



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Hidrólisis química de residuos agrícolas para obtención
de azúcares reductores: revisión bibliográfica de
procesos

Autora

Katja Borus David

Director

Jaime Soler Herrero

Facultad de Ciencias
Año 2021

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. Resumen | 3 |
| 2. Abstract | 3 |
| 3. Necesidad de hacer una revisión bibliográfica y objetivos | 3 |
| 4. Metodología | 4 |
| 5. Introducción | 4 |
| 5.1. Biocombustibles | 4 |
| 5.1.1. Clasificación según su estado | 5 |
| 5.1.2. Clasificación según su procedencia | 5 |
| 5.2. Digestión anaerobia | 5 |
| 5.2.1. Etapas de la digestión anaerobia | 6 |
| 5.3. Pretratamientos | 7 |
| 5.3.1. De polisacáridos a azúcares reductores | 8 |
| 5.3.2. Tipos de pretratamientos | 9 |
| 6. Pretratamientos Químicos: Hidrólisis Química | 10 |
| 6.1. Hidrólisis ácida | 10 |
| 6.1.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan | 10 |
| 6.1.2. En qué condiciones se lleva a cabo | 11 |
| 6.1.3. Principales ventajas | 11 |
| 6.1.4. Principales inconvenientes | 11 |
| 6.2. Hidrólisis alcalina | 11 |
| 6.2.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan | 11 |
| 6.2.2. En qué condiciones se lleva a cabo | 11 |
| 6.2.3. Principales ventajas | 11 |
| 6.2.4. Principales inconvenientes | 12 |
| 6.3. Hidrólisis con solventes orgánicos | 12 |
| 6.3.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan | 12 |
| 6.3.2. En qué condiciones se lleva a cabo | 12 |
| 6.3.3. Principales ventajas | 12 |
| 6.3.4. Principales inconvenientes | 12 |

| | |
|---|-----------|
| 6.4. Hidrólisis con ozono | 12 |
| 6.4.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan | 12 |
| 6.4.2. En qué condiciones se lleva a cabo | 12 |
| 6.4.3. Principales ventajas..... | 13 |
| 6.4.4. Principales inconvenientes..... | 13 |
| 7. Conclusiones | 13 |
| 8. Conclusions | 13 |
| 9. Bibliografía | 14 |

1. Resumen

La utilización de los residuos para generar energías renovables supone una solución tanto al problema de la contaminación que producen estos residuos como al problema que supone la utilización de cultivos de consumo humano para elaborar biocombustibles. Estos residuos se someten a digestión anaerobia para poder obtener biogás a partir de ellos.

Uno de los tipos de residuos más utilizados para la obtención de biocombustibles de segunda generación es la biomasa lignocelulósica procedente de los residuos agrícolas. Para que los microorganismos que participan en la digestión anaerobia puedan acceder a los azúcares fermentables de esta biomasa es necesario someterla primero a algún tipo de pretratamiento, que puede ser físico, físico-químico, químico o biológico. Estos pretratamientos tendrán en común que degradarán la matriz lignocelulósica para poder obtener los azúcares fermentables que los microorganismos necesitan para llevar a cabo la primera etapa de la digestión anaerobia.

En este trabajo de revisión bibliográfica se presenta un resumen sobre los biocombustibles, la digestión anaerobia y los pretratamientos existentes, con énfasis en los pretratamientos químicos.

2. Abstract

The use of waste to generate renewable energy is a solution to both the problem of pollution produced by this waste and the problem of using crops for human consumption to produce biofuels. These residues undergo anaerobic digestion in order to obtain biogas as the final product.

One of the most commonly used kinds of waste to obtain second-generation biofuels is the lignocellulosic biomass from agricultural waste. In order for the microorganisms involved in anaerobic digestion to access the fermentable sugars of this biomass, it is necessary for it to undergo some kind of pretreatment, which can be mechanical, physical-chemical, chemical or biological. These pretreatments all have in common the purpose of degrading the lignocellulosic matrix in order to obtain the fermentable sugars that microorganisms need to carry out the first stage of anaerobic digestion.

This literature review presents a summary of biofuels, anaerobic digestion and existing pretreatments, with emphasis on chemical pretreatments.

3. Necesidad de hacer una revisión bibliográfica y objetivos

Hoy en día la sociedad y las tecnologías se encuentran en constante expansión y crecimiento, pero sigue habiendo un tema que nos preocupa a todos: ¿Qué haremos cuando se agoten los combustibles fósiles? ¿Qué haremos cuando agotemos el planeta?

El cambio climático es una realidad y es imperativo que busquemos alternativas más ecológicas a los combustibles que tenemos actualmente. Si realizamos una búsqueda sobre los estudios que se han llevado a cabo sobre las formas de obtener biocombustibles, observaremos que en algo están de acuerdo: la biomasa más rentable y abundante que tenemos ahora mismo son los residuos, tanto agrícolas, como municipales, como de la silvicultura... Estos residuos se están utilizando para generar biocombustibles que podrán sustituir o, de momento, complementar a los actuales combustibles fósiles.

Es por ello que el principal objetivo de este trabajo será elaborar una revisión bibliográfica poniendo énfasis en aquello que puede suponer la mejora de los rendimientos de los procesos de obtención de biocombustibles: los pretratamientos, en concreto en este caso los de tipo químico, como es la hidrólisis química.

4. Metodología

Teniendo como objetivo realizar una revisión bibliográfica lo más completa posible, procedimos a buscar información sobre el tema del que versa este trabajo, a fin de poder estructurarlo de la forma más organizada. Una vez designados y ordenados los diferentes apartados, comenzamos con la búsqueda específica de información para cada uno de ellos en diferentes bases de datos, como son PubMed, Scopus, AlcorZe y Google Scholar.

Utilizamos como fuentes de información diversos artículos científicos, tanto en inglés como en español, así como Trabajos de Fin de Grado y Tesis Doctorales. Asimismo se han utilizado también apuntes de asignaturas como Biotecnología del Medio Ambiente. Estas fuentes de información se han clasificado e incluido en la bibliografía utilizando el programa Mendeley.

Por último, se ha intentado redactar el trabajo de la forma más concisa y organizada posible, contrastando la información para no incluir datos contradictorios o desfasados.

5. Introducción

Ante el constante aumento de la población mundial y la evolución de las tecnologías, las empresas agroalimentarias han comenzado a llevar sus límites de producción cada vez más lejos, a fin de satisfacer la demanda actual (1). Esto se traduce en una creciente producción de residuos agroindustriales, cuya acumulación supone una amenaza ecológica, por lo que se ha convertido en una de las mayores preocupaciones medioambientales a nivel mundial (2).

Antiguamente, los residuos agrícolas eran incinerados o simplemente se acumulaban en el campo, donde se dejaban pudrir. Debido al enorme aumento de las cantidades en que se producen este tipo de residuos, estas prácticas hoy en día suponen un peligro potencial para el medio ambiente, por lo que es necesario desarrollar métodos de procesamiento que nos permitan reducir su contaminación y darles nuevos usos más sostenibles. Los residuos agrícolas presentan una gran aplicabilidad gracias a su naturaleza ambientalmente benigna, su bajo coste y su alta disponibilidad, además de que son fáciles de reutilizar (1,3).

Al someter estos residuos a digestión anaerobia, podemos mejorar su impacto ecológico al reducir su masa y volumen, al mismo tiempo que se inactivan los procesos biológicos y bioquímicos que producen gases y olores. Además, así generamos también energía de forma respetuosa con el medio ambiente, en forma de biocombustibles (4).

5.1. Biocombustibles

La palabra biocombustible hace referencia a aquellos combustibles que son obtenidos a partir de biomasa, tanto de forma directa como indirecta. La industria dedicada a la producción de biocombustibles y otros materiales a partir de biomasa se denomina biorrefinería (5).

Los biocombustibles se pueden clasificar según su estado (biocombustibles sólidos, líquidos y gaseosos) o según la materia prima de la que proceden (biocombustibles de primera, segunda, tercera o cuarta generación) (6). Dependiendo del tipo de biocombustible del que se trate, se obtendrá por medio de diferentes tratamientos (7).

5.1.1. Clasificación según su estado

Según su estado, los biocombustibles se clasifican en (6):

- **Biocombustibles sólidos:** son aquellos que se utilizan como fuente de energía en estado sólido. Generalmente son productos leñosos que se utilizan de forma directa, aunque también se utilizan otros productos derivados de ellos que se producen a partir de procesos de acondicionamiento, como los pellets, las briquetas, las astillas, el carbón vegetal...
- **Biocombustibles líquidos:** son principalmente aceites y alcoholes, que se utilizan para reemplazar o complementar a los combustibles derivados del petróleo. Su uso energético se destina mayoritariamente al transporte como biocarburantes, siendo los principales el biodiésel y el bioetanol y sus derivados. (8)
- **Biocombustibles gaseosos:** son los gases que se obtienen como resultado de la digestión anaerobia, siendo el metano el más abundante.

5.1.2. Clasificación según su procedencia

Según la materia prima de la que proceden, los biocombustibles se clasifican en:

- **Biocombustibles de primera generación:** son aquellos que se obtienen a partir de azúcares y aceites provenientes de cultivos comestibles, como la caña de azúcar, el maíz, la soja o el girasol. Si la planta de la que provienen tiene un alto contenido en azúcares, se utiliza la fermentación para convertirlos en alcoholes, como en el caso de la utilización de la caña de azúcar para la obtención de bioetanol. Por otro lado, si la planta de la que provienen tiene un alto contenido en grasas o aceites, se utiliza la transesterificación para obtener ésteres grasos al combinar los aceites con alcohol, como en el caso de la obtención del biodiésel (9).
- **Biocombustibles de segunda generación:** son aquellos que se obtienen a partir de las materias primas que no se pueden destinar a alimentación humana, como son los residuos forestales y agrícolas. Estos residuos presentan altos contenidos de celulosa y lignina, por lo que se emplean principalmente procedimientos bioquímicos o termoquímicos para obtener biocombustibles a partir de ellos (9).
- **Biocombustibles de tercera generación:** son aquellos que se obtienen a partir de cianobacterias o microalgas, principalmente. Estos organismos presentan unos ritmos de crecimiento muy rápidos y una gran capacidad de retención de CO₂, además de que no compiten con otros cultivos que son destinados al consumo humano, ya que se pueden cultivar en tierras no aptas para el arado (10).
- **Biocombustibles de cuarta generación:** son aquellos que se obtienen a partir de organismos que han sido genéticamente modificados para lograr mejores rendimientos. Presentan el problema político de que los organismos genéticamente modificados no están permitidos para su comercialización en muchos países (6,11).

5.2. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico que ocurre de forma natural cuando unas bacterias específicas descomponen materia orgánica en ausencia de oxígeno, generando un digestato, que se puede utilizar como fertilizante, y biogás, compuesto principalmente por metano y CO₂, que se puede utilizar como fuente de energía una vez que se ha refinado y acondicionado mediante otros procesos posteriores (12).

5.2.1. Etapas de la digestión anaerobia

Podemos distinguir cuatro fases bien diferenciadas dentro del proceso de digestión anaerobia, que son consecutivas y presentan tiempos de reacción diferentes: son la fase hidrolítica, la fase acidogénica, la fase acetogénica y la fase metanogénica. Para que el proceso global sea estable, es necesario controlar los valores de pH del medio, así como las concentraciones de compuestos inhibidores que puedan resultar como productos intermedios de las distintas fases (12).

Otro factor de máxima importancia es conocer los microorganismos que intervienen en cada fase, ya que cada uno posee unas características específicas y es necesario conocerlas para lograr que el proceso sea óptimo. Algunas de las bacterias más utilizadas son las detalladas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Microorganismos más utilizados en cada fase de la digestión anaerobia (12).

| MICROORGANISMOS MÁS UTILIZADOS | |
|--------------------------------|---|
| FASE HIDROLÍTICA | <u>Bacterias:</u> <i>Clostridium</i> , <i>Proteus Vulgaris</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Micrococcus</i> <u>Algunos protozoos y hongos</u> |
| FASE ACIDOGÉNICA | <u>Bacterias facultativas:</u> <i>Propionibacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Desulfobacter</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Butyrbacterium</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Ruminococcus</i> y <i>Bacteroides</i> |
| FASE ACETOGENICA | <u>Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno:</u> <i>Syntrophomonas wolfei</i> y <i>Syntrophobacter wolinii</i> <u>Bacterias homoacetogénicas:</u> <i>Acetobacterium</i> , <i>Acetogenium</i> , <i>Acetoanaerobium</i> , <i>Butyrbacterium</i> , <i>Clostridium</i> y <i>Pelobacter</i> |
| FASE METANOGENICA | <u>Bacterias acetoclásticas:</u> <i>Methanosarcina</i> , <i>Methanosaeta</i> y <i>Methanospirillum</i> <u>Bacterias hidrogenotróficas:</u> <i>Methanobacterium</i> , <i>Methanobrevibacterium</i> y <i>Methanoplanus</i> |

Fase hidrolítica

Durante esta etapa, los microorganismos (principalmente anaerobios facultativos) rompen las cadenas largas de carbono de los compuestos orgánicos, transformándolas en monómeros o dímeros, cadenas más cortas y simples (**Fig. 1**).

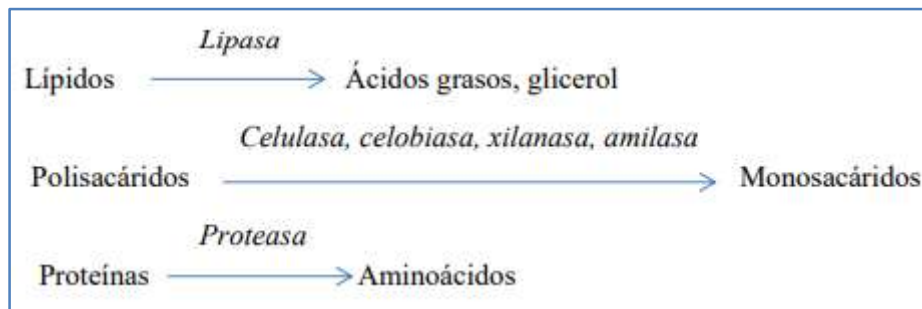


Figura 1. Secuencias de reacciones que dan lugar a compuestos simples a partir de compuestos orgánicos de cadenas largas de carbono, durante la fase hidrolítica de la digestión anaerobia. Imagen procedente de (12).

Fase acidogénica

En esta fase, los compuestos simples obtenidos durante la etapa hidrolítica se degradan para dar lugar a una serie de productos intermedios, que son principalmente ácidos orgánicos volátiles, como el ácido propiónico o el butírico, y alcoholes, como el etanol. También se genera CO_2 , ácido acético e hidrógeno, cuya concentración hay que controlar, ya que puede llegar a inhibir la reacción al cambiar el pH del medio (13).

Fase acetogénica

En esta etapa se forman los principales compuestos precursores del metano, que ya se habrán comenzado a formar en la etapa anterior: el CO_2 , el ácido acético y el hidrógeno.

Las bacterias acetogénicas que participan en esta fase mantienen una relación simbiótica con las bacterias metanogénicas que participan en la última fase, ya que las acetogénicas consumen los ácidos volátiles que se acumulan y pueden inhibir a las metanogénicas, mientras que éstas consumen el hidrógeno que, si se encuentra en altas concentraciones, puede inhibir a las acetogénicas.

Fase metanogénica

Durante esta fase intervienen las bacterias metanogénicas, que emplean el ácido acético y otros ácidos de cadena corta como sustrato para producir principalmente metano y CO_2 como productos finales. En función del tipo de bacteria que actúa, el metano se podrá obtener por dos vías diferentes (14)(**Fig. 2**).

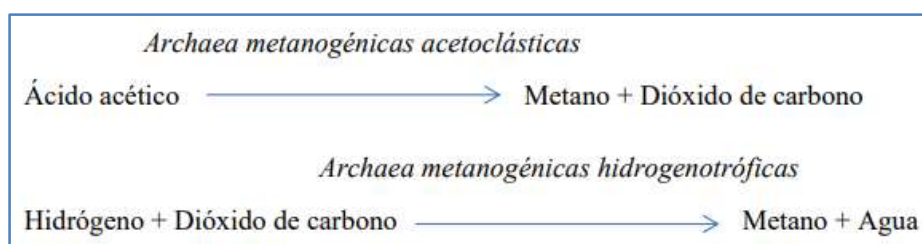


Figura 2. Posibles vías de obtención de metano a partir de diferentes precursores, durante la fase metanogénica de la digestión anaerobia. Imagen procedente de (12).

5.3. Pretratamientos

La biomasa utilizada como fuente de materia orgánica para la producción de biocombustibles de segunda generación son principalmente residuos procedentes de la industria agrícola, residuos municipales y fangos provenientes de la depuración de las aguas, así como otros residuos (15).

Centrándonos en la utilización de residuos agrícolas, es necesario someter esta materia prima a algún tipo de pretratamiento para que la digestión anaerobia se pueda llevar a cabo con unos rendimientos

aceptables. Debido a su carácter recalcitrante y a la irregularidad de la estructura de sus enlaces, pocos microorganismos pueden utilizar la biomasa lignocelulósica directamente como materia prima para producir los compuestos de nuestro interés, por lo que es indispensable someterla a pretratamientos para mejorar la digestibilidad de la lignocelulosa y liberar azúcares que puedan ser utilizados para la fermentación microbiana (**Figura 3**) (16).

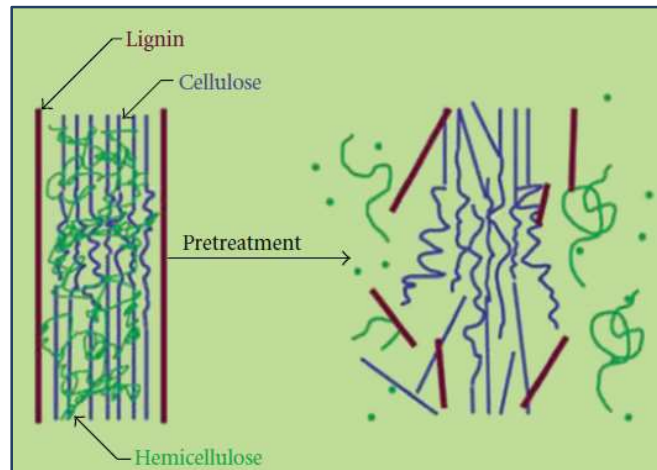


Figura 3. Representación esquemática de la matriz de polímeros en la que se encuentran la lignina, la celulosa y la hemicelulosa, antes y después de someterla a pretratamiento. Imagen tomada de (17,18).

5.3.1. De polisacáridos a azúcares reductores

Las plantas han evolucionado creando complejos mecanismos estructurales y químicos para resistir los ataques a las estructuras de sus azúcares por parte de microorganismos o incluso del reino animal. Algunos de los factores naturales que contribuyen al poder recalcitrante de la biomasa lignocelulósica son el tejido epidérmico de la planta (en concreto la cutícula y las ceras epicuticulares), la disposición y densidad de los haces vasculares, la cantidad de tejido esclerenquimático, el grado de lignificación, la heterogeneidad estructural y la complejidad de los constituyentes de la pared celular (microfibrillas y polímeros de la matriz). Además, a esto se le suman la dificultad de las enzimas para actuar sobre un sustrato insoluble y los compuestos que pueden inhibir las fermentaciones posteriores, que se encuentran de forma natural en las paredes celulares y también se generan durante algunos procesos de conversión.

Estas características químicas y estructurales afectan a la accesibilidad y efectividad de las enzimas.

A nivel molecular, el núcleo de celulosa cristalina de las microfibrillas de la pared celular es altamente resistente a la hidrólisis química y biológica debido a su estructura, en la que las cadenas de celodextrinas están dispuestas con precisión. La conformación en silla de los residuos de glucosa en la celulosa fuerza a los grupos hidroxilo a la orientación radial (ecuatorial) y a los átomos de hidrógeno alifáticos a posiciones axiales. Como resultado, hay un fuerte enlace de hidrógeno entre cadenas adyacentes en una lámina de celulosa e interacciones hidrofóbicas más débiles entre las láminas de celulosa. La cara hidrófoba de las láminas de celulosa hace que la celulosa cristalina sea resistente a la hidrólisis ácida porque contribuye a la formación de una capa densa de agua cerca de la superficie de celulosa hidratada. La fuerte red de enlaces de hidrógeno entre cadenas hace que la celulosa cristalina sea resistente a la hidrólisis enzimática, mientras que la hemicelulosa y la celulosa amorfa son fácilmente digeribles. Las estructuras de orden superior en las plantas también contribuyen a la recalcitrancia de la biomasa. Por ejemplo, el acceso a los núcleos de celulosa cristalina de las microfibrillas está restringido por una capa de celulosa amorfa y hemicelulosa (19).

Los pretratamientos que se aplican a la biomasa lignocelulósica generalmente se basan en una combinación de tratamientos químicos y enzimáticos. Por lo general, se realiza este paso previo al tratamiento para reducir su poder recalcitrante mediante la despolimerización y solubilización de la hemicelulosa, convirtiéndola en monosacáridos y oligosacáridos, que pueden hidrolizarse o fermentarse aún más. Se cree que la eliminación de la hemicelulosa de las microfibrillas expone el núcleo de celulosa cristalina, que luego puede ser hidrolizado por las enzimas celulasas (16,20,21).

5.3.2. Tipos de pretratamientos

Los métodos existentes se pueden clasificar en pretratamientos físicos, fisico-químicos, químicos o biológicos. Se optará por un tipo u otro en función de la materia prima que se quiera tratar y de las instalaciones de las que se disponga (22).

Pretratamientos físicos

Los pretratamientos físicos o mecánicos se basan en la reducción del tamaño de las partículas de biomasa para reducir el grado de polimerización y cristalinidad de la lignocelulosa y aumentar la superficie accesible para su hidrólisis. Por lo general, se utilizan procesos de triturado, molienda y astillado de fácil manejo, así como también procesos de pirólisis, pero presenta la desventaja de que requiere el aporte de energía adicional y, además, no elimina la lignina (23).

Pretratamientos físico-químicos

Los pretratamientos físico-químicos se basan en la modificación de los parámetros que determinan (24) solubilidad de los diferentes componentes de la lignocelulosa, que son la temperatura, el pH y la humedad de la materia prima. Los métodos generalmente utilizados son la explosión de vapor y el uso de aguas calientes en fase líquida.

La explosión de vapor consiste en someter el sustrato a altas presiones y temperaturas, utilizando vapor de agua o ácido sulfúrico diluido para desintegrarlo (25). Este método permite la extracción total de los azúcares, no requiere grandes inversiones económicas y tiene un menor impacto medioambiental que otros métodos, pero durante el proceso algunas de las pentosas y la lignina son degradadas, formando compuestos inhibidores y disminuyendo la producción (23).

Por otro lado, el uso de aguas calientes en fase líquida consiste en hervir la lignocelulosa en agua a una presión determinada. Presenta un alto índice de recuperación de azúcares hemicelulósicos y no da lugar a la formación de compuestos inhibidores siempre que se mantenga el pH entre 4 y 7.

En general, estos pretratamientos tienen la ventaja de que eliminan la hemicelulosa, mejoran la accesibilidad enzimática y reducen el tamaño de partícula del sustrato. Sin embargo, eliminan poca lignina, descomponen azúcares y presentan altos requerimientos de energía.

Pretratamientos químicos

Este tipo de pretratamientos se basa en el uso de diferentes agentes químicos, como ácidos, bases y agentes oxidantes. El resultado que se obtenga dependerá del agente químico utilizado, ya que cada uno actuará sobre la lignocelulosa de una manera distinta. Los principales métodos son la hidrólisis ácida, la hidrólisis alcalina, la hidrólisis con solventes orgánicos y la hidrólisis con ozono (26).

Presentan como ventaja su alta velocidad de reacción y su capacidad para eliminar la hemicelulosa y alterar la estructura de lignina. Sin embargo, eliminan poca lignina, producen compuestos inhibidores y generalmente requieren el uso de agentes para neutralizar las reacciones químicas, con el consecuente requerimiento de deshacerse de estos agentes una vez que han cumplido con su función (23).

Pretratamientos biológicos

Este tipo de pretratamientos consiste en utilizar hongos de podredumbre blanca o enzimas como peroxidasas o lacasas para deslignificar el sustrato. Estos métodos son los más efectivos para degradar la lignina, además de que reducen el grado de polimerización de la celulosa y la hemicelulosa, sin dar lugar a altas concentraciones de compuestos inhibidores (27).

Al no requerir el uso de agentes químicos ni condiciones extremas, tienen un bajo impacto medioambiental, además de que no tienen altos requerimientos energéticos.

Sin embargo, actualmente su uso solo llega a escala de laboratorio, debido al alto coste económico de las enzimas necesarias, así como la lentitud de las reacciones que se llevan a cabo. Otra desventaja es la pérdida de carbohidratos debido a que son consumidos por los microorganismos (23).

6. Pretratamientos Químicos: Hidrólisis Química

Una vez presentado el marco teórico de este trabajo, nos centraremos en el tema principal, que son los pretratamientos químicos, más concretamente los distintos tipos de hidrólisis químicas que existen y se utilizan hoy en día.

Como ya hemos comentado en el **Apartado 5.3.2.**, los pretratamientos químicos consisten en el uso de agentes químicos para obtener los azúcares reductores que se utilizan como sustrato en la primera etapa de la digestión anaerobia de biomasa para la obtención de biocombustibles de segunda generación, en este caso biogás. Son cuatro tipos: hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina, hidrólisis con solventes orgánicos e hidrólisis con ozono.

6.1. Hidrólisis ácida

6.1.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan

El principal objetivo de la hidrólisis ácida es solubilizar la fracción de hemicelulosa de la biomasa lignocelulósica para que la celulosa esté más accesible para las enzimas. Se pueden utilizar ácidos concentrados o diluidos, pero los concentrados se utilizan menos porque producen más compuestos inhibidores, además de que son tóxicos y corrosivos, lo que implica mayores gastos al tener que proteger las instalaciones contra la corrosión y son comercialmente más caros de obtener y mantener, por lo que se utilizan más los ácidos diluidos (28).

El más utilizado es el ácido sulfúrico diluido, ya que es el más económico y efectivo. Al añadirlo a la biomasa lignocelulósica, hidroliza la hemicelulosa dando lugar a xilosa y otros azúcares, rompiendo finalmente también la xilosa para formar furfural. Como resultado se obtiene una fracción líquida, que contiene los azúcares fermentables, y una fracción sólida, que contiene la celulosa y la lignina.

Este método puede alcanzar altos índices de reacción y mejorar significativamente la hidrólisis posterior de la celulosa (29).

También se ha estudiado el uso de otros ácidos, como el ácido clorhídrico, el ácido fosfórico y el ácido nítrico.

Gracias a su capacidad para eliminar la hemicelulosa, estos métodos se utilizan a menudo como parte de procesos generales para el fraccionamiento de los componentes de la biomasa lignocelulósica. Además, si se combina un pretratamiento de hidrólisis ácida, que elimina la hemicelulosa, y uno de hidrólisis alcalina, que elimina la lignina, se puede obtener celulosa relativamente pura (17).

6.1.2. En qué condiciones se lleva a cabo

Generalmente consiste en añadir los ácidos concentrados o diluidos (habitualmente con concentraciones entre 0,2% y 2,5% w/w) a la biomasa lignocelulósica, mezclando de forma constante a temperaturas entre 130°C y 210°C. Dependiendo de las condiciones en que se lleve a cabo, la hidrólisis de los azúcares puede tardar entre unos minutos y varias horas (17).

6.1.3. Principales ventajas

Una ventaja clave de este método es que a veces no es necesario llevar a cabo un proceso posterior de hidrólisis enzimática, ya que el propio ácido hidroliza la biomasa para producir azúcares fermentables. Además, la hemicelulosa y la lignina al ser solubilizadas sufren una mínima degradación, y la hemicelulosa se transforma en azúcares (29).

6.1.4. Principales inconvenientes

Es necesario llevar a cabo un lavado o detoxificación exhaustiva para eliminar el ácido que se ha utilizado antes de que se lleve a cabo el siguiente paso de fermentación. Debido a la naturaleza corrosiva y tóxica de la mayor parte de los ácidos, es necesario tener un equipo preparado para resistir las condiciones experimentales y la corrosividad de los ácidos. Todo esto encarece considerablemente estos métodos.

Además, el furfural que se produce y sus derivados actúan como inhibidores en la fermentación, lo que reduce la efectividad de los procesos posteriores al pretratamiento (17).

6.2. Hidrólisis alcalina

6.2.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan

La hidrólisis alcalina se basa en el efecto que ejercen las bases como el sodio, el potasio, el calcio y el hidróxido de amonio sobre la biomasa lignocelulósica. Su uso causa la degradación de las cadenas laterales de ésteres y glucósidos, produciendo una alteración estructural en la lignina, hinchazón en la celulosa y su descristalización parcial, y la solvatación de la hemicelulosa.

El compuesto que más se ha estudiado a lo largo de los años ha sido el hidróxido de sodio, que es capaz de romper la estructura de lignina de la biomasa, aumentando la accesibilidad de las enzimas a la celulosa y la hemicelulosa (17).

Estos métodos son efectivos para solubilizar principalmente la lignina, siendo menos efectivos sobre la hemicelulosa y la celulosa que otros pretratamientos, como la hidrólisis ácida, causando también menos degradación de azúcares. Se ha observado que es más efectivo con residuos agrícolas que con materiales leñosos (28).

6.2.2. En qué condiciones se lleva a cabo

La hidrólisis alcalina se puede llevar a cabo a temperatura ambiente con tiempos entre segundos y días.

En un estudio se descubrió que las condiciones óptimas para tratar la paja de trigo consistían en utilizar un 1,5% de hidróxido de sodio durante 144 horas a 20°C. Con estas condiciones se liberó el 60% de la lignina y el 80% de la hemicelulosa (17).

6.2.3. Principales ventajas

La principal ventaja de la hidrólisis alcalina es que no requiere temperaturas tan altas como otros pretratamientos, ni se degradan tanto los azúcares (27).

6.2.4. Principales inconvenientes

Sin embargo, su principal inconveniente es que, al ocurrir a temperatura ambiente, necesita más tiempo de reacción.

Además, algunas bases se convierten en sus sales durante el proceso, lo que impide su recuperación pudiendo pasar a formar parte de la biomasa (27).

6.3. Hidrólisis con solventes orgánicos

6.3.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan

La hidrólisis con solventes orgánicos u organosolventes se utiliza principalmente para fraccionar los residuos de madera en sus principales componentes. Se despolimerizan la lignina y la hemicelulosa, que se recuperan en forma de sólidos secos, y la parte fibrosa de la celulosa es convertida en una disolución acuosa obtenida mediante la acción posterior de la hidrólisis enzimática (27).

Se pueden utilizar numerosos solventes orgánicos, incluidos el metanol, el etanol, la acetona, el etilenglicol y el alcohol tetrahidrofurfúrico. Al tener un menor coste de producción, los alcoholes de bajo peso molecular que presentan puntos de ebullición bajos, como el metanol y el etanol, son los más utilizados en la industria.

6.3.2. En qué condiciones se lleva a cabo

Este pretratamiento se suele combinar con el uso de ácidos catalíticos para romper los enlaces de la hemicelulosa. Además, al añadir ácidos se obtienen mayores producciones de xilosa (28).

6.3.3. Principales ventajas

En comparación con otros pretratamientos, la principal ventaja es que con los solventes orgánicos se recupera una lignina relativamente pura como producto secundario.

6.3.4. Principales inconvenientes

Uno de los inconvenientes de estos métodos es que es necesario eliminar los solventes del sistema utilizando técnicas apropiadas de separación y extracción, ya que pueden actuar como inhibidores para las enzimas hidrolíticas y los microorganismos fermentadores. Además, la mayoría de los solventes, excepto los de bajo peso molecular y bajo punto de ebullición, tienen un precio comercial considerablemente elevado, aunque se pueden reciclar para reducir los costes de las operaciones.

6.4. Hidrólisis con ozono

6.4.1. En qué consiste y qué compuestos químicos se utilizan

La hidrólisis con ozono consiste en reducir el contenido de lignina que presenta la biomasa lignocelulósica, ya que el ozono reacciona principalmente con la lignina, promoviendo la destrucción del material lignocelulósico y su deslignificación, facilitando la liberación de azúcares durante la hidrólisis enzimática posterior. Además, no se producen compuestos inhibidores de la hidrólisis y la fermentación posteriores (30).

6.4.2. En qué condiciones se lleva a cabo

Generalmente, este método se lleva a cabo a temperatura ambiente y presión atmosférica.

Se ha utilizado para tratar residuos agrícolas como paja proveniente del trigo y del centeno, aumentando en ambos casos la producción durante la hidrólisis enzimática posterior (28).

6.4.3. Principales ventajas

La principal ventaja que presenta la utilización de ozono es que no se generan compuestos inhibidores, y el proceso es ambientalmente inofensivo.

6.4.4. Principales inconvenientes

El principal inconveniente de este pretratamiento es la gran cantidad de ozono que se necesita para llevarlo a cabo, lo que supone la inviabilidad económica del proceso en algunas ocasiones.

En los últimos años, se ha logrado un importante progreso en el campo de la síntesis del ozono, reduciendo considerablemente su coste. Sin embargo, sigue siendo necesario encontrar las condiciones óptimas para llevar a cabo este método, de forma que se pueda reducir la cantidad necesaria de ozono al mismo tiempo que se aumenta la producción de los compuestos deseados (30).

7. Conclusiones

Una vez finalizada la revisión bibliográfica, una de las conclusiones que podemos obtener es que para la obtención de biocombustibles de segunda generación a partir de biomasa lignocelulósica es indispensable someter esta biomasa primero a una serie de pretratamientos para que los microorganismos de la digestión anaerobia puedan acceder a los sustratos que necesitan para llevar a cabo el proceso.

Por otro lado, podemos concluir que el pretratamiento que mejores resultados nos aportará será aquel que combine varios métodos, como por ejemplo el uso de la hidrólisis ácida conjuntamente con la hidrólisis alcalina.

Por último, podemos comentar que el pretratamiento más prometedor es el método de la hidrólisis con ozono, que cada vez está siendo más estudiado para poder superar los inconvenientes que presenta, como su elevado coste de producción, que ya se ha reducido, y las grandes cantidades que se necesitan de compuesto para llevar a cabo las reacciones, que supone el próximo objetivo de las biorrefinerías.

8. Conclusions

Now that we have finished our literature review, one of our first conclusions is that pretreating the lignocellulosic biomass is an essential first step to obtain second generation biofuels from this kind of biomass. Pretreatments are needed for the microorganisms to have access to the substrates they need for the process.

Moreover, we can conclude that the pretreatment with the best results is the one that combines more than one method. An example of this is the combination of acid and alkaline hydrolysis.

Lastly, we can comment that the most promising pretreatment is the method of ozone hydrolysis, which is being more and more studied in recent years in order to overcome the disadvantages it presents, such as its high production cost, which has already been reduced, and the big quantities of ozone that are needed to carry out the reactions, which is the next goal of biorefineries.

9. Bibliografía

1. Rao P, Rathod V. Valorization of Food and Agricultural Waste: A Step towards Greener Future. *Chemical Record*. 2019 Sep 1;19(9):1858–71.
2. Laiq Ur Rehman M, Iqbal A, Chang CC, Li W, Ju M. Anaerobic digestion. Vol. 91, *Water Environment Research*. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 1253–71.
3. Redondo-Gómez C, Quesada MR, Astúa SV, Zamora JPM, Lopretti M, Vega-Baudrit JR. Biorefinery of Biomass of Agro-Industrial Banana Waste to Obtain High-Value Biopolymers. Vol. 25, *Molecules*. MDPI AG; 2020.
4. Nayono S. Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production. Universität Fridericiana zu Karlsruhe. 2009;Dissertation.
5. Alayoubi R, Mehmood N, Husson E, Kouzayha A, Tabcheh M, Chaveriat L, et al. Low temperature ionic liquid pretreatment of lignocellulosic biomass to enhance bioethanol yield. *Renewable Energy*. 2020 Jan 1;145:1808–16.
6. Lucas Herguedas A. BIOMASA, BIOCOMBUSTIBLES Y SOSTENIBILIDAD. 2012.
7. Joelsson E, Erdei B, Galbe M, Wallberg O. Techno-economic evaluation of integrated first- and second-generation ethanol production from grain and straw. *Biotechnology for Biofuels*. 2016 Jan 4;9(1).
8. Morales-Delarosa S, Campos-Martin JM, Fierro JLG. Complete chemical hydrolysis of cellulose into fermentable sugars via ionic liquids and antisolvent pretreatments. *ChemSusChem* [Internet]. 2014; Available from: <http://www.icp.csic.es/eqsgroup/>
9. Ramos F, Díaz M, Villar M. Biocombustibles. *Universidad Nacional del Sur-Conicet*. 2016;25(47):69–73.
10. Lakatos GE, Ranglová K, Manoel JC, Grivalský T, Kopecký J, Masojídek J. Bioethanol production from microalgae polysaccharides. Vol. 64, *Folia Microbiologica*. Springer; 2019. p. 627–44.
11. Zheng Z, Xu Q, Tan H, Zhou F, Ouyang J. Selective Biosynthesis of Furoic Acid From Furfural by *Pseudomonas Putida* and Identification of Molybdate Transporter Involvement in Furfural Oxidation. *Frontiers in Chemistry*. 2020 Sep 25;8.
12. Parralejo A. Cultivos energéticos y residuos agro-ganaderos como sustratos para optimizar el potencial de generación de biogás en procesos de digestión anaerobia. 2020.
13. Cazier EA, Trably E, Steyer JP, Escudie R. Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 2015 Aug 1;190:106–13.
14. Jang HM, Kim JH, Ha JH, Park JM. Bacterial and methanogenic archaeal communities during the single-stage anaerobic digestion of high-strength food wastewater. *Bioresource Technology*. 2014;165(C):174–82.
15. Molino A, Nanna F, Ding Y, Bikson B, Braccio G. Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel*. 2013;103:1003–9.
16. Zou L, Ouyang S, Hu Y, Zheng Z, Ouyang J. Efficient lactic acid production from dilute acid-pretreated lignocellulosic biomass by a synthetic consortium of engineered *Pseudomonas putida* and *Bacillus coagulans*. *Biotechnology for Biofuels* [Internet]. 2021 Dec 27;14(1):227.

Available from: <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-021-02078-7>

17. Brodeur G, Yau E, Badal K, Collier J, Ramachandran KB, Ramakrishnan S. Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. Vol. 2011, *Enzyme Research*. 2011.
18. Mohamed ET, Werner AZ, Salvachúa D, Singer CA, Szostkiewicz K, Rafael Jiménez-Díaz M, et al. Adaptive laboratory evolution of *Pseudomonas putida* KT2440 improves p-coumaric and ferulic acid catabolism and tolerance. *Metabolic Engineering Communications*. 2020 Dec 1;11.
19. Viell J, Harwardt A, Seiler J, Marquardt W. Is biomass fractionation by Organosolv-like processes economically viable? A conceptual design study. *Bioresource Technology*. 2013;150:89–97.
20. Hendriks ATWM, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Vol. 100, *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd; 2009. p. 10–8.
21. Himmel ME, Ding SY, Johnson DK, Adney WS, Nimlos MR, Brady JW, et al. Biomass recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production. Vol. 315, *Science*. 2007. p. 804–7.
22. Dias MOS, da Cunha MP, MacIel Filho R, Bonomi A, Jesus CDF, Rossell CEV. Simulation of integrated first and second generation bioethanol production from sugarcane: Comparison between different biomass pretreatment methods. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011 Aug;38(8):955–66.
23. Abo BO, Gao M, Wang Y, Wu C, Ma H, Wang Q. Lignocellulosic biomass for bioethanol: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation processes. Vol. 34, *Reviews on Environmental Health*. De Gruyter; 2019. p. 57–68.
24. Xu Z, Huang F. Pretreatment methods for bioethanol production. Vol. 174, *Applied biochemistry and biotechnology*. 2014. p. 43–62.
25. Martínez-Alcalá Á. Producción de bioetanol: mejora del proceso a partir de grano de cereal y de biomasa lignocelulósica tratada con steam explosion. 2012.
26. Díaz A. Hidrólisis de residuos de la venta de verduras y hortalizas para la producción de bioetanol. 2015.
27. Morales De La Rosa S. Hidrólisis ácida de celulosa y biomasa lignocelulósica asistida con líquidos iónicos. 2015.
28. Alvira P, Tomás-Pejó E, Ballesteros M, Negro MJ. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*. 2010 Jul;101(13):4851–61.
29. Kumar P, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. Vol. 48, *Industrial and Engineering Chemistry Research*. 2009. p. 3713–29.
30. Ben'ko EM, Lunin V v. Patterns of the Ozone Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Subsequent Fermentation into Sugars. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2020 Sep 1;94(9):1943–8.