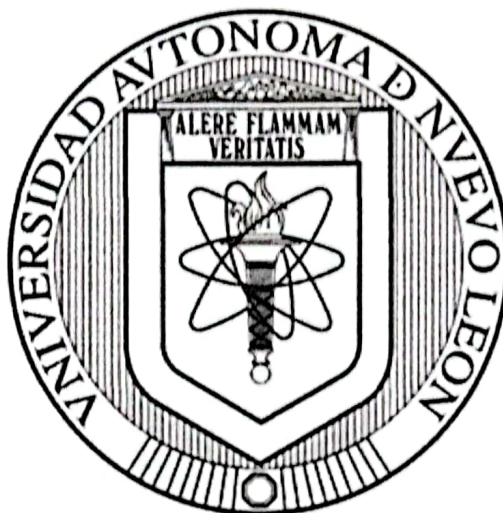


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**MODELO DE BIORREFINERÍA DEL BAGAZO DE NARANJA: PRODUCCIÓN DE
BIOCOMPUESTOS, BIOENERGÉTICOS Y EVALUACIÓN AMBIENTAL**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS CON
ORIENTACIÓN EN PROCESOS SUSTENTABLES.**

PRESENTA:

M.C. BRENDA NELLY LÓPEZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR:


Dr. Carlos Escamilla Alvarado

Monterrey, Nuevo León, 03/04/2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**“MODELO DE BIORREFINERÍA DEL BAGAZO DE NARANJA: PRODUCCIÓN DE
BIOCOMPUESTOS, BIOENERGÉTICOS Y EVALUACIÓN AMBIENTAL”**

PRESENTADO POR:

M. C. BRENDA NELLY LÓPEZ HERNÁNDEZ

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS CON
ORIENTACIÓN EN PROCESOS SUSTENTABLES

ABRIL 2025.

CONTENIDO

CONTENIDO	2
Índice de Tablas	6
Índice de Figuras	9
RESUMEN.....	12
1. Introducción	13
2. Antecedentes	16
2.1. Industria productora de naranja en México.....	16
2.1.1. Naranja dulce (Citrus sinensis)	16
2.1.2. Producción de naranja en México vs. el resto del mundo.....	17
2.1.3. Naranja en la industria agroalimentaria	18
2.1.4. Gestión de los residuos de naranja.....	18
2.2. Bagazo y cáscara de naranja (OPW) como fuente de biocompuestos.	19
2.3. Biocompuestos del OPW (aceites esenciales, pectina) y métodos de extracción (hidrodestilación, hidrólisis ácida)	20
2.3.1. Aceites esenciales	20
2.3.1.1. Hidrodestilación para la extracción de aceites esenciales del OPW.	21
2.3.2. Pectina	21
2.3.2.1. Hidrólisis ácida para la extracción de pectina del OPW.	22
2.4. Bioprocesos productores de bioenergéticos a partir de biomasa	23
2.4.1. Digestión anaerobia (DA).....	23
2.4.2. Fermentación oscura (FO)	24
2.4.3. Fotofermentación (FF)	25
2.5. Biorrefinerías de residuos	26
2.6. Análisis de ciclo de vida (ACV)	27
3. Justificación	30
4. Aportación científica y tecnológica	31
5. Hipótesis	31
6. Objetivos y metas	32
6.1. Objetivo general	32
6.2. Objetivos específicos	32
7. Metodología.....	33

7.1.	Actividad 1. Preparación del bagazo y cáscara de naranja (OPW): extracción de biocompuestos.	34
7.1.1.	Propósito.....	34
7.1.2.	Diseño experimental.....	34
7.1.3.	Programa de seguimiento y análisis	34
7.1.4.	Métodos y procedimientos.....	35
7.1.4.1.	Recolección del OPW y rutas de procesamiento.	35
7.1.4.2.	Determinación de perfil de sólidos, pH, alcalinidad y AGV.	36
7.1.4.3.	Determinación de contenido de celulosa y hemicelulosa.....	37
7.2.	Actividad 2. Evaluación del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura modo lote. ...	38
7.2.1.	Propósito.....	38
7.2.2.	Diseño experimental.....	38
7.2.2.1.	Evaluación del potencial de biohidrógeno por FO de cinco OPW _i procesados.....	38
7.2.2.2.	Evaluación del efecto de la RIS sobre el potencial de biohidrógeno por FO de OPW _i seleccionados.	38
7.2.2.3.	Generación de stocks de efluentes líquidos (EFO _i) y fracción sólida (SFO _i) de FO para la producción de biohidrógeno por FF y biometano por DA.....	39
7.2.3.	Programa de seguimiento y análisis	39
7.2.4.	Métodos y procedimientos.....	40
7.2.4.1.	Preparación de inóculo para FO.	40
7.2.4.2.	Montaje de diseños experimentales de fermentación oscura para la producción de biohidrógeno.	40
7.2.4.3.	Métodos analíticos de caracterización.....	40
7.2.4.4.	Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico	41
7.2.4.5.	Generación de stocks de efluentes líquidos (EFO _i) y fracción sólida residual (SFO _i) de FO para la producción de biohidrógeno por FF y biometano por DA.....	41
7.3.	Actividad 3. Producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura.	43
7.3.1.	Propósito.....	43
7.3.2.	Diseño experimental.....	43
7.3.2.1.	Producción de biohidrógeno por FF a partir de EFO _i de OPW _{a,b,d}	43
7.3.3.	Programa de seguimiento y análisis	43
7.3.4.	Métodos y procedimientos.....	44
7.3.4.1.	Cepas bacterianas y medio de cultivo	44
7.3.4.2.	Evaluación de la producción de biohidrógeno por FF a partir de EFO _i	44

7.3.4.3.	Métodos analíticos de caracterización.....	45
7.3.4.4.	Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico.	45
7.4.	Actividad 4. Producción de biometano por digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura.	47
7.4.1.	Propósito.....	47
7.4.2.	Diseño experimental.....	47
7.4.3.	Programa de seguimiento y análisis	47
7.4.4.	Métodos y procedimientos.....	48
7.4.4.1.	Preparación de inóculo para DA.....	48
7.4.4.2.	Montaje del diseño experimental de DA para la producción de biometano.....	48
7.4.4.3.	Métodos analíticos de caracterización.....	48
7.4.4.4.	Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico	49
7.5.	Actividad 5. Evaluación de impacto ambiental a través del análisis de ciclo de vida.	50
7.5.1.	Propósito.....	50
7.5.2.	Diseño experimental.....	50
7.5.3.	Objetivo y alcance.....	50
7.5.4.	Unidad funcional.....	50
7.5.5.	Límites del sistema	50
7.5.5.1.	Escenarios de comparación.....	59
7.5.6.	Análisis del inventario del ciclo de vida (ICV).	59
7.5.6.1.	Evaluación de impactos del ciclo de vida (EICV).....	61
8.	Resultados y discusiones	62
8.1.	Actividad 1. Preparación del bagazo y cáscara de naranja (OPW): extracción de biocompuestos.	62
8.2.	Actividad 2. Evaluación del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura modo lote. ...	64
8.2.1.1.	Evaluación del potencial de biohidrógeno por FO de cinco OPW _i procesados.....	64
8.2.1.2.	Evaluación del efecto de la RIS sobre el potencial de biohidrógeno por FO de OPW _i seleccionados.	68
8.3.	Actividad 3. Producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura.	75
8.4.	Actividad 4. Producción de biometano por digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura.	82
8.5.	Actividad 5. Evaluación de impacto ambiental a través del análisis de ciclo de vida.	88
8.5.1.	Análisis del inventario del ciclo de vida (ICV).	88

8.5.2. Evaluación de impactos de ciclo de vida (EICV).....	91
9. Conclusiones.....	94
Bibliografía	96
Anexo A	100

Índice de Tablas

Tabla 1. Condiciones óptimas de operación.	24
Tabla 2. Matriz resumen de métodos de procesamiento de extracción de biocompuestos del OPW.....	34
Tabla 3. Parámetros de caracterización de los sustratos OPW _i	34
Tabla 4. Diseño experimental de un factor para evaluar del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura de cinco OPW _i procesados.	38
Tabla 5. Diseño experimental factorial 3 ² para evaluar el efecto de la relación inóculo-sustrato (RIS) sobre el potencial de biohidrógeno por fermentación oscura de OPW _i seleccionados.....	39
Tabla 6. Diseño de experimental producción de stock de efluentes líquidos (EFO _i) y de fracción sólida residual (SFO _i) de la fermentación oscura de OPW _{a,b,d}	39
Tabla 7. Parámetros de caracterización para los experimentos de potencial de biohidrógeno por fermentación oscura y para los stocks de efluentes líquidos (EFO _i) y de fracción sólida residual (SFO _i) de la fermentación oscura de OPW _{a,b,d}	40
Tabla 8. Diseño de experimentos 3 ² producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO _i) de OPW _{a,b,d}	43
Tabla 9. Parámetros de caracterización para el experimento de producción de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO _i) de OPW _{a,b,d}	43
Tabla 10. Diseño experimental factorial 3 ² el potencial de biometano por digestión anaerobia de las fracciones sólidas residuales de la fermentación oscura (SFO _{a,b,d}).	47
Tabla 11. Parámetros de caracterización para los experimentos de potencial de biometano por digestión anaerobia a partir de fracción sólida residual (SFO _i) de la fermentación oscura de OPW _{a,b,d}	48
Tabla 12. Condiciones de operación de las etapas de proceso consideradas en los escenarios de los modelos de biorrefinería de OPW.....	60
Tabla 13. Caracterización de cinco OPW _i procesados.....	63
Tabla 14. Parámetros cinéticos de la ecuación de Gompertz modificada del rendimiento de biohidrógeno a partir de los cinco OPW _i procesados a RIS 0.6.	65
Tabla 15. Caracterización de los fermentados tras la producción de biohidrógeno a partir de los cinco OPW _i procesados a RIS 0.6.	67
Tabla 16. Parámetros cinéticos de la ecuación de Gompertz modificada del rendimiento hidrogenogénico de OPW _{a,b,d} en la evaluación de la relación inóculo-sustrato (RIS).	70
Tabla 17. Caracterización de los fermentados después de la producción de biohidrógeno a partir del OPW _{a,b,d} en la evaluación de la relación inóculo-sustrato (RIS).	71
Tabla 18. Parámetros cinéticos de los modelos Gompertz modificado, T _i -Gompertz y Boltzmann sobre la producción máxima acumulativa de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes de fermentación oscura de bagazo y de cáscara de naranja.	80

Tabla 19. Parámetros cinéticos de los modelos de Gompertz modificado, Ti-Gompertz y Boltzmann sobre la producción máxima acumulada específica de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja.	81
Tabla 20. Resultados del ajuste cinético de producción y rendimiento acumulado de biometano al modelo de Gompertz modificado para sustratos SFO _i	84
Tabla 21. Resultados del ajuste cinético de producción y rendimiento acumulado de biometano al modelo de Gompertz para sustratos OPW _i	85
Tabla 22. Resultados de caracterización final de los procesos de digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura (SFO _i).	87
Tabla 23. Resultados de caracterización final de los procesos de digestión anaerobia de sustratos OPW _i (ensayos control).	87
Tabla 24. Inventario de ciclo de vida del escenario OPW _a 5, contemplando proceso de valorización energética de OPW por digestión anaerobia.	89
Tabla 25. Inventario de ciclo de vida del escenario OPW _d 1, contemplando proceso de valorización energética de OPW por fermentación oscura, fotofermentación y digestión anaerobia, con extracción previa de pectina y aceites esenciales.	90
Tabla A2.1 ANOVA del diseño experimental de fermentación oscura de un factor a partir de cinco OPW _i procesadas para la variable de respuesta de producción acumulada de biohidrógeno.	100
Tabla A2.2 ANOVA del diseño experimental de fermentación oscura de un factor a partir de cinco OPW _i procesadas para la variable de respuesta de rendimiento acumulado de biohidrógeno.	100
Tabla A2.3 ANOVA para el diseño de factorial 3 ² de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja seleccionados (OPW _i) y evaluación de RIS para la respuesta a producción acumulada de biohidrógeno.	100
Table A2.4 ANOVA para el diseño de factorial 3 ² de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja seleccionados (OPW _i) y evaluación de RIS para la respuesta a rendimiento acumulado de biohidrógeno.	101
Tabla A.3.1 Caracterización de los stocks de los efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO _i) de OPW _{a,b,d} a RIS 0.6.....	101
Table A3.2 ANOVA para el diseño factorial de 3 ² de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de producción acumulada de biohidrógeno.	101
Tabla A3.3 ANOVA para el diseño factorial de 3 ² de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de rendimiento acumulado de biohidrógeno.....	102
Tabla A3.4 ANOVA para el diseño factorial de 3 ² de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de biomasa celular seca final.	102

Tabla A4.1 Caracterización de los stocks de la fracción sólida remanente de fermentación oscura (SFO _i) de OPW _{a,b,d} a RIS 0.6.	102
Tabla A.5.1. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _a 1.	103
Tabla A.5.2. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _a 2.	104
Tabla A.5.3. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _a 3.	105
Tabla A.5.4. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _a 4.	105
Tabla A.5.5. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _a 5.	105
Tabla A.5.6. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _b 1.	106
Tabla A.5.7. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _b 2.	107
Tabla A.5.8. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _b 3.	108
Tabla A.5.9. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _b 4.	108
Tabla A.5.10. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _b 5.	109
Tabla A.5.11. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _c 1.	109
Tabla A.5.12. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _c 2.	110
Tabla A.5.13. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _c 3.	112
Tabla A.5.14. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _c 4.	112
Tabla A.5.15. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW _c 5.	113

Índice de Figuras

Figura 1. Secciones de la naranja. Elaboración propia.	16
Figura 2. Principales países productores de naranja en 2023. (Elaborado a partir de datos de FAO (2025)).	17
Figura 3. Mapa de producción de naranja en México 2021. (Elaborado a partir de datos del SIAP 2022).	18
Figura 4. Estructura química del d-limoneno.	20
Figura 5. Estructura química de la pectina.	22
Figura 6. Reacciones generales del metabolismo del proceso de digestión anaerobia.	23
Figura 7. Proceso metabólico de la Fotofermentación. Basado en Koku 2002.	26
Figura 8. Esquema de plan de trabajo. ACV, análisis de ciclo de vida; bioCH ₄ , biometano; bioH ₂ , biohidrógeno; DA, digestión anaerobia; FF, fotofermentación; FO, fermentación oscura; OPW, orange peel waste.	33
.....	36
Figura 9. Rutas de procesamiento de OPW para la obtención de OPW _i , pectina y AE procesados.	36
Figura 10. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{a1} . CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	52
Figura 11. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{a2} . H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	52
.....	53
Figura 12. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{a3} . CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	53
.....	53
Figura 13. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{a4} . H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	53
.....	54
Figura 14. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{a5} . CH ₄ , biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	54
.....	54
Figura 15. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{b1} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	54
.....	55
Figura 16. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{b2} . AE, aceites esenciales; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	55
.....	55

Figura 17. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{b3} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	55
.....	56
Figura 18. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{b4} . AE, aceites esenciales; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	56
.....	56
Figura 19. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{b5} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	56
.....	57
Figura 20. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{d1} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	57
.....	57
Figura 21. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{d2} . AE, aceites esenciales; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	57
.....	57
Figura 22. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{d3} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	57
Figura 23. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{d4} . AE, aceites esenciales; H ₂ , biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	58
.....	58
Figura 24. Diagrama de fronteras de Escenario OPW _{d5} . AE, aceites esenciales; CH ₄ , biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.	58
Figura 25. Diagrama de fronteras del escenario de comparación BAU.	59
Figura 26. Rendimientos acumulativos de biohidrógeno de los cinco sustratos OPW _i procesados (OPW _{a,b,c,d,e})..	64
Figura 27. Rendimiento hidrogenogénico de OPW _{a,b,d} en la evaluación del efecto de la variación de la RIS: a) producción acumulada de biohidrógeno, b) rendimiento acumulado de biohidrógeno..	69
Figura 28. (a) Comparativa de pH inicial vs. final; (b) concentración de biomasa celular seca inicial vs. final; (c) rendimiento de biohidrógeno acumulado; (d) correspondencia entre de la biomasa celular seca y la proporción de efluentes de fermentación oscura (EFO) sobre los rendimientos acumulados de biohidrógeno en ensayos de fotofermentación de efluentes de fermentación oscura a partir de residuos de bagazo y cáscara de naranja.	78
Figura 29. Desempeño metanogénico de SFO _{a,b,d} evaluando el efecto de la variación de la RIS y su comparación contra los controles de biomasa OPW _{a,b,d} : a) producción acumulada de biometano, b) rendimiento acumulado de biometano..	83
Figura 30. Resultados de la evaluación de impacto ambiental para el indicador de cambio climático de los escenarios de valorización de OPW en comparación con el escenario BAU..	91

Figura 31. Resultados de la evaluación de impacto ambiental para el indicador de cambio climático: a) Escenario OPW _{a5} ; b) Escenario OPW _{d1}	92
---	----

RESUMEN

El presente trabajo de investigación propone un modelo de biorrefinería para la valorización integral del bagazo y cáscara de naranja (OPW, por sus siglas en inglés), un residuo agroindustrial abundante en México, mediante la producción secuencial de biocompuestos, aceites esenciales (AE) y pectina, y bioenergéticos (biohidrógeno y biometano), complementado con una evaluación ambiental a través del análisis de ciclo de vida (ACV). Esta propuesta se enmarca en los principios de la economía circular y el aprovechamiento en cascada de la biomasa.

El modelo de biorrefinería se desarrolló en cinco actividades principales. En primer lugar, se diseñaron y evaluaron diferentes rutas de procesamiento del OPW (OPW_i), incorporando secuencial o parcialmente operaciones unitarias como secado, molienda, hidrodestilación (HD), precipitación, fermentación oscura (FO), fotofermentación (FF) y digestión anaerobia (DA). La segunda actividad evaluó el efecto del procesamiento sobre la producción de biohidrógeno en FO, identificando la mejor relación inóculo-sustrato (RIS) de 0.6, y a OPW_b con el mayor rendimiento (108.1 mL H₂ g⁻¹SV).

Posteriormente, los efluentes líquidos de FO (EFO_i) fueron empleados como sustratos para FF, observándose que concentraciones de EFO del 25% maximizaban el rendimiento (hasta 126.5 mL H₂ g⁻¹AGV), mientras que concentraciones mayores afectaban negativamente la producción por oscurecimiento del medio. En la cuarta actividad, se evaluó la producción de biometano a partir de las fracciones sólidas residuales de FO (SFO_i) y OPW_i, demostrando que estas últimas generan rendimientos superiores (hasta 134.0 mL CH₄ g⁻¹SV). Estos resultados vislumbran el efecto del proceso de FO sobre los rendimientos posteriores en DA, demostrando la importancia del OPW_i en procesos de producción de biometano. Finalmente, se desarrolló un ACV comparativo de 15 escenarios de valorización y un escenario base (BAU) de disposición final. Los escenarios con menor impacto ambiental fueron aquellos que emplearon únicamente procesos de FO o DA (e.g., OPW_{a4} y OPW_{a5}), registrando GWI inferiores al BAU (1.84 kg CO₂eq UF⁻¹). En contraste, los escenarios que incorporan FF mostraron mayores impactos debido al consumo energético del proceso, aunque representan un avance significativo en la integración de procesos reales para la producción de biohidrógeno.

Los hallazgos de este estudio evidencian la viabilidad técnica y ambiental de esquemas de biorrefinería aplicados al OPW. Además, demuestran que una adecuada selección de la ruta de procesamiento y la integración sinérgica de procesos fermentativos puede maximizar la recuperación de valor de residuos agroindustriales, contribuyendo a la transición hacia modelos de producción sostenibles.

1. Introducción

El aumento significativo de la producción agrícola a nivel mundial ha generado enormes volúmenes de residuos agroindustriales, representando desafíos ambientales y económicos debido a su gestión (Quintero-Herrera et al., 2023; Valenti et al., 2020). Entre estos residuos, el bagazo y la cáscara de naranja (OPW, por sus siglas en inglés) representan una fracción considerable debido al alto consumo y procesamiento de este fruto. La naranja es el cítrico de mayor consumo mundialmente, representando aproximadamente el 60% de la producción total de cítricos (Hilali et al., 2019). En 2023, la producción mundial de naranjas alcanzó los 69.8 millones de toneladas, con Brasil como el principal productor, seguido de China, México, India y Egipto (FAO, 2025). Se estima que alrededor del 70% de la producción de naranja se destina a la elaboración de productos comestibles, siendo el jugo de naranja el principal derivado, seguido de productos como jaleas, mermeladas y aceites esenciales (AE) (Martín et al., 2010; Santiago et al., 2020b).

Alrededor del 50–60% del peso total de la naranja resulta ser residuo orgánico: OPW (Martín et al., 2010; Santiago et al., 2020b). En países en desarrollo, la gestión convencional de este residuo se basa en su disposición en vertederos o en prácticas insostenibles, lo que contribuye a la generación de gases de efecto invernadero (GEI) y la producción de lixiviados que contaminan los suelos y recursos hídricos (Albalade-Ramírez et al., 2024; Rueda-Avellaneda et al., 2021). Para mitigar estos problemas, la Directiva 2008/98/CE de la Unión Europea establece la prohibición de la disposición directa de residuos orgánicos en vertederos sin un proceso previo de valorización, promoviendo estrategias de aprovechamiento más eficientes para reducir los costos de gestión y el impacto ambiental de estos residuos (Directive 2008/98/EC of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on Waste and Repealing Certain Directives, 2008).

El OPW es una biomasa rica en compuestos de alto valor agregado, como la pectina y los AE. La pectina, un polímero de ácidos poligalacturónicos metoxilados, es ampliamente utilizada en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética debido a sus propiedades gelificantes y estabilizadoras (Freitas et al., 2021; Pourbafrani et al., 2010). Por otro lado, los terpenos presentes en los AE de los cítricos tienen aplicaciones como solventes, fragancias y agentes de limpieza (Anandakumar et al., 2021; Ruiz et al., 2016).

Debido a su composición química, el OPW representa una materia prima con alto potencial para ser incorporada en esquemas de biorrefinería, donde se pueden obtener múltiples productos de valor agregado (Siles López et al., 2010). Hilali et al. (2019) y Boukroufa et al. (2015) propusieron modelos de

biorrefinería enfocados en la extracción de AE, pectina y polifenoles a partir del OPW. Sin embargo, después de la extracción de estos compuestos, aún queda una fracción orgánica residual significativa en la biomasa, la cual puede ser utilizada para la producción bioenergética, fortaleciendo el concepto de biorrefinería. Vaez et al. (2021) demostraron la viabilidad de este enfoque mediante la producción de biometano por DA del OPW tras la extracción de pectina. Por su parte, Pourbafrani et al. (2010) desarrollaron un esquema de biorrefinería para la obtención de biometano y etanol a partir de residuos cítricos después de la extracción de d-limoneno y pectina. Estos estudios validan la posibilidad de integrar procesos bioenergéticos después de la extracción de biocompuestos, aunque aún persiste una brecha de conocimiento respecto al impacto de la extracción de pectina y AE sobre la eficiencia en la producción de otros biocombustibles de interés global como el hidrógeno. En este sentido, el desarrollo de modelos de biorrefinería que integren la extracción de compuestos de alto valor con procesos biotecnológicos representa una alternativa prometedora para la valorización de estos residuos bajo un enfoque de economía circular.

La biorrefinería de OPW propuesta en este estudio incorpora tres estrategias principales: la extracción de compuestos de alto valor agregado, la producción de hidrógeno mediante fermentación oscura (FO) y fotofermentación (FF), y la generación de biometano a través de DA. La FO es un proceso biológico en el que bacterias fermentativas degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno, generando hidrógeno y ácidos grasos volátiles (AGV) (Escamilla-Alvarado et al., 2015). Estos últimos pueden ser aprovechados en una etapa posterior de FF, donde bacterias fotosintéticas metabolizan los AGV utilizando la energía lumínica para producir biohidrógeno (Keskin et al., 2011). Finalmente, la biomasa residual resultante de estos procesos puede ser sometida a DA, en la cual microorganismos metanogénicos convierten los residuos en biogás, compuesto principalmente por biometano y dióxido de carbono (Martín et al., 2010; Tsegaye et al., 2021). Este esquema de aprovechamiento en cascada permite maximizar la valorización del residuo, sin embargo, aún es necesario evaluar los impactos ambientales asociados a cada una de las etapas de transformación y conversión de la biomasa. En este contexto, el análisis de ciclo de vida (ACV) permite cuantificar los efectos ambientales derivados del consumo de energía y materiales, así como de las emisiones generadas en cada proceso, proporcionando una herramienta clave para la optimización del sistema y la toma de decisiones orientadas a su escalabilidad (Escamilla-Alvarado et al., 2017). En particular, la evaluación ambiental de este modelo permitirá identificar las rutas de procesamiento de OPW más eficientes y fortalecer la viabilidad de la biorrefinería como un esquema de aprovechamiento sustentable.

El objetivo de este estudio es evaluar la valorización del bagazo y cáscara de naranja utilizando un modelo de biorrefinería que incorpore procesos fermentativos y la extracción de compuestos de valor agregado, a través de un enfoque de ACV. La integración de estos procesos en un mismo esquema de aprovechamiento permitirá desarrollar estrategias más eficientes para la gestión del OPW, promoviendo el uso sostenible de los recursos y contribuyendo a la transición hacia un modelo de producción basado en los principios de economía circular.

2. Antecedentes

2.1. Industria productora de naranja en México

2.1.1. Naranja dulce (*Citrus sinensis*)

Citrus sinensis, o naranja dulce, es un árbol de hoja perenne de origen asiático. Actualmente su cultivo está extendido por el Pacífico y las regiones cálidas del planeta, ya que crece en climas tropicales, semitropicales y templados cálidos (Dongre et al., 2023; Favela-Hernández et al., 2016). *C. sinensis* consiste en una copa espesa con ramas espinosas. Esta especie tiene una altura habitual de 7.5 m, pero en ocasiones puede alcanzar hasta 15 m de alto. Sus hojas son lisas, de color verde oscuro (3-5 mm de ancho, 6.5-15 cm de largo), conectadas al tallo por pecíolos. Su forma puede ser elíptica, oblonga u ovalada, y producen un fuerte olor cítrico debido a la presencia de aceite esencial (AE) (Dongre et al., 2023). Las flores, de color blanco ceroso, pequeñas y fragantes, crecen de manera axilar en verticilos de 6, con 5 pétalos blancos y de 20 a 25 estambres amarillos.

La naranja dulce (*C. sinensis*) es el fruto de este árbol, variado en su forma (redondos u ovalados) y tamaño (de 4 a 12 cm de diámetro). Luce un color verdoso que se transforma a naranja o amarillo al madurar. La superficie exterior de la naranja se denomina flavedo, y la estructura interior blanca y esponjosa se llama albedo. El flavedo contiene vesículas de AE, compuesto en su mayor parte por d-limoneno. El albedo tiene una estructura esponjosa rica en pectina. El fruto está cubierto por una capa de tejido denominado endocarpio, que consiste en las membranas que contienen la pulpa en segmentos llenos de jugo (**Figura 1**) (Dongre et al., 2023; Favela-Hernández et al., 2016).

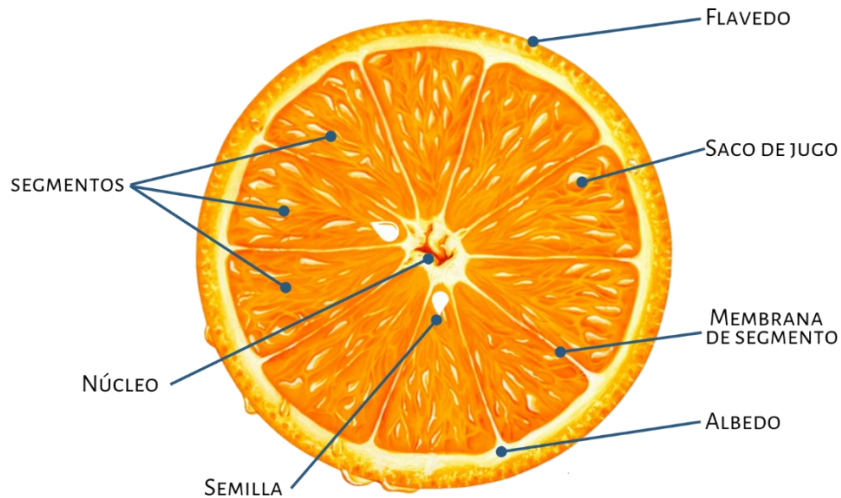


Figura 1. Secciones de la naranja. Elaboración propia.

2.1.2. Producción de naranja en México vs. el resto del mundo

La naranja es el fruto cítrico más consumido en el mundo, al cual le corresponde alrededor del 60% de la producción mundial de cítricos (Hilali et al., 2019). En 2023 se produjeron 69.8 millones de toneladas de naranja a nivel mundial (FAO, 2024). Brasil es el principal productor, seguido por China, México, India y Egipto (**Figura 2**) de acuerdo con datos de la FAO (2025).

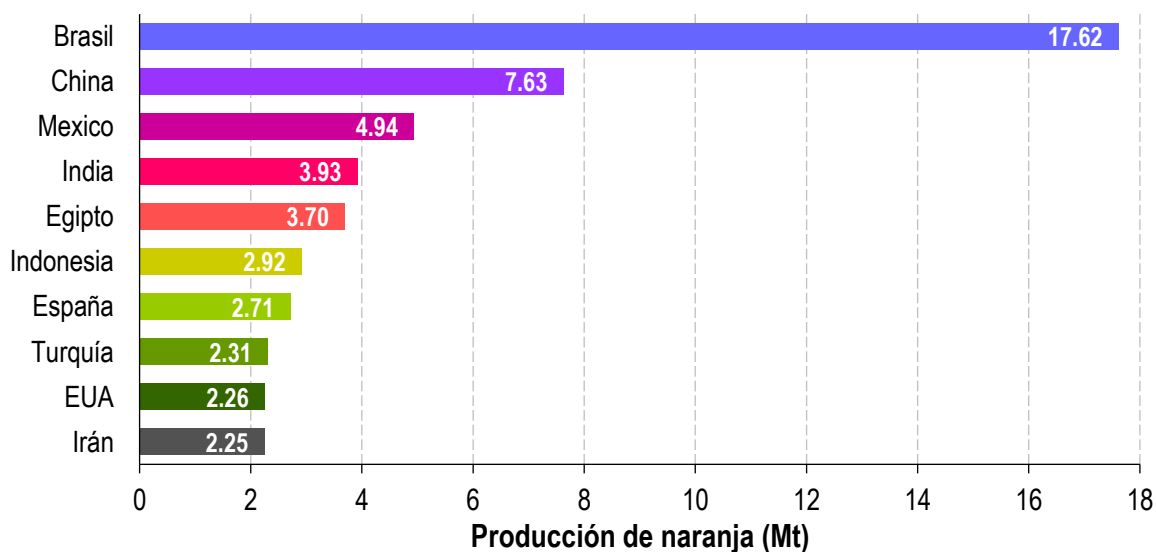


Figura 2. Principales países productores de naranja en 2023. (Elaborado a partir de datos de FAO (2025)).

México es el sexto productor de frutos a nivel mundial (SIAP & SAGARPA, 2018). Particularmente en 2021, la naranja fue el cultivo frutal de mayor producción en el país con aproximadamente 4.6 Mt, correspondientes al 20.35% del total de la producción nacional de frutos (FAO, 2024; SIAP, 2020). Además, dentro del contexto nacional, los principales productores de este cítrico incluyen a los estados de Veracruz (49.4%), Tamaulipas (14.9%), San Luis Potosí (8.2%), Puebla (6.7%) y Nuevo León (5.1%) (SIAP, 2020; SIAP & SAGARPA, 2018).

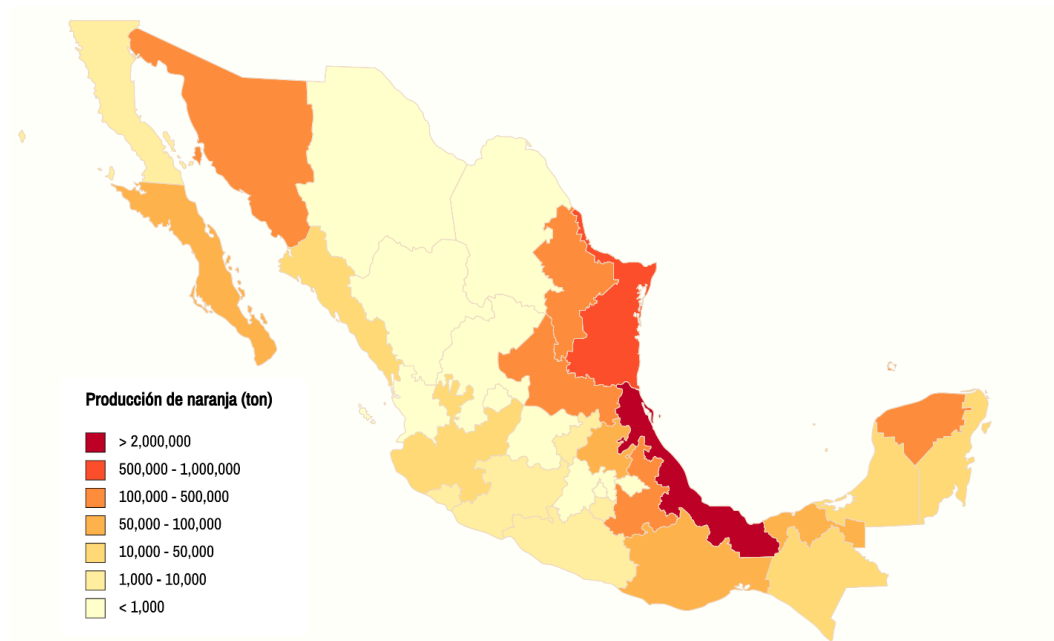


Figura 3. Mapa de producción de naranja en México 2021. (Elaborado a partir de datos del SIAP 2022).

2.1.3. *Naranja en la industria agroalimentaria*

Se estima que el 70% de la naranja producida es destinada para la fabricación de productos que en su mayoría son comestibles (Martín et al., 2010). El jugo de naranja es el producto principal del procesamiento de este cítrico, no obstante, también se elaboran jaleas, mermeladas, aceites, entre otros (Santi et al., 2014; Santiago et al., 2020a).

Es importante destacar que alrededor del 50–60% de este cítrico procesado es residuo, constituido por cáscaras (albedo y flavedo), pulpa (vesículas), núcleo, membrana y semillas (Satari & Karimi, 2018; Zema et al., 2018). Estos residuos cítricos se pueden denominar genéricamente como bagazo y cáscara de naranja (OPW).

2.1.4. *Gestión de los residuos de naranja*

Los residuos cítricos son problemáticos debido a su abundancia y su carácter perecedero. Las cáscaras de cítricos se pudren rápidamente, lo cual beneficia un ambiente ideal para el crecimiento de microbios, mohos, moscas y producción de micotoxinas (Berk, 2016). La gestión apropiada de los residuos cítricos necesita una inversión significativa, debido a que el manejo inadecuado provoca la contaminación del agua y del suelo (a causa de la toxicidad del AE en la microflora del suelo) (Zema et al., 2018).

La gestión convencional del OPW incluye su disposición en rellenos sanitarios, compostaje, alimentación animal y extracción de pectina. No obstante, estas alternativas no son viables económicamente debido a los inconvenientes que presentan (Yoo et al., 2011). En particular, el compostaje es una solución costosa de poco interés en el mercado. Por otra parte, el OPW como alimento animal exhibe diversas desventajas, tal como el alto requerimiento energético para su deshidratación, su bajo valor nutricional y su amargura (Negro et al., 2017). La disposición final de residuos orgánicos en rellenos sanitarios no es permitida de acuerdo con las regulaciones europeas (Directive 2008/98/EC of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on Waste and Repealing Certain Directives, 2008), debido a que todavía cuenta con potencial de valorización en procesos de recuperación de energía. La Directiva 2008/98/CE de la Unión Europea establece que los residuos orgánicos de alimentos no pueden disponerse en un relleno sanitario sin pasar por un proceso de valorización previa, con el fin de evitar los problemas económicos y ambientales, debido a su tendencia a fermentarse, el poco espacio en sitios de disposición, los costos de transporte y la acumulación de residuos orgánicos a largo plazo (Negro et al., 2016).

El OPW se puede valorizar por medio de procesos enfocados en la recuperación de recursos y energía, como lo exhortan las regulaciones europeas (Negro et al., 2017). Por ejemplo, los procesos de conversión de biorrefinerías para la obtención de una amplia variedad de productos que incluyen energéticos, compuestos y energía (Zema et al., 2018).

Negro et al. (2017) estudiaron el desempeño ambiental de la gestión de residuos de OPW. El estudio comprendió escenarios de mono-tratamiento (pirólisis, incineración y mono- DA) y co-tratamiento (cuatro estrategias de co- DA con estiércol animal y algas) destinados a la recuperación de energía y recursos. Estos fueron comparados contra tres estrategias de tratamiento tradicionales (relleno sanitario, compostaje y alimentación animal). Los autores concluyeron que la co- DA con estiércol para la producción de biogás y nutrientes es el mejor escenario de gestión del OPW, en términos de mitigar los efectos sobre el calentamiento global y el agotamiento de los recursos. Sin embargo, este estudio solo se enfoca en la aplicación de procesos individuales para la gestión del OPW y no contempla esquemas de procesos integrados para la generación de diversos productos de valor agregado.

2.2. Bagazo y cáscara de naranja (OPW) como fuente de biocompuestos.

El OPW es un residuo orgánico de pH ácido (3–5) con alto contenido de agua (75–85 % m^{-1}) y de materia orgánica (mono y disacáridos como glucosa, fructuosa y sacarosa, 6–8 % m^{-1} ; polisacáridos

como pectina, celulosa y hemicelulosa, 1.5–3 % m m⁻¹) (Calabrò et al., 2015). Particularmente la cáscara contiene AE, constituido principalmente por d-limoneno (83–97 % m m⁻¹) (Bicas et al., 2008). Debido a sus características físicoquímicas y bromatológicas, al igual que a la preocupación por la valorización de los residuos orgánicos, actualmente se han estudiado diversos usos del OPW con el objetivo de disminuir el daño al medio ambiente a consecuencia de su mala gestión (Suri et al., 2022).

Existe una variedad de estudios que han explorado diferentes opciones para valorizar el OPW, por ejemplo, en producción de biocombustibles, fertilizantes, pectina, aceite esencial (d-limoneno), pienso para ganado, ácidos orgánicos, entre otros (Calabrò et al., 2015; Martín et al., 2010; Satari & Karimi, 2018). También se han explorado alternativas de valorización para la industria alimentaria, como la generación de esencias o como fuente de pectinas para la panadería y repostería (P. Sharma & Melkania, 2017). En la industria cosmética los AE del OPW han sido utilizados incorporándolos como aromas.

2.3. Biocompuestos del OPW (aceites esenciales, pectina) y métodos de extracción (hidrodestilación, hidrólisis ácida)

2.3.1. Aceites esenciales

Los AE esenciales del OPW se constituyen principalmente por d-limoneno, un monoterpreno cíclico, el cual representa aproximadamente el 90% del AE y se encuentra en una proporción cercana al 1.5% m m⁻¹ del OPW (Calabrò et al., 2015). Los AE de OPW han sido ampliamente valorizados por sus propiedades antimicrobianas, así como por su aplicación versátil en las industrias cosmética, farmacéutica y alimentaria, lo que le confiere un alto valor agregado. Su relevancia económica es tal que ha sido incluido por la Comisión Europea (Spekreijse et al., 2019) dentro del grupo de los 50 biocompuestos de mayor valor comercial, y su precio de mercado alcanza los 61 USD por 5 mL (www.sigmaaldrich.com), lo cual refuerza su atractivo como producto estratégico dentro de esquemas de biorrefinería orientados al aprovechamiento integral de residuos cítricos.

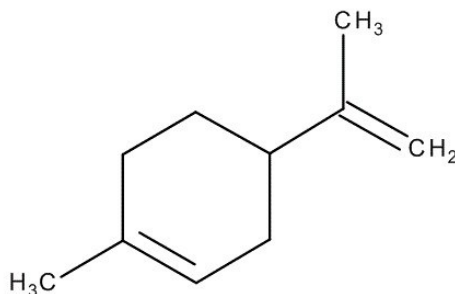


Figura 4. Estructura química del d-limoneno.

Es necesaria la extracción cuando se trata de valorizar el OPW en un esquema de biorrefinería que implica el uso de este residuo orgánico en bioprocesos, como lo pretende este proyecto de investigación. El d-limoneno presente en los AE del OPW muestra un efecto inhibidor sobre las bacterias en procesos fermentativos. Forgács et al., (2012) demostraron que la presencia de AE en la DA tiene un efecto inhibidor en la producción de biogás. Los autores reportaron una concentración inhibitoria de $400 \mu\text{L L}^{-1}$ bajo régimen mesofílico, mientras que una DA termofílica muestra inhibición en un intervalo de concentración de $450 - 900 \mu\text{L L}^{-1}$.

La extracción de AE del OPW ha sido uno de los principales objetivos de diversos estudios de investigación en los que se han desarrollado técnicas como la extracción por prensado en frío, extracción por solvente, la HD, entre otras (Martín et al., 2010; Zema et al., 2018).

2.3.1.1. Hidrodestilación para la extracción de aceites esenciales del OPW.

Existen diversos métodos para la extracción de d-limoneno, sin embargo, el proceso que presenta los mayores rendimientos en su extracción es el proceso de HD. Este proceso se lleva a cabo colocando el residuo orgánico directamente en una mezcla acuosa para destilar los AE (David Durán-Aranguren et al., 2022). Este proceso tiene la bondad de no requerir la adición de compuestos químicos ni solventes, haciéndolo más amigable con el medio ambiente. Sin embargo, es necesario cuantificar el consumo energético.

Bustamante et al. (2016) realizaron la extracción de AE de OPW a partir de un proceso de HD, bajo condiciones de 100°C por 240 min. Los autores lograron obtener un rendimiento de 1.7 %bs de d-limoneno. Además, los autores realizaron una comparación de este proceso cambiando la fuente de calor de energía eléctrica a microondas; sin embargo, los autores solamente obtuvieron un aumento del 0.01 %bs.

Diversos estudios han evaluado la extracción de AE a partir de diferentes esquemas de recuperación. Ruiz et al. (2016) llevaron a cabo la extracción de AE de OPW a partir de una destilación a vapor, obteniendo un rendimiento de 1.27 %bs. Por otra parte, Battista et al. (2020) llevaron a cabo la extracción utilizando el método soxhlet con n-hexano, obteniendo un rendimiento de 1.20 %bs. La evidencia es contundente y sobrepone al método de HD como la mejor alternativa para la extracción de d-limoneno a partir de OPW.

2.3.2. Pectina

La pectina es polímero compuesto por ácidos poligalacturónicos metoxilados (**Figura 5**). De manera natural, la pectina se encuentra presente en los frutos. En el caso de las naranjas, la pectina constituye entre el 15 – 40 %bs. La pectina es un producto de valor agregado en la industria procesadora de alimentos, ya que es ampliamente utilizado como agente gelificante en mermeladas y como estabilizador de textura en alimentos (Pourbafrani et al., 2010).

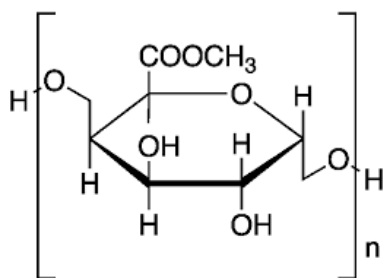


Figura 5. Estructura química de la pectina.

Mundialmente se producen alrededor de 40,000 a 50,000 toneladas de pectina anualmente y se estiman tasas de crecimiento del 4 % anual. Alrededor del 85% de la pectina a nivel mundial se produce a partir de residuos cítricos posicionándose como un mercado emergente de gran potencial económico (Berk, 2016).

A escala industrial, el esquema principal para la extracción de pectinas a partir de residuos cítricos, como el OPW, es por medio de una hidrólisis térmica haciendo uso de soluciones ácidas como agentes hidrolíticos.

2.3.2.1. *Hidrólisis ácida para la extracción de pectina del OPW.*

Diversos estudios han evaluado diferentes esquemas para la recuperación y extracción de pectinas a partir de la hidrólisis ácida (HA) del OPW. Vaez et al. (2021) llevaron a cabo una HA utilizando una solución de ácido sulfúrico al 1 % m v⁻¹, a una temperatura de 94 °C y por un periodo de 60 min. Los autores encontraron que bajo estas condiciones de operación se recupera un 24.5 %bs de pectina. Por otra parte, Pourbafrani et al. (2010) también llevaron a cabo la hidrólisis con ácido sulfúrico, sin embargo, utilizando una solución al 0.5 % m v⁻¹ a una temperatura de 150 °C. Los autores obtuvieron un rendimiento del 19.4 %bs.

El esquema de HA que se ha reportado que presenta los mayores rendimientos de pectina es por medio del uso de ácido fosfórico como agente hidrolítico. Tovar et al. (2019) realizaron una HA con una

solución de ácido fosfórico al 0.6 M a una temperatura de 95 °C por un periodo de 120 min. Los autores obtuvieron un rendimiento de pectina del 29.4 %bs, siendo este el esquema con un mayor rendimiento.

Es importante señalar que los procesos de recuperación de biocompuestos no son las únicas alternativas para la valorización del OPW. La incorporación integral de las estrategias de recuperación de biocompuestos con otro tipo de estrategias, como las del ámbito energético, debe tomarse en cuenta para un correcto diseño de un proceso de valorización.

2.4. Bioprocesos productores de bioenergéticos a partir de biomasa

2.4.1. Digestión anaerobia (DA)

El proceso de DA es el bioproceso más utilizado para la conversión de residuos a energía. La bondad principal de este proceso es que, además de funcionar como sistema de gestión de residuos, este proceso produce biogás (60 % CH₄ y 40 % CO₂) y digestato, que pueden utilizarse para producir energía limpia y biofertilizantes, respectivamente (Al Seadi & Lukehurst, 2012). En la **Figura 6** se presenta un diagrama del proceso de DA resumido, el cual está dividido en 3 etapas: hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis, y presenta las reacciones globales involucradas en cada una de las etapas.

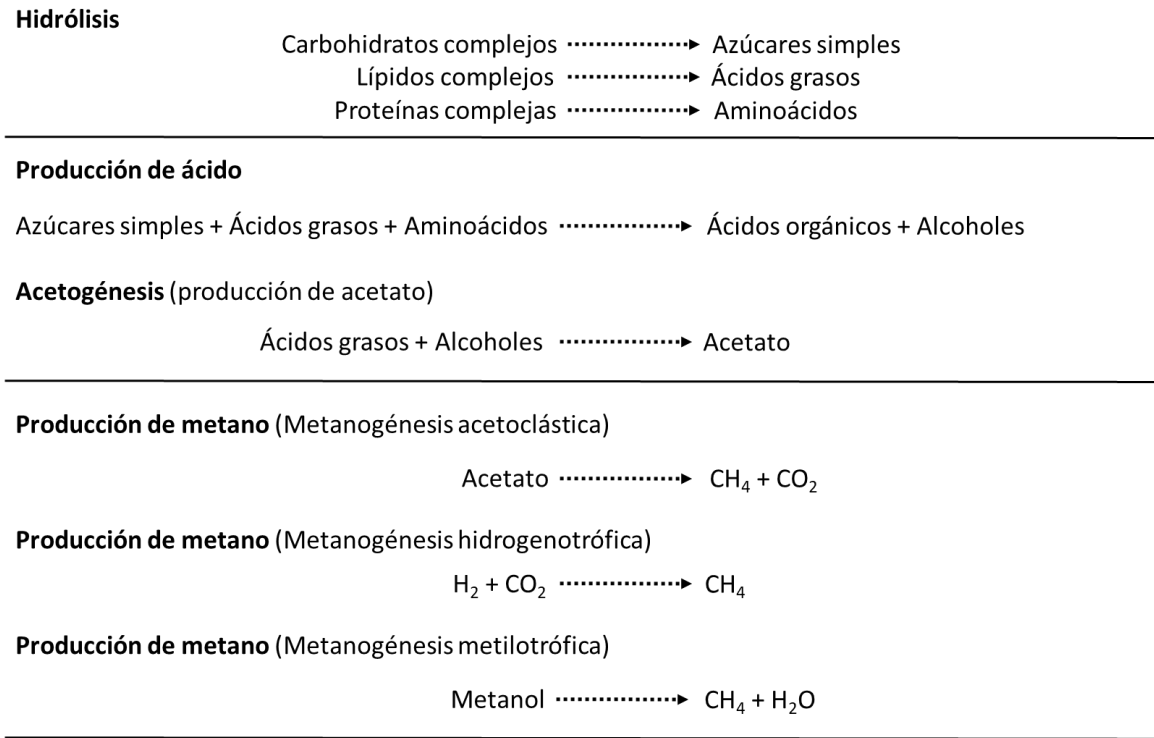


Figura 6. Reacciones generales del metabolismo del proceso de digestión anaerobia.

Debido a los diferentes factores que pueden comprometer el rendimiento del proceso de DA, en la literatura se han propuestos diversos parámetros de operación que se consideran óptimos para el correcto funcionamiento del reactor. En la **Tabla 1** se presenta un resumen de los diferentes intervalos propuestos en la literatura para el proceso.

Tabla 1. Condiciones óptimas de operación.

Parámetro	Intervalos óptimos
Alcalinidad (mg L ⁻¹)	1500 – 3000
biometano (%v)	65 – 70
Dióxido de carbono (%v)	30 – 35
Tiempo de retención (d)	10 – 15
pH	6.8 – 7.2
Temperatura mesofílica (°C)	30 – 35
Temperatura termofílica (°C)	50 – 55
Ácidos grasos volátiles (mg L ⁻¹)	50 – 500

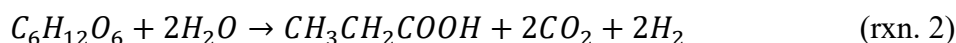
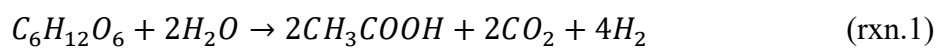
Un proceso de conversión de residuos en energía por medio de DA puede jugar un papel fundamental en el logro de la estrategia nacional de cambio climático (SEMARNAT, 2013), minimizando el impacto ambiental de la generación de residuos alimenticios en México. La DA de OPW ha sido estudiada como estrategia para plantear estrategias sustentables de gestión para estos residuos. Sin embargo, la gran mayoría de los estudios enfocan sus esfuerzos en optimizar el proceso por medio de estrategias de remoción de d-limoneno, el cual es un potencial inhibidor de las fermentaciones. Calabrò et al. (2019) llevaron a cabo una optimización del proceso de DA de OPW a partir de diferentes pretratamientos, todo con el objetivo de incrementar la producción de biogás por medio de la reducción de d-limoneno. Zema et al. (2018) llevaron a cabo un estudio para evaluar la estabilidad de un proceso semi-continuo de producción de biogás a partir de OPW. Los autores indujeron un fallo en el sistema a partir del aumento de la tasa de carga orgánica y AE. Ambos estudios llegan a la conclusión de que la producción de biogás a partir de OPW es factible, siempre y cuando los parámetros de operación no repercutan en una inhibición por acumulación de AE.

2.4.2. Fermentación oscura (FO)

La FO es un proceso biológico que permite la producción de hidrógeno utilizando bacterias fermentativas y una gran variedad de biomasa rica en carbohidratos como fuente de alimentación (Das & Basak, 2021). La FO se realiza mediante la DA de los residuos orgánicos, sin embargo, este proceso varía en las condiciones de operación y grupos de microorganismos activos, lo que genera que no exista una etapa de metanogénesis.

Durante la FO, las bacterias fermentativas convierten la biomasa en hidrógeno, ácidos grasos volátiles (AGV) y dióxido de carbono. Algunos tipos de bacterias que tienen esta capacidad incluyen *Clostridium*, *Ethanoligenens*, *Desulfovibrio*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus* y *Escherichia coli*. La cantidad de hidrógeno producido en el proceso de FO varía según el tipo de biomasa utilizada, el tipo de bacterias presentes y los parámetros del proceso, como el pH y la temperatura (Mishra et al., 2019). Se ha observado que el pH óptimo para este proceso se encuentra en el rango de 5.5 a 8.0, y la temperatura ideal oscila entre 25 y 40 °C (Argun & Kargi, 2011; Hay et al., 2013).

En la producción de hidrógeno por FO a partir de biomasa como fuente de carbono resulta ser predominante la generación de ácido acético (rxn.1) y butírico (rxn.2) en conjunto con otros AGV e biohidrógeno (Rai & Singh, 2016).



2.4.3. Fotofermentación (FF)

La FF utiliza bacterias fotosintéticas, principalmente las bacterias púrpuras no del azufre (BPNA), para generar hidrógeno a partir de biomasa en condiciones sin oxígeno y en presencia de luz, produciendo dióxido de carbono como subproducto. Entre las BPNA más comunes utilizadas en FF se incluyen *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodobacter sulfidophilus*, *Rhodobacter capsulatus*, *Rhodospirillum rubrum* y *Rhodopseudomonas palustris*. Se ha observado que el pH óptimo para la FF se encuentra en un rango de 6.8 a 7.5, mientras que la temperatura ideal varía de 30 a 36°C, y la longitud de onda adecuada se sitúa entre 400 y 1000 nm (Sharma et al., 2020).

El proceso metabólico de las BPNA en la FF comienza con la incorporación de AGV en el ciclo de Krebs, donde se oxidan y se generan dióxido de carbono y electrones. Para llevar a cabo este proceso en condiciones anóxicas, se necesita una considerable cantidad de energía en forma de ATP, obtenida a través de una fotofosforilación cíclica. La luz es capturada y dirigida hacia la reacción mediante complejos, iniciando un flujo cíclico de electrones en el proceso de fotosíntesis. Esto crea un gradiente

de protones, que es utilizado por la enzima ATP-sintasa para producir ATP. En condiciones anaerobias, los electrones de los AGV se transfieren a la ferredoxina (forma oxidada) a través de moléculas transportadoras de electrones. Luego, la ferredoxina (forma reducida) se emplea para reducir el N_2 a NH_3 mediante la enzima nitrogenasa. Sin embargo, esta reacción no es deseable en el entorno reactivo, ya que el interés está en la reducción de protones para producir biohidrógeno mediante la nitrogenasa, esto se logra al limitar el N_2 en el medio. Mientras tanto, las enzimas hidrogenasas oxidan el biohidrógeno para reciclar electrones, protones y ATP en el metabolismo. Por lo tanto, la cantidad neta de hidrógeno producido es la cantidad generada por la nitrogenasa menos la consumida por la hidrogenasa (Hay et al., 2013; Koku et al., 2002; Oh et al., 2011). La **Figura 7** ilustra este proceso.

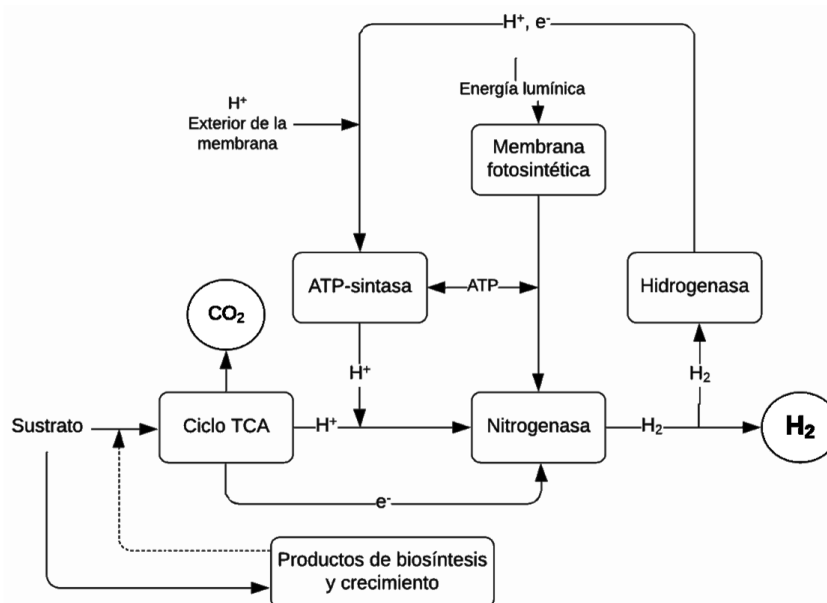


Figura 7. Proceso metabólico de la Fotofermentación. Basado de Koku et al. (2002).

2.5. Biorrefinerías de residuos

El uso de los residuos orgánicos de manera integral para obtener diferentes productos de valor agregado puede asociarse al concepto de biorrefinería. Las biorrefinerías son industrias que incluyen en su proceso diversas tecnologías para la generación de productos a partir de residuos orgánicos (Moncada et al., 2016). El concepto de biorrefinería se basa en los principios de sustentabilidad y el principio de cascada. El principio de cascada se basa en la valorización secuencial de la biomasa en la generación de productos de valor agregado, buscando siempre los mayores rendimientos (Poggi-Varaldo et al., 2014).

El principio de sustentabilidad se relaciona directamente con el cuidado al medio ambiente, siendo el pilar del desarrollo de los procesos actuales. En la literatura se han propuesto diferentes esquemas de biorrefinerías, los cuales, deben acoplarse a las características de los residuos para diseñar las operaciones unitarias pertinentes para obtener la mayor cantidad de productos con la mínima generación de residuos (Moncada et al., 2016).

Debido a su composición, el OPW tiene un gran potencial como materia prima en un esquema de biorrefinería para obtener diversos productos de valor agregado. Vaez et al. (2021) llevaron a cabo un esquema de biorrefinería a partir de OPW para producir pectina, etanol y biogás. Los autores encontraron que, bajo las mejores condiciones de operación, 1 tonelada de OPW tiene el potencial de producir 244 kg de pectina, 26.5 L de etanol y 36 m³ de biometano. De manera similar, Hilali et al. (2019) llevaron a cabo un estudio para diseñar una biorrefinería a partir de OPW para la extracción de AE, pectina y polifenoles.

Ambos estudios convergen en la conclusión de que la generación de productos de alto valor agregado es factible a partir del aprovechamiento del OPW mediante un esquema con enfoque de biorrefinería. Sin embargo, la alta demanda de recursos hace que las tecnologías con enfoque de valorización de residuos tengan el reto principal de ser ambientalmente competitivos, ya que muchas veces los balances de energía son negativos (Albalade-Ramírez et al., 2022). Por esto, es imperativa la aplicación de herramientas de cuantificación de impactos ambientales en las etapas de diseño de los esquemas de biorrefinerías.

2.6. Análisis de ciclo de vida (ACV)

El ACV es una metodología científica ampliamente utilizada para evaluar los impactos ambientales asociados a un producto, proceso o servicio a lo largo de toda su cadena de valor. Esta evaluación considera todas las entradas (materia prima, energía, agua, etc.) y salidas (productos, subproductos, emisiones, residuos, etc.), permitiendo cuantificar de manera integral su desempeño ambiental (Tian et al., 2019). El ACV es una herramienta clave en la toma de decisiones orientadas a la optimización de procesos productivos y el diseño de estrategias sostenibles, ya que facilita la identificación de los puntos críticos o "hotspots" dentro del sistema analizado, posibilitando la implementación de mejoras ambientales.

El ACV está estandarizado por la Organización Internacional de Normalización (ISO) a través de las normas ISO 14040:2006 (ISO 14040:2006 Environmental Management. Life Cycle Assessment.

Principles and Framework, 2006) e ISO 14044:2006 (ISO 14044:2006 Environmental Management. Life Cycle Assessment. Requirements and Guidelines, 2006), las cuales establecen los principios y el marco metodológico para su aplicación. Estas normas garantizan la transparencia, coherencia y reproducibilidad del análisis, permitiendo su comparación con otros estudios similares.

El ACV se desarrolla en cuatro fases interrelacionadas:

1. Definición del objetivo y alcance: Se establece el propósito del estudio, los límites del sistema, la unidad funcional y los supuestos metodológicos. Esta fase es crucial, ya que determina la validez y aplicabilidad de los resultados obtenidos.
2. Análisis del Inventario del Ciclo de Vida (ICV): Se recopilan y cuantifican los flujos de entrada y salida del sistema, incluyendo consumo de recursos, emisiones atmosféricas, efluentes líquidos y residuos sólidos. La precisión del ICV influye directamente en la calidad del análisis de impacto.
3. Evaluación del Impacto del Ciclo de Vida (EICV): Se interpretan los datos del inventario mediante metodologías específicas que permiten la caracterización de los impactos ambientales. Esta evaluación puede realizarse a nivel de categorías de impacto de punto medio (por ejemplo, calentamiento global, eutrofización, acidificación) o categorías de punto final (afectación a la salud humana, biodiversidad y agotamiento de recursos).
4. Interpretación de resultados: Se analizan y contextualizan los resultados obtenidos, identificando posibles mejoras y estrategias para la reducción de impactos ambientales. Esta fase debe considerar la incertidumbre de los datos y las limitaciones del estudio, con el fin de garantizar conclusiones fundamentadas y aplicables en la toma de decisiones.

La determinación de impactos ambientales en un ACV puede realizarse a través de diferentes metodologías estandarizadas. Estas metodologías permiten traducir los flujos de entrada y salida del sistema en impactos ambientales cuantificables. Algunas de las más utilizadas incluyen:

- Eco-Indicator 99: Desarrollada por PRé Consultants en los Países Bajos, esta metodología emplea 11 categorías de impacto de punto medio, las cuales se agrupan en tres categorías de punto final: salud humana, calidad de los ecosistemas y agotamiento de recursos fósiles.
- CML 2001: Creada por el Instituto de Ciencias Ambientales de la Universidad de Leiden, Países Bajos, este método se basa en categorías de punto intermedio y clasifica los indicadores en obligatorios, adicionales y otros, dependiendo de su aplicabilidad en los estudios de ACV.

- EDIP 2003: Variante mejorada de EDIP 1996, desarrollada por la Universidad Técnica Danesa. Se enfoca en categorías de impacto de punto medio con normalización, pero sin ponderación, facilitando comparaciones entre sistemas.
- IMPACT 2002+: Esta metodología fue desarrollada por la Escuela Politécnica Federal de Lausana (EPFL) y el Instituto Federal Suizo de Tecnología. Es una evolución de IMPACT 2002, integrando 14 categorías de impacto de punto medio y 4 de punto final, con factores de caracterización adaptados de otras metodologías como CML y Eco-Indicator 99.
- ReCiPe 2016: Una de las metodologías más avanzadas, desarrollada por el Instituto Nacional Holandés de Salud Pública y Medio Ambiente (RIVM), la Universidad Radboud Nijmegen, la Universidad Noruega de Ciencia y Tecnología y PRé Consultants. ReCiPe 2016 permite la conversión de los inventarios de ciclo de vida en impactos ambientales cuantificables a nivel de punto medio (18 categorías de impacto) y punto final (daño a la salud humana, daño a la diversidad de los ecosistemas y daño a la disponibilidad de recursos). Esta metodología integra los enfoques de CML 2001 y Eco-Indicator 99, ofreciendo un balance entre complejidad y precisión en la evaluación ambiental (Huijbregts et al., 2017).

3. Justificación

La creciente generación de residuos agroindustriales, como el OPW, plantea desafíos importantes en materia de gestión ambiental y aprovechamiento eficiente de recursos. Estos residuos, ricos en compuestos orgánicos de alto valor, representan una fuente subutilizada de biomasa que, bajo esquemas convencionales, es dispuesta en rellenos sanitarios o sitios de disposición final, generando emisiones de gases de efecto invernadero y desaprovechando su potencial como insumo para procesos industriales y energéticos.

Este estudio se justifica por la necesidad de diseñar, validar y evaluar un modelo de biorrefinería secuencial que permita valorizar integralmente el OPW a través de la extracción de AE y pectina, y la posterior producción de biohidrógeno y biometano mediante procesos fermentativos. Se otorga especial prioridad a los aceites esenciales, particularmente al d-limoneno, principal componente de estos extractos, que posee alto valor comercial y amplia demanda en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica. Su recuperación temprana dentro del esquema de biorrefinería no solo agrega valor desde las primeras etapas, sino que además posiciona al proceso como una alternativa económicamente competitiva frente a otras formas de valorización de residuos.

Adicionalmente, la integración secuencial de FO, FF y DA constituye un aporte innovador, al evaluar por primera vez en condiciones experimentales reales el impacto que tienen las etapas de extracción de biocompuestos sobre la composición del sustrato y su desempeño en cada proceso bioenergético. Este enfoque permite identificar sinergias o antagonismos entre etapas y genera conocimiento científico original sobre los efectos que la secuencia de tratamiento tiene en el balance energético y la eficiencia global del sistema.

Desde la perspectiva ambiental, la evaluación comparativa de diferentes escenarios de valorización mediante ACV permitiría determinar cuáles esquemas representan beneficios netos en términos de emisiones de gases de efecto invernadero respecto al escenario convencional de disposición. Esta información es esencial para promover tecnologías que contribuyan a la mitigación del cambio climático mediante la sustitución de fuentes fósiles por bioenergía generada a partir de residuos.

En conjunto, los resultados esperados de este estudio son pertinentes tanto desde el punto de vista científico como práctico. Por un lado, contribuyen al avance del conocimiento en el diseño de biorrefinerías aplicadas a residuos agroindustriales; por otro, ofrecen evidencia útil para orientar políticas públicas, decisiones tecnológicas e inversiones en el marco de la transición hacia una economía circular y baja en carbono.

4. Aportación científica y tecnológica

Generar conocimiento en el área de gestión y aprovechamiento sustentable del bagazo y cáscara de naranja, a partir de un modelo de biorrefinería que considere:

- ✓ Evaluar el efecto de la extracción de aceites esenciales y pectina en la cadena de bioprocesos del modelo de biorrefinería.
- ✓ Un proceso secuencial fermentación oscura-fotofermentación para la producción de biohidrógeno.
- ✓ Incorporación de digestión anaerobia para la producción de biometano.
- ✓ La evaluación de impactos ambientales del modelo de biorrefinería, por medio de la metodología de análisis de ciclo de vida.

5. Hipótesis

La integración de procesos de extracción y conversión bioenergética en un modelo de biorrefinería para el bagazo y cáscara de naranja reducirá significativamente los impactos ambientales asociados a su disposición tradicional, al promover la valorización de compuestos de alto valor agregado y la generación de biocombustibles, contribuyendo a la transición hacia un sistema de economía circular más eficiente y sostenible.

6. Objetivos y metas

6.1. Objetivo general

Evaluar la valorización bagazo y cáscara de naranja, utilizando un modelo de biorrefinería que incorpore procesos fermentativos y la extracción de compuestos de valor agregado, a través de un enfoque de análisis de ciclo de vida.

6.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de la extracción de compuestos valorizables (aceites esenciales y pectina) sobre el potencial de biohidrógeno en un proceso de fermentación oscura.
2. Aprovechar los efluentes de fermentación oscura para la producción de biohidrógeno y biometano mediante procesos de fotofermentación y digestión anaerobia.
3. Evaluar la factibilidad ambiental del modelo de biorrefinería a través de un análisis de ciclo de vida.

7. Metodología

En la Figura 8 se presenta el esquema del plan de trabajo del proyecto, estructurado en tres etapas principales. La primera etapa consistió en la preparación del OPW mediante diferentes rutas de procesamiento, que incluyeron la extracción de AE y pectina. En la segunda etapa, se llevó a cabo la producción de biocombustibles a través de tres bioprocesos complementarios. Esta fase se dividió en tres actividades específicas: i) evaluación del potencial de producción de biohidrógeno mediante FO); ii) producción de biohidrógeno por FF, utilizando los efluentes líquidos generados en FO como sustrato; y iii) producción de biometano mediante DA, empleando la fracción sólida residual de FO como materia prima. Finalmente, en la tercera etapa, se realizó la evaluación de los impactos ambientales del modelo de biorrefinería, aplicando la metodología de ACV para cuantificar su desempeño ambiental y determinar su viabilidad en un contexto de economía circular.

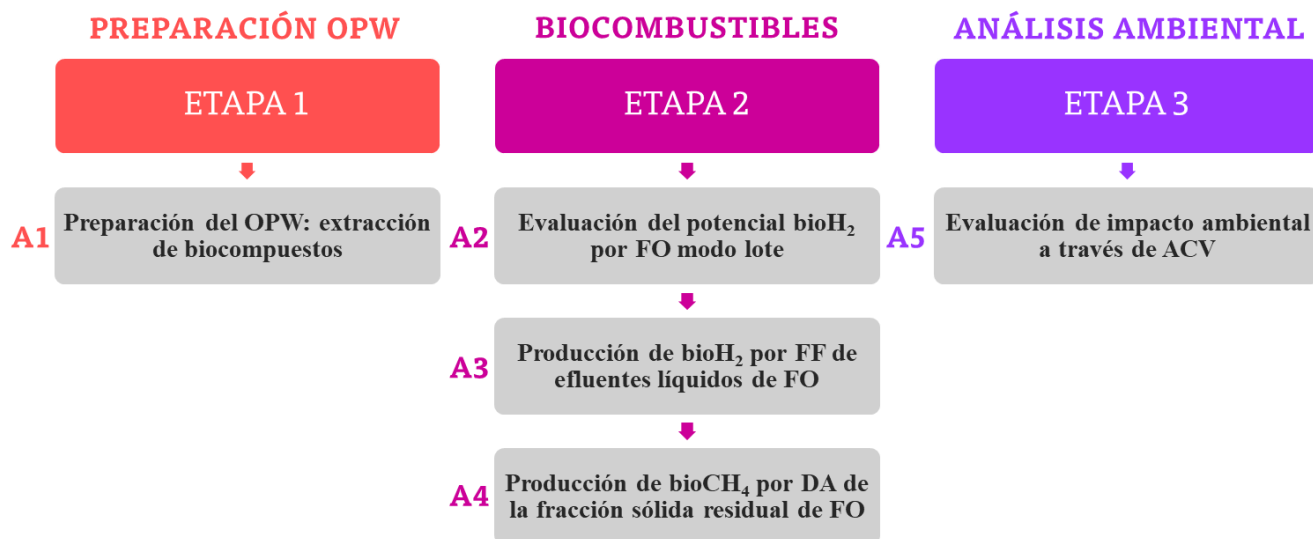


Figura 8. Esquema de plan de trabajo. ACV, análisis de ciclo de vida; bioCH₄, biometano; bioH₂, biohidrógeno; DA, digestión anaerobia; FF, fotofermentación; FO, fermentación oscura; OPW, orange peel waste.

7.1. Actividad 1. Preparación del bagazo y cáscara de naranja (OPW): extracción de biocompuestos.

7.1.1. Propósito

Someter el sustrato OPW a cinco diferentes rutas de procesamiento que incluyan la extracción de AE y pectina.

7.1.2. Diseño experimental

El OPW pasó por cinco rutas de procesamiento diferentes que incluyen la extracción de AE por HD y pectina por HA e HD (Tabla 2). Mas adelante, en la sección 7.1.4.1. se describe con mayor detalle la metodología de procesamiento para la obtención de cada OPW_i en la Figura 7.

Tabla 2. Matriz resumen de métodos de procesamiento de extracción de biocompuestos del OPW.

Sustrato	Extracción de AE	Extracción de pectina
OPW _a	-	-
OPW _b	HD	-
OPW _c	-	HA
OPW _d	HD	HD
OPW _e	HD	HA

AE, aceites esenciales; HA, hidrólisis ácida; HD, hidrodestilación; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de AE por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida.

7.1.3. Programa de seguimiento y análisis

La Tabla 3 muestra los análisis de caracterización realizados a los sustratos OPW_i.

Tabla 3. Parámetros de caracterización de los sustratos OPW_i.

Parámetro	Frecuencia	Método	Ref.
pH	Lote	Potenciométrico	1
Sólidos totales, humedad, sólidos volátiles, ceniza	Lote	Gravimétrico	2
Alcalinidad, ácidos grasos volátiles	Lote	Titulación	3
Celulosa, hemicelulosa	Lote	Gravimétrico	4

Referencias: 1, NMX-AA-25-1984; 2, APHA/AWWA/WEF (2005); 3, Anderson y Yang (1992); 4, AOAC (1992).

7.1.4. Métodos y procedimientos

7.1.4.1. Recolección del OPW y rutas de procesamiento.

El OPW utilizado en este estudio fue obtenido tras la extracción manual del jugo de naranja (*Citrus sinensis* var. Valencia), adquiridas en establecimientos comerciales del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. Posteriormente, el material fresco fue almacenado a una temperatura de -20 °C hasta su procesamiento.

La preparación del OPW para su incorporación en el modelo de biorrefinería consistió en la obtención de distintos sustratos mediante rutas de procesamiento específicas, incluyendo la extracción AE y pectina (Figura 9). El procesamiento del OPW incluyó las siguientes etapas: secado, molienda, HA, HD y precipitación de pectina.

En primer lugar, el secado se llevó a cabo en un horno a 50 °C durante 48 h, reduciendo la humedad del material y facilitando su manejo. Posteriormente, se molió el OPW seco hasta alcanzar un tamaño de partícula de 210 μm , asegurando una mayor superficie de contacto para las etapas de extracción posteriores.

Para la extracción de pectina, se empleó HA con ácido fosfórico (0.6 M) en una proporción de 1:9 (m v^{-1}) OPW:H₃PO₄ a 95 °C durante 120 min. Posteriormente, la muestra fue sometida a centrifugación a 10,000 rpm durante 10 min, obteniendo dos fracciones: una líquida (f_{liq}) y una sólida (f_{sol}). La fracción líquida fue tratada con etanol al 80% (v v^{-1}) en una proporción 1:1 (v v^{-1}) f_{liq} :etanol, permitiendo la precipitación de la pectina, la cual se separó por decantación.

La extracción de AE se realizó mediante HD en una proporción de 1:1.5 (m v^{-1}) OPW:H₂O, a temperatura de ebullición durante 90 min. Este proceso generó dos fracciones: una fracción superior (f_{top}), que contenía los AE, y una fracción inferior (f_{bottom}), conformada por una suspensión acuosa del OPW.

A partir de estos tratamientos se obtuvieron cinco variantes procesadas de OPW (OPW_a, OPW_b, OPW_c, OPW_d y OPW_e), cada una con diferente ruta de extracción y procesamiento. OPW_c y OPW_e se obtuvieron tras el secado y la molienda del f_{sol} , que se recuperó tras la HA. OPW_d se obtuvo a partir del f_{sol} de la HD, seguida de su secado y molienda. Finalmente, todas las muestras procesadas fueron almacenadas en condiciones de vacío y en un ambiente seco a 28 °C hasta su empleo en las etapas de producción bioenergética.

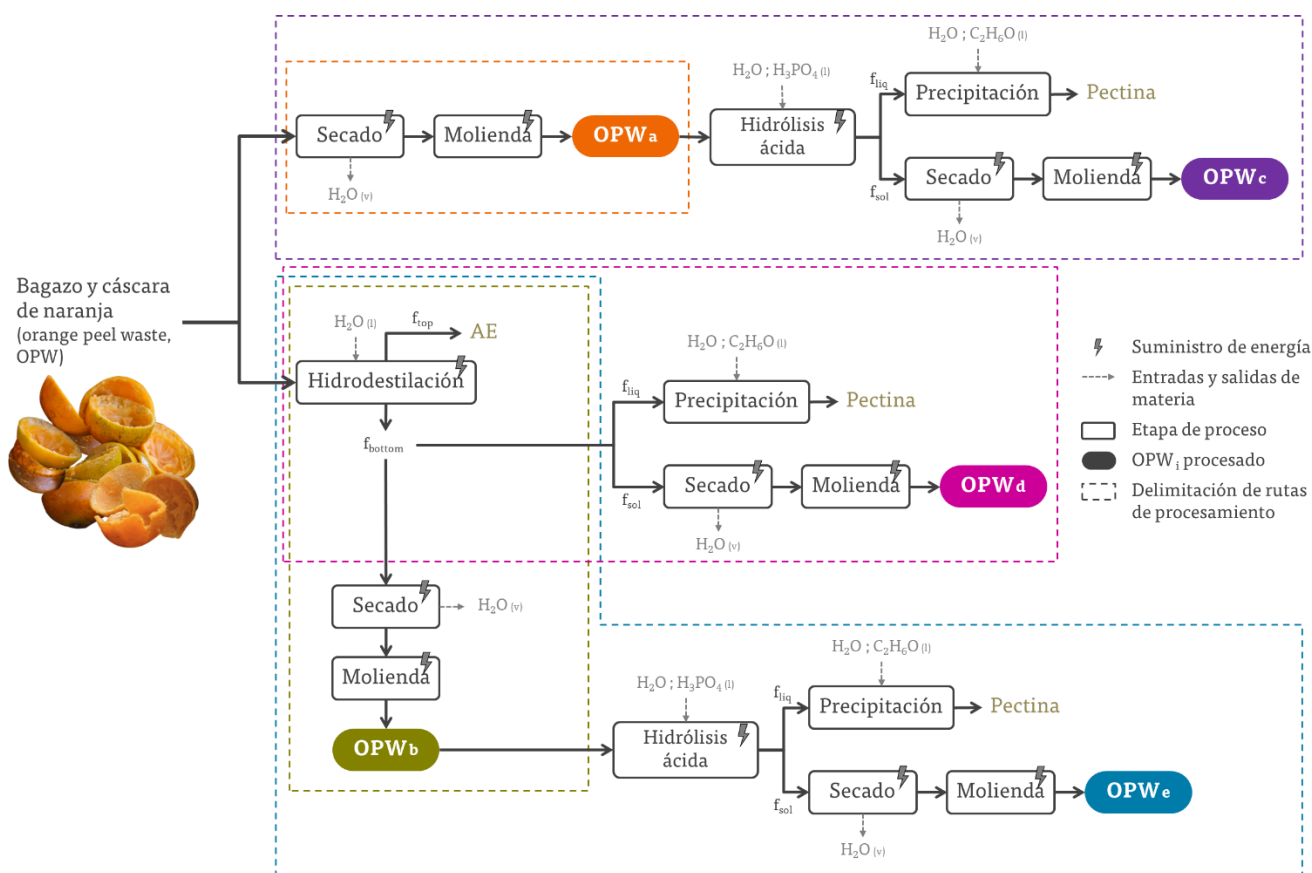


Figura 9. Rutas de procesamiento de OPW para la obtención de OPW_i , pectina y AE procesados. OPW_a , bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b , bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE por hidrodestilación; OPW_c , bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d , bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e , bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de AE por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida.

7.1.4.2. Determinación de perfil de sólidos, pH, alcalinidad y AGV.

La caracterización de los sustratos procesados (OPW_i) incluyó la determinación del contenido de humedad, sólidos totales, sólidos volátiles y cenizas, siguiendo los métodos estándar establecidos por la American Public Health Association.

El pH de cada sustrato seco en polvo se determinó mediante la suspensión del OPW_i seco en agua destilada con una proporción 1:10 ($m\ v^{-1}$) $OPW_i:H_2O$ y se dejó reposar durante 60 min. Posteriormente, el sobrenadante se separó por centrifugación a 10,000 rpm por 10 min y su pH fue medido con un potenciómetro digital (Conductronic PC45, México) de acuerdo con la NMX-AA-25-1984.

Para la cuantificación de la alcalinidad y los AGV presentes en los sustratos, se tomó una alícuota de 5 mL del sobrenadante obtenido. La alcalinidad se determinó mediante titulación con HCl 0.1 N,

mientras que los AGV se cuantificaron mediante titulación con NaOH 0.1 N, siguiendo la metodología de Anderson y Yang (1992).

7.1.4.3. *Determinación de contenido de celulosa y hemicelulosa.*

El contenido de celulosa se determinó por el método gravimétrico descrito por la AOAC (1992). Para ello, se llevó a cabo un tratamiento químico utilizando ácido nítrico (99% v v⁻¹) y ácido acético (70% v v⁻¹) con el propósito de eliminar la lignina y la hemicelulosa presentes en la muestra. Posteriormente, la muestra fue sometida a calcinación, y el contenido de celulosa se estimó por diferencia de masa antes y después del tratamiento.

La hemicelulosa se determinó de manera indirecta como la diferencia entre la holocelulosa y la celulosa, dado que la holocelulosa representa la fracción combinada de celulosa y hemicelulosa en la biomasa. Para ello, se realizó el análisis de holocelulosa siguiendo el método gravimétrico de la AOAC (1992), el cual incluyó una cloración de las muestras con NaClO para la oxidación de la lignina. Tras la filtración de la muestra, el contenido de holocelulosa se estimó a partir de la diferencia entre el peso inicial y el peso final después del proceso de cloración.

7.2. Actividad 2. Evaluación del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura modo lote.

7.2.1. Propósito

Evaluar cómo la extracción de AE y pectina aguas arriba influye en el potencial de biohidrógeno aguas abajo por FO y el efecto de variar la relación inóculo-sustrato (RIS).

7.2.2. Diseño experimental

Se realizaron dos diseños experimentales para evaluar el potencial de producción de biohidrógeno mediante FO de OPW_i procesado según la Figura 9. Los diseños experimentales se describen a continuación.

7.2.2.1. Evaluación del potencial de biohidrógeno por FO de cinco OPW_i procesados.

En el primer diseño, se llevó a cabo una configuración experimental de un solo factor para evaluar el efecto de OPW_{a,b,c,d,e} obtenidos de diferentes rutas de procesamiento (Figura 9) sobre el potencial de biohidrógeno a una RIS única de 0.6. Los ensayos se realizaron por triplicado. En la Tabla 4 se resumen las condiciones a las que se llevó a cabo este experimento.

Tabla 4. Diseño experimental de un factor para evaluar del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura de cinco OPW_i procesados.

Sustrato	Condiciones de operación
OPW _a	T = 35 °C
OPW _b	V ₀ = 70 mL
OPW _c	RIS 0.6
OPW _d	pH ₀ = 7
OPW _e	Agitación: manual 1 vez al día.

OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de AE por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida.

7.2.2.2. Evaluación del efecto de la RIS sobre el potencial de biohidrógeno por FO de OPW_i seleccionados.

El segundo análisis consistió en un diseño factorial de 3² para examinar el efecto de la variación de RIS (0.2, 0.6 y 1) sobre el potencial de biohidrógeno para los tres sustratos OPW_i procesados más prometedores identificados en el experimento anterior. Estos valores de RIS fueron seleccionados a partir

de estudios previos que demostraron su eficacia en la optimización del potencial de biohidrógeno en procesos de FO utilizando varios sustratos orgánicos [Carrillo-Verástegui 2022]. Los ensayos se realizaron por triplicado. En la Tabla 5 se resumen las condiciones a las que se llevó a cabo este experimento.

Tabla 5. Diseño experimental factorial 3^2 para evaluar el efecto de la relación inóculo-sustrato (RIS) sobre el potencial de biohidrógeno por fermentación oscura de OPW_i seleccionados.

Sustrato	Relación inóculo-sustrato (RIS)			Condiciones de operación
OPW _a	0.2	0.6	1	T = 35 °C
OPW _b	0.2	0.6	1	V ₀ = 70 mL; pH ₀ = 7
OPW _d	0.2	0.6	1	Agitación: manual 1 vez al día.

OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE y pectina tras la extracción por hidrodestilación.

7.2.2.3. Generación de stocks de efluentes líquidos (EFO_i) y fracción sólida (SFO_i) de FO para la producción de biohidrógeno por FF y biometano por DA.

Previo a la realización de los experimentos de FF y DA, fue necesario obtener los stocks de EFO_i y de fracción sólida residual (SFO_i) de la FO de OPW_{a,b,d} a RIS 0.6. La Tabla 6 muestra el diseño experimental y sus condiciones de operación basadas en la metodología y resultados del diseño experimental de la sección 7.2.2.2.

Tabla 6. Diseño de experimental producción de stock de efluentes líquidos (EFO_i) y de fracción sólida residual (SFO_i) de la fermentación oscura de OPW_{a,b,d}.

Sustrato	Condiciones de operación
OPW _a	T = 35 °C; RIS 0.6;
OPW _b	V ₀ = 70 mL; pH ₀ = 7;
OPW _d	Agitación: manual 1 vez al día.

OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de AE y pectina tras la extracción por hidrodestilación; RIS, relación inóculo-sustrato.

7.2.3. Programa de seguimiento y análisis

En la Tabla 7 se enlistan los parámetros caracterizados los dos diseños experimentales de evaluación de potencial de biohidrógeno por FO, así como para la generación de stocks de EFO_i y SFO_i de la FO de OPW_{a,b,d} a RIS 0.6.

Tabla 7. Parámetros de caracterización para los experimentos de potencial de biohidrógeno por fermentación oscura y para los stocks de efluentes líquidos (EFO_i) y de fracción sólida residual (SFO_i) de la fermentación oscura de OPW_{a,b,d}.

Parámetro	Frecuencia	Método	Ref.
pH	Inicial-Final	Potenciométrico	1
Sólidos totales, humedad, sólidos volátiles, ceniza	Final	Gravimétrico	2
Alcalinidad, ácidos grasos volátiles	Final	Titulación	3
Biohidrógeno	0 – 215 h	Desplazamiento volumétrico alcalino	4

Referencias: 1, NMX-AA-25-1984; 2, APHA/AWWA/WEF (2005); 3, Anderson y Yang (1992); 4, Rodríguez-Valderrama (2018).

7.2.4. Métodos y procedimientos

7.2.4.1. Preparación de inóculo para FO.

El inóculo utilizado para la FO en la producción de biohidrógeno se recuperó de un digestor anaeróbico a escala de laboratorio alimentado con residuos de frutas y verduras. Para inhibir las arqueas metanogénicas y beneficiar a los microorganismos productores de biohidrógeno, el inóculo se sometió a un pretratamiento térmico en un baño de agua a 96 °C durante 2 horas (Rodríguez-Valderrama et al., 2020).

7.2.4.2. Montaje de diseños experimentales de fermentación oscura para la producción de biohidrógeno.

Los experimentos de producción de biohidrógeno se realizaron en botellas serológicas de 120 mL con un volumen operativo constante de 70 mL. Se incluyeron ensayos de control que contenían solo inóculo pretratado. Las botellas fueron selladas con tapones de caucho butílico y tapas de aluminio. Los experimentos se realizaron en triplicado a 35 °C en una incubadora (Prendo, INC-45, México). Los reactores se agitaron manualmente una vez al día y la producción de biohidrógeno se midió periódicamente utilizando el método del desplazamiento en columna invertida con solución de 1 M NaOH (Carrillo-Verástegui et al., 2022). El pH inicial de cada análisis se ajustó a 7 y no se aplicó ningún control de pH durante la fermentación. Los experimentos concluyeron después de que no se observara desplazamiento de volumen de biohidrógeno en la columna invertida y el lodo fermentado fue recuperado para su caracterización.

7.2.4.3. Métodos analíticos de caracterización.

Los parámetros de caracterización (pH, perfil de sólidos, alcalinidad y AGV) se determinaron según lo descrito en la sección 7.1.4.2.

7.2.4.4. *Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico*

La producción acumulada de biohidrógeno, $H(t)$ (mL H_2), se modeló utilizando la ecuación de Gompertz modificada (Ecuación 1), con el objetivo de estimar tres parámetros cinéticos fundamentales: la producción máxima acumulada de biohidrógeno $H_{\max}$ (mL H_2), la tasa máxima de producción $R_{\max}$ (mL H_2 h⁻¹), y la fase de retardo λ (h); donde t (h) es el tiempo de la operación hidrogenogénica y e es el número de Euler (≈ 2.718) (Zwietering et al., 1990).

$$H(t) = H_{\max} \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{\max} \cdot e}{H_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad \text{Ecuación 1}$$

Adicionalmente, la Ecuación 1 fue adaptada para describir los rendimientos de biohidrógeno en función del contenido de sólidos volátiles (SV), obteniéndose así la producción acumulada específica de biohidrógeno, $h(t)$ (mL H_2 g⁻¹SV). Los parámetros $H_{\max}$ y $R_{\max}$ fueron reemplazados por sus equivalentes específicos, respectivamente: $h_{\max}$ (mL H_2 g⁻¹SV), que representa la producción acumulada máxima específica, y $r_{\max}$ (mL H_2 g⁻¹SV h⁻¹), correspondiente a la tasa máxima de producción específica.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de 95% de confianza para los diseños experimentales de producción de biohidrógeno utilizando el software Design-Expert 6.0 (Design-Ease Inc., Minneapolis, EUA). El error estándar de los diseños experimentales se calculó utilizando la error cuadrático medio de predicción (RMSEP).

7.2.4.5. *Generación de stocks de efluentes líquidos (EFO_i) y fracción sólida residual (SFO_i) de FO para la producción de biohidrógeno por FF y biometano por DA.*

Los sustratos OPW_{a,b,d} procesados fueron sometidos a FO en modo lote a 35 °C, iniciando con una concentración de sustrato de 40 g SV L⁻¹, una RIS de 0.6 y un pH inicial ajustado a 7. La FO se llevó a cabo en frascos Kimax de 1 L con un volumen de operación de 500 mL. La medición del biohidrógeno producido fue realizada mediante desplazamiento alcalino con una solución de NaOH 1 N en probetas invertidas. Al concluir la fermentación y cesar la producción de biohidrógeno, los lodos fermentados después de la FO se sometieron a una centrifugación a 10,000 rpm durante 10 min, separando la fracción

líquida (EFO_i) de la fracción sólida (SFO_i). Los EFO_i y SFO_i fueron almacenados a -20 °C hasta su uso en las etapas de FF y DA, respectivamente.

7.3. Actividad 3. Producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura.

7.3.1. Propósito

Producir biohidrógeno por FF a partir de los efluentes ricos en AGV provenientes de la FO (EFO_i) de OPW_{a,b,d}.

7.3.2. Diseño experimental

7.3.2.1. Producción de biohidrógeno por FF a partir de EFO_i de OPW_{a,b,d}.

Para la producción de biohidrógeno por FF se siguió un diseño de experimentos 3², teniendo como factores: el sustrato OPW y la proporción de EFO_i (25, 35 y 45%). Se utilizaron los EFO_i de los ensayos de FO con OPW_{a,b,d} a RIS 0.6 y la cepa *Rhodobacter capsulatus* B10. Los ensayos se realizaron por duplicado. La Tabla 8 resume el diseño experimental y las condiciones de operación.

Tabla 8. Diseño de experimentos 3² producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO_i) de OPW_{a,b,d}.

Sustrato	Proporción EFO (% v v ⁻¹)			Condiciones de operación
EFO _a	25	35	45	T = 30 °C; 20–30 klx
EFO _b	25	35	45	V ₀ = 110 mL; pH ₀ = 7
EFO _d	25	35	45	Agitación: manual 1 vez al día.

EFO_a, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_a; EFO_b, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_b; EFO_d, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_d; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación.

7.3.3. Programa de seguimiento y análisis

En la Tabla 9 se muestran los parámetros que se caracterizaron en los experimentos de producción de biohidrógeno por FF a partir de EFO_i de OPW_{a,b,d}.

Tabla 9. Parámetros de caracterización para el experimento de producción de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO_i) de OPW_{a,b,d}.

Parámetro	Frecuencia	Método	Ref.
pH	Inicial-Final	Potenciométrico	1
Alcalinidad y ácidos grasos volátiles	Inicial-Final	Titulación	2
Biomasa celular seca	Inicial-Final	Colorimetría	3
Biohidrógeno	0 – 132 h	Desplazamiento volumétrico alcalino	3

Referencias: 1: (NMX-AA-25-1984, 1992); 2: (Anderson & Yang, 1992); 3: (Rodríguez Valderrama, 2018)

7.3.4. Métodos y procedimientos

7.3.4.1. Cepas bacterianas y medio de cultivo

La bacteria BPNA *Rhodobacter capsulatus* cepa B10 fue suministrada por el Laboratoire d'Electrochimie et Physicochimie des Matériaux et des Interfaces (LEPMI) del Grenoble INP, Grenoble, Francia.

Para la reactivación, crecimiento y evaluación de la producción de biohidrógeno, se empleó un medio mineral RCV (He et al., 2006), cuya formulación para 1 L incluyó 50 mL de medio de supersales, 20 mL de una solución de oligoelementos y un medio buffer compuesto por 0.6 g L⁻¹ de KH₂PO₄ y 0.9 g L⁻¹ de K₂HPO₄.

El medio de supersales (1 L) contenía 4 g de MgSO₄·7H₂O, 1.5 g de CaCl₂·2H₂O, 0.4 g de EDTA (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈·2H₂O), 0.236 g de FeSO₄·7H₂O y 0.02 g de clorhidrato de tiamina (C₁₂H₁₇ClN₄OS·HCl). Por otro lado, la solución de oligoelementos (1 L) incluía 2.8 g de H₃BO₃, 1.592 g de MnSO₄·H₂O, 0.752 g de Na₂MoO₄·2H₂O, 0.24 g de ZnSO₄·7H₂O y 0.04 g de CuSO₄·5H₂O. Adicionalmente, el medio fue suplementado con 10 mM de glutamato monosódico (C₅H₈NNaO₄·H₂O) como fuente de nitrógeno.

Para la reactivación y el crecimiento de *R. capsulatus* B10, se utilizó lactato de sodio (C₃H₅NaO₃) a una concentración de 25 mM como fuente de carbono, mientras que para la producción de biohidrógeno se emplearon los EFO_i en proporciones variables según el diseño experimental de la sección 7.3.2.1. La reactivación de la cepa bacteriana se llevó a cabo a 30 °C y con una intensidad lumínica de 20–30 klx, en tubos de ensayo estériles de 15 mL con tapas de rosca.

7.3.4.2. Evaluación de la producción de biohidrógeno por FF a partir de EFO_i.

Los experimentos de producción de biohidrógeno por FF se realizaron en botellas de vidrio planas de 120 mL, con un volumen de operación de 110 mL (107 mL de medio considerando las proporciones del diseño experimental y 3 mL de cepa *Rhodobacter capsulatus* B10), las cuales se mantuvieron en una cámara de FF a 30 °C, según lo descrito por Rodríguez-Valderrama et al. (2022). Las botellas fueron previamente esterilizadas con etanol al 70% v v⁻¹, dejándolas bajo luz UV durante 15 min. De igual forma, el medio también fue esterilizado en una autoclave a 100 °C durante 60 min. Se utilizaron efluentes líquidos reales de FO (EFO_{a,b,d}) obtenidos a partir de OPW_{a,b,d} (sección 7.2.4.5) como sustratos para la producción de biohidrógeno por FF.

Se empleó como fuente lumínica una lámpara de sodio de alta presión (SILVANIA, EUA) y cada botella fue posicionada a una distancia óptima para recibir una intensidad de luz de 20–30 klx, medida

con un luxómetro digital (LX1010B, Alion). El pH inicial se ajustó a 7, sin control de pH durante el proceso de fermentación. Los reactores fueron agitados manualmente una vez al día, y la producción de biohidrógeno fue monitoreada periódicamente mediante el método de desplazamiento en una columna invertida con una solución de NaOH 1 M (Carrillo-Verástegui et al., 2022).

Los ensayos experimentales finalizaron cuando no se detectó volumen adicional de biohidrógeno en la columna invertida. En este punto, los fermentados fueron recolectados para su caracterización.

7.3.4.3. Métodos analíticos de caracterización.

Los parámetros de caracterización (pH, perfil de sólidos, alcalinidad y AGV) se determinaron según lo descrito en la sección 7.1.4.2.

El crecimiento bacteriano fue evaluado siguiendo la metodología descrita por He et al. (2006), donde una absorbancia de 1 a 660 nm (medida con un espectrofotómetro UV-Vis SP-300-UV, Cole-Parmer, Perú) corresponde a una biomasa celular seca (cell dry weight, CDW) de 0.45 g.

7.3.4.4. Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico.

Para la estimación de los parámetros cinéticos de la producción acumulada de biohidrógeno $H(t)$ (mL H_2), se emplearon los modelos cinéticos de Gompertz modificado (Zwietering et al., 1990), T_i -Gompertz (Tjørve y Tjørve, 2017) y el modelo sigmoidal de Boltzmann.

En la sección 7.2.4.4 se expone la ecuación del modelo de Gompertz modificado (Ecuación 1).

Para el modelo de T_i -Gompertz (Ecuación 2), donde T_i (h) es el tiempo en el punto de inflexión, la ecuación se expresa como:

$$H(t) = H_{\max} \cdot \exp \left\{ -\exp \left[-\frac{R_{\max} \cdot e}{H_{\max}} (t - T_i) \right] \right\} \quad \text{Ecuación 2}$$

El modelo sigmoidal de Boltzmann (Ecuación 3) se expresa de la siguiente forma:

$$H(t) = H_{\max} + \left[\frac{(H_0 + H_{\max})}{1 + \exp \left(\frac{t - t_{50}}{dx} \right)} \right] \quad \text{Ecuación 3}$$

donde H_0 es la producción de biohidrógeno a tiempo cero ($H_0 = 0$ mL H_2), t_{50} (h) indica el tiempo para alcanzar la mitad de $H_{\max}$ (mL H_2) y dx (h) se refiere al parámetro de ajuste de pendiente. A partir del modelo de Boltzmann, la $R_{\max}$ (mL H_2 h⁻¹) se calcula con la Ecuación 4:

$$H(t) = \frac{H_{\max}}{4 \cdot dx} \quad \text{Ecuación 4}$$

Adicionalmente, los rendimientos de biohidrógeno también se ajustaron a estos tres modelos, adaptando las Ecuaciones 1–4 en términos de producción acumulada de biohidrógeno en función del contenido de AGV usados como sustrato (g AGV), obteniéndose así la producción acumulada específica de biohidrógeno $h(t)$ (mL H_2 g⁻¹AGV). Asimismo, los parámetros cinéticos $H_{\max}$ y $R_{\max}$ fueron remplazados por sus equivalentes específicos, replicando lo que se mencionó en la sección 7.2.4.4, pero en base a el contenido de AGV. $H_{\max}$ y $R_{\max}$ fueron remplazados, respectivamente por: $h_{\max}$ (mL H_2 g⁻¹AGV), que representa la producción acumulada máxima específica, y $r_{\max}$ (mL H_2 g⁻¹AGV h⁻¹), correspondiente a la tasa máxima de producción específica.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para diseños experimentales empleando el software Design-Expert 6.0 (Design-Ease Inc., Minneapolis, EUA), considerando un nivel de confianza del 95 %. El error estándar experimental se calculó utilizando el RMSEP.

7.4. Actividad 4. Producción de biometano por digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura.

7.4.1. Propósito

Producir biometano por DA a partir de la fracción sólida residual (SFO_i) de la FO de OPW_{a,b,d}.

7.4.2. Diseño experimental

La DA siguió un diseño factorial de 3² para examinar el efecto de la variación de RIS (1, 1.5 y 2) sobre el potencial de biometano de las SFO_i de los ensayos de FO con OPW_{a,b,d} a las condiciones señaladas en la sección 7.2.2.3. Los ensayos se realizaron por triplicado. En la Tabla 10 se resumen las condiciones a las que se llevó a cabo este experimento.

Tabla 10. Diseño experimental factorial 3² el potencial de biometano por digestión anaerobia de las fracciones sólidas residuales de la fermentación oscura (SFO_{a,b,d}).

Sustrato	Relación inóculo-sustrato (RIS)			Condiciones de operación
SFO _a	1	1.5	2	T = 35 °C
SFO _b	1	1.5	2	V ₀ = 50 mL; pH ₀ = 7
SFO _d	1	1.5	2	Agitación: manual 1 vez al día.

OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; RIS, relación inóculo-sustrato; SFO_a, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_a; SFO_b, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_b; SFO_d, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_d.

Adicionalmente, se montó una serie de ensayos control en los que se introdujo directamente OPW_{a,b,d} como sustratos a RIS 1, 1.5 y 2.

7.4.3. Programa de seguimiento y análisis

En la Tabla 11 se enlistan los parámetros caracterizados del diseño experimental de evaluación de potencial de biometano por DA.

Tabla 11. Parámetros de caracterización para los experimentos de potencial de biometano por digestión anaerobia a partir de fracción sólida residual (SFO_i) de la fermentación oscura de OPW_{a,b,d}.

Parámetro	Frecuencia	Método	Ref.
pH	Inicial-Final	Potenciométrico	1
Sólidos totales, humedad, sólidos volátiles, ceniza	Final	Gravimétrico	2
Alcalinidad, ácidos grasos volátiles	Final	Titulación	3
Biometano	0 – 480 h	Desplazamiento volumétrico alcalino	4

Referencias: 1, NMX-AA-25-1984 ; 2, APHA/AWWA/WEF (2005); 3, Anderson y Yang (1992); 4, Rodríguez-Valderrama (2018).

7.4.4. Métodos y procedimientos

7.4.4.1. Preparación de inóculo para DA.

El inóculo utilizado para la DA en la producción de biometano se recuperó de un digestor anaerobio de régimen mesofílico a escala de laboratorio alimentado con residuos de frutas y verduras.

7.4.4.2. Montaje del diseño experimental de DA para la producción de biometano.

Los experimentos de producción de biometano se realizaron en botellas serológicos de 120 mL con un volumen operativo constante de 50 mL. Se incluyeron ensayos de control que contenían directamente los sustratos OPW_{a,b,d} a RIS 1, 1.5 y 2. Asimismo se incluyeron los ensayos blancos que contenían el inóculo equivalente a las RIS evaluadas y el volumen restante de agua destilada hasta completar un volumen de operación de 50 mL. Las botellas fueron selladas con tapones de caucho butílico y tapas de aluminio. Los experimentos se realizaron en triplicado a 35 °C en una incubadora (Prendo, INC-45, México). Los reactores se agitaron manualmente una vez al día y la producción de biometano se midió periódicamente utilizando el método del desplazamiento en columna invertida con solución de 1 M NaOH (Carrillo-Verástegui et al., 2022). El pH inicial de cada análisis se ajustó a 7 y no se aplicó ningún control de pH durante la DA. Los experimentos concluyeron después de que no se observara desplazamiento de volumen de biometano en la columna invertida y el lodo fermentado fue recuperado para su caracterización.

7.4.4.3. Métodos analíticos de caracterización.

Los parámetros de caracterización (pH, perfil de sólidos, alcalinidad y AGV) se determinaron según lo descrito en la sección 7.1.4.2.

7.4.4.4. *Ajuste de modelos cinéticos y análisis estadístico*

La producción acumulada de biometano, $H(t)$ (mL CH₄), se modeló utilizando la ecuación de Gompertz modificada (Ecuación 1, sección 7.2.4.4), con el objetivo de estimar la producción máxima acumulada de biometano $H_{\max}$ (mL CH₄), la tasa máxima de producción $R_{\max}$ (mL CH₄ h⁻¹), y la fase de retardo λ (h); donde t (h) es un tiempo dado de la DA y e es el número de Euler (≈ 2.718).

Adicionalmente, la Ecuación 1 fue adaptada para describir los rendimientos de biometano en función del contenido de sólidos volátiles (SV), obteniéndose así la producción acumulada específica de biometano, $h(t)$ (mL CH₄ g⁻¹SV). Los parámetros $H_{\max}$ y $R_{\max}$ fueron reemplazados por sus equivalentes específicos, respectivamente: $h_{\max}$ (mL CH₄ g⁻¹SV), que representa la producción acumulada máxima específica, y $r_{\max}$ (mL CH₄ g⁻¹SV h⁻¹), correspondiente a la tasa máxima de producción específica.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de 95% de confianza para los diseños experimentales de producción de biometano utilizando el software Design-Expert 6.0 (Design-Ease Inc., Minneapolis, EUA). El error estándar de los diseños experimentales se calculó utilizando el RMSEP.

7.5. Actividad 5. Evaluación de impacto ambiental a través del análisis de ciclo de vida.

7.5.1. Propósito

Evaluar la factibilidad ambiental del modelo de diversos esquemas de biorrefinería que contemple procesos de extracción de biocompuestos de valor agregado (AE y pectina) y la valorización energética del OPW por procesos fermentativos (FO, FF y DA) a través de la metodología de ACV.

7.5.2. Diseño experimental

La evaluación se llevó a cabo siguiendo la metodología de ACV, basada en las normas ISO 14040 y 14044. La información se tomó de los datos experimentales obtenidos de las actividades previas y de la base de datos Ecoinvent 3.9.1. El análisis de impacto se realizó la ayuda del software SimaPro 9.2 (PRé Consultants, 2006) siguiendo la metodología ReCiPe de punto medio jerárquico.

7.5.3. Objetivo y alcance

El objetivo de este análisis es determinar cuáles son las mejores rutas de aprovechamiento de OPW, bajo un enfoque de biorrefinería, desde una perspectiva de viabilidad ambiental y comparar los resultados con el escenario actual de gestión de OPW (sitios de disposición final, SDF). El análisis se realizó de a partir de los datos experimentales obtenidos en las actividades anteriores.

7.5.4. Unidad funcional

La unidad funcional (UF) establecida para este estudio fue: la gestión de 1 kg de OPW. Esta UF permite evaluar todas las rutas de gestión/aprovechamiento del OPW considerando los impactos ambientales potenciales de la producción de diversos productos de valor agregado.

7.5.5. Límites del sistema

El estudio considero un enfoque atribucional con límites establecidos en un modelo “puerta a la puerta” a partir de los datos experimentales obtenidos y reportados en las secciones anteriores. En las Figuras 10 – 24 se muestran los diagramas de fronteras para los escenarios de valorización de OPW. A continuación, se describen los procesos para los 15 escenarios considerados:

OPW_{a1}: Utiliza OPW sin extracciones. Considera etapas de secado, molienda, FO, centrifugación, FF y DA.

OPW_{a2}: Utiliza OPW sin extracciones. Considera etapas de secado, molienda, FO, centrifugación y FF.

- OPW_{a3}: Utiliza OPW sin extracciones. Considera etapas de secado, molienda, FO, centrifugación y DA.
- OPW_{a4}: Utiliza OPW sin extracciones. Considera etapas de secado, molienda y FO.
- OPW_{a5}: Utiliza OPW sin extracciones. Considera etapas de secado, molienda y DA.
- OPW_{b1}: Utiliza OPW tras la extracción de AE por HD. Considera etapas de HD, secado, molienda, FO, centrifugación, FF y DA.
- OPW_{b2}: Utiliza OPW tras la extracción de AE por HD. Considera etapas de HD, secado, molienda, FO, centrifugación y FF.
- OPW_{b3}: Utiliza OPW tras la extracción de AE por HD. Considera etapas de HD, secado, molienda, FO, centrifugación y DA.
- OPW_{b4}: Utiliza OPW tras la extracción de AE por HD. Considera etapas de HD, secado, molienda y FO
- OPW_{b5}: Utiliza OPW tras la extracción de AE por HD. Considera etapas de HD, secado, molienda y DA.
- OPW_{d1}: Utiliza OPW tras la extracción de AE y pectina por HD. Considera etapas de HD, centrifugación, precipitación, secado, molienda, FO, centrifugación, FF y DA.
- OPW_{d2}: Utiliza OPW tras la extracción de AE y pectina por HD. Considera etapas de HD, centrifugación, precipitación, secado, molienda, FO, centrifugación y FF.
- OPW_{d3}: Utiliza OPW tras la extracción de AE y pectina por HD. Considera etapas de HD, centrifugación, precipitación, secado, molienda, FO, centrifugación y DA.
- OPW_{d4}: Utiliza OPW tras la extracción de AE y pectina por HD. Considera etapas de HD, centrifugación, precipitación, secado, molienda y FO.
- OPW_{d5}: Utiliza OPW tras la extracción de AE y pectina por HD. Considera etapas de HD, centrifugación, precipitación, secado, molienda y DA.

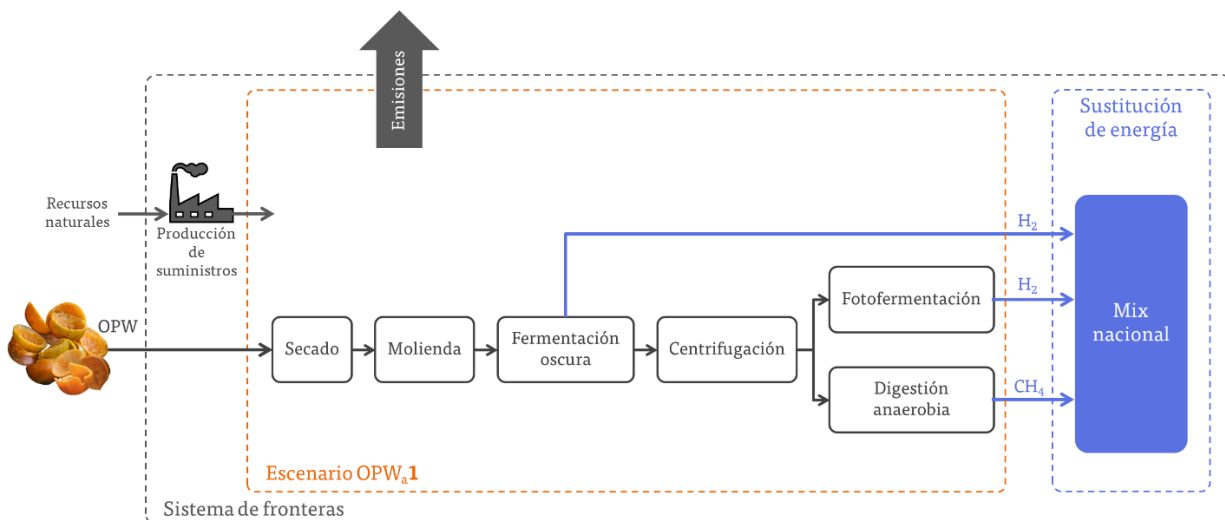


Figura 10. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{a1}. CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

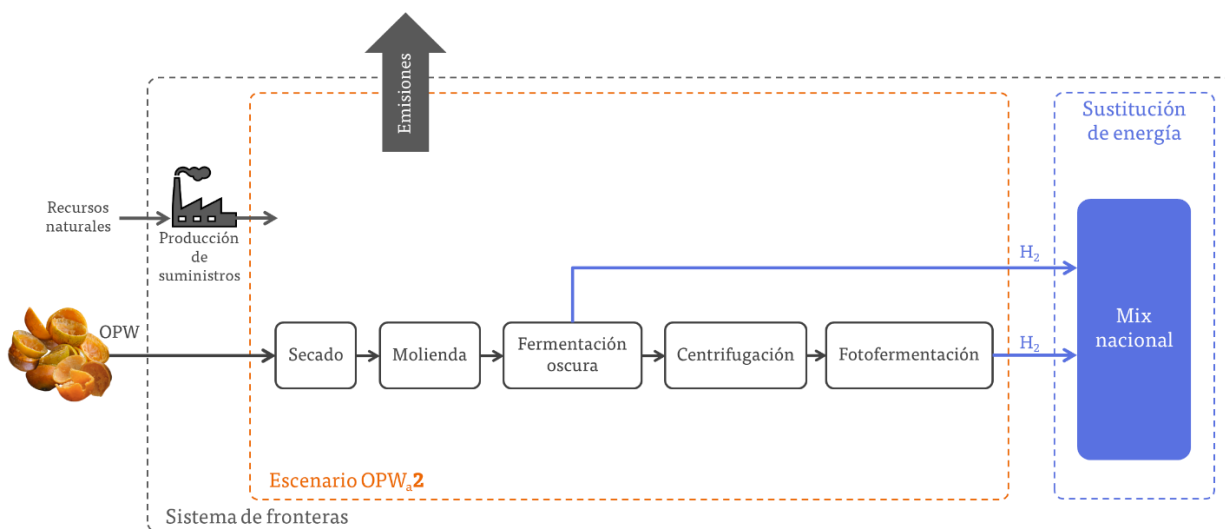


Figura 11. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{a2}. H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

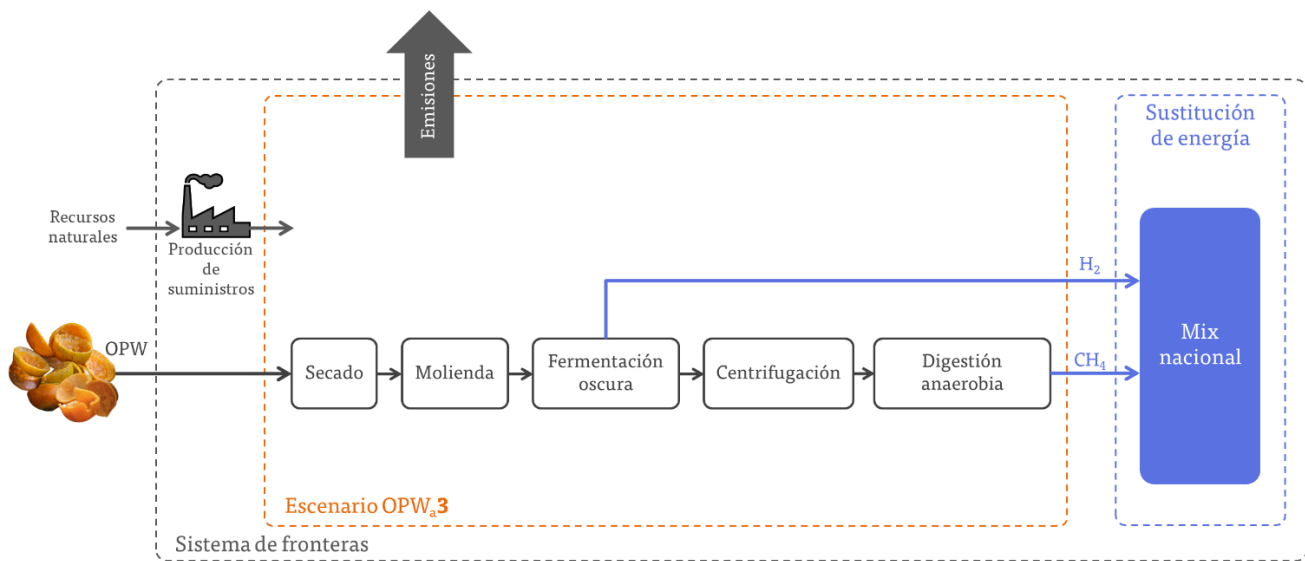


Figura 12. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{a3}. CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

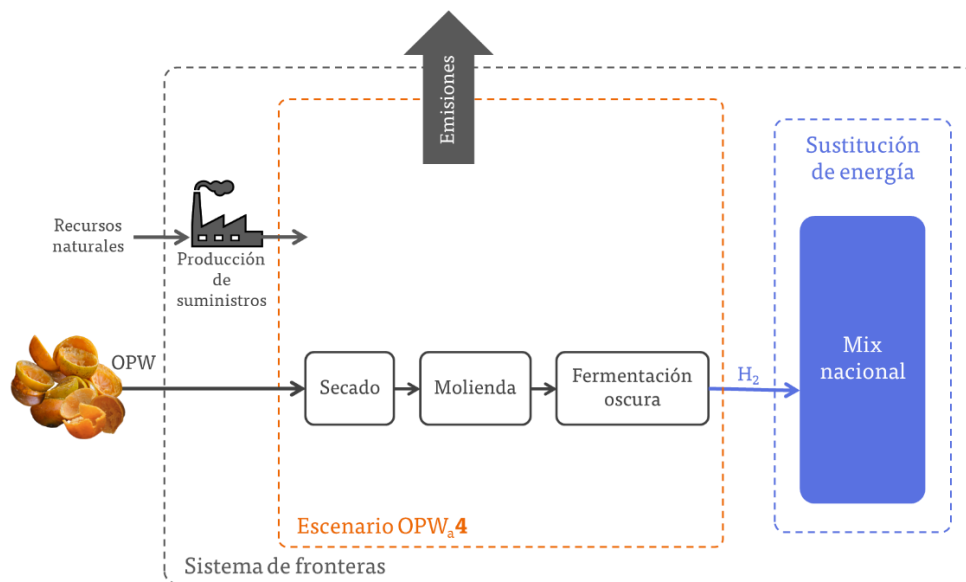


Figura 13. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{a4}. H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

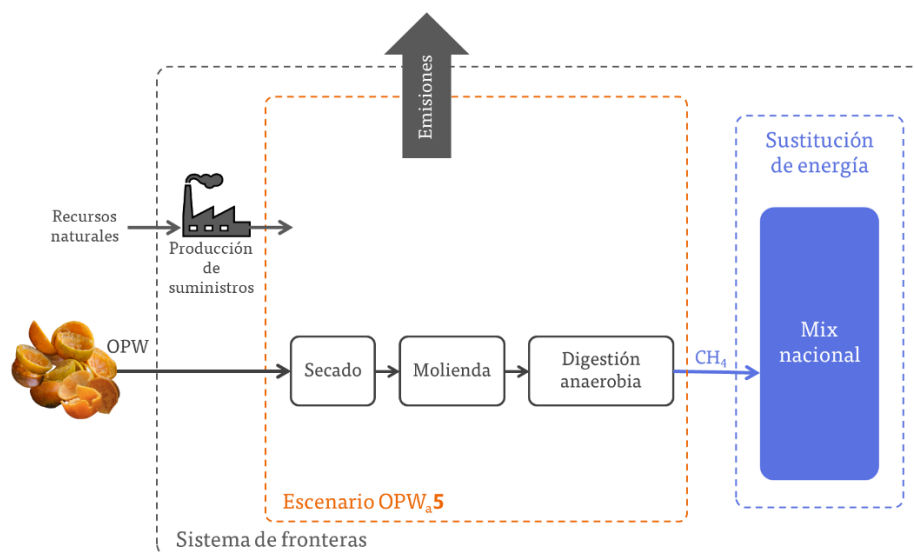


Figura 14. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{a5}. CH₄, biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

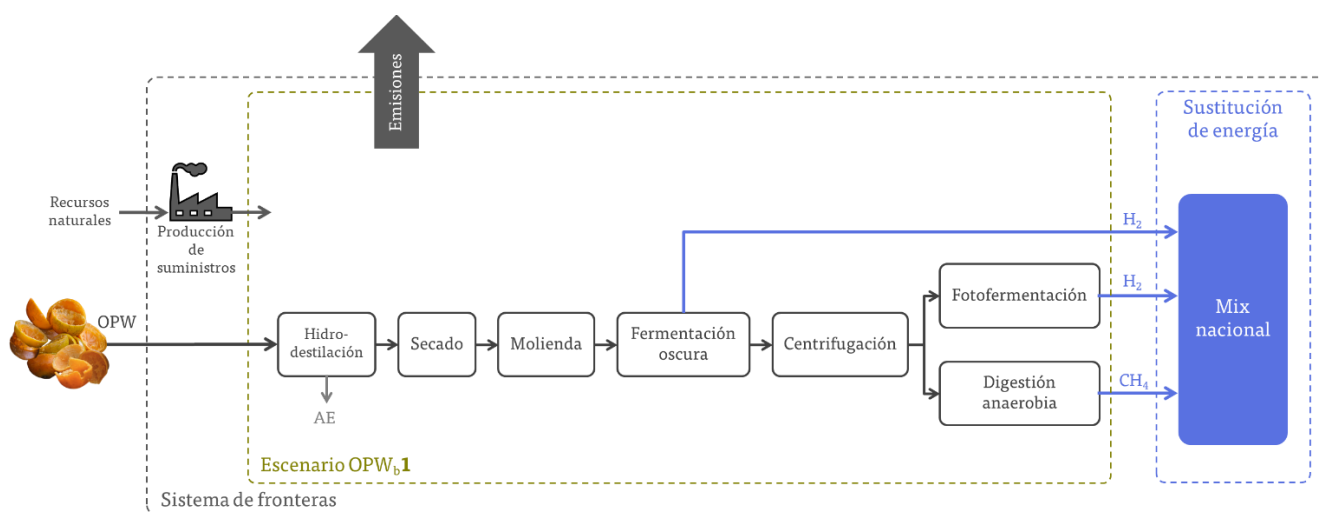


Figura 15. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{b1}. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

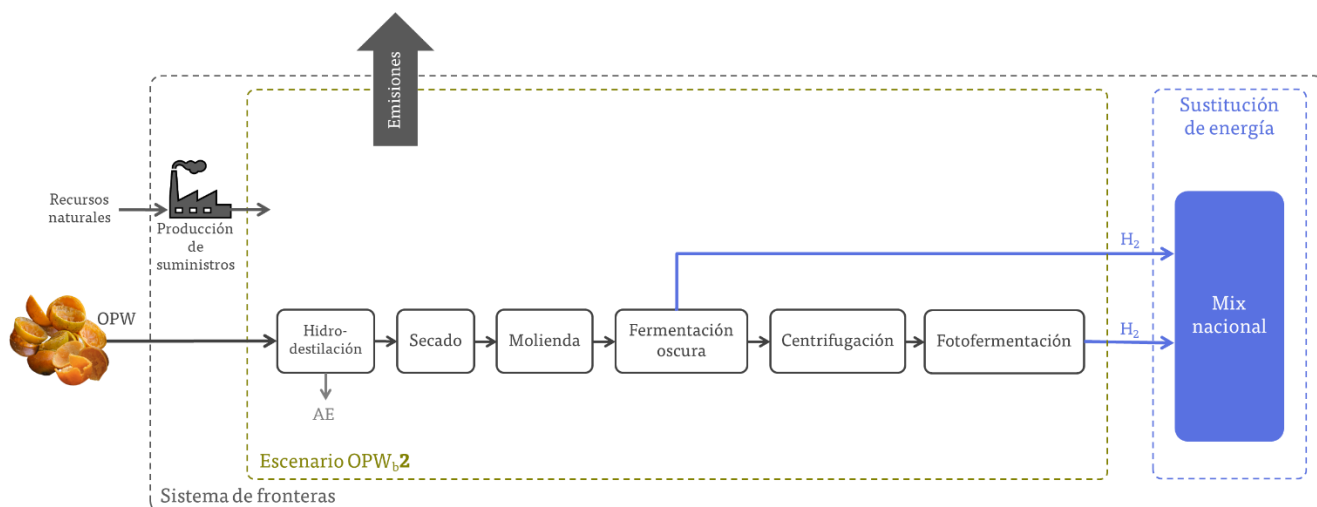


Figura 16. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{b2}. AE, aceites esenciales; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

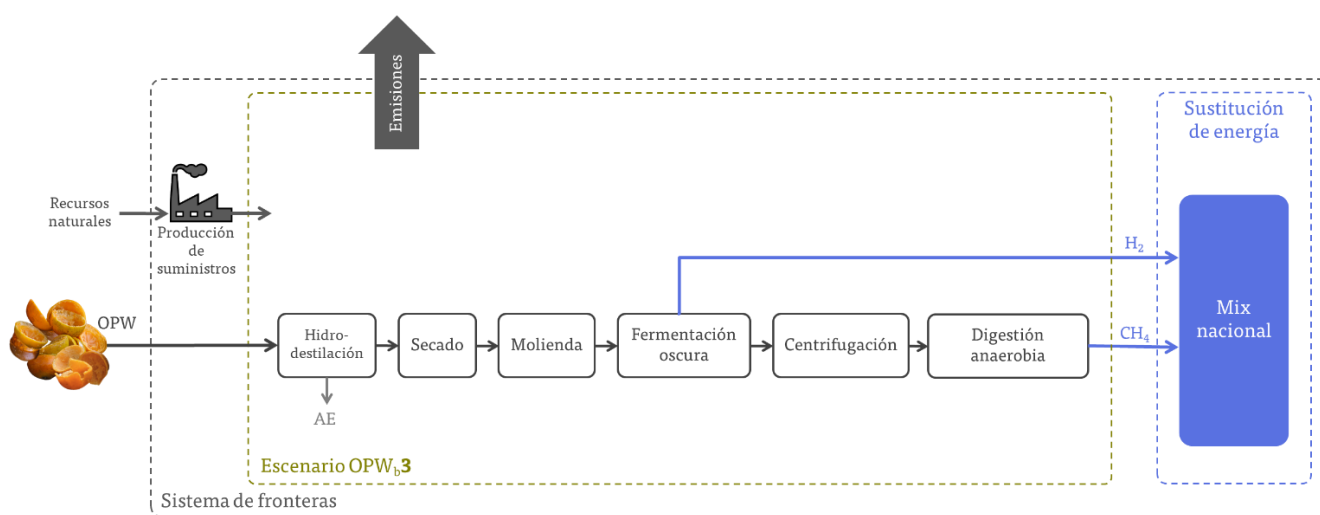


Figura 17. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{b3}. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

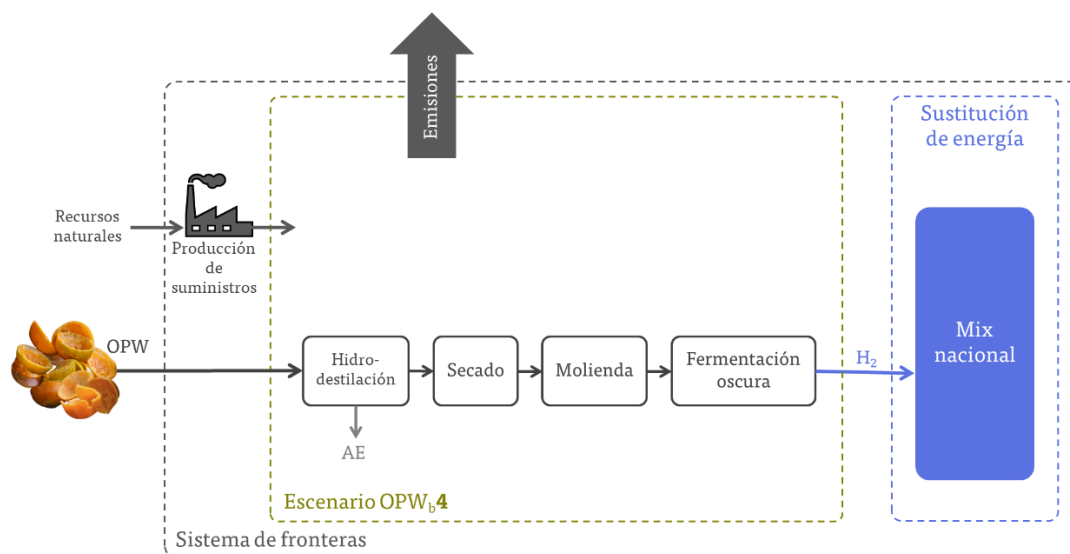


Figura 18. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_b4. AE, aceites esenciales; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

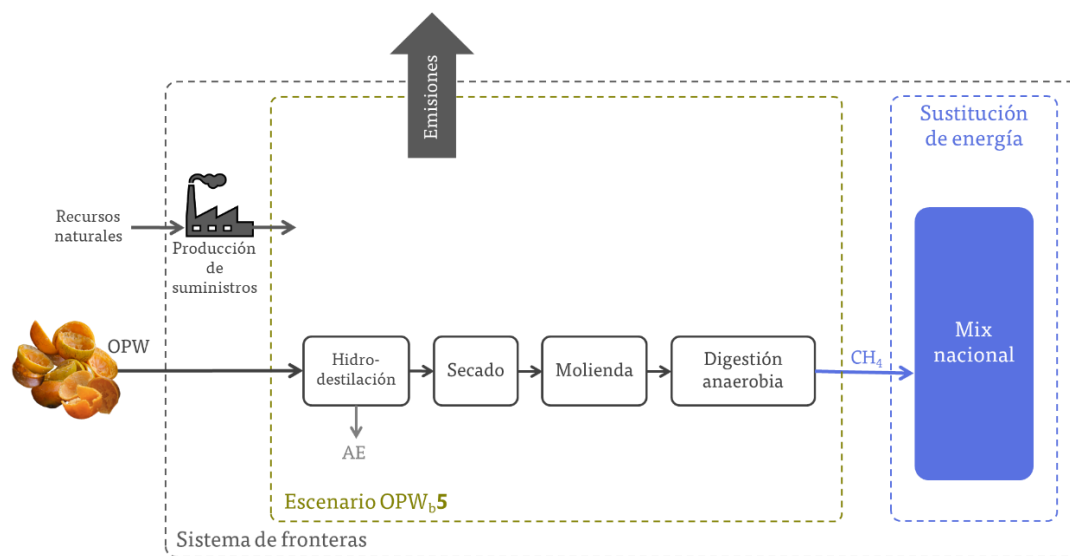


Figura 19. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_b5. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

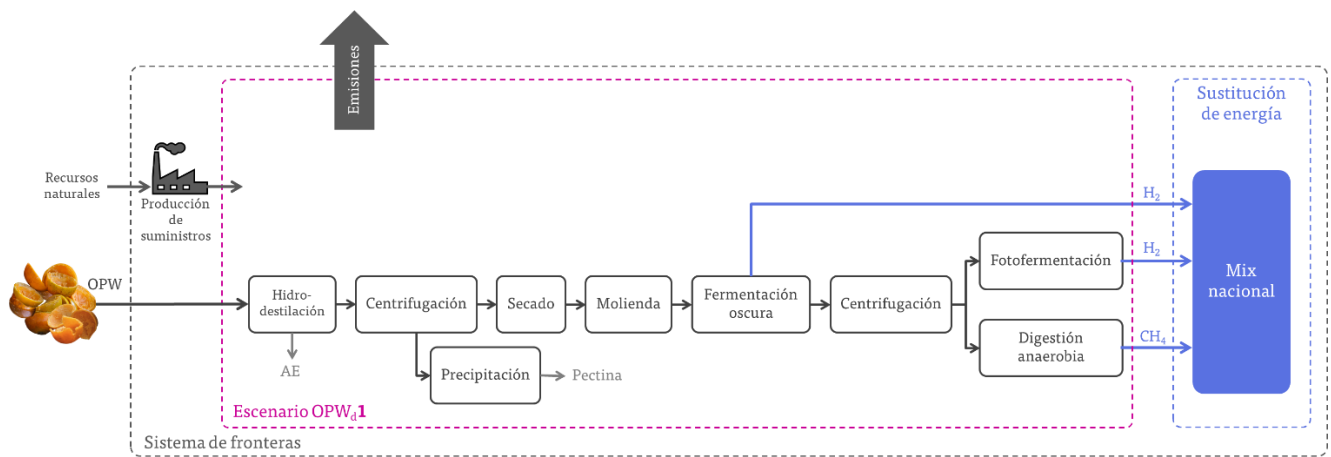


Figura 20. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{d1}. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

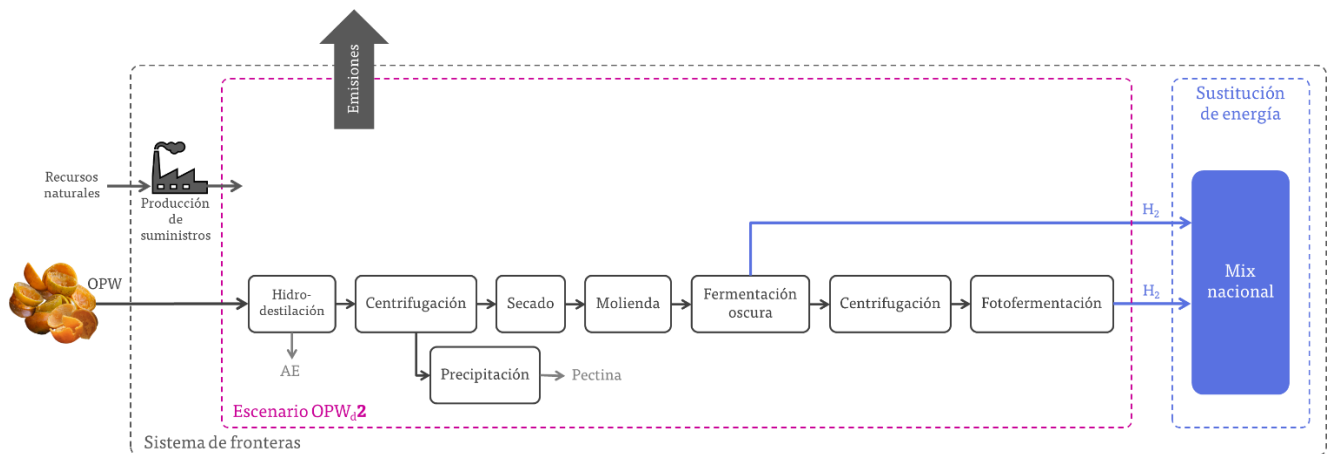


Figura 21. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{d2}. AE, aceites esenciales; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

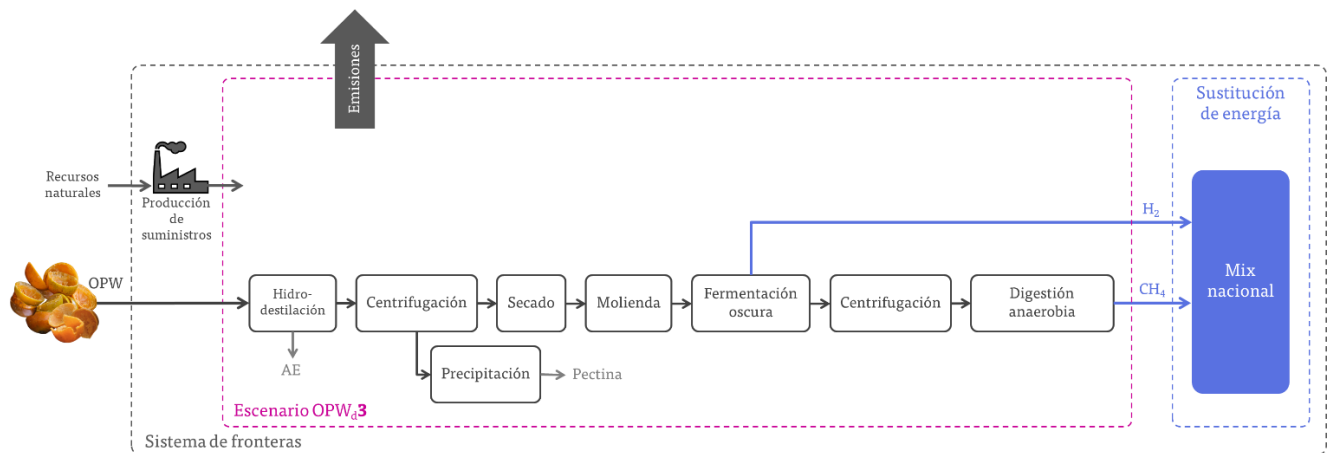


Figura 22. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{d3}. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

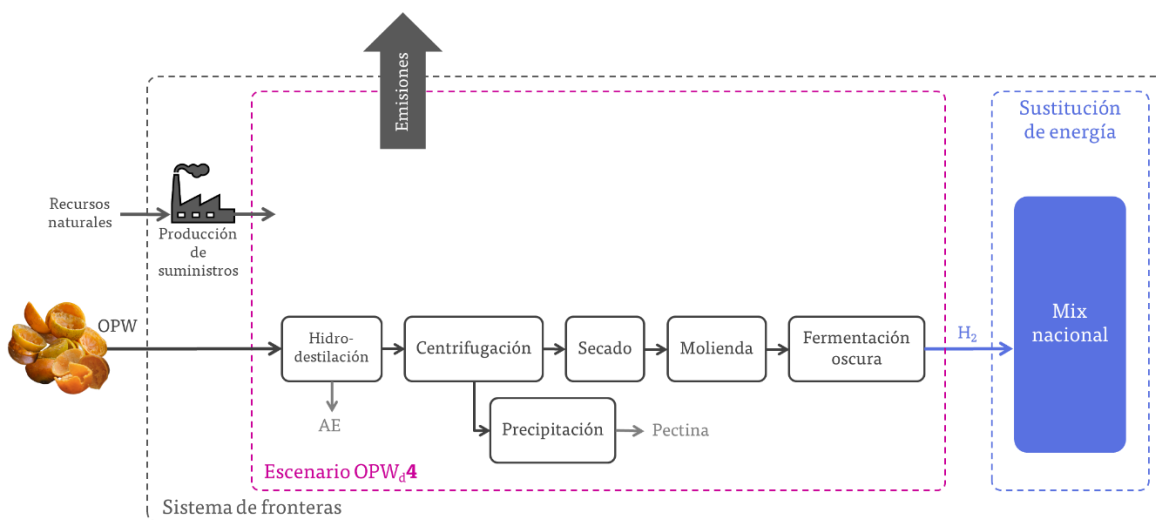


Figura 23. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{d4}. AE, aceites esenciales; H₂, biohidrógeno; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

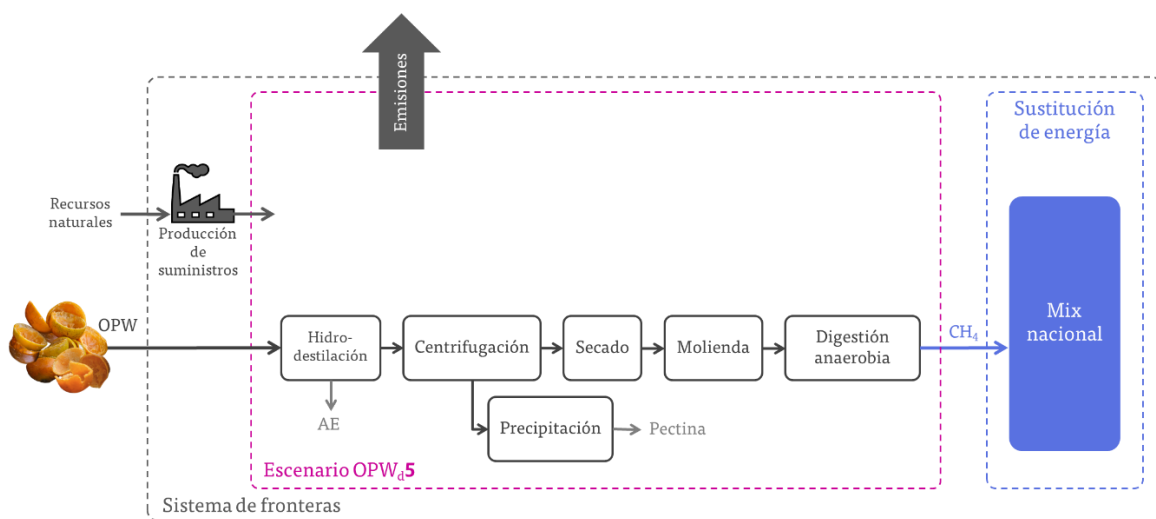


Figura 24. Diagrama de fronteras de Escenario OPW_{d5}. AE, aceites esenciales; CH₄, biometano; OPW, bagazo y cáscara de naranja.

7.5.5.1. Escenarios de comparación

En la Figura 25 se muestra el diagrama de fronteras del proceso considerado para el escenario de comparación (BAU, *Base As Usual*), para el cual se consideró la gestión del OPW por medio de un sitio de disposición final.

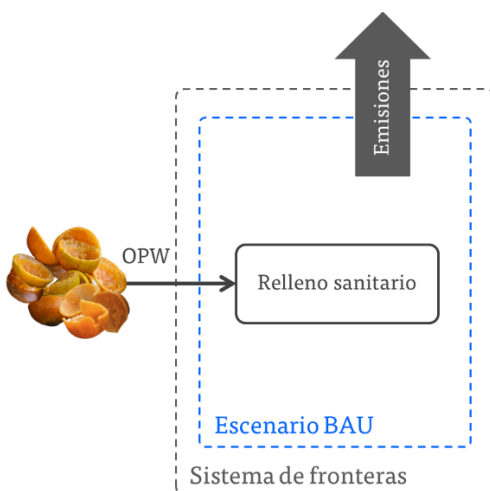


Figura 25. Diagrama de fronteras del escenario de comparación BAU.

7.5.6. Análisis del inventario del ciclo de vida (ICV).

El análisis del ICV consistió en la cuantificación detallada de los flujos de entrada y salida asociados a cada una de las operaciones unitarias involucradas en los escenarios de valorización del OPW. Para ello, se establecieron ecuaciones paramétricas que permitieron calcular los consumos energéticos, de agua, de insumos químicos, así como las sustituciones energéticas asociadas a la producción de bioenergéticos (biohidrógeno y biometano). Todos los flujos fueron expresados en función de la UF.

Cada operación unitaria fue modelada con base en datos experimentales obtenidos en laboratorio, complementados con valores de referencia de literatura científica y bases de datos tecnológicas. La Ecuación 5 presenta el modelo de calentamiento de los reactores de FO, FF y DA. Una variante a esta ecuación se utilizó para modelar el proceso de HD, añadiendo la entalpía de vaporización de agua (H_{vap}) (Ecuación 6). $C_{p,mezcla}$ y ρ_{mezcla} corresponden a la capacidad calorífica específica y la densidad de la mezcla de entrada al reactor, respectivamente. El término $\frac{k_a}{s}$ representa el coeficiente global de transferencia de calor. Las diferencias de temperatura expresadas como $(T_r - T_0)$ y $(T_r - T_{amb})$ representan,

respectivamente, la diferencia entre la temperatura de operación del reactor (T_r) y la temperatura inicial del influente (T_0), así como la diferencia entre la T_r y la temperatura ambiente (T_{amb}).

Para la etapa de secado del sustrato, se utilizó el modelo de la Ecuación 7, reportada por Albalade-Ramírez et al., (2024-B) para procesos de secado de residuos de alimentos en donde m corresponde a la masa de sustrato a secar. En la Tabla 12 se presentan las condiciones de operación para las etapas de molienda, precipitación y los procesos fermentativos.

$$E_{\text{calentamiento}} = C_{p_{\text{mezcla}}} \rho_{\text{mezcla}} (T_r - T_0) + A \frac{k_a}{s} (T_r - T_{amb}) \quad [\text{Ecuación 5}]$$

$$E_{\text{HD}} = C_{p_{\text{mezcla}}} \rho_{\text{mezcla}} (T_r - T_0) + A \frac{k_a}{s} (T_r - T_{amb}) + m H_{\text{vap}} \quad [\text{Ecuación 6}]$$

$$E_{\text{secado}} = 38.52(m)^{0.802} \quad [\text{Ecuación 7}]$$

Tabla 12. Condiciones de operación de las etapas de proceso consideradas en los escenarios de los modelos de biorrefinería de OPW.

Etapa	Condiciones de operación
Secado	50 °C ; 1 kg OPW fresco
Molienda	3.2 kWh kg ⁻¹ ; 1200 s kg ⁻¹
Hidrodestilación	100 °C ; 90 min ; 1:1.5 (m v ⁻¹) OPW:H ₂ O
Centrifugación	1.5 kW ; 0.0015 kWh L ⁻¹
Precipitación	1:1 (v v ⁻¹) f _{liq} :etanol ; etanol 80 % v v ⁻¹
Fermentación oscura	35 °C ; 221 h ; RIS 0.6
Fotofermentación	30 °C ; 72 h ; 25% (v v ⁻¹) EFO _i ; 20 klx
Digestión anaerobia	35 °C ; 221 h ; RIS 1

Para la evaluación de impactos ambientales se establecieron los siguientes supuestos y delimitaciones del sistema, con el objetivo de enfocar el análisis en las operaciones relevantes para el balance ambiental de cada escenario:

- No se consideraron los impactos asociados al choque térmico del inóculo metanogénico, asumiendo que ya se dispone de un inóculo adaptado para procesos hidrogenogénicos.

- El consumo energético para el mantenimiento térmico de los reactores fue estimado bajo la suposición de una diferencia mínima de temperatura entre el reactor y el ambiente, debido a que las unidades operaron dentro de incubadoras con condiciones controladas.
- No se incluyeron en el análisis los impactos ambientales derivados de la reactivación de cepas de BPNA ni del uso de reactores madre para la preparación de inóculo.
- Se asumió que no existen pérdidas de materia durante la operación de molienda, dado que esta etapa fue realizada bajo condiciones controladas.
- Para la etapa de HD, se consideró que el calentamiento del sistema se realiza mediante una chaqueta térmica acoplada al matraz, lo cual permite una transferencia de calor eficiente y directa.
- Las etapas de molienda y centrifugación se modelaron utilizando equipos representativos a escala laboratorio: un molino de café marca Redlemon, modelo B09K4M54SV, y una centrífuga de cesta ZM 03-ECO 1, respectivamente. Las especificaciones técnicas de estos equipos fueron empleadas para estimar los consumos energéticos por unidad de masa procesada.

7.5.6.1. *Evaluación de impactos del ciclo de vida (EICV).*

La evaluación de impactos se realizó utilizando la metodología ReCiPe (H) a nivel de punto medio. Se eligió el indicador de cambio climático (GWI, *global warming indicator*) como categoría de impacto principal, dado que es el más frecuentemente empleado en la literatura científica para la evaluación ambiental de procesos fermentativos orientados a la producción de biohidrógeno y biometano. Este indicador, expresado en kg CO₂ equivalente, se fundamenta en el potencial de los GEI para contribuir al aumento de la temperatura media superficial del planeta, conforme a los lineamientos establecidos por el IPCC (2013).

8. Resultados y discusiones

8.1. Actividad 1. Preparación del bagazo y cáscara de naranja (OPW): extracción de biocompuestos.

La Tabla 13 presenta la caracterización de las cinco variantes procesadas de bagazo y cáscara de naranja (OPW_i). Se observaron variaciones significativas en el pH de los diferentes sustratos. OPW_a presentó un pH de 3.80, mientras que OPW_b y OPW_d, que fueron sometidos a la extracción de AE, mostraron un ligero incremento en sus valores de pH, alcanzando 4.13 y 4.14, respectivamente. En contraste, OPW_c y OPW_e, los cuales fueron procesados mediante HA para la extracción de pectina, exhibieron una disminución marcada en el pH, registrando valores de 1.96 y 1.98, respectivamente. Esta reducción refleja la acidez residual derivada del ácido fosfórico utilizado durante su procesamiento.

Un aspecto relevante es que ninguno de los sustratos OPW_i presentó alcalinidad cuantificable, ya que todos los valores de pH se encontraron por debajo del umbral de detección (pH < 4.3). La variabilidad en el pH de los sustratos, con valores entre 1.96 y 4.14, sugiere un entorno marcadamente ácido, lo que podría representar un desafío para el mantenimiento de condiciones estables durante la FO, debido a la posible inhibición de la actividad microbiana.

Los métodos de extracción empleados afectaron de manera significativa la composición fibrosa de los sustratos. En particular, OPW_c y OPW_e presentaron un mayor contenido de celulosa, con valores de 26.50% y 25.23%, respectivamente, en comparación con OPW_a, OPW_b y OPW_d. Este aumento en la proporción de celulosa se atribuye a la remoción de compuestos no celulósicos, como la pectina, durante el tratamiento ácido, lo que incrementa la concentración relativa de celulosa en la biomasa residual. La HA diluida solubiliza una fracción significativa de la cáscara de naranja, generando un residuo insoluble enriquecido en celulosa y una fracción líquida con pectina solubilizada, monosacáridos y oligosacáridos, provenientes principalmente de la degradación de cadenas hidrocarbonadas de pectina y hemicelulosa (Grohmann et al., 1995; Quilez-Molina et al., 2023).

En general, la extracción de AE y pectina modificó tanto el pH como la composición de fibra de los sustratos, impactando directamente sus características fisicoquímicas. De manera particular, la HA para la extracción de pectina indujo una acidificación significativa del sustrato, lo que podría representar un factor limitante para la actividad microbiana en los procesos de FO. Estas modificaciones en la composición del OPW deben ser consideradas al evaluar la eficiencia en la producción de biohidrógeno biológico, ya que pueden afectar la dinámica metabólica del proceso fermentativo.

Tabla 13. Caracterización de cinco OPW_i procesados.

Parámetro	OPW _a	OPW _b	OPW _c	OPW _d	OPW _e
pH	3.80 ± 0.06	4.13 ± 0.01	1.96 ± 0.02	4.14 ± 0.05	1.98 ± 0.01
Humedad (%bh)	7.96 ± 0.09	10.17 ± 0.10	12.97 ± 0.68	9.01 ± 0.09	13.82 ± 1.36
Sólidos totales (%bh)	92.04 ± 0.09	89.83 ± 0.10	87.03 ± 0.68	90.99 ± 0.09	86.18 ± 1.36
Sólidos volátiles (%bs)	95.58 ± 0.01	95.60 ± 0.13	81.70 ± 3.95	95.46 ± 0.47	81.63 ± 3.14
Cenizas (%bs)	4.42 ± 0.01	4.40 ± 0.13	18.30 ± 3.95	4.54 ± 0.47	18.37 ± 3.14
Celulosa (%bs)	18.53 ± 0.45	17.30 ± 0.36	26.50 ± 0.30	21.07 ± 0.45	25.23 ± 0.12
Hemicelulosa (%bs)	16.93 ± 0.40	16.23 ± 1.02	10.33 ± 0.98	17.50 ± 0.53	12.10 ± 0.56
Holocelulosa (%bs)	35.47 ± 0.35	33.53 ± 1.69	36.83 ± 1.66	38.57 ± 0.61	37.33 ± 1.01

bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida.

8.2. Actividad 2. Evaluación del potencial de biohidrógeno por fermentación oscura modo lote.

8.2.1.1. Evaluación del potencial de biohidrógeno por FO de cinco OPW_i procesados.

Los resultados de la FO de las cinco variantes procesadas de OPW_i se presentan en la **Figura 26**, mientras que los parámetros cinéticos obtenidos a partir del ajuste a la ecuación de Gompertz modificada se resumen en la **Tabla 14**. Entre los sustratos evaluados, OPW_a mostró la mayor producción acumulada de biohidrógeno ($H_{\max} = 219.97 \text{ mL H}_2$), con un inicio rápido de la fermentación, lo que indica una alta biodegradabilidad del sustrato. Se ha reportado que la presencia de d-limoneno, el principal componente de los AE, ejerce un efecto inhibitorio en la producción de biogás (Forgács et al., 2012). En contraste, OPW_b, sometido a extracción de AE por HD, presentó una producción de biohidrógeno ligeramente menor ($H_{\max} = 207.03 \text{ mL H}_2$), lo que podría atribuirse al método de extracción empleado y al efecto del secado en la volatilización del d-limoneno en OPW_a. Aunque se ha documentado que la eliminación de los AE mejora la fermentabilidad del sustrato, algunos métodos de extracción tradicionales utilizan solventes orgánicos, como hexano o alcoholes (Negro et al., 2017; Khandrare et al., 2021), que permiten la remoción de estos compuestos sin comprometer la integridad estructural del residuo debido a la mínima exposición a altas temperaturas.

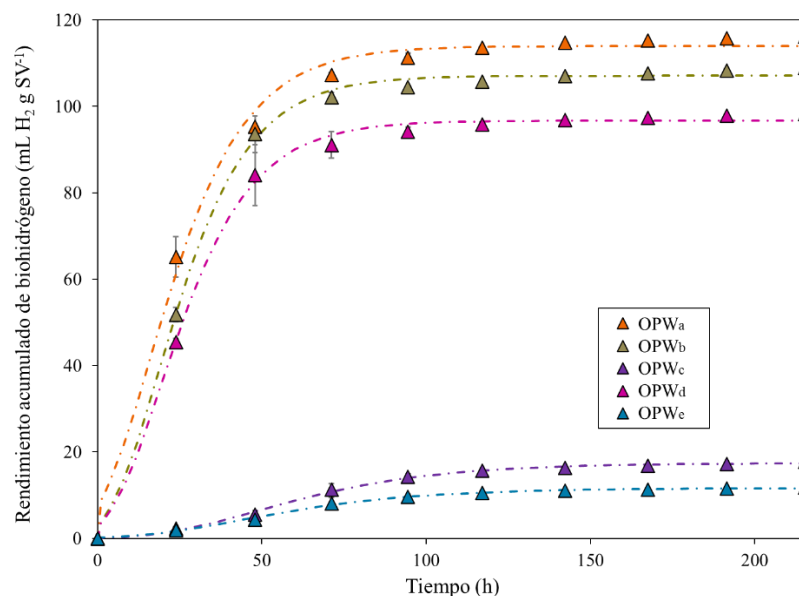


Figura 26. Rendimientos acumulativos de biohidrógeno de los cinco sustratos OPW_i procesados (OPW_{a,b,c,d,e}). OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida.

Tabla 14. Parámetros cinéticos de la ecuación de Gompertz modificada del rendimiento de biohidrógeno a partir de los cinco OPW_i procesados a RIS 0.6.

Parámetro	OPW _a	OPW _b	OPW _c	OPW _d	OPW _e
Producción (mL H ₂)	224.33 ± 10.50	210.67 ± 5.69	37.33 ± 4.93	190.33 ± 15.01	26.00 ± 1.73
H _{max} (mL H ₂)	219.97	207.03	37.08	187.31	25.92
R _{max} (mL H ₂ /h)	5.09	5.01	0.40	4.44	0.28
λ (h)	0.00	3.30	7.72	3.35	0.00
RMSEP	4.53	2.30	0.87	2.37	0.50
Rendimiento (mL H ₂ g SV ⁻¹)	116.21 ± 5.53	109.01 ± 3.29	17.73 ± 2.90	98.30 ± 8.06	11.76 ± 1.22
h _{max} (mL H ₂ g SV ⁻¹)	113.98	107.09	17.42	96.70	11.63
r _{max} (mL H ₂ g ⁻¹ SV h ⁻¹)	2.60	2.61	0.21	2.30	0.14
λ (h)	0.00	3.79	18.80	3.90	13.38
RMSEP	2.29	1.22	0.38	1.25	0.21

H_{max} (mL H₂), producción máxima acumulada de biohidrógeno; h_{max} (mL H₂ g⁻¹ SV), producción máxima acumulada específica de biohidrógeno; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida; R_{max} (mL H₂/h), tasa máxima de producción de biohidrógeno; r_{max} (mL H₂ g⁻¹ SV h), tasa máxima de producción específica de biohidrógeno; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; SV, sólidos volátiles; λ (h), fase de retraso.

El sustrato OPW_c, procesado mediante HA para la extracción de pectina, presentó una reducción drástica en la producción de biohidrógeno (H_{max} = 37.08 mL H₂) y una fase de retardo significativamente prolongada (λ = 7.72 h) en comparación con OPW_a y OPW_b. Esta disminución en la actividad fermentativa sugiere que la extracción de pectina, un carbohidrato fermentable, redujo considerablemente la disponibilidad de moléculas fácilmente degradables para el metabolismo microbiano (Nagarajan et al., 2019). Tras la remoción de la pectina, la fracción orgánica residual del sustrato estuvo compuesta principalmente por fibras estructurales complejas, como celulosa y hemicelulosa, cuya hidrólisis enzimática es más lenta y menos eficiente en procesos fermentativos anaerobios. Además, aunque todas las pruebas iniciaron con un pH ajustado a 7, el proceso de HA empleado en OPW_c pudo haber generado compuestos inhibidores microbianos (Rodríguez-Valderrama et al., 2020) y dejado una acidez residual que persistió durante la fermentación. Esta acidez residual, combinada con la acumulación de AGV, pudo haber reducido la capacidad buffer del sistema, afectando la estabilidad del consorcio microbiano.

Por otro lado, OPW_d, que fue sometido tanto a extracción de AE como a extracción de pectina mediante HD, mantuvo una producción acumulada de biohidrógeno relativamente alta (H_{max} = 187.31 mL H₂). Estos resultados sugieren que la HD es un método menos agresivo en comparación con la HA,

ya que no afecta significativamente la fracción fermentable del sustrato. En contraste, OPW_e, que pasó por extracción de AE mediante HD seguida de extracción de pectina por HA, presentó la menor producción de hidrógeno ($H_{\max} = 25.92 \text{ mL H}_2$), lo que refleja los efectos negativos combinados de ambas extracciones, particularmente la acidez residual y la posible presencia de inhibidores derivados del proceso de HA.

Estos resultados evidencian la interacción compleja entre el pH del sustrato, la producción de AGV y los rendimientos de biohidrógeno. A pesar de que el pH inicial fue neutralizado en todas las pruebas, la extracción de pectina mediante HA disminuyó la disponibilidad de sustratos fermentables y favoreció condiciones inhibitorias que promovieron una reducción progresiva del pH durante la fermentación. Esto se reflejó en la acumulación de AGV en OPW_e, lo que exacerbó la acidificación del medio y generó un ambiente desfavorable para la producción de biohidrógeno. Para mitigar estos efectos, estrategias como la adición de compuestos alcalinos al inicio del proceso, el control del pH durante la fermentación o la optimización de las condiciones de pretratamiento podrían contribuir a mejorar la estabilidad del sistema.

En contraste, la extracción secuencial de AE y pectina mediante HD permitió mantener una producción de biohidrógeno relativamente alta, lo que indica que este método preserva en mayor medida la calidad fermentable del sustrato. Esto resalta la importancia de seleccionar adecuadamente las rutas de extracción, equilibrando la recuperación de biocompuestos con la conservación de las propiedades fermentativas del OPW para su integración en esquemas de biorrefinería.

El pH y la alcalinidad de los efluentes desempeñan un papel crítico en la estabilidad del proceso fermentativo y en su posible aplicación en procesos subsecuentes dentro de la biorrefinería. Las pruebas con mayores rendimientos de biohidrógeno (OPW_a, OPW_b y OPW_d) también exhibieron las reducciones más pronunciadas en el pH final, alcanzando valores de 6.21, 6.07 y 5.88, respectivamente (Tabla 15). Esta reducción en el pH se atribuye a la elevada producción de AGV como subproducto del metabolismo microbiano. La generación de AGV es un resultado relevante, ya que estos compuestos pueden ser aprovechados en procesos posteriores dentro del esquema de biorrefinería, optimizando la valorización

integral del sustrato. Adicionalmente, estos ensayos mostraron una menor concentración de sólidos volátiles en los efluentes, lo que indica una mayor eficiencia en la degradación de la materia orgánica.

En contraste, la prueba con OPW_c presentó una baja producción de biohidrógeno ($H_{\max} = 37.08$ mL H₂) y una reducción mínima del pH final (6.69). Además, este ensayo retuvo una mayor concentración de sólidos volátiles en comparación con OPW_a, OPW_b y OPW_d, lo que sugiere que la degradación de la materia orgánica en OPW_c fue menos eficiente. Estos resultados indican que el tratamiento aplicado a OPW_c no fue adecuado para la producción de biohidrógeno, probablemente debido a la limitada disponibilidad de sustratos fermentables y la presencia de inhibidores residuales generados en la HA.

Tabla 15. Caracterización de los fermentados tras la producción de biohidrógeno a partir de los cinco OPW_i procesados a RIS 0.6.

Parámetro	OPW _a	OPW _b	OPW _c	OPW _d	OPW _e
pH ₀	7.15 ± 0.02	7.18 ± 0.01	7.19 ± 0.01	7.18 ± 0.01	7.19 ± 0.01
pH _f	6.21 ± 0.06	6.07 ± 0.12	6.69 ± 0.02	5.88 ± 0.05	6.67 ± 0.12
Humedad (%bh)	93.99 ± 0.11	94.09 ± 0.08	93.08 ± 0.08	94.10 ± 0.08	93.19 ± 0.15
Sólidos totales (%bh)	6.01 ± 0.11	5.91 ± 0.08	6.92 ± 0.08	5.90 ± 0.08	6.81 ± 0.15
Sólidos volátiles (%bs)	36.44 ± 1.39	36.05 ± 0.58	38.23 ± 2.23	37.62 ± 1.46	39.78 ± 1.00
Cenizas (%bs)	63.56 ± 1.39	63.95 ± 0.58	61.77 ± 2.23	62.38 ± 1.46	60.22 ± 1.00
Alcalinidad (g CaCO ₃ L ⁻¹)	11.30 ± 0.28	10.86 ± 0.49	10.38 ± 1.46	10.31 ± 0.63	11.47 ± 0.79
AGV (g AGV L ⁻¹)	11.20 ± 0.32	12.24 ± 0.62	10.14 ± 0.77	11.87 ± 0.46	11.54 ± 0.66

AGV, ácidos grasos volátiles; bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_c, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de pectina por hidrólisis ácida; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; OPW_e, bagazo y cáscara de naranja después de la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación y de pectina por hidrólisis ácida; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final.

Por otro lado, el ensayo con OPW_e presentó un comportamiento distintivo en comparación con los demás sustratos. A pesar de obtener la menor producción de biohidrógeno ($H_{\max} = 25.92$ mL H₂) y una reducción moderada en el pH final (6.67), se registró una acumulación notable de AGV (11.54 g AGV L⁻¹). Esta acumulación sugiere un cambio en las rutas metabólicas microbianas, posiblemente inducido por el procesamiento previo del sustrato. Durante la FO, las bacterias fermentativas convierten los carbohidratos en biohidrógeno, AGV (principalmente ácido acético y butírico) y dióxido de carbono. Sin embargo, condiciones subóptimas, como una elevada alcalinidad (11.47 g CaCO₃ L⁻¹ en OPW_e), pueden

alterar el equilibrio metabólico, suprimiendo la producción de biohidrógeno y favoreciendo la acumulación de AGV. La alta alcalinidad en OPW_e probablemente proporcionó una capacidad buffer robusta, evitando descensos severos de pH, pero también limitando las rutas metabólicas necesarias para una producción eficiente de biohidrógeno.

La elevada generación de AGV sugiere una degradación sustancial del sustrato y una actividad microbiana activa, lo que podría beneficiar aplicaciones posteriores dentro de la biorrefinería, como la producción de biohidrógeno mediante FF. No obstante, estos resultados resaltan la importancia del control preciso del pH y la capacidad buffer en el sistema de fermentación, para equilibrar la producción de biohidrógeno y la acumulación de AGV. Estos hallazgos subrayan la interacción crítica entre la composición del sustrato, la capacidad de amortiguamiento y las rutas metabólicas, proporcionando información clave para la optimización de la FO en biorrefinerías de OPW.

8.2.1.2. *Evaluación del efecto de la RIS sobre el potencial de biohidrógeno por FO de OPW_i seleccionados.*

La Figura 27 muestra los resultados de la FO de los sustratos OPW_a, OPW_b y OPW_d bajo diferentes RIS. La mayor producción acumulada de biohidrógeno ($H_{\max}$) se obtuvo en OPW_a a RIS 0.2, con un valor de 308.00 mL H₂. Sin embargo, este ensayo presentó una fase de retardo prolongada ($\lambda = 10.69$ h) (Tabla 16). Al aumentar la RIS a 0.6, la producción de biohidrógeno disminuyó a 258.74 mL H₂, pero no se observó fase de retardo, lo que sugiere una degradación más rápida de la materia orgánica disponible. En el caso de OPW_b, se observó una tendencia similar, con una reducción en $H_{\max}$ de 283.68 mL H₂ a 275.63 mL H₂ al aumentar la RIS de 0.2 a 0.6, mientras que la fase de retardo disminuyó de 13.64 h a 4.54 h.

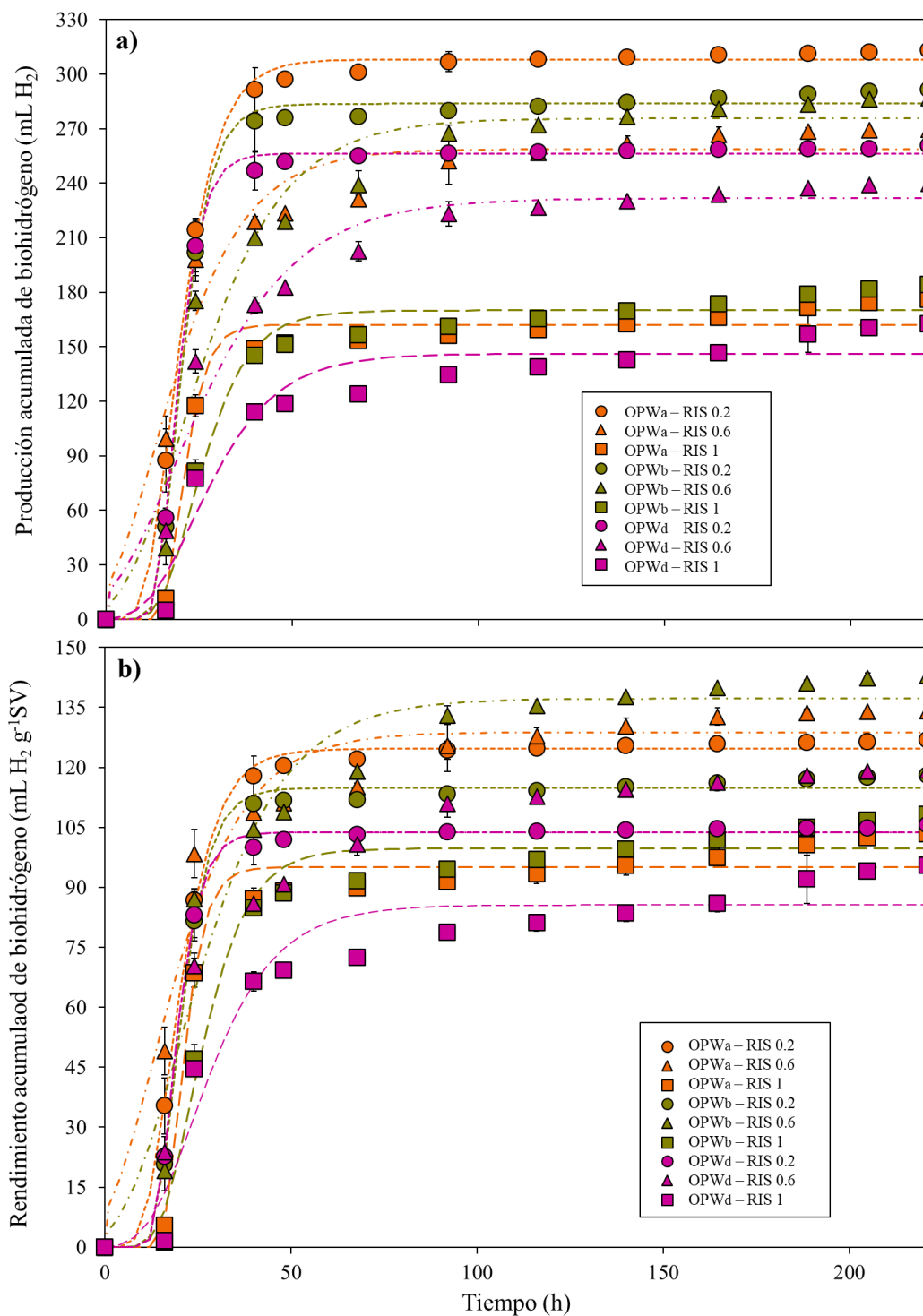


Figura 27. Rendimiento hidrogenogénico de OPW_{a,b,d} en la evaluación del efecto de la variación de la RIS: a) producción acumulada de biohidrógeno, b) rendimiento acumulado de biohidrógeno. OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; RIS, relación inóculo-sustrato.

Tabla 16. Parámetros cinéticos de la ecuación de Gompertz modificada del rendimiento hidrogenogénico de OPW_{a,b,d} en la evaluación de la relación inóculo-sustrato (RIS).

Parámetro	OPW _a			OPW _b			OPW _d		
RIS	0.2	0.6	1	0.2	0.6	1	0.2	0.6	1
Producción (mL H ₂)	313.37 ± 3.46	269.37 ± 28.57	176.00 ± 22.72	291.50 ± 12.01	287.00 ± 5.29	184.00 ± 6.08	260.77 ± 11.85	239.70 ± 13.16	162.67 ± 2.31
H _{max} (mL H ₂)	308.00	258.74	162.13	283.68	275.63	169.97	256.40	231.75	146.13
R _{max} (mL H ₂ /h)	16.76	7.22	15.40	20.72	6.63	7.54	22.46	4.75	4.34
λ (h)	10.69	0.00	15.82	13.64	4.54	14.65	13.55	0.57	10.77
RMSEP	4.13	14.11	7.97	4.78	19.20	9.22	3.13	12.57	12.32
Rendimiento (mL H ₂ g ⁻¹ SV)	126.83 ± 1.40	134.07 ± 14.05	103.34 ± 13.65	117.98 ± 4.86	142.88 ± 2.90	108.10 ± 3.44	105.54 ± 4.80	119.24 ± 6.78	95.40 ± 1.72
h _{max} (mL H ₂ g ⁻¹ SV)	124.65	128.78	95.08	114.81	137.20	99.72	103.77	115.28	85.56
r _{max} (mL H ₂ g ⁻¹ SV h)	6.78	3.58	9.29	8.38	3.30	4.47	9.09	2.35	2.56
λ (h)	10.69	0.00	16.10	13.64	4.66	14.95	13.55	0.58	11.18
RMSEP	1.67	7.06	4.75	1.93	9.61	5.56	1.26	6.30	7.38

H_{max} (mL H₂), producción máxima acumulada de biohidrógeno; h_{max} (mL H₂ g⁻¹ SV), producción máxima acumulada específica de biohidrógeno; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; R_{max} (mL H₂/h), tasa máxima de producción de biohidrógeno; r_{max} (mL H₂ g⁻¹ SV h), tasa máxima de producción específica de biohidrógeno; RIS, relación inóculo-sustrato; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; SV, sólidos volátiles; λ (h), fase de retraso.

Tabla 17. Caracterización de los fermentados después de la producción de biohidrógeno a partir del OPW_{a,b,d} en la evaluación de la relación inóculo-sustrato (RIS).

Parámetro	OPW _a			OPW _b			OPW _d		
RIS	0.2	0.6	1	0.2	0.6	1	0.2	0.6	1
pH ₀	7.03 ± 0.01	7.08 ± 0.01	7.06 ± 0.03	7.08 ± 0.01	7.08 ± 0.01	7.06 ± 0.02	7.06 ± 0.02	7.08 ± 0.00	7.07 ± 0.03
pH _f	5.03 ± 0.07	5.55 ± 0.09	6.08 ± 0.04	4.98 ± 0.04	5.59 ± 0.04	5.98 ± 0.05	4.93 ± 0.05	5.58 ± 0.07	5.96 ± 0.05
Humedad (%bh)	96.63 ± 0.21	94.99 ± 0.17	93.76 ± 0.24	96.42 ± 0.27	94.89 ± 0.22	93.44 ± 0.39	96.04 ± 0.25	94.35 ± 0.16	93.15 ± 0.26
Sólidos totales (%bh)	3.37 ± 0.21	5.01 ± 0.17	6.24 ± 0.24	3.58 ± 0.27	5.11 ± 0.22	6.56 ± 0.39	3.96 ± 0.25	5.65 ± 0.16	6.85 ± 0.26
Sólidos volátiles (%bs)	65.12 ± 1.34	48.13 ± 1.06	42.50 ± 1.18	66.25 ± 2.53	51.87 ± 2.86	48.07 ± 2.68	70.30 ± 2.72	52.37 ± 1.44	47.36 ± 1.39
Cenizas (%bs)	34.88 ± 1.34	51.87 ± 1.06	57.50 ± 1.18	33.75 ± 2.53	48.13 ± 2.86	51.93 ± 2.68	29.70 ± 2.72	47.63 ± 1.44	52.64 ± 1.39
Alcalinidad (g CaCO ₃ L ⁻¹)	3.00 ± 0.55	8.24 ± 0.73	17.64 ± 3.15	2.47 ± 0.27	7.90 ± 0.37	18.00 ± 0.56	2.41 ± 0.63	6.83 ± 0.55	18.01 ± 1.01
AGV (g AGV L ⁻¹)	6.90 ± 0.69	13.64 ± 1.19	13.86 ± 2.70	7.40 ± 0.78	13.10 ± 0.65	16.83 ± 0.74	7.08 ± 0.39	11.97 ± 0.91	13.27 ± 6.55

AGV, ácidos grasos volátiles; bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final.

Desde la perspectiva de rendimiento de biohidrógeno, los ensayos realizados con RIS 0.6 mostraron un desempeño superior en comparación con las otras RIS evaluadas. Esto se debe a una degradación más eficiente de la materia orgánica, atribuida a una concentración adecuada de inóculo, que permite un mejor equilibrio entre la disponibilidad del sustrato y la actividad microbiana. En contraste, RIS 1 presentó la menor producción de biohidrógeno (162.13 mL H₂) y una fase de retardo prolongada ($\lambda = 15.82$ h). Se ha reportado que valores elevados de RIS pueden afectar negativamente la producción de biohidrógeno, ya que un exceso de inóculo inicial puede generar competencia microbiana intensa y favorecer la proliferación de especies no productoras de biohidrógeno. En particular, condiciones de RIS altas pueden estimular el crecimiento de bacterias homoacetogénicas, las cuales consumen hidrógeno para la producción de ácido acético, reduciendo el rendimiento global del proceso (Alavi-Borazjani et al., 2021; Argun et al., 2008). Esta hipótesis se ve respaldada por el incremento en la concentración de AGV en los ensayos con RIS 1 (Tabla 17), lo que sugiere un cambio metabólico hacia rutas no productoras de biohidrógeno. Estos resultados subrayan la importancia de optimizar la RIS para equilibrar la dinámica microbiana y maximizar la producción de biohidrógeno en sistemas de FO.

Estudios previos han analizado la influencia del pretratamiento del sustrato y la RIS en la producción de biohidrógeno. López-Hernández et al. (2023) evaluaron un proceso secuencial de FO-FF utilizando OPW pretratado con peróxido de hidrógeno alcalino y con extracción previa de AE con etanol, obteniendo rendimientos de 68.9 mL H₂ g⁻¹ SV, inferiores a los reportados en este estudio. Estas discrepancias resaltan el papel crítico del método de pretratamiento en la optimización de la producción de biohidrógeno. En este sentido, la HD utilizada en la presente investigación para la extracción de AE parece preservar una mayor proporción de carbohidratos fermentables, favoreciendo la producción de biohidrógeno en comparación con la extracción con etanol y el pretratamiento con peróxido de hidrógeno alcalino. Estos hallazgos destacan la ventaja del enfoque de biorrefinería aplicado, donde la selección adecuada del pretratamiento contribuye a reducir los efectos inhibitorios del sustrato y a mantener su calidad fermentable.

Por otro lado, Camargo et al. (2019) estudiaron la influencia del pretratamiento hidrotérmico y asistido con peróxido de hidrógeno alcalino sobre la producción de biohidrógeno a partir de OPW, alcanzando valores de 100.13 mL H₂ g⁻¹ SV a una RIS de 1.16. Este valor es comparable a los obtenidos en este estudio para RIS 1, donde los rendimientos alcanzaron 103.34, 108.10 y 95.40 mL H₂ g⁻¹ SV para OPW_a, OPW_b y OPW_d, respectivamente. Sin embargo, a diferencia de la presente investigación, estos estudios no incluyeron una extracción previa de biocompuestos antes de la fermentación ni emplearon

únicamente inóculo pretratado externamente, sino que trabajaron con comunidades microbianas autóctonas y alóctonas. Estas diferencias resaltan la complejidad de integrar la extracción de biocompuestos y la selección del inóculo en el marco de una economía circular.

Asimismo, en un estudio sobre la FO de *Opuntia* spp., Carrillo-Verástegui et al. (2022) encontraron que RIS 0.2 maximizó el rendimiento de biohidrógeno, lo que contrasta con los resultados de la presente investigación, donde RIS 0.6 mostró el mejor desempeño. Estas discrepancias sugieren que el valor óptimo de RIS es específico del sustrato, probablemente influenciado por la composición fisicoquímica del material y su interacción con el inóculo. En este caso, el mayor contenido de carbohidratos fermentables y la capacidad buffer del OPW podrían contribuir a su mejor desempeño en RIS moderadas.

El análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 % (Tablas de anexos A) reveló que tanto la ruta de procesamiento del OPW_i como la RIS influyeron significativamente en la producción de biohidrógeno ($p = 0.0001$ y $p < 0.0001$, respectivamente) y en el rendimiento ($p = 0.0003$ y $p < 0.0001$, respectivamente). Estos resultados indican que la selección de las rutas de procesamiento y las variaciones en la RIS afectan directamente la producción de biohidrógeno, confirmando un impacto significativo en el desempeño fermentativo. Los resultados del ANOVA respaldan las tendencias observadas en $h_{\max}$ (mL H₂ g⁻¹ SV), donde RIS 0.6 mostró consistentemente un mayor rendimiento de biohidrógeno y una fase de retardo más corta, lo que sugiere que esta proporción proporciona las condiciones más favorables para la actividad microbiana y la utilización del sustrato.

En cuanto a la caracterización de los efluentes, las concentraciones de AGV fueron más elevadas en los ensayos con RIS 1, alcanzando valores de 13.86 g AGV L⁻¹ para OPW_a, 16.83 g AGV L⁻¹ para OPW_b y 13.27 g AGV L⁻¹ para OPW_d. Estas concentraciones más altas de AGV sugieren una conversión más eficiente del sustrato en estos compuestos a mayores valores de RIS. Esto puede beneficiar procesos posteriores dentro de la biorrefinería, como la FF. A pesar de su potencial para aplicaciones biotecnológicas, las altas concentraciones de AGV en RIS 1 se correlacionaron con una menor producción de biohidrógeno, lo que indica un cambio metabólico hacia rutas no hidrogenogénicas. Por lo tanto, aunque RIS 1 podría ser útil para generar efluentes ricos en AGV, el análisis estadístico y los resultados cinéticos del presente estudio identifican a RIS 0.6 como la condición más favorable para maximizar la producción de biohidrógeno por FO de OPW_{a,b,d}.

En conclusión, OPW_b a una RIS de 0.6 se identificó como la mejor configuración para la valorización del OPW en términos de rendimiento de biohidrógeno, presentando las tasas más altas de

producción y una concentración de AGV relativamente elevada, lo que podría ser aprovechado en procesos posteriores dentro de la biorrefinería. Estos hallazgos resaltan la importancia de seleccionar adecuadamente la ruta de procesamiento y la RIS, optimizando la producción de biohidrógeno sin comprometer la eficiencia global del modelo de biorrefinería basado en OPW.

8.3. Actividad 3. Producción de biohidrógeno por fotofermentación de los efluentes líquidos de fermentación oscura.

El rendimiento acumulado de biohidrógeno (Figura 28-c) mostró una relación inversa con la concentración de EFO, evidenciando el impacto de la opacidad del medio en la eficiencia de conversión. Los mayores rendimientos se observaron a una concentración de 25% EFO, alcanzando 64.8, 126.5 y 122 mL H₂ g⁻¹ AGV para los sustratos EFO_a (efluente de FO a partir de OPW_a), EFO_b y EFO_d, respectivamente. En contraste, al aumentar la concentración a 35% EFO, los rendimientos de biohidrógeno disminuyeron a 17.6, 45.9 y 69.5 mL H₂ g⁻¹AGV, y se redujeron aún más a 13.7, 39.9 y 19.5 mL H₂ g⁻¹AGV con 45% EFO. Estos resultados sugieren que una mayor concentración de EFO incrementa la disponibilidad de AGV, pero también intensifica la coloración del medio, lo que limita la penetración de luz y afecta negativamente el metabolismo fotofermentativo.

Los resultados de crecimiento microbiano (Figura 28-b) refuerzan esta hipótesis, demostrando una fuerte dependencia de la concentración de EFO. A 25% EFO, el crecimiento microbiano fue óptimo en todos los sustratos, con concentraciones finales de biomasa de 2.405 ± 0.124 g L⁻¹ para el EFO_a, 2.264 ± 0.280 g L⁻¹ para el EFO_b y 1.812 ± 0.115 g L⁻¹ para EFO_d. Sin embargo, al aumentar la concentración de EFO a 35%, se observó una reducción significativa en la biomasa acumulada para el EFO_b (1.411 ± 0.041 g L⁻¹) y EFO_d (2.245 ± 0.078 g L⁻¹), mientras que EFO_a experimentó una disminución menor (2.348 ± 0.079 g L⁻¹). A 45% EFO, el crecimiento microbiano se vio severamente inhibido en todos los sustratos, especialmente en el EFO_b, donde la biomasa final fue de apenas 0.365 ± 0.015 g L⁻¹. Estos resultados indican que concentraciones elevadas de EFO generan condiciones desfavorables para la proliferación bacteriana, principalmente debido a la intensificación de la coloración del medio, que restringe la penetración de luz necesaria para el metabolismo microbiano (Magnin y Deseure, 2019). Además, la fuerte inhibición observada a 45% EFO sugiere la presencia de un posible efecto de inhibición por el sustrato, lo que limita aún más el crecimiento microbiano (Rodríguez-Valderrama et al., 2022).

El pH final proporciona información clave sobre las tendencias microbianas y metabólicas observadas (Figura 28-a). En general, el pH se mantuvo cercano a la neutralidad, con ligeros aumentos en 25% EFO. El incremento más notable ocurrió en el EFO_d a 25% EFO, donde el pH final alcanzó 8.24 ± 0.31 , lo que sugiere que la actividad metabólica bajo estas condiciones favoreció el consumo de intermediarios ácidos, como los AGV. En contraste, a 45% EFO, se observó una leve acidificación del medio, con valores de pH final de 6.73 ± 0.04 para EFO_a, 6.60 ± 0.00 para EFO_b y 6.96 ± 0.01 para el EFO_d. Esta reducción del pH indica un menor consumo de AGV, probablemente debido a la inhibición

del crecimiento microbiano y la reducción de la actividad metabólica. La relación entre pH final y acumulación de biomasa respalda esta interpretación, ya que los valores más bajos de pH estuvieron asociados con las condiciones de menor proliferación microbiana.

El análisis integral del rendimiento de biohidrógeno, el crecimiento microbiano y la concentración de EFO (Figura 28-d) resalta la interdependencia de estos factores en la FF. Este gráfico de burbujas muestra que los mayores rendimientos de biohidrógeno ocurrieron en condiciones que favorecieron la proliferación microbiana, particularmente a 25% EFO, donde los AGV fueron eficientemente metabolizados, como lo demuestra el ligero aumento en el pH final. Sin embargo, tanto la acumulación de biomasa como el rendimiento de biohidrógeno disminuyeron a 35% y 45% EFO, lo que sugiere que la disponibilidad de sustrato no es suficiente cuando la penetración lumínica se ve comprometida. La disminución progresiva del crecimiento microbiano a concentraciones elevadas de EFO confirma que la intensificación del oscurecimiento del medio restringe la absorción de fotones, lo que limita la actividad metabólica y, en última instancia, inhibe la producción de biohidrógeno. Estos resultados enfatizan la necesidad de optimizar la concentración de EFO, asegurando un equilibrio entre disponibilidad adecuada de sustrato y suficiente penetración lumínica, ambos aspectos críticos para sostener la actividad microbiana y maximizar la eficiencia de producción de biohidrógeno.

Estos resultados son consistentes con investigaciones previas sobre la producción de biohidrógeno por FF, aunque es importante considerar diferencias clave en las condiciones operativas y los tipos de sustrato. Estudios que emplearon sustratos sintéticos, como DL-lactato (He et al., 2006) o hidrolizados enzimáticos (Zhang et al., 2024), han reportado rendimientos de 437.5 a 910.7 mL H₂ g⁻¹ sustrato, significativamente mayores a los obtenidos en este estudio. Estas diferencias pueden atribuirse a la mayor biodisponibilidad de los compuestos orgánicos en medios sintéticos, lo que facilita el metabolismo microbiano y la conversión a biohidrógeno. En contraste, el presente estudio investigó el uso de EFO reales derivados de OPW, un sustrato más complejo y menos biodisponible.

Rodríguez-Valderrama et al. (2022) reportaron rendimientos de biohidrógeno de aproximadamente 579.6 mL H₂ g⁻¹ sustrato al incorporar directamente AGV en medios sintéticos. En contraste, nuestra estrategia adopta un enfoque de bioeconomía circular, integrando técnicas secuenciales de valorización que combinan la FO con la FF. Además, las tendencias de crecimiento microbiano observadas en nuestro estudio se alinean con las documentadas en investigaciones existentes, que van desde 0.79 a 3.50 g L⁻¹ (Rodríguez-Valderrama et al., 2022; He et al., 2006; Zhang et al., 2024; Magnin y Deseure, 2019), lo cual apoya la viabilidad de ampliar esta metodología. Las mejoras futuras, tales

como el pretratamiento del efluente para minimizar la opacidad media y optimizar la composición AGV, podrían aumentar aún más los rendimientos de biohidrógeno, reduciendo así la diferencia de rendimiento entre los subproductos reales y sintéticos, preservando al mismo tiempo los beneficios para la sostenibilidad de la utilización de efluentes derivados de residuos orgánicos.

La investigación futura debería dar prioridad a las estrategias destinadas a mitigar los efectos perjudiciales de la opacidad del medio. Esto podría incluir métodos de pretratamiento del efluente para reducir la coloración, ajustes en el diseño del reactor para mejorar la distribución de la luz o el desarrollo de consorcios microbianos adaptativos que puedan mantener la actividad en condiciones de luz reducida. Abordar estos desafíos puede mejorar la eficiencia y la escalabilidad del proceso de FF para la producción de biohidrógeno. Estos resultados confirman que la producción de biohidrógeno a partir de EFO reales de OPW es factible, pero que su eficiencia depende en gran medida de la optimización de las condiciones del medio, especialmente en términos de transparencia del sustrato y acceso a la luz.

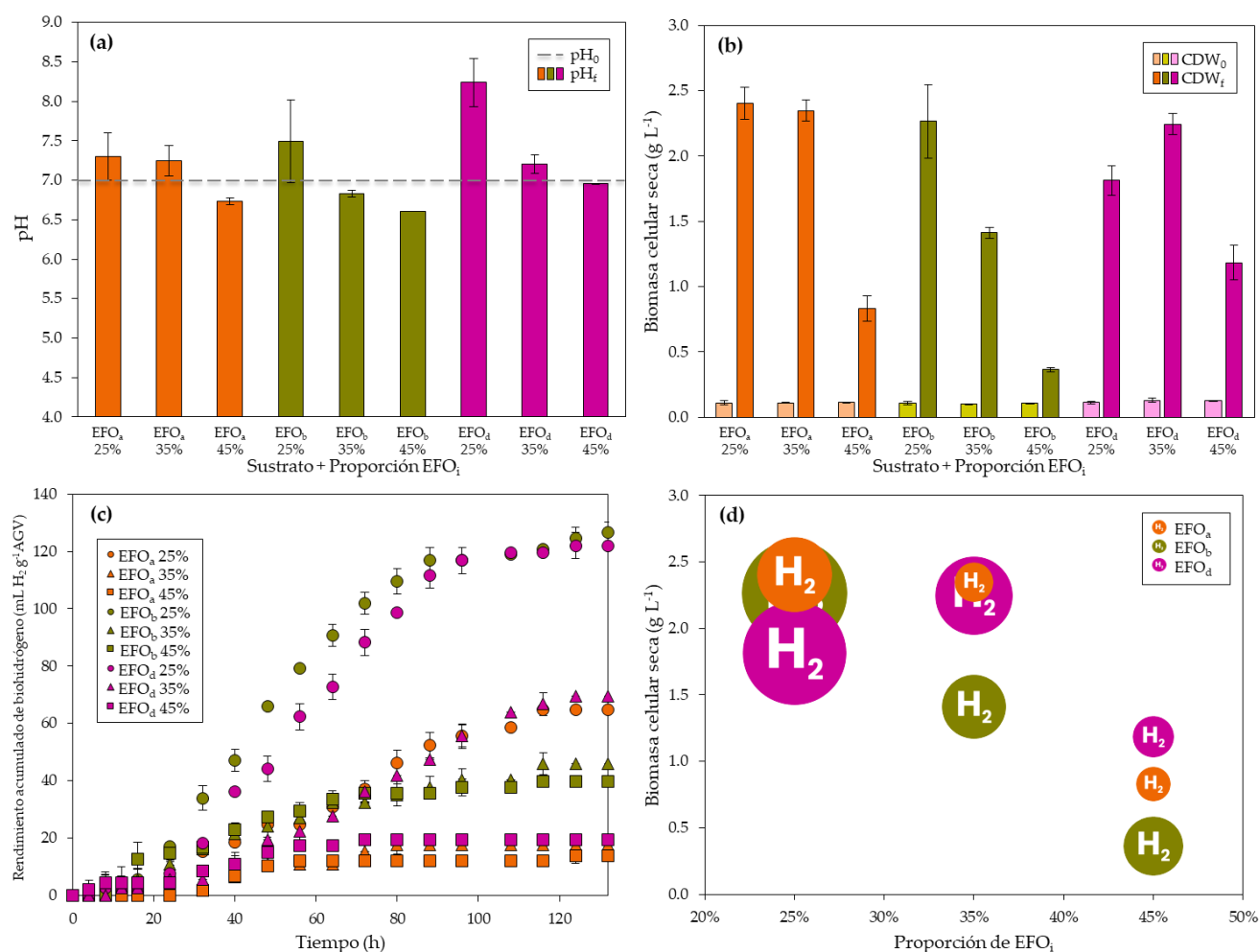


Figura 28. (a) Comparativa de pH inicial vs. final; (b) concentración de biomasa celular seca inicial vs. final; (c) rendimiento de biohidrógeno acumulado; (d) correspondencia entre de la biomasa celular seca y la proporción de efluentes de fermentación oscura (EFO) sobre los rendimientos acumulados de biohidrógeno en ensayos de fotofermentación de efluentes de fermentación oscura a partir de residuos de bagazo y cáscara de naranja. EFO_a, EFO a partir de OPW_a; EFO_b, EFO a partir de OPW_b; EFO_d, EFO a partir de OPW_d; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación. Los valores 25, 35 y 45 hacen referencia a la proporción de EFO usados en cada ensayo

El análisis de ANOVA (Tabla de anexo) indicó que la proporción de EFO tuvo el mayor impacto en todas las variables analizadas, con valores de $F = 51.82$, $p < 0.0001$ para el rendimiento acumulado de biohidrógeno, $F = 24.70$, $p < 0.0001$ para la producción acumulada de biohidrógeno y $F = 168.74$, $p < 0.0001$ para el crecimiento microbiano. Aunque el tipo de sustrato también mostró un efecto significativo ($p < 0.05$), su influencia fue comparativamente menor. Además, la interacción del EFO_i × %EFO no fue significativa para el rendimiento de biohidrógeno ($p = 0.1268$) ni para la producción

acumulada ($p = 0.1298$), lo que sugiere que el efecto inhibitorio del EFO fue constante en todos los sustratos, lo que refuerza la idea de que la atenuación lumínica es el principal factor limitante en lugar de variaciones en la composición del sustrato.

Para el crecimiento microbiano, el término de interacción resultó significativo ($p < 0,0001$), indicando que el grado de inhibición en una proporción elevada de EFO está influenciado por el sustrato utilizado, probablemente debido a variaciones en la composición del AGV o a la presencia de compuestos inhibidores. Estos hallazgos estadísticos son coherentes con los resultados experimentales, confirmando que la optimización de la proporción de EFO es crucial para mantener la actividad microbiana y la producción de biohidrógeno. Las estrategias, como el pretratamiento de los efluentes o la mejora del diseño de los reactores para mejorar la distribución de la luz podrían ayudar a mitigar los efectos negativos observados.

Para comprender mejor la dinámica de la producción de biohidrógeno, los datos experimentales se analizaron utilizando tres modelos cinéticos, como se explica en la sección 7.3.4.4. La eficacia de cada modelo se evaluó mediante el RMSEP, que sirvió como indicador de la calidad del ajuste. Como se muestra en la Tabla 18 para la producción acumulada de biohidrógeno, tanto los modelos de Gompertz modificado y T_i -Gompertz lograron los ajustes más precisos, reflejados por los valores RMSEP más bajos a través de todas las condiciones experimentales. Notablemente, para el EFO_b a 25% EFO, el modelo de Gompertz modificado logró el menor RMSEP de 0.39, prediciendo con éxito un $H_{\max}$ de 33.51 mL H_2 , que se alineó estrechamente con la medición experimental de 33.50 mL H_2 . De forma similar, para el EFO_d a 25% EFO, tanto los modelos Gompertz modificado como T_i -Gompertz demostraron una gran capacidad predictiva, cada uno con un valor RMSEP de 0.63. En contraste, el modelo de Boltzmann exhibió mayores desviaciones, particularmente bajo concentraciones más altas de EFO, con valores de RMSEP que alcanzaron 1.03 para el EFO_b al 45% de EFO. Esto indica una representación menos exacta de la dinámica de producción de biohidrógeno en esas condiciones específicas.

Tabla 18. Parámetros cinéticos de los modelos Gompertz modificado, T_i -Gompertz y Boltzmann sobre la producción máxima acumulativa de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes de fermentación oscura de bagazo y de cáscara de naranja.

Parámetro	EFO _a			EFO _b			EFO _d		
% EFO	25	35	45	25	35	45	25	35	45
Producción,	21.00 ±	8.00 ±	8.00 ±	33.50 ±	17.00 ±	19.00 ±	31.33 ±	25.00 ±	9.00 ±
$H_{\max,e}$ (mL H ₂)	4.24	2.83	2.83	6.61	4.24	4.24	5.03	1.41	4.24
Modelo Gompertz modificado									
$H_{\max}$ (mL H ₂)	24.22	8.53	7.25	33.51	17.35	18.79	32.99	31.12	9.42
$R_{\max}$ (mL H ₂ h ⁻¹)	0.25	0.13	0.40	0.57	0.21	0.32	0.51	0.30	0.16
λ (h)	20.14	14.25	29.81	17.24	6.99	5.08	24.23	28.59	3.60
RMSEP	0.77	0.48	0.28	0.39	0.57	0.83	0.63	0.51	0.51
Modelo T_i -Gompertz									
$H_{\max}$ (mL H ₂)	24.22	8.53	7.25	33.51	17.35	18.79	32.99	31.12	9.42
$R_{\max}$ (mL H ₂ h ⁻¹)	0.25	0.13	0.40	0.57	0.21	0.32	0.51	0.30	0.16
T_i (h)	55.46	38.38	36.56	39.01	36.84	26.55	48.05	66.84	25.59
RMSEP	0.77	0.48	0.28	0.39	0.57	0.83	0.63	0.51	0.51
Modelo sigmoidal de Boltzmann ¹									
$H_{\max}$ (mL H ₂)	21.80	8.21	7.21	32.34	16.47	18.33	31.49	26.66	9.17
$R_{\max}$ (mL H ₂ h ⁻¹)	0.28	0.14	0.40	0.59	0.22	0.32	0.54	0.34	0.16
t_{50} (h)	64.94	47.75	39.57	47.52	47.39	35.44	56.91	73.98	34.70
dx (h)	19.54	15.07	4.52	13.62	18.88	14.19	14.61	19.76	13.91
RMSEP	0.91	0.42	0.30	0.83	0.84	1.03	0.72	0.54	0.37

¹ Producción inicial de biohidrógeno, $H_0 = 0$ mL H₂.

² EFO, efluente de fermentación oscura; dx , parámetro de ajuste de pendiente; $H_{\max}$, producción máxima acumulada de biohidrógeno; $H_{\max,e}$, producción máxima experimental acumulada de biohidrógeno; $R_{\max}$, tasa máxima de producción de biohidrógeno; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; T_i , tiempo en el punto de inflexión; t_{50} , tiempo para llegar a la mitad de $H_{\max}$; λ , fase de retraso; EFO_a, EFO a partir de OPW_a; EFO_b, EFO a partir de OPW_b; EFO_d, EFO a partir de OPW_d; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación.

La Tabla 19 presenta los parámetros cinéticos para el rendimiento de biohidrógeno (mL H₂ g⁻¹ AGV), revelando que tanto los modelos modificados de Gompertz y T_i -Gompertz exhiben capacidades predictivas superiores. Para el Sustrato B a 25% EFO, el modelo de Gompertz modificado logró un RMSEP de 1.47, con una producción máxima acumulada específica de biohidrógeno ($h_{\max}$) de 126.55 mL H₂ g⁻¹AGV, alineando estrechamente con el valor experimental de 126.50 mL H₂ g⁻¹ AGV. En un sentido similar, el modelo de T_i -Gompertz para el EFO_d a 25% EFO demostró el RMSEP más bajo de 1.41, confirmando aún más su fiabilidad en la predicción del rendimiento de biohidrógeno en condiciones óptimas. En contraste, el modelo de Boltzmann exhibió valores RMSEP más altos, particularmente para el EFO_d a 25% EFO, con una medición de 3.12, indicando sus limitaciones en modelar con precisión la cinética de producción de biohidrógeno bajo estos escenarios.

Los resultados de este estudio concuerdan con investigaciones anteriores (Rodríguez-Valderrama et al., 2022), que identificaron el modelo de Gompertz modificado como el más apropiado para caracterizar la producción de biohidrógeno por FF. Este modelo tiene en cuenta eficazmente la dinámica de las fases de retardo y las tasas de producción dependientes del sustrato. En general, estos hallazgos refuerzan que el modelo de Gompertz modificado ofrece la mejor adaptación tanto para la producción acumulativa de biohidrógeno como para el rendimiento del mismo, lo que lo convierte en una herramienta valiosa para predecir y optimizar la producción de hidrógeno a partir de EFO real.

Tabla 19. Parámetros cinéticos de los modelos de Gompertz modificado, T_i -Gompertz y Boltzmann sobre la producción máxima acumulada específica de biohidrógeno por fotofermentación de efluentes de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja.

Parámetro	EFO _a			EFO _b			EFO _d		
% EFO	25	35	45	25	35	45	25	35	45
Rendimiento, $h_{\max,e}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV)	64.77 ± 13.09	17.63 ± 6.23	13.71 ± 4.85	126.50 ± 24.95	45.85 ± 11.44	39.86 ± 8.90	122.01 ± 19.60	69.54 ± 3.93	19.47 ± 9.18
Modelo Gompertz modificado									
$h_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV)	74.71	18.78	12.43	126.55	46.79	39.42	128.45	86.55	20.37
$r_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV h)	0.78	0.29	0.68	2.14	0.58	0.68	1.98	0.83	0.34
λ (h)	20.14	14.25	29.81	17.24	6.99	5.08	24.23	28.59	3.60
RMSEP	2.37	1.05	0.48	1.47	1.55	1.74	2.46	1.41	1.10
Modelo T_i -Gompertz									
$h_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV)	74.71	18.78	12.43	126.55	46.79	39.42	128.45	86.55	20.37
$r_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV h)	0.78	0.29	0.68	2.14	0.58	0.68	1.98	0.83	0.34
T_i (h)	55.46	38.38	36.56	39.01	36.84	26.55	48.05	66.84	25.59
RMSEP	2.37	1.05	0.48	1.47	1.55	1.74	2.46	1.41	1.10
Modelo sigmoidal de Boltzmann ¹									
$h_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV)	67.25	18.09	12.36	122.11	44.43	38.46	122.64	74.16	19.84
$r_{\max}$ (mL H ₂ g ⁻¹ AGV h)	0.86	0.30	0.68	2.24	0.59	0.68	2.10	0.94	0.36
t_{50} (h)	64.94	47.75	39.57	47.52	47.39	35.44	56.91	73.98	34.70
dx (h)	19.54	15.07	4.52	13.62	18.88	14.19	14.61	19.76	13.91
RMSEP	2.80	0.93	0.52	3.12	2.27	2.16	2.80	1.51	0.81

¹ Producción inicial específica de biohidrógeno, $H_0 = 0$ mL H₂ g⁻¹ AGV.

² EFO, efluente de fermentación oscura; dx , parámetro de ajuste de pendiente; $h_{\max}$, producción máxima acumulada específica de biohidrógeno; $h_{\max,e}$, producción máxima experimental acumulada específica de biohidrógeno; $r_{\max}$, tasa máxima de producción específica de biohidrógeno; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; T_i , tiempo en el punto de inflexión; t_{50} , tiempo para llegar a la mitad de $H_{\max}$; λ , fase de retraso; EFO_a, EFO a partir de OPW_a; EFO_b, EFO a partir de EFO_c; Sustrato D, EFO a partir de OPW_d; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación.

8.4. Actividad 4. Producción de biometano por digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura.

La DA de las fracciones sólidas de residuales (SFO_a , SFO_b y SFO_d) generadas tras la FO de los OPW_i procesados evidenció una producción diferencial de biometano, influida tanto por la ruta de procesamiento del OPW como por la RIS. La Figura 29-A muestra los perfiles de producción diaria de biometano, mientras que la Figura 29-B presenta los rendimientos acumulados alcanzados para cada combinación SFO_i -RIS.

En general, los rendimientos acumulados fueron notablemente mayores para los sustratos OPW_i (biomasa no fermentada por FO) en comparación con las respectivas fracciones sólidas residuales SFO_i . Por ejemplo, OPW_a y OPW_b , a $RIS = 1$, alcanzaron valores acumulados de 118.4 y 117.6 mL CH_4 , respectivamente, mientras que SFO_a y SFO_b bajo la misma condición generaron solo 26.3 y 21.0 mL CH_4 . Esta diferencia refleja la mayor disponibilidad de materia orgánica fácilmente biodegradable en la biomasa entera, frente al contenido más recalcitrante de las fracciones sólidas residuales.

Entre los sustratos SFO_i , SFO_a a $RIS = 1$ mostró el mayor rendimiento, aunque todos los casos presentaron valores moderados de producción, lo que sugiere que gran parte de la fracción fermentable fue consumida durante la etapa previa de FO. Además, se observó que un aumento en la RIS no necesariamente mejora el rendimiento acumulado de biometano. En varios casos, como SFO_a y SFO_d , el aumento de RIS condujo a una disminución del rendimiento, probablemente por efectos de sobrecarga de biomasa o acumulación de compuestos inhibidores, como AGV, que afectan negativamente la actividad metanogénica.

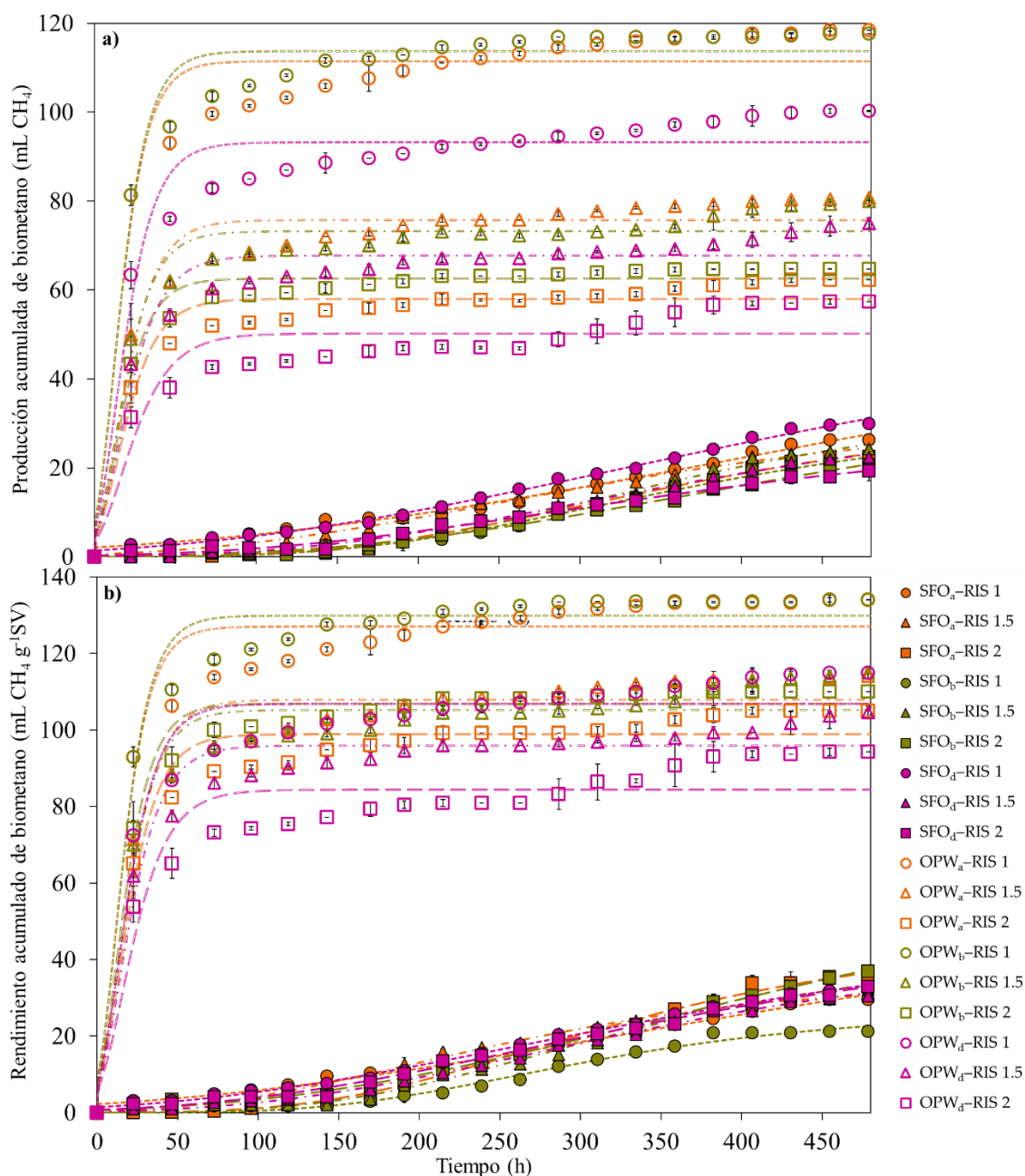


Figura 29. Desempeño metanogénico de SFO_{a,b,d} evaluando el efecto de la variación de la RIS y su comparación contra los controles de biomasa OPW_{a,b,d}: a) producción acumulada de biometano, b) rendimiento acumulado de biometano. OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación, RIS, relación inóculo-sustrato; SFO_a, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_a; SFO_b, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_b; SFO_d, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_d.

El análisis cinético mediante el modelo de Gompertz modificado (Tablas 20 y 21) permitió describir adecuadamente las curvas de producción acumulada y comparar el desempeño entre tratamientos. En los casos de SFO_a y SFO_b, los valores de $H_{\max}$ decrecieron ligeramente al aumentar la

RIS, mientras que $R_{\max}$ y λ mostraron comportamientos variables, reflejando la sensibilidad de la actividad microbiana a la composición del sustrato. Por ejemplo, SFO_a a RIS 1 presentó un $H_{\max}$ de 62.8 mL CH₄ y un $R_{\max}$ de 0.068 mL h⁻¹, con un tiempo de latencia de 74.6 h, indicando una cinética moderadamente activa. En contraste, a RIS 2, el $H_{\max}$ bajó a 31.7 mL CH₄, y el valor de λ se incrementó notablemente a más de 150 h, evidenciando una disminución de la actividad metanogénica y un retraso en el inicio de la producción.

En síntesis, estos resultados confirman que, si bien las fracciones sólidas SFO_i pueden ser sometidas a DA como estrategia de valorización complementaria, su potencial metanogénico es limitado respecto a la biomasa entera OPW_i. Además, la RIS influye significativamente en los patrones cinéticos y en el rendimiento final, por lo que su optimización es clave para mejorar la eficiencia global del proceso. Los datos obtenidos respaldan el enfoque de una valoración integral en esquemas de biorrefinería, donde cada fracción del residuo puede destinarse a procesos específicos según su composición y potencial energético.

Tabla 20. Resultados del ajuste cinético de producción y rendimiento acumulado de biometano al modelo de Gompertz modificado para sustratos SFO_i

Parámetro	SFO _a RIS 1	SFO _a RIS 1.5	SFO _a RIS 2	SFO _b RIS 1	SFO _b RIS 1.5	SFO _b RIS 2	SFO _d RIS 1	SFO _d RIS 1.5	SFO _d RIS 2
Producción (mL CH ₄)	26.30 ± 4.88	24.27 ± 4.01	22.50 ± 4.08	21.00 ± 2.55	24.30 ± 3.32	20.57 ± 2.31	29.93 ± 4.57	22.33 ± 7.05	19.33 ± 3.02
$H_{\max}$ (mL CH ₄)	62.79	31.74	31.70	31.09	33.88	36.59	53.54	32.73	27.80
$R_{\max}$ (mL CH ₄ h ⁻¹)	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09	0.07	0.08	0.07	0.05
λ (h)	74.65	69.45	151.81	160.21	164.65	155.67	71.65	127.58	97.14
RMSEP	0.67	0.57	0.60	0.85	0.71	0.65	0.56	0.39	0.61
Rendimiento (mL CH ₄ g ⁻¹ SV)	29.52 ± 5.91	30.71 ± 5.00	35.54 ± 7.97	21.18 ± 3.94	32.24 ± 4.46	36.86 ± 2.69	32.19 ± 5.76	30.48 ± 8.21	32.86 ± 5.48
$h_{\max}$ (mL CH ₄ g ⁻¹ SV)	53.94	34.78	44.58	26.37	41.79	64.65	47.39	41.73	45.38
$r_{\max}$ (mL CH ₄ g ⁻¹ SV h ⁻¹)	0.07	0.10	0.13	0.08	0.11	0.11	0.08	0.09	0.09
λ (h)	44.21	64.92	137.79	143.40	141.19	116.80	53.25	102.04	79.23
RMSEP	0.66	0.66	0.92	1.05	1.18	0.74	0.58	0.59	0.92

$H_{\max}$ (mL CH₄), producción máxima acumulada de biometano; $h_{\max}$ (mL CH₄ g⁻¹SV), producción máxima acumulada específica de biometano; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final; RIS, relación inóculo-sustrato; $R_{\max}$ (mL CH₄ h⁻¹), tasa máxima de producción de biometano; $r_{\max}$ (mL CH₄ g⁻¹SV h⁻¹), tasa máxima de producción específica de biometano; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; SFO_a, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_a; SFO_b, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_b; SFO_d, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_d; SV, sólidos volátiles; λ (h), fase de retraso.

Tabla 21. Resultados del ajuste cinético de producción y rendimiento acumulado de biometano al modelo de Gompertz para sustratos OPW_i.

Parámetro	OPW _a RIS 1	OPW _a RIS 1.5	OPW _a RIS 2	OPW _b RIS 1	OPW _b RIS 1.5	OPW _b RIS 2	OPW _d RIS 1	OPW _d RIS 1.5	OPW _d RIS 2
Producción (mL CH ₄)	118.37 ± 3.21	80.70 ± 5.67	62.27 ± 2.31	117.60 ± 5.47	80.00 ± 12.37	64.73 ± 4.48	100.23 ± 5.09	75.00 ± 3.47	57.37 ± 17.30
H _{max} (mL CH ₄)	111.45	75.73	57.97	113.70	73.19	62.57	93.21	67.74	50.20
R _{max} (mL CH ₄ h ⁻¹)	3.56	2.03	1.56	3.57	2.07	1.89	2.60	1.71	1.11
λ (h)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
RMSEP	6.27	4.17	3.17	4.64	3.85	2.32	5.36	4.00	5.00
Rendimiento (mL CH ₄ g ⁻¹ SV)	133.94 ± 5.15	114.10 ± 8.03	105.03 ± 3.76	134.02 ± 5.60	115.05 ± 17.78	110.00 ± 6.88	114.90 ± 6.30	104.62 ± 8.94	94.26 ± 25.29
H _{max} (mL CH ₄ g ⁻¹ SV)	127.05	107.91	98.89	129.88	105.22	106.85	106.85	95.91	84.41
R _{max} (mL CH ₄ g ⁻¹ SV h ⁻¹)	4.08	2.91	2.70	4.08	2.93	3.26	2.96	2.48	1.99
λ (h)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
RMSEP	6.89	5.73	5.00	5.26	5.78	3.70	6.23	4.98	7.01

H_{max} (mL CH₄), producción máxima acumulada de biometano; h_{max} (mL CH₄ g⁻¹SV), producción máxima acumulada específica de biometano; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final; RIS, relación inóculo-sustrato; R_{max} (mL CH₄ h⁻¹), tasa máxima de producción de biometano; r_{max} (mL CH₄ g⁻¹SV h⁻¹), tasa máxima de producción específica de biometano; RMSEP, error cuadrático medio de predicción; SV, sólidos volátiles; λ (h), fase de retraso.

La caracterización de los efluentes generados tras los procesos de DA permite evaluar el comportamiento del sistema en términos de estabilidad operativa y grado de degradación de la materia orgánica residual. En ambos grupos de sustratos se observaron tendencias similares para los parámetros fisicoquímicos evaluados, aunque con diferencias en magnitud que reflejan la composición inicial del sustrato y su grado de biodegradabilidad.

Los valores de pH final en todos los tratamientos se mantuvieron dentro del rango operativo adecuado para la actividad metanogénica (6.4–7.0), lo que indica una buena capacidad de amortiguamiento del sistema. En algunos casos, particularmente SFO_b a RIS 1, se registraron valores más bajos (6.48 ± 0.45), lo que sugiere una acumulación de AGV superior a la capacidad tampón local. Aun así, los valores de alcalinidad total se mantuvieron por encima de los 10 g CaCO₃ L⁻¹, lo que indica una resistencia adecuada del sistema a caídas abruptas de pH, condición crítica para evitar inhibiciones en la actividad de arqueas metanogénicas.

En cuanto a los AGV, las concentraciones fueron relativamente similares entre los tratamientos, con valores entre 12.8 y 15.5 g AGV L⁻¹. Las fracciones sólidas SFO_i presentaron valores ligeramente

menores a los de sus contrapartes OPW_i, lo que se relaciona con una menor actividad fermentativa derivada de su menor contenido de compuestos fácilmente degradables. Esto es consistente con los menores rendimientos de biometano observados en los ensayos con SFO_i.

Respecto a los sólidos totales, los valores en los efluentes oscilaron entre 6.1 y 8.4 %bh, y mostraron un incremento con el aumento de la RIS. Este comportamiento sugiere que a mayores proporciones de sustrato se presenta una acumulación de materia no degradada, lo que puede reflejar un efecto de sobrecarga orgánica o una limitación en la capacidad de biodegradación del sistema.

Finalmente, en relación con los sólidos volátiles (%bs), los valores registrados fueron del orden de 39 a 46%, lo que representa una fracción orgánica aún significativa en el efluente. Esta observación sugiere que, si bien se alcanzó una degradación sustancial durante la DA, persiste una fracción recalcitrante que podría ser objeto de procesos de valorización adicionales, como tratamientos aeróbicos o integraciones dentro de una estrategia de biorrefinería en cascada.

Tabla 22. Resultados de caracterización final de los procesos de digestión anaerobia de la fracción sólida residual de fermentación oscura (SFO_i).

Parámetro	SFO _a RIS 1	SFO _a RIS 1.5	SFO _a RIS 2	SFO _b RIS 1	SFO _b RIS 1.5	SFO _b RIS 2	SFO _d RIS 1	SFO _d RIS 1.5	SFO _d RIS 2
pH ₀	7.02 ± 0.03	7.04 ± 0.02	7.03 ± 0.02	7.03 ± 0.02	7.04 ± 0.00	7.04 ± 0.04	7.06 ± 0.01	7.06 ± 0.00	7.04 ± 0.02
pH _f	6.77 ± 0.11	6.79 ± 0.03	7.00 ± 0.04	6.48 ± 0.45	6.89 ± 0.03	6.92 ± 0.04	6.65 ± 0.17	6.89 ± 0.07	6.93 ± 0.05
Humedad (%bh)	93.86 ± 0.27	92.65 ± 0.48	92.19 ± 0.28	93.46 ± 0.20	91.79 ± 0.50	91.61 ± 0.22	93.62 ± 0.40	92.26 ± 0.66	91.57 ± 0.32
Sólidos totales (%bh)	6.14 ± 0.27	7.35 ± 0.48	7.81 ± 0.28	6.54 ± 0.20	8.21 ± 0.50	8.39 ± 0.22	6.38 ± 0.40	7.74 ± 0.66	8.43 ± 0.32
Sólidos volátiles (%bs)	39.06 ± 2.34	42.26 ± 3.47	39.86 ± 1.40	40.12 ± 2.05	45.61 ± 4.03	44.83 ± 0.58	44.76 ± 2.35	44.64 ± 3.43	45.75 ± 0.92
Cenizas (%bs)	60.94 ± 2.34	57.74 ± 3.47	60.14 ± 1.40	59.88 ± 2.05	54.39 ± 4.03	55.17 ± 0.58	55.24 ± 2.35	55.36 ± 3.43	54.25 ± 0.92
Alcalinidad (gCaCO ₃ L ⁻¹)	11.83 ± 0.16	13.03 ± 0.39	13.51 ± 0.76	10.78 ± 0.88	12.40 ± 1.17	14.62 ± 1.32	10.85 ± 0.27	13.13 ± 0.91	13.73 ± 0.59
AGV (gAGV L ⁻¹)	13.92 ± 1.07	15.55 ± 0.26	14.24 ± 0.79	13.00 ± 1.12	13.64 ± 1.18	15.19 ± 1.64	12.87 ± 1.07	13.82 ± 0.89	13.72 ± 0.84

AGV, ácidos grasos volátiles; bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final; RIS, relación inóculo-sustrato; SFO_a, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_a; SFO_b, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_b; SFO_d, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_d.

Tabla 23. Resultados de caracterización final de los procesos de digestión anaerobia de sustratos OPW_i (ensayos control).

Parámetro	OPW _a RIS 1	OPW _a RIS 1.5	OPW _a RIS 2	OPW _b RIS 1	OPW _b RIS 1.5	OPW _b RIS 2	OPW _d RIS 1	OPW _d RIS 1.5	OPW _d RIS 2
pH ₀	7.04 ± 0.01	7.03 ± 0.02	7.03 ± 0.01	7.04 ± 0.03	6.99 ± 0.01	7.01 ± 0.01	7.00 ± 0.01	7.01 ± 0.02	7.00 ± 0.02
pH _f	5.95 ± 0.07	6.50 ± 0.12	6.88 ± 0.16	5.78 ± 0.37	6.62 ± 0.01	6.68 ± 0.08	6.11 ± 0.12	6.53 ± 0.13	6.82 ± 0.14
Humedad (%bh)	93.46 ± 0.96	93.33 ± 0.62	93.19 ± 0.23	93.80 ± 0.65	92.48 ± 1.04	92.98 ± 1.39	94.31 ± 0.98	92.89 ± 0.72	92.88 ± 0.37
Sólidos totales (%bh)	6.54 ± 0.96	6.67 ± 0.62	6.81 ± 0.23	6.20 ± 0.65	7.52 ± 1.04	7.02 ± 1.39	5.69 ± 0.98	7.11 ± 0.72	7.12 ± 0.37
Sólidos volátiles (%bs)	47.54 ± 4.10	44.18 ± 3.51	37.65 ± 1.91	42.32 ± 2.28	40.81 ± 3.12	36.68 ± 4.33	33.43 ± 2.91	35.30 ± 1.59	31.67 ± 2.94
Cenizas (%bs)	52.46 ± 4.10	55.82 ± 3.51	62.35 ± 1.91	57.68 ± 2.28	59.19 ± 3.12	63.32 ± 4.33	66.57 ± 2.91	64.70 ± 1.59	68.33 ± 2.94
Alcalinidad (gCaCO ₃ L ⁻¹)	9.50 ± 1.59	11.12 ± 0.44	11.02 ± 1.26	7.92 ± 0.82	9.87 ± 0.57	12.50 ± 0.91	8.73 ± 0.22	10.98 ± 0.91	11.93 ± 0.78
AGV (gAGV L ⁻¹)	15.31 ± 2.28	13.60 ± 0.80	13.66 ± 1.53	12.14 ± 1.76	12.56 ± 0.97	15.48 ± 1.39	14.10 ± 0.70	14.10 ± 0.62	13.54 ± 1.17

AGV, ácidos grasos volátiles; bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; pH₀, pH inicial; pH_f, pH final; RIS, relación inóculo-sustrato.

8.5. Actividad 5. Evaluación de impacto ambiental a través del análisis de ciclo de vida.

8.5.1. Análisis del inventario del ciclo de vida (ICV).

En las Tablas 24 y 25 se presenta el análisis comparativo de los inventarios de ciclo de vida correspondientes a los escenarios OPW_{a5} y OPW_{d1}, el cual permite observar de manera ilustrativa cómo la incorporación de procesos adicionales en un esquema de biorrefinería afecta el requerimiento de insumos por UF. Las tablas de inventario para los demás escenarios se encuentran en las Tablas de la sección de Anexos A.

En términos de consumo energético directo, OPW_{a5} presenta un total de 3.05 kWh UF⁻¹, siendo la mayor parte atribuible al calentamiento requerido en el proceso de DA (2.85 kWh UF⁻¹). En contraste, el escenario OPW_{d1} registra un consumo eléctrico significativamente mayor, alcanzando aproximadamente 12.91 kWh UF⁻¹, distribuidos principalmente entre la FF (8.94 kWh UF⁻¹), considerando calentamiento e iluminación, y la HD (1.13 kWh UF⁻¹). Este incremento responde al diseño multietapa del sistema que, si bien exige mayores recursos, permite una recuperación integral de productos de alto valor añadido y una valorización energética más diversificada. Asimismo, el escenario OPW_{d1} muestra un uso intensivo de agua destilada, con un total de aproximadamente 21.61 kg UF⁻¹, frente a los 5.23 kg UF⁻¹ registrados en OPW_{a5}. Este insumo se distribuye entre las etapas de FO y FF.

En relación con los insumos químicos, destaca en OPW_{d1} el uso de 0.89 kg UF⁻¹ de etanol para la precipitación de pectina, así como diversas sales minerales y oligoelementos empleados para formular el medio de cultivo RCV en la etapa de FF. Estos reactivos, aunque representan un impacto potencial adicional, son fundamentales para garantizar la viabilidad metabólica de *Rhodobacter capsulatus* en condiciones fotoheterotróficas.

Respecto a las sustituciones de electricidad asociadas a la valorización energética, OPW_{a5} reporta una recuperación neta de -0.48 kWh UF⁻¹, valor superior al observado en OPW_{d1} (-0.09 kWh UF⁻¹ en total considerando FO, FF y DA). Esta diferencia está directamente relacionada con el volumen de biogás generado en cada esquema, que es mayor en OPW_{a5} debido a que toda la carga orgánica se dirige a la DA, mientras que en OPW_{d1} la materia orgánica se distribuye en múltiples procesos.

Como escenario de referencia, se consideró la gestión convencional del OPW mediante su disposición directa en un sitio de disposición final, representando el enfoque BAU. Este escenario asume la ausencia de estrategias de valorización y refleja prácticas comunes donde no se implementan esquemas circulares. El ICV del escenario BAU fue cuantificado utilizando el Modelo Mexicano del Biogás, el

cual permite estimar las emisiones asociadas a la descomposición anaerobia de residuos orgánicos en condiciones no controladas (como se detalla en la sección de metodología). El modelo arrojó una emisión total de GEI de 0.07 kg CH₄ UF⁻¹, valor que representa una contribución directa al cambio climático sin recuperación de recursos materiales o energéticos.

Tabla 24. Inventario de ciclo de vida del escenario OPW_a5, contemplando proceso de valorización energética de OPW por digestión anaerobia.

Etapa proceso	Cantidad	Unidades
<i>Secado</i>		
Electricidad	0.15	kWh UF ⁻¹
<i>Molienda</i>		
Electricidad	0.05	kWh UF ⁻¹
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	5.23	kg UF ⁻¹
Electricidad calentamiento	2.85	kWh UF ⁻¹
Sustitución electricidad	-0.48	kWh UF ⁻¹

Tabla 25. Inventario de ciclo de vida del escenario OPW_d1, contemplando proceso de valorización energética de OPW por fermentación oscura, fotofermentación y digestión anaerobia, con extracción previa de pectina y aceites esenciales.

Etapa proceso	Cantidad	Unidades
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13	kWh UF ⁻¹
Agua destilada	1.50	kg UF ⁻¹
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	0.01	kWh UF ⁻¹
<i>Precipitación</i>		
Etanol	0.89	kg UF ⁻¹
Agua destilada	0.28	kg UF ⁻¹
<i>Secado</i>		
Electricidad	0.16	kWh UF ⁻¹
<i>Molienda</i>		
Electricidad	0.02	kWh UF ⁻¹
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	3.61	kg UF ⁻¹
Electricidad calentamiento	1.74	kWh UF ⁻¹
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-0.05	kWh UF ⁻¹
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	0.01	kWh UF ⁻¹
<i>Fotofermentación</i>		
<i>Medio Reactivo</i>		
kpi	0.02	kg UF ⁻¹
L-Glutamato (10mM)	0.03	kg UF ⁻¹
Agua destilada	13.78	kg UF ⁻¹
<i>Supersales</i>		
FeSO ₄ .7H ₂ O	1.18 x10 ⁻⁴	kg UF ⁻¹
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	3 x10 ⁻⁴	kg UF ⁻¹
CaCl ₂ .2H ₂ O (7.5 %)	1.1 x10 ⁻³	kg UF ⁻¹
MgSO ₄ .7H ₂ O (20 %)	3 x10 ⁻³	kg UF ⁻¹
Agua destilada	0.74	kg UF ⁻¹
<i>Oligoelementos</i>		
H ₃ BO ₃	8.3 x10 ⁻⁴	kg UF ⁻¹
MnSO ₄ .H ₂ O	4.7 x10 ⁻⁴	kg UF ⁻¹
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.18 x10 ⁻⁵	kg UF ⁻¹
ZnSO ₄ .7H ₂ O	7.12 x10 ⁻⁵	kg UF ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2.2 x10 ⁻⁴	kg UF ⁻¹
Agua destilada	0.29	kg UF ⁻¹
<i>Calentamiento</i>		
Energía eléctrica	6.20	kWh UF ⁻¹
<i>Iluminación</i>		
Energía eléctrica	2.74	kWh UF ⁻¹
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-0.02	kWh UF ⁻¹
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	0.92	kg UF ⁻¹
Electricidad calentamiento	0.58	kWh UF ⁻¹
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-0.02	kWh UF ⁻¹

8.5.2. Evaluación de impactos de ciclo de vida (EICV).

La evaluación del impacto ambiental, expresada por el GWI, evidencia una variabilidad significativa entre los escenarios de valorización del OPW, con valores que van de 1.60 a 11.15 kg CO₂ eq UF⁻¹, y contrastan claramente con el escenario BAU, cuyo GWI fue de 1.84 kg CO₂ eq UF⁻¹ (Figura 30).

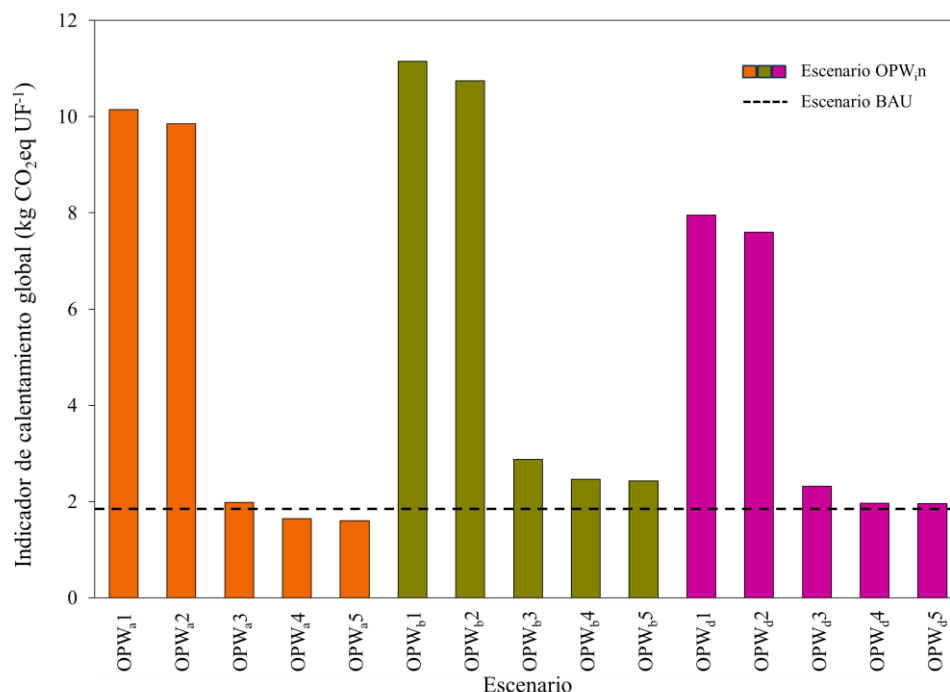


Figura 30. Resultados de la evaluación de impacto ambiental para el indicador de cambio climático de los escenarios de valorización de OPW en comparación con el escenario BAU. BAU, base as usual, escenario de gestión convencional; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; UF, unidad funcional.

Los escenarios que presentaron los mayores impactos ambientales corresponden a aquellos que integran la etapa de FF, particularmente OPW_{a1} (10.15 kg CO₂eq UF⁻¹), OPW_{a2} (9.86 kg CO₂eq UF⁻¹), OPW_{b1} (11.15 kg CO₂eq UF⁻¹), OPW_{b2} (10.75 kg CO₂eq UF⁻¹), OPW_{d1} (7.96 kg CO₂eq UF⁻¹) y OPW_{d2} (7.60 kg CO₂eq UF⁻¹). Esta tendencia está asociada al elevado consumo energético de la FF, principalmente por requerimientos de calentamiento e iluminación continua, tal como se evidencia en los ICV (Sección 8.5.1). La Figura 31A-B muestra la comparación del GWI detallado para los escenarios OPW_{a5} y OPW_{d1}, en donde se observan las aportaciones de cada etapa del proceso al indicador. Si bien la FF es un proceso con potencial para la producción sostenible de biohidrógeno, los resultados sugieren que su implementación actual no es ambientalmente competitiva, por lo que futuras investigaciones

deben centrarse en su optimización energética y aumento de rendimiento de biohidrógeno, especialmente considerando que esta tesis reporta por primera vez su aplicación con efluentes reales de FO de OPW.

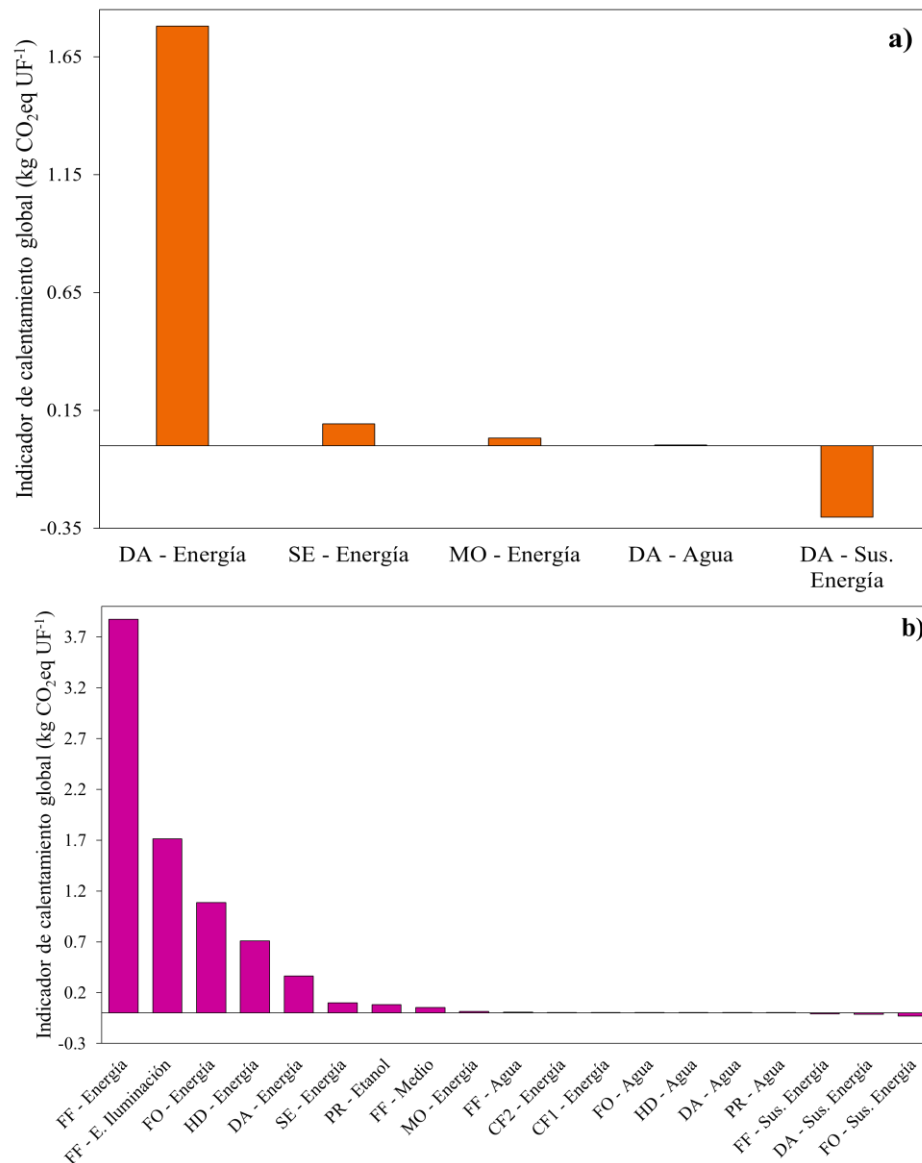


Figura 31. Resultados de la evaluación de impacto ambiental para el indicador de cambio climático: a) Escenario OPW₅; b) Escenario OPW_{d1}. CF1, centrifugación; CF2, centrifugación; DA, digestión anaerobia; FF, fotofermentación; FO, fermentación oscura; HD, hidrodestilación; MO, molienda; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; PR, precipitación; SE, secado; UF, unidad funcional.

En contraste, los escenarios OPW_{a4} y OPW_{a5} registraron GWI menores al escenario BAU, con valores entre 1.60 y 1.96 kg CO₂ eq UF⁻¹, lo que indica que la valorización energética directa por FO o DA representa una estrategia ambientalmente más favorable en comparación con la disposición final sin

aprovechamiento. Estos hallazgos coinciden con lo reportado en la literatura, donde se ha documentado que las fermentaciones anaerobias presentan ventajas ambientales significativas respecto a estrategias convencionales de gestión (Albalade-Ramírez et al., 2024).

Si bien los escenarios que incluyen la extracción de biocompuestos, como AE y pectina, presentan GWI netos positivos, una evaluación integral de su desempeño requeriría incorporar un análisis de rentabilidad económica. Escenarios como OPW_{a5}, que presentan bajos impactos ambientales, no incluyen ingresos por la comercialización de bioproductos, a diferencia de esquemas más complejos como OPW_{d1}, que, aunque más intensivos ambientalmente, podrían generar beneficios económicos por la recuperación de compuestos de alto valor, justificando así su viabilidad en un enfoque de biorrefinería.

En conjunto, estos resultados demuestran la necesidad de equilibrar la eficiencia ambiental con la recuperación de valor en el diseño de esquemas de valorización integral del OPW.

9. Conclusiones

Los resultados de este trabajo de investigación evidencian que la valorización del bagazo y cáscara de naranja (OPW, por sus siglas en inglés) bajo un enfoque de biorrefinería es técnica y ambientalmente viable, siempre que se optimicen las rutas de procesamiento, las condiciones de operación y la correcta integración de procesos. Uno de los hallazgos más contundentes fue que la composición del sustrato, modulada por las etapas previas de extracción de aceites esenciales (AE) y/o pectina, tiene un efecto directo sobre la eficiencia de los bioprocesos fermentativos. En particular, la extracción de pectina mediante hidrólisis ácida (HA) disminuyó significativamente el pH del sustrato (hasta 1.96) y limitó su potencial de producción de biohidrógeno, mientras que los sustratos que no fueron sometidos a tratamiento ácido (OPW_a, OPW_b y OPW_d) mostraron rendimientos superiores de biohidrógeno.

En el proceso de producción de biohidrógeno por FO, el rendimiento específico más alto se alcanzó con OPW_b a una relación inóculo/sustrato (RIS) de 0.6, con 108.10 mL H₂ g⁻¹ SV, lo cual se relaciona con un equilibrio óptimo entre la carga orgánica y la actividad microbiana. Este hallazgo refuerza que la RIS no debe maximizarse sin criterio, ya que relaciones más elevadas (RIS 1) redujeron la eficiencia debido a fenómenos de competencia entre poblaciones microbianas y posibles rutas metabólicas no deseadas.

Por primera vez, se demostró experimentalmente la producción de biohidrógeno por FF a partir de efluentes reales de FO (EFO_i) de OPW. Este proceso mostró rendimientos máximos de hasta 126.5 mL H₂ g⁻¹ AGV (EFO_b a 25% de concentración), pero su desempeño disminuyó significativamente con concentraciones más altas, debido a la opacidad del medio, que restringe la absorción de luz. Estos resultados no solo validan la viabilidad del proceso, sino que también sugieren que su éxito depende de estrategias de pretratamiento del efluente o de mejoras en el diseño del fotobiorreactor para minimizar las limitaciones de luz.

En el proceso de producción de biometano por DA, se confirmó que los sustratos OPW_i, que no pasan por una fermentación previa en FO, tienen mayor potencial metanogénico que las fracciones sólidas del digestato de FO (SFO_i). OPW_a y OPW_b alcanzaron rendimientos acumulados de 118.4 y 117.6 mL CH₄ g⁻¹ SV, respectivamente, frente a apenas 26.3 mL CH₄ g⁻¹ SV en el caso de SFO_a. Este resultado destaca la importancia de conservar fracciones fermentables si se desea maximizar la producción de biometano, y sugiere que los residuos post-FO deben ser evaluados críticamente antes de someterse a DA.

Desde el punto de vista ambiental, los escenarios que integraron únicamente procesos de FO o DA presentaron los menores impactos netos de calentamiento global, con valores de hasta 1.60 kg CO₂ eq UF⁻¹, por debajo del escenario base (1.84 kg CO₂ eq UF⁻¹). En contraste, los esquemas que incluyeron FF mostraron impactos ambientales más altos (hasta 11.15 kg CO₂ eq UF⁻¹), lo cual se atribuye a los requerimientos energéticos elevados de iluminación y control térmico. Este hallazgo no invalida la incorporación de FF en biorrefinerías, pero subraya la necesidad urgente de mejorar su eficiencia energética, especialmente si se pretende escalar su aplicación.

Un aspecto clave identificado fue que, si bien la inclusión de etapas de extracción de compuestos de valor agregado (AE y pectina) puede aumentar el impacto ambiental total de un escenario, estos procesos deben evaluarse también desde una perspectiva económica, ya que podrían mejorar la rentabilidad y viabilidad del modelo integral de biorrefinería, algo que se propone como línea de trabajo futura.

En conjunto, los hallazgos de esta tesis demuestran que el diseño racional de rutas de valorización de OPW permite no solo recuperar energía y compuestos de alto valor, sino también minimizar impactos ambientales frente a esquemas convencionales de disposición final. Además, aportan evidencia empírica de la importancia de considerar las interacciones entre etapas secuenciales, como el efecto de la extracción de biocompuestos sobre la eficiencia fermentativa, o la calidad de los efluentes sobre procesos posteriores. La metodología propuesta, basada en integración experimental y ACV, constituye una base robusta para el diseño de biorrefinerías aplicadas a residuos agroindustriales en contextos de transición energética y economía circular

Bibliografía

- Albalade-Ramírez, Alonso, Mónica María Alcalá-Rodríguez, Luis Ramiro Miramontes-Martínez, Alejandro Padilla-Rivera, Alejandro Estrada-Baltazar, Brenda Nelly López-Hernández, and Pasiano Rivas-García. 2022. “Energy Production from Cattle Manure within a Life Cycle Assessment Framework: Statistical Optimization of Co-Digestion, Pretreatment, and Thermal Conditions.” *Sustainability* 14(24). doi: 10.3390/su142416945.
- Argun, Hidayet, and Fikret Kargi. 2011. “Bio-Hydrogen Production by Different Operational Modes of Dark and Photo-Fermentation: An Overview.” *International Journal of Hydrogen Energy* 36:7443–59. doi: 10.1016/j.ijhydene.2011.03.116.
- Battista, Federico, Gianmarco Remelli, Serena Zanzoni, and David Bolzonella. 2020. “Valorization of Residual Orange Peels: Limonene Recovery, Volatile Fatty Acids, and Biogas Production.” *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 8(17):6834–43. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c01735.
- Berk, Zeki. 2016a. “By-Products of the Citrus Processing Industry.” Pp. 219–33 in *Citrus Fruit Processing*. San Diego: Academic Press.
- Berk, Zeki. 2016b. *Citrus Fruit Processing*.
- Bicas, J. L., P. Fontanille, G. M. Pastore, and C. Larroche. 2008. “Characterization of Monoterpene Biotransformation in Two Pseudomonads.” *Journal of Applied Microbiology* 105(6):1991–2001. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03923.x.
- Calabrò, P. S., L. Pontoni, I. Porqueddu, R. Greco, F. Pirozzi, and F. Malpei. 2015. “Effect of the Concentration of Essential Oil on Orange Peel Waste Biomethanization: Preliminary Batch Results.” *Waste Management* 48:440–47. doi: 10.1016/j.wasman.2015.10.032.
- Calabrò, Paolo S., Filippo Fazzino, Adele Folino, Silvia Scibetta, and Rossana Sidari. 2019. “Improvement of Semi-Continuous Anaerobic Digestion of Pre-Treated Orange Peel Waste by the Combined Use of Zero Valent Iron and Granular Activated Carbon.” *Biomass and Bioenergy* 129(June):105337. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105337.
- Das, Satya Ranjan, and Nitai Basak. 2021. “Molecular Biohydrogen Production by Dark and Photo Fermentation from Wastes Containing Starch: Recent Advancement and Future Perspective.” *Bioprocess and Biosystems Engineering* 44(1). doi: 10.1007/s00449-020-02422-5.
- David Durán-Aranguren, Daniel, Caren Juliana Alméciga Ramírez, Laura Catalina Villabona Díaz, Manuela Ayalde Valderrama, and Rocío Sierra. 2022. “Production of Pectin from Citrus Residues:

Process Alternatives and Insights on Its Integration under the Biorefinery Concept.” Pectins - The New-Old Polysaccharides. doi: 10.5772/INTECHOPEN.100153.

Dongre, Priti, Chandrashekhar Doifode, Shaily Choudhary, and Neeraj Sharma. 2023. “Botanical Description, Chemical Composition, Traditional Uses and Pharmacology of Citrus Sinensis: An Updated Review.” *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine* 8(May):100272. doi: 10.1016/j.prmcm.2023.100272.

FAO. 2023. “Crops and Livestock Products.” FAOSTAT. Retrieved October 1, 2023 (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>).

Favela-Hernández, Juan Manuel J., Omar González-Santiago, Mónica A. Ramírez-Cabrera, Patricia C. Esquivel-Ferriño, and María Del Rayo Camacho-Corona. 2016. “Chemistry and Pharmacology of Citrus Sinensis.” *Molecules* 21(2):247. doi: 10.3390/molecules21020247.

Forgács, Gergely, Mohammad Pourbafrani, Claes Niklasson, Mohammad J. Taherzadeh, and Ilona Sárvári Hováth. 2012. “Methane Production from Citrus Wastes: Process Development and Cost Estimation.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 87(2):250–55. doi: 10.1002/jctb.2707.

Hay, Jacqueline Xiao Wen, Ta Yeong Wu, Joon Ching Juan, and Jamaliah Md. Jahim. 2013. “Biohydrogen Production through Photo Fermentation or Dark Fermentation Using Waste as a Substrate: Overview, Economics, and Future Prospects of Hydrogen Usage.” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 7(3):246–56. doi: 10.1002/bbb.

Hilali, Soukaina, Anne Sylvie Fabiano-Tixier, Karine Ruiz, Abdessamed Hejjaj, Fatima Ait Nouh, Ali Idlimam, Antoine Bily, Laila Mandi, and Farid Chemat. 2019. “Green Extraction of Essential Oils, Polyphenols, and Pectins from Orange Peel Employing Solar Energy: Toward a Zero-Waste Biorefinery.” *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 7(13):11815–22. doi: 10.1021/acssuschemeng.9b02281.

Koku, Harun, Inci Eroglu, Ufuk Gründüz, Meral Yücel, and Lemi Türker. 2002. “Aspects of the Metabolism of Hydrogen Production by Rhodobacter Sphaeroides.” *International Journal of Hydrogen Energy* 27:1315–29. doi: [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00127-1).

Martín, M. A., J. A. Siles, A. F. Chica, and A. Martín. 2010. “Biomethanization of Orange Peel Waste.” *Bioresource Technology* 101(23):8993–99. doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.133.

Mishra, Puranjan, Santhana Krishnan, Supriyanka Rana, Lakhveer Singh, Mimi Sakinah, and Zularisam Ab Wahid. 2019. “Outlook of Fermentative Hydrogen Production Techniques: An Overview of

- Dark, Photo and Integrated Dark-Photo Fermentative Approach to Biomass.” *Energy Strategy Reviews* 24:27–37. doi: 10.1016/j.esr.2019.01.001.
- Negro, Viviana, Giuseppe Mancini, Bernardo Ruggeri, and Debora Fino. 2016. “Citrus Waste as Feedstock for Bio-Based Products Recovery: Review on Limonene Case Study and Energy Valorization.” *Bioresource Technology* 214:806–15. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.006.
- Negro, Viviana, Bernardo Ruggeri, Debora Fino, and Davide Tonini. 2017. “Life Cycle Assessment of Orange Peel Waste Management.” *Resources, Conservation and Recycling* 127(January):148–58. doi: 10.1016/j.resconrec.2017.08.014.
- Oh, You-Kwan, Subramanian Mohan Raj, Gyoo Yeol Jung, and Sunghoon Park. 2011. “Current Status of the Metabolic Engineering of Microorganisms for Biohydrogen Production.” *Bioresource Technology* 102(18):8357–67. doi: 10.1016/j.biortech.2011.04.054.
- Parliament, European. 2008. Directive 2008/98/EC of the European Parliament and of the Council of 19 November 2008 on Waste and Repealing Certain Directives (Text with EEA Relevance).
- Pourbafrani, Mohammad, Gergely Forgács, Ilona Sárvári Horváth, Claes Niklasson, and Mohammad J. Taherzadeh. 2010. “Production of Biofuels, Limonene and Pectin from Citrus Wastes.” *Bioresource Technology* 101(11):4246–50. doi: 10.1016/j.biortech.2010.01.077.
- Rai, Pankaj K., and S. P. Singh. 2016. “Integrated Dark- and Photo-Fermentation: Recent Advances and Provisions for Improvement.” *International Journal of Hydrogen Energy* 41(44):19957–71. doi: 10.1016/j.ijhydene.2016.08.084.
- Ruiz, Begoña, Amparo De Benito, José Daniel Rivera, and Xavier Flotats. 2016. “Assessment of Different Pre-Treatment Methods for the Removal of Limonene in Citrus Waste and Their Effect on Methane Potential and Methane Production Rate.” *Waste Management and Research* 34(12):1249–57. doi: 10.1177/0734242X16661053.
- Santi, G., S. Crognale, A. D’Annibale, M. Petruccioli, M. Ruzzi, R. Valentini, and M. Moresi. 2014. “Orange Peel Pretreatment in a Novel Lab-Scale Direct Steam-Injection Apparatus for Ethanol Production.” *Biomass and Bioenergy* 61:146–56. doi: 10.1016/j.biombioe.2013.12.007.
- Santiago, Beatriz, María Teresa Moreira, Gumersindo Feijoo, and Sara González-García. 2020. “Identification of Environmental Aspects of Citrus Waste Valorization into D-Limonene from a Biorefinery Approach.” *Biomass and Bioenergy* 143:105844. doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105844.

- Satari, Behzad, and Keikhosro Karimi. 2018. "Citrus Processing Wastes: Environmental Impacts, Recent Advances, and Future Perspectives in Total Valorization." *Resources, Conservation and Recycling* 129:153–67. doi: 10.1016/j.resconrec.2017.10.032.
- Sharma, Surbhi, Soumen Basu, Nagaraj P. Shetti, and Tejraj M. Aminabhavi. 2020. "Waste-to-Energy Nexus for Circular Economy and Environmental Protection: Recent Trends in Hydrogen Energy." *Science of the Total Environment* 713:136633. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136633.
- SIAP. 2022. "SIACON."
- Siles López, José Ángel, Qiang Li, and Ian P. Thompson. 2010. "Biorefinery of Waste Orange Peel." *Critical Reviews in Biotechnology* 30(1):63–69. doi: 10.3109/07388550903425201.
- Spekreijse, Jurjen, Tijs Lammens, Claudia Parisi, Tévécia Ronzon, and Martijn Vis. 2019. *Insights into the European Market for Bio-Based Chemicals. Analysis Based on Ten Key Product Categories. Vol. 19.* Luxembourg. doi: 10.2760/549564.
- Suri, Shweta, Anupama Singh, and Prabhat K. Nema. 2022. "Current Applications of Citrus Fruit Processing Waste: A Scientific Outlook." *Applied Food Research* 2(1):100050. doi: 10.1016/j.afres.2022.100050.
- Vaez, Safoura, Keikhosro Karimi, Safoora Mirmohamadsadeghi, and Azam Jeihanipour. 2021. "An Optimal Biorefinery Development for Pectin and Biofuels Production from Orange Wastes without Enzyme Consumption." *Process Safety and Environmental Protection*. doi: 10.5445/IR/1000135834.
- Zema, D. A., P. S. Calabrò, A. Folino, V. Tamburino, G. Zappia, and S. M. Zimbone. 2018. "Valorisation of Citrus Processing Waste: A Review." *Waste Management* 80:252–73. doi: 10.1016/j.wasman.2018.09.024.

Anexo A

Tabla A2.1 ANOVA del diseño experimental de fermentación oscura de un factor a partir de cinco OPW_i procesadas para la variable de respuesta de producción acumulada de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	114450.27	4	28612.57	361.88	< 0.0001
OPW _i	114450.27	4	28612.57	361.88	< 0.0001
Error puro	790.67	10	79.07		
Cor Total	115240.93	14			

R² = 0.99; R²-ajustada = 0.99. *p-value < 0.05 indica que los factores son significativos.
OPW_i, bagazo y cascara de naranja.

Tabla A2.2 ANOVA del diseño experimental de fermentación oscura de un factor a partir de cinco OPW_i procesadas para la variable de respuesta de rendimiento acumulado de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	31738.99	4	7934.75	341.10	< 0.0001
OPW _i	31738.99	4	7934.75	341.10	< 0.0001
Error puro	232.62	10	23.26		
Cor Total	31971.61	14			

R² = 0.99; R²-ajustada = 0.99. *p-value < 0.05 indica que los factores son significativos.
OPW_i, bagazo y cascara de naranja.

Tabla A2.3 ANOVA para el diseño de factorial 3² de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja seleccionados (OPW_i) y evaluación de RIS para la respuesta a producción acumulada de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	74052.41	8	9256.55	44.49	< 0.0001
OPW _i	6342.43	2	3171.21	15.24	0.0001
RIS	65737.74	2	32868.87	157.96	< 0.0001
OPW _i - RIS	1972.25	4	493.06	2.37	0.0912
Error Puro	3745.41	18	208.08		
Cor Total	77797.82	26			

R² = 0.95; R²-ajustada = 0.93. *p-value < 0.05 indica que los factores son significativos.
OPW_i, bagazo y cascara de naranja; RIS, relación inóculo-sustrato.

Table A2.4 ANOVA para el diseño de factorial 3² de fermentación oscura de bagazo y cáscara de naranja seleccionados (OPW_i) y evaluación de RIS para la respuesta a rendimiento acumulado de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	5781.99	8	722.75	12.97	< 0.0001
OPW _i	1447.35	2	723.68	12.99	0.0003
RIS	3992.35	2	1996.18	35.82	< 0.0001
OPW _i - RIS	342.29	4	85.57	1.54	0.2342
Error puro	1003.10	18	55.73		
Cor Total	6785.09	26			

R² = 0.85; R²-ajustada = 0.79. *p-value < 0.05 indica que los factores son significativos. OPW_i, bagazo y cascara de naranja; RIS, relación inóculo-sustrato.

Tabla A.3.1 Caracterización de los stocks de los efluentes líquidos de fermentación oscura (EFO_i) de OPW_{a,b,d} a RIS 0.6.

Parámetro	EFO _a	EFO _b	EFO _d
pH ₀	7.06	7.07	7.07
pH _f	5.76	5.57	5.61
Alcalinidad (gCaCO ₃ L ⁻¹)	7.39 ± 0.08	7.03 ± 0.03	7.32 ± 0.08
AGV (gAGV L ⁻¹)	12.12 ± 0.06	9.90 ± 0.77	9.60 ± 0.18

AGV, ácidos grasos volátiles; bh, base húmeda; bs, base seca; EFO_a, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_a; EFO_b, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_b; EFO_d, efluente líquido de la fermentación oscura de OPW_d; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación.

Table A3.2 ANOVA para el diseño factorial de 3² de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de producción acumulada de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	1981.29	8	247.66	10.94	0.0002
Sustrato EFO _i	453.97	2	226.98	10.03	0.0028
% EFO	1118.33	2	559.16	24.70	< 0.0001
Sustrato EFO _i - % EFO	199.70	4	49.92	2.21	0.1298
Error puro	271.67	12	22.64		
Cor Total	2252.95	20			

R² = 0.88; R²-ajustada = 0.80.

* p-value < 0.05 indica que los factores son significativos. En este caso, Sustrato EFO_i y % EFO son términos significativos del modelo.

Tabla A3.3 ANOVA para el diseño factorial de 3^2 de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de rendimiento acumulado de biohidrógeno.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	40719.14	8	5089.89	19.06	< 0.0001
Sustrato EFO _i	6688.86	2	3344.43	12.52	0.0012
% EFO	27680.96	2	13840.48	51.82	< 0.0001
Sustrato EFO _i - % EFO	2381.86	4	595.47	2.23	0.1268
Error puro	3205.21	12	267.10		
Cor Total	43924.34	20			

$R^2 = 0.93$; R^2 -ajustada = 0.88.

* p-value < 0.05 indica que los factores son significativos. En este caso, Sustrato EFO_i y % EFO son términos significativos del modelo.

Tabla A3.4 ANOVA para el diseño factorial de 3^2 de la fotofermentación de sustratos de bagazo y cáscara de naranja seleccionados y la evaluación de la proporción de efluentes de fermentación oscura (%EFO) para la respuesta de biomasa celular seca final.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value*
Modelo	10.35	8	1.29	56.45	< 0.0001
Sustrato EFO _i	0.82	2	0.41	17.96	0.0001
% EFO	7.73	2	3.87	168.74	< 0.0001
Sustrato EFO _i - % EFO	1.59	4	0.40	17.33	< 0.0001
Error puro	0.32	14	0.02		
Cor Total	10.67	22			

$R^2 = 0.97$; R^2 -adjusted = 0.95.

* p-value < 0.05 indica que los factores son significativos. En este caso, Sustrato EFO_i, % EFO y Sustrato EFO_i - %EFO son términos significativos del modelo.

Tabla A4.1 Caracterización de los stocks de la fracción sólida remanente de fermentación oscura (SFO_i) de OPW_{a,b,d} a RIS 0.6.

Parámetro	SFO _a	SFO _b	SFO _d
pH ₀	7.06	7.07	7.07
pH _f	5.76	5.57	5.61
Humedad (%bh)	94.23 ± 0.05	94.20 ± 0.05	94.07 ± 0.07
Sólidos totales (%bh)	5.77 ± 0.05	5.80 ± 0.05	5.93 ± 0.07
Sólidos volátiles (%bs)	49.96 ± 0.88	50.64 ± 2.32	53.10 ± 1.23
Cenizas (%bs)	50.04 ± 0.88	49.36 ± 2.32	46.90 ± 1.23

bh, base húmeda; bs, base seca; OPW_a, bagazo y cáscara de naranja sin extracciones; OPW_b, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales por hidrodestilación; OPW_d, bagazo y cáscara de naranja tras la extracción de aceites esenciales y pectina tras la extracción por hidrodestilación; RIS, relación inóculo-sustrato; SFO_a, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_a; SFO_b, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_b; SFO_d, fracción sólida residual de la fermentación oscura de OPW_d.

Tabla A.5.1. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_a1.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.49E-01	9.32E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.16E-02	3.23E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.23E+00	2.20E-03
Electricidad	2.50E+00	1.56E+00
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-7.69E-02	-4.81E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	1.14E-02	7.09E-03
<i>Fotofermentación</i>		
<i>Medio Reactivo</i>		
KH ₂ PO ₄	3.24E-02	4.20E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	4.13E-02	2.51E-02
Agua destilada (RCV)	2.01E+01	8.46E-03
<i>Supersales</i>		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2.55E-04	4.38E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ ·2H ₂ O	4.32E-04	1.82E-03
CaCl ₂ ·2H ₂ O (7.5 %)	1.62E-03	8.97E-04
MgSO ₄ ·7H ₂ O (20 %)	4.32E-03	1.83E-03
Agua destilada (ss)	1.08E+00	4.55E-04
<i>Oligoelementos</i>		
H ₃ BO ₃	1.21E-03	1.54E-03
MnSO ₄ ·H ₂ O	6.88E-04	1.34E-04
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.73E-05	1.61E-04
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.04E-04	1.89E-04
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	3.25E-04	2.33E-03
Agua destilada	4.31E-01	1.82E-04
<i>Calentamiento</i>		
Energía eléctrica	9.02E+00	5.64E+00
<i>Iluminación</i>		
Energía eléctrica	3.99E+00	2.49E+00
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-1.55E-02	-9.70E-03
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	8.19E-01	3.46E-04
Electricidad	5.51E-01	3.45E-01
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		

Electricidad	-1.68E-02	-1.05E-02
TOTAL	4.38E+01	1.01E+01

Tabla A.5.2. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_a2.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.5E-01	9.3E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.2E-02	3.2E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.2E+00	2.2E-03
Electricidad	2.5E+00	1.6E+00
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-7.7E-02	-4.8E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	1.1E-02	7.1E-03
<i>Fotofermentación</i>		
<i>Medio Reactivo</i>		
KH ₂ PO ₄	3.2E-02	4.2E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	4.1E-02	2.5E-02
Agua destilada (RCV)	2.0E+01	8.5E-03
<i>Supersales</i>		
FeSO ₄ .7H ₂ O	2.5E-04	4.4E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	4.3E-04	1.8E-03
CaCl ₂ .2H ₂ O (7.5 %)	1.6E-03	9.0E-04
MgSO ₄ .7H ₂ O (20 %)	4.3E-03	1.8E-03
Agua destilada (ss)	1.1E+00	4.6E-04
<i>Oligoelementos</i>		
H ₃ BO ₃	1.2E-03	1.5E-03
MnSO ₄ .H ₂ O	6.9E-04	1.3E-04
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.7E-05	1.6E-04
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.0E-04	1.9E-04
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	3.3E-04	2.3E-03
Agua destilada	4.3E-01	1.8E-04
<i>Calentamiento</i>		
Energía eléctrica	9.0E+00	5.6E+00
<i>Iluminación</i>		
Energía eléctrica	4.0E+00	2.5E+00
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-1.6E-02	-9.7E-03
TOTAL	4.3E+01	9.9E+00

Tabla A.5.3. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{a3}.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.49E-01	9.32E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.16E-02	3.23E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.23E+00	2.20E-03
Electricidad	2.50E+00	1.56E+00
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-7.69E-02	-4.81E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	1.14E-02	7.09E-03
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	8.19E-01	3.46E-04
Electricidad	5.51E-01	3.45E-01
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-1.68E-02	-1.05E-02
TOTAL	9.22E+00	1.98E+00

Tabla A.5.4. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{a4}.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.49E-01	9.32E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.16E-02	3.23E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.23E+00	2.20E-03
Electricidad	2.50E+00	1.56E+00
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-7.69E-02	-4.81E-02
TOTAL	7.85E+00	1.64E+00

Tabla A.5.5. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{a5}.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.49E-01	9.32E-02

Molienda		
Electricidad	5.16E-02	3.23E-02
Digestión anaerobia		
Agua destilada	5.23E+00	2.20E-03
Electricidad calentamiento	2.85E+00	1.78E+00
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-4.86E-01	-3.04E-01
TOTAL		1.60E+00

Tabla A.5.6. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{b1}.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
Hidrodestilación		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
Secado		
Electricidad	3.11E-01	1.95E-01
Molienda		
Electricidad	5.15E-02	3.22E-02
Fermentación Oscura		
Agua destilada	5.27E+00	2.23E-03
Electricidad calentamiento	2.52E+00	1.58E+00
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-8.27E-02	-5.17E-02
Centrifugación		
Electricidad	1.15E-02	7.16E-03
Fotofermentación		
<u>Medio Reactivo</u>		
KH ₂ PO ₄	3.27E-02	4.24E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	4.17E-02	2.54E-02
Agua destilada (RCV)	2.02E+01	8.54E-03
<u>Supersales</u>		
FeSO ₄ .7H ₂ O	2.57E-04	4.42E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	4.36E-04	1.83E-03
CaCl ₂ .2H ₂ O (7.5 %)	1.64E-03	9.05E-04
MgSO ₄ .7H ₂ O (20 %)	4.36E-03	1.85E-03
Agua destilada (ss)	1.09E+00	4.59E-04
<u>Oligoelementos</u>		
H ₃ BO ₃	1.22E-03	1.56E-03
MnSO ₄ .H ₂ O	6.94E-04	1.35E-04
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.74E-05	1.62E-04
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.05E-04	1.91E-04
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	3.28E-04	2.35E-03

Agua destilada	4.35E-01	1.84E-04
<u>Calentamiento</u>		
Energía eléctrica	9.10E+00	5.69E+00
<u>Iluminación</u>		
Energía eléctrica	4.03E+00	2.52E+00
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-2.50E-02	-1.56E-02
Digestión anaerobia		
Agua destilada	1.01E+00	4.26E-04
Electricidad	6.54E-01	4.09E-01
calentamiento		
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-1.49E-02	-9.28E-03
TOTAL		1.11E+01

Tabla A.5.7. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{b2}.

Etapas	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO₂ eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	3.11E-01	1.95E-01
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.15E-02	3.22E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.27E+00	2.23E-03
Electricidad	2.52E+00	1.58E+00
calentamiento		
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-8.27E-02	-5.17E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	1.15E-02	7.16E-03
<i>Fotofermentación</i>		
<u>Medio Reactivo</u>		
KH ₂ PO ₄	3.27E-02	4.24E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	4.17E-02	2.54E-02
Agua destilada (RCV)	2.02E+01	8.54E-03
<u>Supersales</u>		
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2.57E-04	4.42E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ ·2H ₂ O	4.36E-04	1.83E-03
CaCl ₂ ·2H ₂ O (7.5 %)	1.64E-03	9.05E-04
MgSO ₄ ·7H ₂ O (20 %)	4.36E-03	1.85E-03
Agua destilada (ss)	1.09E+00	4.59E-04
<u>Oligoelementos</u>		

H3BO3	1.22E-03	1.56E-03
MnSO4.H2O	6.94E-04	1.35E-04
CuSO4.5H2O	1.74E-05	1.62E-04
ZnSO4.7H2O	1.05E-04	1.91E-04
Na2MoO4.2H2O	3.28E-04	2.35E-03
Agua destilada	4.35E-01	1.84E-04
<u>Calentamiento</u>		
Energía eléctrica	9.10E+00	5.69E+00
<u>Iluminación</u>		
Energía eléctrica	4.03E+00	2.52E+00
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-2.50E-02	-1.56E-02
TOTAL		1.07E+01

Tabla A.5.8. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{b3}.

Etapas	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	3.11E-01	1.95E-01
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.15E-02	3.22E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.27E+00	2.23E-03
Electricidad	2.52E+00	1.58E+00
calentamiento		
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-8.27E-02	-5.17E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	1.15E-02	7.16E-03
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	1.01E+00	4.26E-04
Electricidad	6.54E-01	4.09E-01
calentamiento		
<u>Sustituciones</u>		
Electricidad	-1.49E-02	-9.28E-03
TOTAL		2.87E+00

Tabla A.5.9. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_{b4}.

Etapas	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01

Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	3.11E-01	1.95E-01
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.15E-02	3.22E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	5.27E+00	2.23E-03
Electricidad	2.52E+00	1.58E+00
calentamiento		
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-8.27E-02	-5.17E-02
TOTAL		2.46E+00

Tabla A.5.10. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_b5.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	3.11E-01	1.95E-01
<i>Molienda</i>		
Electricidad	5.15E-02	3.22E-02
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	5.27E+00	2.23E-03
Electricidad	2.88E+00	1.80E+00
calentamiento		
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-4.91E-01	-3.07E-01
TOTAL		2.43E+00

Tabla A.5.11. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_c1.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	3.75E-03	2.34E-03
<i>Precipitación</i>		
Etanol	8.97E-01	8.04E-02
Agua destilada	2.83E-01	1.20E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.59E-01	9.92E-02
<i>Molienda</i>		

Electricidad	2.44E-02	1.52E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	3.63E+00	1.53E-03
Electricidad calentamiento	1.74E+00	1.09E+00
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-4.75E-02	-2.97E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	7.88E-03	4.92E-03
<i>Fotofermentación</i>		
<u><i>Medio Reactivo</i></u>		
KH ₂ PO ₄	2.23E-02	2.89E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	2.84E-02	1.73E-02
Agua destilada (RCV)	1.38E+01	5.81E-03
<u><i>Supersales</i></u>		
FeSO ₄ .7H ₂ O	1.75E-04	3.01E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	2.97E-04	1.25E-03
CaCl ₂ .2H ₂ O (7.5 %)	1.11E-03	6.16E-04
MgSO ₄ .7H ₂ O (20 %)	2.97E-03	1.26E-03
Agua destilada (ss)	7.41E-01	3.13E-04
<u><i>Oligoelementos</i></u>		
H ₃ BO ₃	8.31E-04	1.06E-03
MnSO ₄ .H ₂ O	4.73E-04	9.19E-05
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.19E-05	1.10E-04
ZnSO ₄ .7H ₂ O	7.13E-05	1.30E-04
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2.23E-04	1.60E-03
Agua destilada	2.96E-01	1.25E-04
<u><i>Calentamiento</i></u>		
Energía eléctrica	6.20E+00	3.87E+00
<u><i>Iluminación</i></u>		
Energía eléctrica	2.74E+00	1.71E+00
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-1.59E-02	-9.94E-03
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	9.16E-01	3.87E-04
Electricidad calentamiento	5.84E-01	3.65E-01
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-2.05E-02	-1.28E-02
TOTAL		7.96E+00

Tabla A.5.12. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_c2.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO₂ eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		

Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	3.75E-03	2.34E-03
<i>Precipitación</i>		
Etanol	8.97E-01	8.04E-02
Agua destilada	2.83E-01	1.20E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.59E-01	9.92E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	2.44E-02	1.52E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	3.63E+00	1.53E-03
Electricidad calentamiento	1.74E+00	1.09E+00
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-1.51E-01	-2.97E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	7.88E-03	4.92E-03
<i>Fotofermentación</i>		
<i>Medio Reactivo</i>		
KH ₂ PO ₄	2.23E-02	2.89E-02
KHPO ₄		
L-Glutamato (10mM)	2.84E-02	1.73E-02
Agua destilada (RCV)	1.38E+01	5.81E-03
<i>Supersales</i>		
FeSO ₄ .7H ₂ O	1.75E-04	3.01E-05
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	2.97E-04	1.25E-03
CaCl ₂ .2H ₂ O (7.5 %)	1.11E-03	6.16E-04
MgSO ₄ .7H ₂ O (20 %)	2.97E-03	1.26E-03
Agua destilada (ss)	7.41E-01	3.13E-04
<i>Oligoelementos</i>		
H ₃ BO ₃	8.31E-04	1.06E-03
MnSO ₄ .H ₂ O	4.73E-04	9.19E-05
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.19E-05	1.10E-04
ZnSO ₄ .7H ₂ O	7.13E-05	1.30E-04
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2.23E-04	1.60E-03
Agua destilada	2.96E-01	1.25E-04
<i>Calentamiento</i>		
Energía eléctrica	6.20E+00	3.87E+00
<i>Iluminación</i>		
Energía eléctrica	2.74E+00	1.71E+00
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-1.59E-02	-9.94E-03
TOTAL		7.60E+00

Tabla A.5.13. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_c3.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	3.75E-03	2.34E-03
<i>Precipitación</i>		
Etanol	8.97E-01	8.04E-02
Agua destilada	2.83E-01	1.20E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.59E-01	9.92E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	2.44E-02	1.52E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	3.63E+00	1.53E-03
Electricidad	1.74E+00	1.09E+00
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-4.75E-02	-2.97E-02
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	7.88E-03	4.92E-03
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	9.16E-01	3.87E-04
Electricidad	5.84E-01	3.65E-01
calentamiento		
<i>Sustituciones</i>		
Electricidad	-2.05E-02	-1.28E-02
TOTAL		2.32E+00

Tabla A.5.14. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_c4.

Etapa	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	3.75E-03	2.34E-03
<i>Precipitación</i>		
Etanol	8.97E-01	8.04E-02
Agua destilada	2.83E-01	1.20E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.59E-01	9.92E-02
<i>Molienda</i>		

Electricidad	2.44E-02	1.52E-02
<i>Fermentación Oscura</i>		
Agua destilada	3.63E+00	1.53E-03
Electricidad calentamiento	1.74E+00	1.09E+00
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-4.75E-02	-2.97E-02
TOTAL		1.96E+00

Tabla A.5.15. Inventario de ciclo de vida y GWI del escenario OPW_c5.

Etapas	LCI (cantidad UF⁻¹)	GWI (kg CO2 eq UF⁻¹)
<i>Hidrodestilación</i>		
Electricidad	1.13E+00	7.09E-01
Agua	1.50E+00	6.33E-04
<i>Centrifugación</i>		
Electricidad	3.75E-03	2.34E-03
<i>Precipitación</i>		
Etanol	8.97E-01	8.04E-02
Agua destilada	2.83E-01	1.20E-04
<i>Secado</i>		
Electricidad	1.59E-01	9.92E-02
<i>Molienda</i>		
Electricidad	2.44E-02	1.52E-02
<i>Digestión anaerobia</i>		
Agua destilada	3.61E+00	1.52E-03
Electricidad calentamiento	1.97E+00	1.23E+00
<u><i>Sustituciones</i></u>		
Electricidad	-2.88E-01	-1.80E-01
TOTAL		1.96E+00