. (2010) [14] determinaron que el costo de producción de materia prima y el costo de compra alcanza aproximadamente el 76-82% y 14-21% respectivamente del costo total. Comparándolo con el diésel puro, el costo del combustible biodiésel es superior al 35%. En otro estudio presentado por Zaman (2016) [15], explicó que más de 1.4 millones de toneladas de residuos se generan por año y que estos residuos siguen aumentando, de los cuales solo el 15% se reciclan y la mayoría del desperdicio global se sigue dejando en los

vertederos, por lo que la selección adecuada de la materia prima se convierte en algo muy importante para reducir el costo de producción, por ejemplo, está el caso del precio del aceite de cocina usado que es 2 a 3 veces más bajo que el de los aceites vegetales puros [16]. El costo de la producción del biodiésel podría reducirse mediante el desarrollo de una nueva tecnología o bien en encontrar formas alternativas para utilizar subproductos [4]. La producción de biodiésel a partir de aceite de cocina usado puede reducir significativamente el costo de la producción del biodiésel [17]. El objetivo de este estudio es analizar el proceso de transesterificación del biodiésel obtenido del aceite usado a partir del costo y de las emisiones que estos generan al aplicarlo en una lámpara de aceite. La obtención del biodiésel genera muchas ventajas sobre el petro-diésel incluyendo: alta lubricidad, disponibilidad, bajo contenido de azufre, bajo contenido de compuestos aromáticos y es ecológico [11,18]. El biodiésel tiene la facilidad de usarse como combustible puro o puede mezclarse con diésel en cualquier proporción [19] además de esto, el biodiésel se puede obtener de diversas maneras siendo la transesterificación una de las más representativas [20], en el estudio se aplicó el proceso de transesterificación, el cual tiene como hipótesis que la obtención del biodiésel a través del aceite de cocina usado es viable a escala de negocio rural o familiar. La parte innovadora de este estudio es la propuesta de

hacer biodiésel de la manera más fácil como para que pueda ser detonante en microempresas o en zonas marginales. Para lograr buenos resultados, se realizó en cuatro diferentes mezclas de biodiésel en las cuales se emplearon pruebas de ignición y análisis de generación de emisiones del hollín aplicado en una lámpara de aceite, esas pruebas se compararon con el diésel bajo las mismas condiciones, mediante el programa de reconocimiento de tonos en RGB (Red, Green & Blue).

2. Materiales y Equipos

Se adquirió un botellón de 20 L de aceite vegetal usado de un restaurante de comida rápida, se decidió este aceite por estar en muy altas temperaturas en tiempos prolongados para freír alimentos, además se adquirió metanol de la marca Meth al 99.8% (costo \$49.50 por L) (y por último hidróxido de sodio de la marca Fagalab (\$62.6 por 100 g), los costos son en moneda nacional (MXN). Por el volumen de las muestras requeridas para el proyecto, se optó por la elaboración de un decantador prototipo con capacidad de 2 L. El proceso que se utilizó en la obtención del biodiésel fue la transesterificación que es una reacción de equilibrio, normalmente iniciada por la mezcla de reactivos en presencia de un catalizador para generar ésteres y glicerol [21], los materiales se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Materiales para la elaboración de biodiesel.

Materiales	Características
Aceite vegetal	Reciclado de cocina
Metanol	Al 99.8%
Hidróxido de sodio	Sosa cáustica de alta pureza
Agua	De grifo (potable)
Vaso de precipitado	de 500 mL
Matraz	de 1000 mL
Embudo	De plástico
Balanza digital	Cap. 600g con precisión de 0.01 g
Tela de algodón	Para filtrado
Recipiente reciclado	De 2.5 L para mezcla
Decantador prototipo	Con capacidad de 2 L

Para la determinación del punto de inflamación (°C) se empleó la norma ASTM D 93, con un equipo normalizado que da una tolerancia de precisión del $\pm 0,1$. En el análisis de las propiedades del biodiesel se realizó una titulación potenciométrica (KEM, serie AT-710), un picnómetro 25 mL (marca jf LHABO, modelo PIC25) y un viscosímetro (capacidad 44 mm, marca BAOSHISHAN), las determinaciones se realizaron en una prueba, de acuerdo a las normas que se presentan en la Tabla 3.

Métodos Experimentales

El diseño experimental contempló algunas variables, las cuales se identifican a través de una clasificación de dependientes e independientes según corresponda: variable dependiente (separación de fases) y variables independientes (cantidad de hidróxido de sodio, cantidad de metanol, calidad de pureza). Las variables independientes tendrán las siguientes características; porcentaje del hidróxido de sodio (en dos concentraciones 3 y 6 g) y dosis del metanol (de 125 y 200 mL), con un grado de pureza del bioaceite (sin lavar o con lavar).

Debido a que se tiene un factor con niveles diferentes de variables de respuesta, se decidió realizar un diseño factorial mixto, por tanto, la factorial será de 2×1 , lo que significa que se aplica con dos niveles en todas las pruebas, dando así un total de 4 combinaciones totales para este procedimiento. Para la mayoría de los casos experimentales la confiabilidad manejada es del 95% [22], por tanto, para la determinación del número de réplicas necesarias para alcanzar este valor de confiabilidad se utiliza la ecuación 1:

$$n = \frac{2(t_{(\frac{\alpha}{2}, N-k)})^2}{d_T^2} \sigma^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

Dónde:

$t_{(\frac{\alpha}{2}, N-k)}$ es el punto crítico de la distribución

T-student, α es el valor de significancia.

$N = k \times n_0$, k es el número de procedimientos a realizar y n_0 un número de réplicas que se asume de acuerdo a los siguientes aspectos: implementos utilizados, calidad de materias primas, si se espera una pequeña brecha en los resultados de los tratamientos se deberá tener en consideración una mayor cantidad de réplicas y viceversa, si la variación es muy grande entre procedimientos debido a las fuentes no controladas, como sistemas de medición, calidad de materiales (porcentaje de pureza de compuestos químicos utilizados), entre otros, se deberá tener un mayor número de réplicas.

σ es la desviación estándar del error aleatorio, la cual se asume debido a factores no controlados como error en tiempos de medición, etc.

d_T la magnitud máxima de diferencia entre procedimientos.

$\alpha = 1 - \text{Confiabilidad}$

Por tanto, se asume $n_0 = 4$, además se establece que $d_T = 30$, y $\sigma = 20$ para una confiabilidad del 95% [22], también $k = 3$ y $\alpha = 0.05$. Por tanto, el número de réplicas que se debe usar es 2. Así, tenemos un número total de experimentos de 4 procedimientos con 2 réplicas.

Para la elaboración del de biodiesel (Figura 1), se realizaron los siguientes pasos:

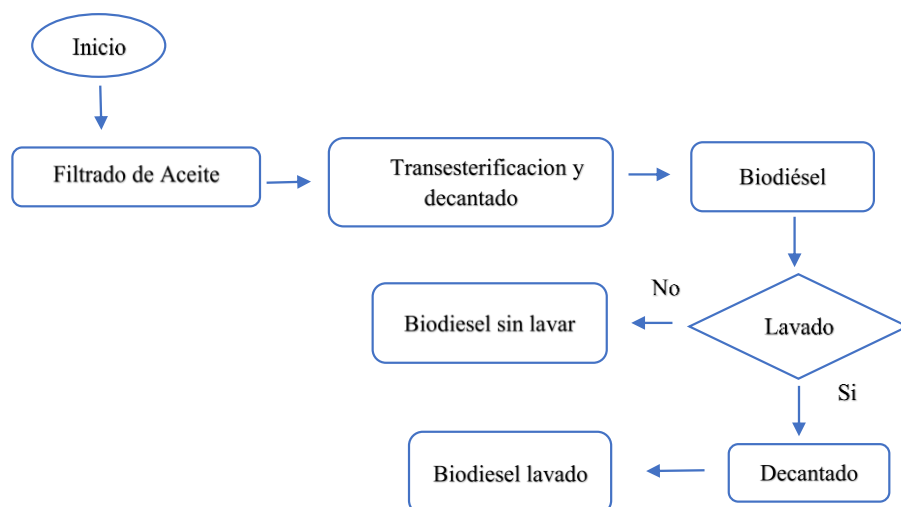


Figura 1. Proceso de elaboración de biodiesel.

Paso 1.- Filtrado de impurezas: Se realiza el filtrado de un litro de aceite vegetal reciclado con el fin de separar la mayor cantidad de impurezas. Este proceso se lleva a cabo utilizando un embudo y un filtro de tela de algodón con fibras muy unidas entre sí para lograr atrapar la mayor cantidad de contaminantes sólidos como se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Filtrado del aceite reciclado.

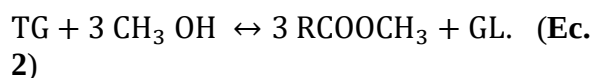
Paso 2.- Descripción del muestreo: El muestreo del experimento fue aleatorio simple y las pruebas realizadas se presentan en la Tabla 2, en el experimento se realizaron cuatro diferentes mezclas: aceite usado con 3 y 6 g de hidróxido de sodio, ya sea crudo o purificado.

Tabla 2. Pruebas del muestreo.

Aceite con o sin lavar	Hidróxido de sodio (g)	Metanol (mL)
Sin lavar (crudo)	6.0	200
Sin lavar (crudo)	3.0	125
Con lavar (purificado)	6.0	200
Con lavar (purificado)	3.0	125

Paso 3.- Dilución de la mezcla, se diluye el hidróxido de sodio con el metanol (Tabla 2) el producto resultante es el metóxido de sodio.

Paso 4.- Transesterificación: Después de ser filtrado el aceite usado de cocina, será transesterificado, por catálisis homogénea básica, empleando metóxido de sodio como catalizador. Para su reacción se realizó a 40 °C (temperatura ambiente del lugar donde se realizó el experimento), con una agitación mecánica, por 11 horas, la reacción que se genera se presenta en la ecuación 2:



Paso 5.- Separación de fases: se vierte la mezcla obtenida del paso anterior en un decantador de 2 L durante 8 h, con el fin que reaccione con la separación de fases, esta reacciona en dos partes: la fase acuosa (glicerina y otros compuestos) y fase orgánica (biodiésel) tal como se puede observar en la Figura 3.



Figura 3. En el decantador prototipo se observa el biodiésel en la parte superior y glicerina en la inferior.

Paso 6.- Decantación y lavado: Una vez que se separa la mezcla de biodiésel de la glicerina, se procede a un proceso de pureza (lavado) que consiste en verter agua potable directamente sobre el biodiésel y dejarlo reposar por una hora con la finalidad de que se genere un arrastre de jabones que existen en el biodiésel.

Paso 7.- Separación de los jabones: debido a que se forman jabones por la presencia de hidróxido de sodio, es momento de retirarlo (los jabones) del biodiésel para que este tenga una mayor pureza, así como se muestra en la Figura 4.



Figura 4. Separación del agua jabonosa del biodiésel lavado.

Paso 8.- Deposito del biodiesel: Finalmente se extrae el biodiésel del decantador para su correcto almacenaje en un depósito hermético a temperatura ambiente. Del biodiesel obtenido se le realizaron unas mediciones para determinar las propiedades físico-químicas, de acuerdo a la metodología propuesta por García-Muentes y col. (2018) [23] y se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Normas para la determinación de las propiedades del biodiesel.

N°	Propiedades	Unidades	Método estándar	Precisión	Técnica
1	Acidez total	mg/g	ASTM D 664 y EN 14111	±0,001	Valoración ácido-base
2	Densidad a 18 °C	g/mL	ASTM D127	±0,1	Picnometría
3	Viscosidad a 40 °C	mm ² /s	ASTM 445	±0.01	Viscosimetría

Pruebas de emisiones

En el análisis de emisiones que fueron generadas con el uso del biodiésel elaborado y su comparación con el diésel fósil, este biodiésel fue aplicado en una lámpara de gas o quinqué con el fin de observar la diferencia entre la cantidad de emisiones de hollín de ambos combustibles. Para el análisis se requirió de papel de algodón blanco (nuevo) para la medición del experimento, la colocación de este algodón fue un punto importante para su medición, se tuvo que colocar en la parte superior de la lámpara en forma de arco, para de esta manera evitará sofocar la flama y poder tomar una muestra representativa de los gases de escape de la combustión, logrando con esto un espacio suficiente para la circulación del aire (importante para la combustión) obteniendo con esto una flama más fuerte y estable. En el experimento de la medición de las emisiones se empleó un 1L de cada combustible, cada prueba realizada tuvo su tiempo de duración de 5 minutos, se realizó por duplicado el número de muestras, la muestra de algodón obtenida del experimento obtuvo una representación de partículas de hollín generadas durante el proceso de combustión, los cuales fueron sometidas al análisis por código RGB.

Comparación de emisiones mediante tonos en código RGB

El código RGB tiene la función de poder detectar los diferentes tonos por pixel y representarlos, este código identifica cada tono mediante la combinación de tres colores, el rojo, el verde y el azul, colores primarios que al combinarse en diferentes proporciones medibles hacen un tono que se le representa

mediante un código. Para el método de análisis de muestras de hollín se realizó el procedimiento experimental midiendo la cantidad de hollín mediante tonos de colores RGB, se puede considerar que es un procedimiento factible, pues las partículas de hollín tienen un color oscuro en contraste con las muestras de algodón que se utilizaron para captarlo, el papel de algodón blanco que se utilizó durante el proceso de combustión (con biodiésel y diésel) se digitalizó en imagen (con escáner y cámara digital) en una misma condición de luz y distancia con el fin de capturar lo mejor posible sus tonos. Una vez concluida la prueba de combustión de todas las muestras, se compararon mediante el uso de la aplicación Colorzilla versión 2022 (se puede descargar de la Web Store de Google Chrome), al revisar las muestras digitalizadas se observó una variable de tonos en pixeles nativos de los colores de la muestra de algodón, es por eso que se tomó en cuenta una escala de grises que va desde el blanco hasta el negro, los tonos de la muestras de algodón sin contaminar varían entre el código RGB: R 216, G 217, B 222, que es un tono claro contra R 204, G 205, B 210, que es un tono más oscuro, estos parámetros se tomaron en cuenta puesto que la muestra de algodón no es completamente blanca en su totalidad debido a su porosidad.

3. Discusión de Resultados

En el experimento durante el proceso de combustión se observó que las mezclas no lavadas (con menor grado de pureza) presentaban una flama más intensa en comparación con las mezclas lavadas (con más pureza), se llegó a esta conclusión puesto que solo se separó del agua mediante

decantación sin calentar, caso contrario a lo que menciona España (2019) [24], donde menciona que después de realizar el lavado, la evaporó junto con los restos del agua mediante el calentamiento del biodiésel a 110 °C durante 20 minutos con agitación a velocidad mínima. Así mismo Campos y col. (2018) [25], mencionan que, aunque implica un costo adicional es importante el lavado y

secado del biodiésel ya que este proceso tiene como objetivo eliminar todos los posibles compuestos que hayan quedado en el biocombustible, ya sea alcohol, glicerina, soda cáustica o jabones. Dentro de este experimento se demostró que se puede producir biodiésel con buenas características (Tabla 4) a temperatura ambiente (40°C).

Tabla 4. Propiedades físico-químicas del biodiésel a partir del aceite usado de cocina.

Propiedad	Unidad	Resultado
Acidez total	mg/g	0.951
Densidad a 18 °C	g/mL	0.926
Viscosidad a 40 °C	mm ² /s	3.55

El método de obtención del biodiésel coincide con Piker y col. (2016) [26], en donde emplearon para la obtención del biodiésel de aceite de cocina usado a temperatura ambiente, le agregaron además aceite de soja comercial y cascara de huevo como catalizador, y con una agitación de 11 horas. La utilización de materiales de desecho (aceite de cocina usado) y la realización de la reacción en condiciones ambientales hacen del método una técnica económica y respetuosa con el medio ambiente para la producción del biodiésel. En cuanto a la combustión de las diferentes muestras del experimento, se observó que las mezclas no lavadas (menos puras) de 3 y 6 g de hidróxido de sodio tuvieron una flama más intensa, en comparación con sus similares que pasaron por el procedimiento de mayor purificación. De acuerdo a la norma ASTM 6751 el valor mínimo del punto de inflamación del biodiésel debe ser de 120 °C, en el experimento (durante las mediciones para determinar las propiedades del biodiesel) rebaso el valor mínimo (148 °C) que por cierto es mucho más alto que el punto de inflamación del diésel (71 °C) esto último es probable porque el biodiésel tiene menos impurezas volátiles, lo cual se confirma con el análisis del hollín.

Al momento de realizar las pruebas de ignición de las diferentes muestras de biodiésel se concluyó, que las mezclas funcionaban ya que se logró la combustión de aproximadamente 40 mL de biodiésel, el cual se mantuvo encendido poco más de 1 h y su flama dentro de las condiciones abundantes de oxígeno fue similar a la de combustibles fósiles, la diferencia más importante que se percibió fue en los olores durante la combustión y la ausencia de humo negro como sucede con cualquier combustible fósil, durante la combustión de biodiésel no se observó ninguna partícula de hollín negro, lo cual se esperaba al ser un biocombustible limpio. En su totalidad la experimentación cumplió con las expectativas en cada uno de los pasos de acuerdo a las necesidades y limitaciones. Las fotografías generadas en el experimento se examinaron mediante la aplicación colorzilla, de la cual se obtuvieron los resultados que se muestra en la Figura 5; donde se observa claramente la diferencia de emisiones de hollín entre las mezclas de biodiésel (Tabla 2) contra el diésel fósil, dentro de cada cuadro se observa el código RGB de cada muestra.

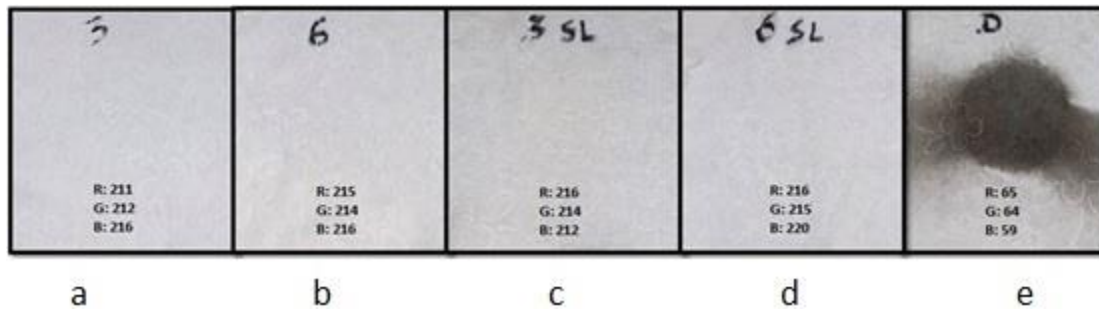


Figura 5. Muestras de emisiones de: a) biodiésel de 3 g lavado, b) biodiésel de 6 g lavado, c) biodiésel de 3 g sin lavar, d) biodiésel de 6 g sin lavado y e) diésel PEMEX.

Dentro de cada una de las imágenes muestra su código RGB que puede compararse con la

imagen escala de grises que se muestra en la Figura 6.

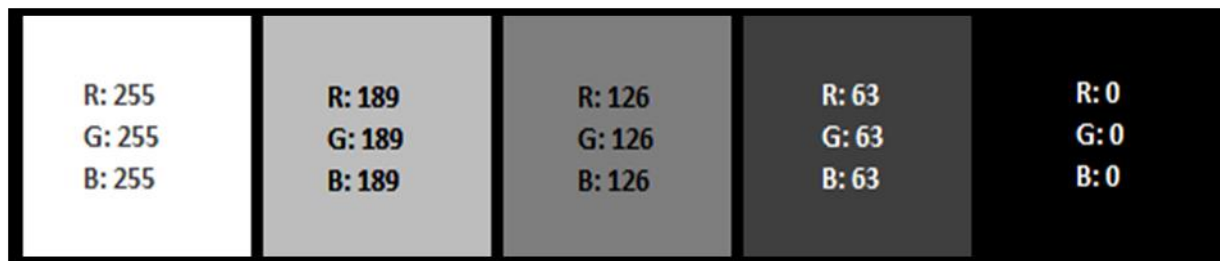


Figura 6. Figura de escala de grises con código RGB.

Se puede observar en la Figura 7 al compararla con la Figura 8, que fue nulo he imperceptible la presencia de alguna partícula de hollín. Por lo que no se detectó algún tono oscuro que pudiera evidenciar la presencia de

emisiones de hollín, caso muy diferente a lo que sucedió con el combustible diésel, ya que este último fue evidente en sus emisiones de hollín.

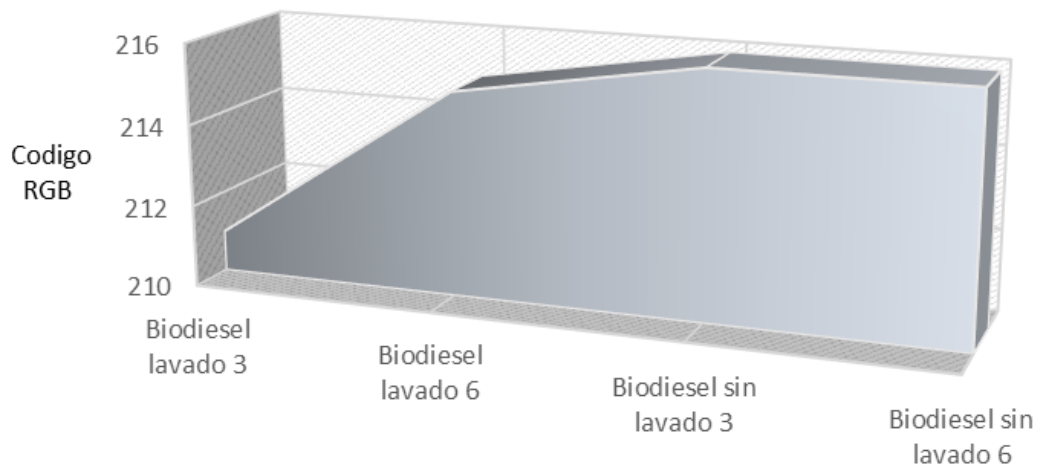


Figura 7. Código de muestras de emisiones de hollín.

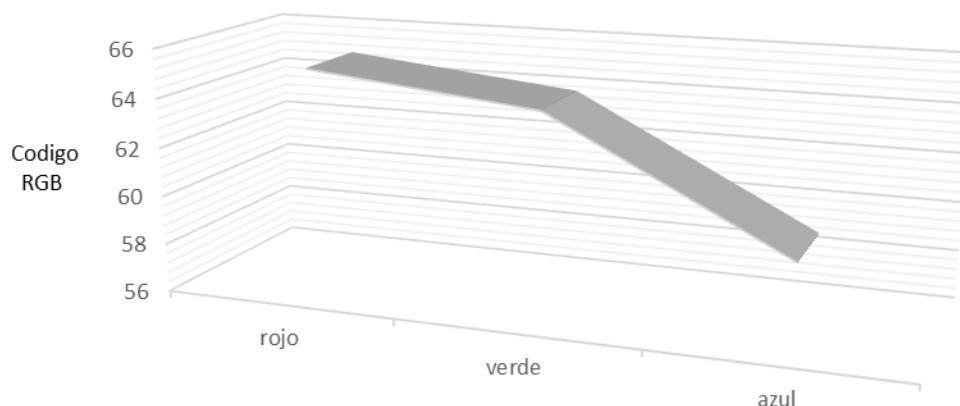


Figura 8. Código de muestras de tonos blanco, gris y negro.

El método que se utilizó en el experimento para medir las emisiones de hollín, tiene similitudes con el estudio de García (2009) [27], que tomó una muestra de gases de escape con un filtro de papel blanco, en donde determinó el índice de reflexión de la luz para posteriormente, medirlo en una célula fotoeléctrica, y con esto detectó el grado de ennegrecimiento en hacerlo pasar al gas de escape. Por lo tanto, se puede decir que la medida se fundamenta en la comparación del índice de reflexión de la luz. El fondo de escala del equipo está comprendido entre un valor mínimo 0 FSN, papel completamente blanco y un valor máximo de 10 FSN, papel completamente ennegrecido.

Si se genera más hollín a su vez se producirá más monóxido de carbono (CO) el cual es letal, el hollín está formado por carbono, y en pequeñas cantidades de hidrogeno y oxígeno, el paso inicial en la producción de hollín es la formación de hidrocarburos alifáticos para que posteriormente se generan los PAH (hidrocarburos aromáticos policíclicos) su crecimiento dará la presencia de los particulares del hollín [28]. Entre las características deseables que debe tener un biodiésel como es el caso del experimento es su mayor número de cetano, mejor lubricidad, mayor información, lo cual lo convierte adecuado para una lámpara de aceite y también para los motores de combustión [29,

30]. Dentro de una combustión el óxido de nitrógeno (NOx) es el único oxido que puede formarse en la combustión, en el experimento no se midió, pero seguro se encontraría presente, este contaminante se puede convertir en NO₂ en el escape, posteriormente el NO₂ comenzará a desintegrarse a NO y O₂ en consecuencia NOx [31]. En el estudio de Shivakumar y col. (2011) [32], señalan que las emisiones de NOx con el biodiésel de aceite de cocina de desecho son más altas que las del diésel convencional. Sin embargo, las emisiones del humo y de hollín en el biodiésel de aceite de cocina de desecho son menores que los del biodiésel convencional, esto último coincide con el biodiésel que se desarrollo es el experimento en donde se demostró una reducción del hollín. Lo que se ha podido desarrollar y descubrir con este experimento es que debido a algunas limitaciones que tiene el biodiésel tales como el menor contenido energético, mayor consumo de combustible (se consume en mayores cantidades de combustible para tener una determinada potencia) y mayores emisiones de NOx, todo esto puede ser solucionado agregándole al biodiésel distintos complementos tales como aditivos a base de metales, aditivos oxigenados, antioxidantes, mejoradores de cetano, lubricantes y optimizadores de propiedad de flujo en frio y por supuesto no podría faltar la adicción del alcohol otro de los

biocombustibles más representativos. En los próximos experimentos agregaremos bioalcohol ya que logra reducir la alta viscosidad del biodiésel [33], y también cuando el biodiésel aumente el NOx debido al mayor contenido de oxígeno su mezcla con el alcohol generaría el efecto opuesto que es la reducción del NOx (alcoholes como metanol, etanol, n-butanol y n-pentanol) [34], esto último se puede deber al enfriamiento del alcohol durante la combustión consideramos en base a este experimento que la producción de biodiésel de forma sencilla y casera es factible pero que es necesario el desarrollo tecnológico más adecuado en donde se podría apoyar de varias técnicas de mejora como lo es el tratamiento hidráulico, agrietamiento catalítico, fluido sub/supercrítico, adición de solventes, reformado con vapor y emulsificación [35].

En este trabajo se realizó un análisis de costos con la finalidad de conocer el costo por litro de biocombustible y determinar la posibilidad de que esto pueda ser implementado por una familia rural. De acuerdo con Wright y col. (2010) [36], señaló que el combustible de grado de transporte como la mezcla de hidrocarburo líquido inflamable y el biodiesel, podría producirse a través de la pirólisis rápida de los residuos de maíz y su posterior mejoramiento a un costo competitivo de US\$ 0.56 a 0.82 por litro de biocombustible, sin embargo, el costo de producción final llegó a ser mayor a US\$ 1.73 por litro considerando que la construcción de la planta era pionera (es decir, la primera en su tipo). En el caso de México, se debe considerar que para calcular el costo del biocombustible, algunos precios pueden variar dependiendo del origen del mismo, así como el costo de su recolección y transporte, por ejemplo, la venta del aceite usado “puesto en fábrica” puede llegar a pagar entre \$10.00 a \$11.00 pesos MXN el litro (Red Mexicana de bioenergía), también existen los recolectores independientes que se encargan

de la logística y llevarlo a la fábrica con un costo de \$13.72 pesos mexicanos por litro, si la producción del biodiésel se realizará con grasas animales el costo promediado por cada litro aumentaría entre \$14.22 y \$18.22 pesos MXN. Si se optara por solo pagar el aceite usado su costo sería de \$2.00 pesos MXN por litro, pero se deberá asumir los costos de recolección y transporte, para lo cual se debe tomar en consideración la ecuación 3.

$$C = F_c + L_c + M_c + G_e, \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

C = Costo de recolección

F_c = Costo de combustible

L_c = Salario del chofer

M_c = Costo de mantenimiento del vehículo

G_e = Gastos generales

Durante la producción del biodiésel se deben considerar algunos gastos de reactivos como el costo del metanol (marca Meth al 99.8% costo \$49.50 MXN por L), el costo del hidróxido de sodio (marca Fagalab \$62.60 MXN por 100 g), gasto de materiales y equipos (decantador, matraz, embudo, etc.).

En el análisis del costo de este estudio cabe aclarar, que no se contemplan las inversiones fijas (activos fijos) como los edificios, construcciones, terrenos, maquinaria y equipo, instrumentación y control, mobiliario y todo lo que tenga que ver con la ingeniería de detalle, esto último es debido a que se considera una elaboración del biodiésel de manera casera (con recursos propios), lo que si se va a considerar, es el capital de trabajo, que es básicamente los recursos económicos y financieros necesarios para que la producción de biodiésel pueda funcionar de manera adecuada y se puedan desempeñar las actividades sin problemas, partiendo de la ecuación 4.

$$\text{Capital de trabajo} = \text{activo corriente} - \text{pasivo corriente} \quad (\text{Ec. 4})$$

Se cuenta con un total de activos mensuales (\$80,000 MXN en efectivo en caja y bancos) menos el total de pasivos mensuales (\$50,000 MXN en deudas a corto plazo y con proveedores), nos queda del capital de trabajo \$30,000 MXN pesos para 5,830 L de biodiésel, estos cálculos fueron tomados al momento de realizar las experimentaciones.

Sin lugar a dudas el costo principal en la producción del biodiésel es la materia prima de acuerdo con Rodríguez y col. (2018) [37], señala que el costo de la materia prima para la elaboración del biodiésel se encuentra en una vulnerabilidad ante posibles aumentos del precio de la materia prima, en otras palabras, los industriales que se dedican a producción biodiésel no estarían en condiciones de soportar aumentos en el precio de la materia prima. Finalmente este estudio tiene un impacto social positivo ya que abre las puertas a personas de bajos recursos a producir su propio biocombustible en distintos usos como las lámparas de aceites, iniciadores de fuego, combustible de vehículo diésel o como combustible extra para calderas y calentadores, también ayuda a evitar el desecho indebido o incorrecto de aceites derramados en los drenajes, esto último causa graves problemas y además contamina el agua, por lo que este proyecto puede ayudar como una guía para convertir un desecho en una fuente de energía.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos en la elaboración del biodiésel muestran que el proceso de transesterificación no requiere de mucho presupuesto para su elaboración, como lo señala el estudio de costos, su buena respuesta de punto de inflamación y su bajo nivel del hollín lo hacen atractivo para diversas aplicaciones, el método empleado no requiere de un gasto para regular la temperatura, debido a que se aprovechó las altas

temperaturas durante el verano del norte del país (Nuevo Laredo, Tamaulipas), la técnica fue generada con una agitación constante en un tiempo determinado, lo cual resulta idóneo para generar un biocombustible a partir del aceite de cocina usado. Otra de las ventajas es que solo requiere como materia prima productos de desecho lo cual es muy benéfico para ayudar a la reducción de contaminantes, esto último es debido a que los aceites residuales vertidos en los cuerpos de agua (ríos, lagos, lagunas, etc.) generan graves daños al medio ambiente. La producción de estos biocombustibles puede fomentar a la generación de empleos para familias marginadas, por lo que esta técnica tiene beneficios multiplicadores.

5. Referencias

1. Fernández G.J., Gutiérrez Martin, Fernando, Del Rio González, Pablo, San Miguel Alfaro, Guillermo, Bahillo Ruiz, Alberto, Sánchez Hervas, José María, Ballesteros Perdices, Mercedes, Vázquez Minguela, Jesús Ángel, Aracil Mira, José, Rodríguez Anton, Luis Miguel. (2015). *Tecnologías para el uso y transformación de biomasa energética*. México: Ediciones Paraninfo. Ediciones Mundi-Prensa, <https://books.google.com.gt/books?id=k9ISCgAAQBAJ&printsec=copyright#v=onepage&q&f=false>
2. Hosmath, R.S., Banapurmath N.R., Khandal S.V., Gaitonde V.N., Basavarajappa Y.H., Yaliwal V.S. (2016). Effect of compression ratio, CNG flow rate and injection timing on the performance of dual fuel engine operated on honge oil methyl ester (HOME) and compressed natural gas (CNG). *Renewable Energy*, 93:579-590, ISSN 0960-1481, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.010>.

3. Chen Y, Jinqiu Ma, Bin Han, Peng Zhang, Haining Hua, Hao Chen, Xin Su. (2018). Emissions of automobiles fueled with alternative fuels based on engine technology: A review. *Journal of Traffic and Transportation Engineering (English Edition)*, 5(4): 318-334, ISSN 2095-7564, <https://doi.org/10.1016/j.jtte.2018.05.001>.
4. Noor M.C.W, Noor M.M., Mamat R. (2018). Biodiéselas alternative fuel for marine diesel engine applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94:127-142, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.031>.
5. Teixeira MR, Nogueira R, Nunes LM. (2018). Quantitative assessment of the valorisation of used cooking oils in 23 countries. *Waste Manage*, 78:611–20. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.039>.
6. Chen G, Liu J, Yao J, Qi Y, Yan B. (2017). Biodiesel production from waste cooking oil in a magnetically fluidized bed reactor using whole-cell biocatalysts. *Energy Convers Manage*, 138:556–64. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.02.036>.
7. Zhang H, Li L, Zhou P, Hou J, Qiu Y. (2014). Subsidy modes, waste cooking oil and biofuel: policy effectiveness and sustainable supply chains in China. *Energy Policy*, 65:270–4. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2013.10.009>.
8. Goh B.H.H, Cheng Tung Chong, Yuqi Ge, Hwai Chyuan Ong, Jo-Han Ng, Bo Tian, Veeramuthu Ashokkumar, Steven Lim, Tine Seljak, Viktor Józsa. (2020). Progress in utilisation of waste cooking oil for sustainable biodiéseland biojet fuel production, *Energy Conversion and Management*, Volume 223, 113296, ISSN 0196-8904, <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113296>.
9. Othman M.F., Abdullah Adam, G. Najafi, Rizalman Mamat. (2017). Green fuel as alternative fuel for diesel engine: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80: 694-709, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.140>.
10. Ali OM, Mamat R, Abdullah NR, Adam A. (2016). Analysis of blended fuel properties and engine performance with palm biodiesel-diesel blended fuel. *Renewable Energy*, 86:59–67. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.103>.
11. Kumar N., Varun, Chauhan SR. (2013). Performance and emission characteristics of biodiésel from different origins: a review, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 21:633-658. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.01.006>.
12. Atabani A.E., Silitonga A.S., Badruddin I.A, Mahlia T.MI, Masjuki H.H, Mekhilef S.A. (2012). A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renew Sustain Energy Rev*, 16:2070–93. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.003>.
13. Singh B, Guldhe A, Rawat I, Bux F. (2014). Towards a sustainable approach for development of biodiésel from plant and microalgae. *Renew Sustain Energy Rev*, 29:216–45. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.067>.
14. Xing AH, Ma J, Zhang YH, Wang Y, Yong Jin. (2010). Life cycle assessment of economy for biodiesel. *J Tsinghua Univ*, 50:923–927.
15. Zaman, A.U. (2016). A comprehensive study of the environmental and economic benefits of resource recovery from global waste management systems. *J. Clean.*

- Prod. 124: 41-50.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.086>
16. Nantha-Gopal K, Pal A, Sharma S, Samanchi C, Sathyanarayanan K, Elango T. (2014). Investigation of emissions and combustion characteristics of a CI engine fueled with waste cooking oil methyl ester and diesel blends. *Alex Eng J*, 53:281–7, <https://doi.org/10.1016/j.aej.2014.02.003>
 17. Örs I., Sarıkoç S, Atabani A.E, Ünalán S, Akansu S.O. (2018). The effects on performance, combustion and emission characteristics of DIC engine fuelled with TiO₂ nanoparticles addition in diesel/biodiesel/n-butanol blends, *Fuel*, (234) 177-188, ISSN 0016-2361, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.07.024>
 18. Reddy V.M, Biswas P, Garg P, Kumar S. (2014). Combustion characteristics of biodiesel fuel in high recirculation conditions, *Fuel Process. Technol.* 118: 310-317.
<https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.10.004>
 19. Hajjari M, Tabatabaei M, Aghbashlo M, Ghanavati H. (2017). A review on the prospects of sustainable biodiesel production: a global scenario with an emphasis on waste-oil biodiesel utilization. *Renew Sustain Energy Rev.* 72:445e64.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.034>.
 20. Khan Y.T.M., Irfan Anjum Badruddin, Ahmad Badarudin, N.R. Banapurmath, N.J. Salman Ahmed, G.A. Quadir, Abdullah A.A.A. Al-Rashed, H.M.T. Khaleed, Sarfaraz Kamangar. (2015). Effects of engine variables and heat transfer on the performance of biodiesel fueled IC engines, *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 44: 682-691, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.025>.
 21. CEUPE (2021). ¿Qué es la transesterificación? [Artículo]. CEUPE. Recuperado de: <https://www.ceupe.com/blog/que-es-la-transesterificacion.html>
 22. Gutiérrez Pulido Humberto, De la Vara Salazar Román. (2012). Análisis y diseño de experimentos, 1-489. México: McGraw-Hill. ISBN 6071507251, 9786071507259
 23. García-Muentes, Segundo Alcides, Lafargue-Pérez, Francisco, Labrada-Vázquez, Benigno, Díaz-Velázquez, Manuel, & Sánchez del Campo-Lafita, Ana Estela. (2018). Propiedades fisicoquímicas del aceite y biodiesel producidos de la *Jatropha curcas* L. en la provincia de Manabí, Ecuador. *Revista Cubana de Química*, 30(1), 142-158.
 24. España G.A. (2019). Producción de biodiesel a partir de aceites vegetales y grasas animales recicladas (Maestría). Universidad Autónoma de Zacatecas “Francisco García Salinas”, pagina web: <https://1library.co/document/zx9vg9nz-produccion-biodiesel-partir-aceites-vegetales-grasas-animales-recicladas.html>
 25. Campos U.C.M., Delgado Saavedra, H. A. G., Esquivel Chávez, J. D., Samamé Salazar, J. L. J., & Sirlupú Zapata, J. D. (2018). Diseño de la línea de producción para la elaboración de biodiesel a partir de aceite residual recolectado de la industria chiflera piurana. Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional Repositorio institucional PIRHUA – Universidad de Piura. Facultad de Ingeniería, Área Departamental de Ingeniería Industrial y de Sistemas.
 26. Piker A, Betina Tabah, Nina Perkas, Aharon Gedanken, (2016). A green and low-cost room temperature biodiesel production method from waste

- oil using egg shells as catalyst, *Fuel*, Volume 182, Pages 34-41, ISSN 0016-2361, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.05.078>.
27. García, M.A. (2009). Estudio de los efectos de la post inyección sobre el proceso de combustión y la formación de hollín en motores diésel (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València), <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=83892>
 28. Kennedy I.M. (1997). Models of soot formation and oxidation. *Progress in Energy and Combustion Science*, Volume 23, Issue 2, pp. 95-132.
 29. Labeckas G, Slavinskas S. (2013). Performance and emission characteristics of a direct injection diesel engine operating on KDV synthetic diesel fuel. *Energy Convers Manag*, 66(0):173–188. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2012.10.004>
 30. Ushakov S, Valland H, Vilmar A. (2013). Combustion and emissions characteristics of fish oil fuel in a heavy-duty diesel engine. *Energy Convers Manag*, 65(0):228–238. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2012.08.009>
 31. Lapuerta M., Armas Octavio Reyes Garcia-Contreras. (2007). Stability of dieselbioethanol blends for use in diesel engines. *Fuel*, 86:1351-7. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.11.042>
 32. Shivakumar, Srinivasa Pai P, Shrinivasa Rao BR. (2011). Artificial Neural Network based prediction of performance and emission characteristics of a variable compression ratio CI engine using WCO as a biodiésel at different injection timings. *Appl Energy*, 88(7):2344–54. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.030
 33. Rashedul H.K, Masjuki M.A, Kalam A.M, Ashraful S.M, Ashrafur Rahman, Shahir S.A. (2014). The effect of additives on properties, performance and emission of biodiésel fuelled compression ignition engine. *Energy Convers Manage*, 88:348–64. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.08.034>
 34. Subramanian T, Varuvel EG, Martin LJ, Beddhannan N. (2017). Effect of lower and higher alcohol fuel synergies in biofuel blends and exhaust treatment system on emissions from CI engine. *Environ Sci Pollut Control Ser*, 24(32): 25103e13. DOI:10.1007/s11356-017-0214-9
 35. Yuan X, Leng L, Xiao Z, Lai C, Jiang L, Wang H, et al. (2016). Pyrolysis and combustion kinetics of glycerol-in-diesel hybrid fuel using thermogravimetric analysis, *Fuel*, 182:502e8. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.06.008>.
 36. Wright MM, Daugaard DE, Satrio JA, Brown RC. (2010). Techno-economic analysis of biomass fast pyrolysis to transportation fuels. *Fuel*, 89:2–10. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.07.029>
 37. Rodríguez Hernández R., Góngora González S., Reyes Reyes A. L., Sánchez-Vásquez V. (2018). Análisis de competitividad y rentabilidad de producción de biodiésel de granos de moringa en Chiapas y Yucatán, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* vol. 9 núm. 5 <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i5.716>



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Cuantificación del biogás generado en tres sitios de disposición final del Estado de San Luis Potosí, México

Quantification of biogas generated at three disposal sites in the State of San Luis Potosí, México

López-Díaz, N.L.^a, Durán-García, H.M.^{b*}, Álvarez-Fuentes, G.^b, Ávila-Galarza, A.^c, Pulido-Delgado, J.L.^c, Barajas-Beltrán, M. del S.^d

^a Programa multidisciplinario de postgrado en ciencias ambientales, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Avenida Manuel Nava No.11. C.P. 78216. Zona Universitaria. San Luis Potosí.

^b Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Calle Altair No. 200, Fracc. Del Llano. C.P. 78377. San Luis Potosí, SLP.

^c Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Avenida Manuel Nava No. 8. C.P. 78216. Zona Universitaria. San Luis Potosí, SLP.

^d Ma. Del Socorro Barajas Beltrán. Secretaria de Educación del Gobierno del Estado (SEGE). San Luis Potosí. normal295@gmail.com; hduran@aslp.mx; gregorio.alvarez@uaslp.mx; galarza@uaslp.mx; jpulido@uaslp.mx; bbkokis@gmail.com

Innovación tecnológica: Potencial de generación de biogás en rellenos sanitarios.

Área de aplicación industrial: Bioenergía.

Recibido: 12 mayo 2021

Aceptado: 02 septiembre 2022

Abstract

Final disposal is the last stage in the integrated management of urban solid waste, which, due to its polluting nature is necessary to evaluate the release of gases in order to determine the appropriate control processes, minimizing the environmental impact. The objective was to quantify the biogas generation by the decomposition of urban solid waste in the final disposal sites of the municipalities of San Luis Potosí, Mathehuala and Tancanhuitz. The methodology consisted of recovering and analyzing the data from the final disposal site and, using the Mexican Biogas Model, the biogas generated in the sanitary landfills was modeled. The results obtained indicated that the maximum generation of biogas in the San Luis Potosí landfill will be presented in the year 2042 and will be approximately 38.27 Mm³/year; at the Matehuala in 2029 and it will be 2.1 Mm³/year and at the Tancanhuitz inter-municipal dump of 3.6 Mm³/year in 2025.

Keywords: biogas, sanitary landfill, urban solid waste, final disposal sites, biogas generation.

Resumen

La disposición final es la última etapa en el manejo integral de los residuos sólidos urbanos, que por su carácter contaminante es necesario evaluar la liberación de gases para determinar los procesos de control adecuados, minimizando el impacto ambiental. El objetivo fue cuantificar la generación de biogás por la descomposición de los residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final de los municipios de San Luis Potosí, Matehuala y Tancanhuitz. La metodología consistió en recuperar y analizar los datos del sitio de disposición final y, utilizando el modelo mexicano de biogás se modeló el biogás generado en los rellenos sanitarios. Los resultados obtenidos indican que la generación máxima de biogás en el relleno sanitario de San Luis Potosí se presentará en el año 2042 y será de aproximadamente 38.27 Mm³/año; en el de Matehuala en el año 2029 y será de 2.1 Mm³/año y en el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz de 3.6 Mm³/año en el año 2025.

Palabras clave: biogás, relleno sanitario, residuos sólidos urbanos, sitios de disposición final, generación de biogás.

1. Introducción

Ante el incremento de residuos sólidos urbanos, se da cada vez mayor importancia al manejo y tratamiento, desde el reciclado y reutilización, hasta la prevención y gestión. Como ejemplo se tiene el caso de Malmö (Suecia), donde la basura se separa de origen, se recicla, reutiliza y de ser posible se elabora composta; además con el biogás se genera energía, logrando que el 60% de las necesidades de calefacción se abastezca a partir de la energía del biogás, generado por la descomposición controlada de los residuos sólidos urbanos (ISWA, 2015). En América Latina y el Caribe, Rondón *et al.*, (2016) mencionan que de la disposición final de los residuos sólidos urbanos (RSU); el 54.4% son depositados en rellenos sanitarios, el 18.5% en sitios controlados, el 23.3% en tiraderos a cielo abierto, el 2% son quemados a cielo abierto y el 1.8% son desechados directamente a cuerpos de agua, lo cual resulta en impactos sanitarios y ambientales (Castañeda *et al.*, 2019). En México, el gobierno de la Ciudad de México (2019) organizó y clasificó a los residuos sólidos urbanos, quedando en porcentajes de la siguiente forma; el 52.4% son residuos de comida, jardines y materiales orgánicos

similares (con los cuales bien se puede elaborar composta), 13.8% es papel, cartón y otros productos de papel, el 12.1% es clasificado como otro tipo de basura, el 10.9% son plásticos, el 5.9% es vidrio, el 1.7% aluminio, el 1.4% textiles, el 1.1% materiales ferrosos y el 0.6% se clasifican como otros materiales no ferrosos.

Al manejo de los residuos sólidos urbanos, de acuerdo a la LGPGIR (ley general para la prevención y gestión integral de los residuos), se les define como: “las actividades de reducción en la fuente, separación, reutilización, reciclaje, co-procesamiento, tratamiento biológico, químico, físico o térmico, acopio, almacenamiento, transporte y disposición final de residuos, individualmente realizadas o combinados de manera apropiada, para adaptarse a las condiciones y necesidades de cada lugar, cumpliendo objetivos de valorización, eficiencia sanitaria, ambiental, tecnológica, económica y social”. La generación de residuos sólidos urbanos se ha incrementado notablemente en los últimos años, pues en un diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos se observó que de 2003 a 2011, se incrementó en un 25% y se asocia

principalmente al incremento poblacional, al desarrollo industrial, a las mejoras tecnológicas y al cambio en los patrones de consumo (Semarnat, 2020 a). Por regiones en el Centro de México se genera el 51% (20,794.05 MTon), en la Frontera Norte el 16% (6,748.85 MTon), en la Ciudad de México el 12% (4,891 MTon), en el Norte el 11% (4,378.18 Mton) y en el Sur el 10% (4,250.42 Mton). La cobertura nacional de recolección es de 83.93%, aunque los estados como Colima, Aguascalientes, Chihuahua, Ciudad de México, Nayarit y Quintana Roo reportan cobertura de recolección al 100%. Los estados de Baja California Sur, Guerrero y Puebla reportan una cobertura menor al 50% (INECC, 2020). En México se reportan 86 estaciones de transferencia, en la mayoría de estas instalaciones (71.43%) solo se realizan actividades de transferencia; en el 22.62% de ellas, se realizan actividades de transferencia separación y en el 5.95% actividades de acondicionamiento de los materiales separados, como trituración y compactación (INECC, 2020). El tratamiento es el procedimiento físico, químico, biológico o térmico, mediante el o los cuales las características de los residuos cambian, reduciendo el volumen, así como la peligrosidad, para a continuación, depositar o confinar permanentemente los residuos en un sitio que cumpla con las características para prevenir afectaciones a la salud y a los ecosistemas. En la etapa de tratamiento se realizan actividades de separación física de residuos y de tipo biológico, así como elaborar composta (Semarnat, 2020 b).

Uno de los productos de la descomposición anaerobia de los residuos es el biogás. El biogás es una mezcla inflamable de gases que contiene mayormente CH_4 , en una proporción en volumen de 50 – 70%, por lo tanto, hay que complementarlo, el resto es principalmente CO_2 con presencia de otros gases. En términos de la composición de las emisiones totales de los “Gases de Efecto Invernadero”

(GEI) en México, el CO_2 es el de mayor generación (75.1%), seguido del metano (19%). Por otro lado, es importante mencionar que los residuos sólidos urbanos son responsables del 4% de las emisiones totales en México y, que los sitios de disposición final de estos, aportan el 2.9% de las emisiones totales; que equivalen a 21920.61 t de CO_2 eq (INECC, 2018).

Debido a la necesidad ambiental de tratar los residuos de los rastros y cuantificar la cantidad de biogás generado en sitios de disposición final, a comienzos de 1970 en Europa Central se empezó a trabajar en el desarrollo de modelos matemáticos que describen el procesamiento anaerobio de los residuos sólidos urbanos (Buhr y Andrews, 1977). Los primeros trabajos realizados se enfocaron en el modelado para la digestión de excreta de cerdos; estos modelos de origen incorporan las etapas de hidrólisis y acidogénesis para estimar el efecto de la sobrecarga orgánica en la velocidad de metanización. En México se ha venido trabajando en el modelado, tan es así, que existe el modelo mexicano de biogás; en este modelo se consideran variables específicas para México, ya sea por zona o por región geográfica (Aguilar-Virgen *et al.*, 2011), este modelo sirve para simular la producción de biogás producido por la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.

La Secretaria de Ecología y Gestión Ambiental del Gobierno del Estado de San Luis Potosí (SEGAM) señala que el manejo de los residuos sólidos urbanos es crítico, ya que, de los 54 sitios de disposición final, sólo cuatro de ellos cumplen con lo estipulado en la NOM-083-SEMARNAT-2003; mientras que los otros no cuentan con sistemas de ventilación o quema de biogás, ni con regulación de lixiviados (SEGAM, 2018).

Por lo anterior, la Ley ambiental del estado de San Luis Potosí surge por la necesidad de

contar con ordenamientos jurídicos para que el estado pueda cumplir con los principios de la política ambiental nacional, específicamente la regulación de los sistemas de recolección, transporte, almacenamiento, manejo, tratamiento y disposición final de los RSU, así como la selección, determinación y autorización de los sitios destinados para el confinamiento de los residuos en conjunto con los municipios. Con lo anterior en este trabajo se puso como objetivo cuantificar la generación de biogás por la descomposición de los residuos sólidos urbanos en los sitios de disposición final de los municipios de San Luis Potosí, Matehuala y el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz.

2. Metodología

Para cuantificar la generación de biogás en los rellenos sanitarios, estudiados en el estado de San Luis Potosí, se partió de la recopilación de datos de la actividad relativos a la generación, composición y gestión de los residuos. A partir de la composición y generación potencial de biogás, se indican las emisiones correspondientes de CH₄, CO₂ y H₂S derivados de la degradación de los residuos sólidos.

Este trabajo se ajustó a la metodología propuesta en el modelo mexicano de biogás 2.0, el cual requiere que el usuario alimente datos específicos (Ecuación 1), tales como año de apertura, año de clausura, índice de disposición anual, precipitación promedio anual y eficiencia del sistema de recolección (Aguilar-Virgen et al., 2011). El modelo provee automáticamente valores para el índice de generación de metano (k) y la generación potencial de metano (L₀). Los valores de k y L₀ varían dependiendo de la precipitación promedio anual y pueden utilizarse para proyectar la generación de biogás en rellenos sanitarios municipales localizados en las diferentes regiones de México. El modelo asume que el periodo es

de un año desde la colocación de los residuos y el comienzo de la generación de biogás; después del año la generación disminuye exponencialmente mientras el residuo es consumido (Aguilar-Virgen et al., 2011).

$$Q_{LFG} = \sum_{t=1}^n \sum_{j=0.1}^1 2kL_0 \left[\frac{M_i}{10}\right] (e^{-kt_{ij}}) (MCF)(F) \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

Q_{LFG}= Flujo de biogás máximo esperado (m³/año)

i= Incremento en tiempo de un año

n= Año del cálculo (año inicial de disposición de residuos)

j= Incremento de tiempo en 0.1 años

L₀= Generación potencial de metano (m³/Mg)

t_{ij}= Edad de la sección j de la masa de residuos

M_i dispuestos en el año i (años decimales)

MCF= Factor de correspondencia de metano

F= Factor de ajuste por incendios

k= Índice de generación de metano (l/año).

El índice de generación de metano (k) depende del contenido de humedad, la disponibilidad de nutrientes, el pH y la temperatura; el contenido de humedad dentro de un relleno sanitario es uno de los parámetros más importantes que inciden en la tasa de generación de gas, ya que sirve como medio para el transporte de nutrientes y bacterias. Su presencia en el relleno sanitario depende de la infiltración de agua de lluvia, del contenido inicial de humedad del residuo, la cantidad y tipo de cobertura diaria que se usa en el sitio, la permeabilidad y tiempo de disposición de la cobertura final, el tipo de impermeabilización de la base, el sistema de recolección de lixiviados y la profundidad del residuo (Aguilar Virgen et al., 2011).

El potencial de generación de metano (L₀), describe la cantidad total de CH₄ potencialmente producida por unidad de masa de residuos cuando ésta se degrada, y depende casi exclusivamente de la composición de los

residuos, en particular de la fracción orgánica presente (IPCC, 2019). Su valor se estima con base en el contenido de carbono del residuo, la fracción de carbono biodegradable y el factor de conversión estequiométrico.

3. Resultados

Experiencia y casos similares a este se tienen en diferentes regiones de México y otros países, por ejemplo, en Puerto Rico se tiene una planta que procesa aproximadamente 2,100 toneladas de residuos municipales al día y genera 67 megavatios (MW) (USDA, 2015). A continuación se describen las condiciones de operación de los tiraderos de Matehuala, intermunicipal de Tancanhuitz y San Juanico el grande.

Tiradero de Matehuala

El tiradero del municipio de Matehuala, es operado por el mismo municipio, inicio actividades en el año 2012 y se prevé que tenga una vida útil de aproximadamente 14 años, recibe un aproximado de 67 toneladas diarias; la profundidad de las celdas es de 5 metros y cuenta con cuatro pozos para quema de biogás. Considerando lo estipulado en la NOM-083-SEMARNAT-2003, en la Tabla 1 se muestra un check list de los estudios y análisis con los que en teoría debería cumplir el tiradero controlado a cielo abierto, respecto a lo real.

Tabla 1. Evaluación del cumplimiento de estudios y análisis previos requeridos para la construcción de un sitio de disposición final.

Estudios y análisis	Cumplimiento real
Evaluación geológica y geohidrológica	No cumple
Hidrológica	No cumple
Topográfica	No cumple
Generación y composición de los residuos sólidos urbanos y de manejo especial	No cumple
Generación de biogás	No cumple
Generación de lixiviados	No cumple

Elaboración propia.

Por lo anterior, se deduce que este tiradero no cumple con los requerimientos mínimos a considerar previo a la construcción, por lo tanto, se podría suponer que la operación es ineficiente y es posible que genere impactos ambientales que no estén siendo controlados y/o mitigados.

Los aspectos abióticos son importantes a manera de complemento para entender las condiciones a las que se encuentra influenciado el sitio, Tabla 2.

Tabla 2. Aspectos abióticos del tiradero de Matehuala.

Clima	Geología	Edafología
La temperatura oscila entre los 14 y los 20 °C, la precipitación varía de 300 a 500 mm. El clima es seco semicálido.	Los periodos se encuentran distribuidos de la siguiente manera: cuaternario (65.7%), cretácico (28.7%) y neógeno (4.2%). Las rocas presentes son de tipo sedimentaria: caliza (24.9%), conglomerado (4.2%), caliza – lutita (3.8%).	Los tipos de suelo dominantes son: calcisol (39%), leptosol (31.4%), kastañosem (15.1%), gypsicol (8.3%), phaeozem (2.8%) y solonchack (0.3%).

Fuente: INEGI, 2013.

Tiradero intermunicipal de Tancanhuitz

Este sitio de disposición final es de índole intermunicipal, constituido por los municipios de Tancanhuitz, Xilitla, Axtla de terrazas y Aquismón. Es operado por el municipio de Xilitla, inició actividades en el año 2004 y se prevé que tendrá una vida útil de 20 años; recibe aproximadamente 112

toneladas diarias. La profundidad de las celdas es de 8 m y cuenta con cuatro pozos para quema de biogás (SEGAM, 2018).

Al igual que el tiradero de Matehuala y de acuerdo a la NOM-083-SEMARNAT-2003, se efectuó un check list de los estudios y análisis con los que en teoría debería cumplir el tiradero, Tabla 3.

Tabla 3. Evaluación de cumplimiento de estudios y análisis previos requeridos para la construcción de un sitio de disposición final en Tancanhuitz.

Estudios y análisis	Cumplimiento real
Geológico y geohidrológico regionales	No cumple
Evaluación geológica y geohidrológica	No cumple
Hidrológico	No cumple
Topográfica	No cumple
Generación y composición de los residuos sólidos urbanos de anejo especial	No cumple
Generación de biogás	No cumple
Generación de lixiviados	No cumple

Elaboración propia.

Por lo anterior, el tiradero no cumple con los requerimientos mínimos previos a la construcción; por lo que existe la posibilidad de que se genere impacto ambiental no controlado.

Los aspectos abióticos al ser importantes para entender a qué condiciones se encuentra influenciado, se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Aspectos abióticos en el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz.

Clima	Geología	Edafología
Semicálido húmedo con abundante lluvia en verano, el rango de temperatura oscila entre 22 y 26 °C y el de precipitación de 1500 – 2500 mm.	Paleontógeno (50.9%), cretácico (48.2%), cuaternario (0.6%) y terciario (0.3%). La roca es de tipo sedimentaria: lutita (55.6%), lutita – arenisca (41.7%), caliza – lutita (1.3%) y caliza (0.3%).	Los suelos dominantes son: calcisol (39%), ceptosol (31.4%), kastañozem (2.8%), regosol (1.2%), chernozem (0.8%) y solonchak (0.3%).

Fuente INEGI, 2013.

Relleno sanitario de San Juanico el grande

Este relleno sanitario se ubica en la ciudad de San Luis Potosí, empezó a operar en el año 2015, se estima que tendrá una vida útil de 25 años y se construirán 15 celdas. Hay un cárcamo de lixiviados y 17 pozos de biogás;

la recepción de residuos sólidos urbanos es de aproximadamente 800 toneladas diarias. La evaluación del cumplimiento de estudios y análisis previos para la construcción con base en la NOM-083-SEMARNAT-2003 se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Evaluación de cumplimiento de estudios y análisis previos requeridos para la construcción del relleno sanitario de San Juanico el Grande, San Luis Potosí.

Estudios y análisis	Cumplimiento real
Geológico y geohidrológico regional	Cumple
Evaluación geológica y geohidrológica	Cumple
Hidrológico	Cumple
Topográfico	Cumple
Generación y composición de los residuos sólidos urbanos y manejo especial	Cumple
Generación de biogás	Cumple
Generación de lixiviados	Cumple

Elaboración propia.

Con base en lo indicado en la tabla 5, se concluye que el relleno sanitario de San Juanico el grande cumple con los estudios y análisis previos a la construcción del sitio de disposición final, por lo tanto, esto podría indicar que el relleno sanitario operara eficientemente, aunado a que esta concesionado a una empresa privada;

marcando gran diferencia con los otros dos tiraderos, que son operados por los municipios.

Los aspectos abióticos del lugar donde se ubica el relleno sanitario de San Juanico el grande, se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Aspectos abióticos del relleno sanitario de San Juanico el grande.

Clima	Geología	Edafología
Clima árido con verano cálido, temperatura media anual entre 12 y 18 °C	Precipitación de Roca volcánica y sedimentaria	Suelos chernozem, luvisol, regosol, vertisol y planosol.

Fuente: INEGI, 2013.

La estimación de la generación de biogás en el relleno sanitario de San Juanico el grande, así como los tiraderos de Matehuala y Tancanhuitz se determinó empleando el software del Modelo Mexicano de Biogás V.2.0. Los valores del índice de generación de metano (k) y de generación potencial de metano (L₀) se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Valores para k y L₀.

Categoría de residuo	k	L ₀
1	0.100	69
2	0.050	149
3	0.020	214
4	0.010	202

Para el factor de corrección de metano (MCF), se consideran como aspectos clave la profundidad de las celdas y la operación en el sitio de disposición final, Tabla 8.

Tabla 8. Valores del factor de corrección de metano (MCF).

Sitio de disposición final	MCF
Tiradero de San Juanico el grande	1.0
Tiradero de Matehuala	0.5
Tiradero intermunicipal de Tancanhuitz	0.5

Al factor de ajuste por incendio se le dio el valor “cero” en los tres casos, pues en ninguno de ellos se reportaron incendios.

Para poder efectuar el modelado de la generación de biogás, en los tres sitios, se requirieron los datos de entrada que se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Datos de los tres rellenos sanitarios.

Nombre del sitio	Tiradero de San Juanico el grande	Tiradero de Matehuala	Tiradero intermunicipal de Tancanhuitz.
Ciudad	San Luis potosí	Matehuala	Tancanhuitz
Estado	San Luis potosí	San Luis potosí	San Luis potosí
Región	Noroeste interior norte	Noroeste interior norte	Noroeste interior norte
Año de apertura del sitio.	2015	2012	2004
Disposición anual del año más reciente (t).	305112	24455	40880
Año de clausura proyectado.	2041	2026	2024
Incremento anual estimado de disposición (%).	1.5	1.5	1.5
Profundidad promedio del relleno sanitario (m).	12	5	8
Porcentaje de área con residuos con cubierta diaria.	90	80	60
Porcentaje del área con residuos sin cubierta diaria.	10	20	40

En la Tabla 10. Se presentan los resultados obtenidos para el relleno sanitario de San Juanico el grande.

Tabla 10. Resultados obtenidos mediante el modelado de la generación de biogás en el tiradero de San Juanico el grande.

Año	RSU acumulados, (t)	Biogás (m ³ /año)	Año	RSU acumulados, (t)	Biogás (m ³ /año)
2015	35325	0	2029	4521594	22398951
2016	263207	268304	2030	4886394	23754000
2017	542682	1984451	2031	5256694	25076439
2018	847794	3977298	2032	5632594	26369811
2019	1157494	6033014	2033	6014094	27637362
2020	1471794	7989260	2034	6401294	28881302
2021	1790794	9854839	2035	6794294	30104401
2022	2114594	11638421	2036	7193194	31309204
2023	2443294	13347902	2037	7598094	32498040
2024	2776894	14990478	2038	8009094	33673052
2025	3115494	16571945	2039	8426294	34836206
2026	3459194	18098336	2040	8849794	35989310
2027	3808094	19575152	2041	9279694	37134028
2028	4162194	21007415	2042	9279694	38271892

El mayor volumen generado de biogás ocurrirá en el año 2042, es decir, un año después de la fecha en la que se tiene prevista la clausura. Posterior al año 2041, únicamente

se tendrá acumulación de residuos y, estos entraran gradualmente a la etapa final de descomposición, denominada estabilización con carácter aerobio, es decir la generación de

biogás decrece porque se empieza a sustituir por nitrógeno y oxígeno que contiene el aire atmosférico, que se introduce a través de las capas superficiales (EPA, 2020).

Los resultados obtenidos mediante el modelo de generación de biogás para el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Resultados obtenidos mediante el modelado de la generación de biogás en el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz.

Año	RSU acumulado (t)	Biogás (m ³ /año)	Año	RSU acumulado (t)	Biogás (m ³ /año)
2004	33084	0	2015	432007	2215388
2005	66672	251710	2016	471670	2374445
2006	100771	490289	2017	511937	2529139
2007	135390	716951	2018	552817	2679913
2008	170536	932804	2019	594317	2827174
2009	206217	1138854	2020	636417	2971274
2010	242441	1336019	2021	679117	3112332
2011	279217	1525135	2022	722417	3250604
2012	316553	1706964	2023	766317	3386323
2013	354458	1882202	2024	810917	3519703
2014	392939	2051483	2025	810917	3651699

En el tiradero intermunicipal de Tancanhuitz se cumple que la mayor generación de biogás ocurre un año posterior a la fecha que se

pronostica la clausura. En la Tabla 12 se tiene el modelado para el tiradero de Matehuala.

Tabla 12. Resultados obtenidos mediante el modelado de la generación de biogás en el tiradero de Matehuala.

Año	RSU acumulado (t)	Biogás (m ³ /año)	Año	RSU acumulado (t)	Biogás (m ³ /año)
2012	22335	0	2021	239271	1270435
2013	45010	169929	2022	265271	1384813
2014	68030	330993	2023	291671	1495633
2015	91401	484012	2024	318471	1603203
2016	115128	629734	2025	345671	1707802
2017	139216	768838	2026	373271	1809685
2018	163671	901944	2027	401271	1909083
2019	188471	1029616	2028	429671	2006208
2020	213671	1152160	2029	429671	2101252

Para el tiradero de Matehuala, la mayor generación de biogás ocurrirá tres años después a la fecha pronosticada de clausura, lo cual puede estar relacionado con las condiciones de diseño y operación; además, este relleno tiene una profundidad de 5 m, lo que permite mayor infiltración de aire, entorpeciendo el proceso de descomposición de la fracción orgánica e influyendo en la generación de biogás. Finalmente es necesario recalcar que es importante generar

en las personas un cambio de paradigma, dejando de pensar que los residuos son algo inútil y, que generar energía a partir de ellos es un desafío importante para el gobierno, empresas privadas y la sociedad misma.

4. Conclusiones

1. La generación de biogás a través del modelado pronostican:

- a) Para el relleno sanitario de San Luis Potosí una generación de 38.27 Mm³/año, en el año 2042.
 - b) Para el tiradero a cielo abierto de Matehuala 2.1 Mm³/año, en el año 2029 y
 - c) Para el tiradero a cielo abierto intermunicipal de Tancanhuitz 3.65 Mm³/año, en el año 2025.
2. Es posible que la profundidad influya en el año de mayor producción de biogás, pues mientras en San Juanico el grande y Tancanhuitz es un año posterior a la clausura, en Matehuala es tres años posterior a la clausura.

5. Referencias

1. Aguilar Virgen Q., Armijo-De Vega C., Taboada González P. (2011). Modelo mexicano para la estimación de la generación de biogás. *Ingeniería Revista Académica* (15): 37-45.
2. Buhr, H.O. and Andrews, J.F. (1977). The thermophilic anaerobics digestion process. *Watter Research*. 11(2):129-143. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(77\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(77)90118-X).
3. Castañeda Martínez H., Canales García R., Loza López J. (2019). Desarrollo sostenible en la generación de electricidad por medio de energías renovables: una aplicación empírica para el Valle de Toluca, México. *Economía coyuntural*. 4(4).
4. EPA (2020). Mejores prácticas para la gestión de los residuos sólidos: Una Guía para los responsables de la toma de decisiones en los países en vías de desarrollo. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos Oficina de Conservación y Recuperación de Recursos. 169p.
5. Gaceta Oficial de la Ciudad de México (2019). Ley de residuos sólidos del Distrito Federal. 50p.
6. INECC (2020). Diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 516p.
7. INECC (2018). Inventario nacional de emisiones de gases y compuestos de gases de efecto invernadero. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 189p.
8. INEGI (2013). Conociendo San Luis Potosí. 36p.
9. ISWA (2015). Global Waste Management Outlook. United Nations Environment Program. ISBN: 978-92-807-3479-9. 346p.
10. IPCC (2019). El IPCC actualiza la metodología para los inventarios de gases de efecto invernadero. Comunicado de prensa. 5p.
11. Rondón Toro, E., Szantó Narea M., Pacheco Juan, Contreras Eduardo y Gálvez Alejandro (2016). Guía general para la gestión de residuos sólidos domiciliarios. Manuales de la CEPAL. 211p.
12. SEMARNAT (2003). Ley general para la prevención y gestión integral de los recursos. Ciudad de México. Diario Oficial.
13. SEMARNAT (2020 a). Segundo informe de labores. Ciudad de México. 149p.
14. SEMARNAT (2020 b). Diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos. Ciudad de México. 274p.
15. SEGAM (2018). Informe de sitios de disposición final en el estado de San Luis Potosí. San Luis Potosí.
16. USDA (2015). Proyecto de generación de energía a partir de residuos sólidos y de recuperación de recursos. San Juan de Puerto Rico. 32p.