



Esta obra está bajo una **Licencia Creative Commons**
Atribución/reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 internacional

Biorrefinería de biomasa de jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*): un enfoque sostenible con disolventes eutécticos profundos

Andrés F. Monroy, Gustavo P. Romanelli, Ángel G. Sathicq, Gerardo A. Caicedo Pineda, José J. Martínez Zambrano.
Investigación Joven, (12), e009, artículos, 2025

<https://doi.org/10.24215/23143991e009>

ISSN 2314-3991 | <https://revistas.unlp.edu.ar/InvJov/index>

Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
La Plata, Buenos Aires, Argentina

BIORREFINERÍA DE BIOMASA DE JACINTO DE AGUA (*EICHHORNIA CRASSIPES*): UN ENFOQUE SOSTENIBLE CON DISOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS

WATER HYACINTH (*EICHHORNIA CRASSIPES*) BIOMASS BIOREFINERY: A SUSTAINABLE APPROACH USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS

Andrés F. Monroy¹

andresmonroy@quimica.unlp.edu.ar

<https://orcid.org/0009-0008-9663-8936>

Gustavo P. Romanelli^{1, 2}

gpr@quimica.unlp.edu.ar

<https://orcid.org/0000-0002-3529-4753>

Ángel G. Sathicq¹

agsathicq@quimica.unlp.edu.ar

<https://orcid.org/0000-0003-4876-6286>

Gerardo A. Caicedo Pineda³

gerardo.caicedo@uptc.edu.co

<https://orcid.org/0000-0003-2320-0980>

José J. Martínez Zambrano³

jose.martinez@uptc.edu.co

<https://orcid.org/0000-0002-4906-7121>

¹ | Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas (CINDECA-CIC-CONICET-UNLP), Argentina

² | Universidad Nacional de La Plata (Facultad de Ciencias Exactas), Argentina

³ | Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Facultad de Ciencias), Colombia.

RESUMEN

Se investigó el papel crítico de los disolventes eutécticos profundos (DES) en los procesos de biorrefinería, centrándose en sus aplicaciones en el pretratamiento de la biomasa. La investigación destaca la eficacia de los sistemas DES en la eliminación de lignina y hemicelulosa, la producción de nanofibras de celulosa. También explora la síntesis de moléculas de plataforma utilizando DES. El estudio identifica el método de pretratamiento como crucial para maximizar los rendimientos de levulinato de alquilo. Se describen los pretratamientos químicos y biológicos sobre la biomasa de Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*) como medios para la obtención de un mayor rendimiento de celulosa con un contenido mínimo de hemicelulosa y lignina.

PALABRAS CLAVE: Levulinato de alquilo, pretratamiento biológico, catalizadores heteropoliácidos.

ABSTRACT

The critical role of deep eutectic solvents (DES) in biorefinery processes was investigated, focusing on their applications in biomass pretreatment. The research highlights the effectiveness of DES systems in removing lignin and hemicellulose and producing cellulose nanofibers. It also explores the synthesis of platform molecules using DES. The study identifies the pretreatment method as crucial for maximizing alkyl levulinate yields. Chemical and biological pretreatments on water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) biomass are described as means of obtaining higher cellulose yields with minimal hemicellulose and lignin content.

KEYWORDS: Alkyl levulinate, biological pretreatment, heteropolyacid catalysts.

INTRODUCCIÓN

Las fuentes de biomasa lignocelulósica, como las plantas acuáticas, han sido poco exploradas, ya que su utilización ha implicado tradicionalmente tratamientos insostenibles desde el punto de vista energético y medioambiental, lo que ha impedido su escalado a nivel comercial. Sin embargo, la biomasa obtenida del jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*) podría ser un precursor potencialmente valioso para obtener productos de gran interés industrial, ya que se ha utilizado como sustrato principal para obtener bioetanol, contribuyendo a la conservación de los ecosistemas acuáticos afectados por su crecimiento descontrolado (Liu et al., 2018). El uso del jacinto acuático como biomasa se debe a que *E. crassipes* es una planta acuática flotante originaria de la cuenca del río Amazonas en Sudamérica que se ha extendido a más de 50 países de los cinco continentes y tiene una tasa de crecimiento extremadamente alta, de entre 100 y 140 toneladas de materia seca al año, dependiendo de la ubicación y la época del año. Esta tasa de crecimiento se encuentra entre las más altas registradas para una amplia gama de fuentes de biomasa (Mosier et al., 2005). Sin embargo, el principal obstáculo para la valorización de este tipo de biomasa en compuestos de interés es el tipo de pretratamiento que se le aplica. Dadas las características particulares de este tipo de biomasa lignocelulósica, como el hecho de ser un material altamente estructurado y

muy resistente a la degradación biológica, requiere una etapa de pretratamiento previa a la etapa de hidrólisis, en la que se obtienen azúcares fermentables que pueden utilizarse para la síntesis de estos productos (Alvira et al., 2010) El objetivo del pretratamiento es modificar la estructura de la biomasa y descomponer la estructura cristalina de la celulosa con el fin de aumentar la accesibilidad del sustrato a la hidrólisis química o enzimática. El pretratamiento de la biomasa lignocelulósica es, por lo tanto, un paso fundamental para mejorar la eficiencia de la conversión biológica y química en productos de alto valor añadido; sin embargo, introduce complejidades en el proceso y contribuye significativamente a los costes económicos y energéticos (Mosier et al., 2005) El pretratamiento de la biomasa lignocelulósica es, por lo tanto, un paso fundamental para mejorar la eficiencia de la conversión biológica y química en productos de alto valor añadido; sin embargo, introduce complejidades en el proceso y contribuye significativamente a los costes económicos y energéticos (Mosier et al., 2005) Un buen pretratamiento debe mejorar, entre otros aspectos, la producción de azúcares a partir de fracciones hemicelulósicas y celulósicas, prevenir la degradación o pérdida de carbohidratos, evitar la formación de inhibidores en las etapas posteriores de hidrólisis enzimática y fermentación, y ser económicamente viable (Cantarella et al., 2004). Se han explorado diversas técnicas de pretratamiento, cada una con sus ventajas y desventajas específicas. (Alvira et al., 2010; Mosier et al., 2005; Oku et al., 2015; Singh et al., 2015). Entre las diferentes tecnologías de pretratamiento, la explosión de vapor, el tratamiento ácido con ácido sulfúrico y el tratamiento alcalino con hidróxido de sodio destacan como los métodos más eficaces y ampliamente adoptados para descomponer la biomasa lignocelulósica, obtener celulosa y mejorar su susceptibilidad a la digestión enzimática (Alvira et al., 2010; Balat, 2011; Sassner et al., 2008). Estos enfoques se basan en una combinación de efectos térmicos, químicos y mecánicos que actúan sobre la biomasa, disolviendo los azúcares celulósicos y hemicelulósicos, rompiendo las fibras de lignocelulosa, alterando la cristalinidad de la celulosa e induciendo también cambios en la lignina. Otra forma de pretratar la biomasa lignocelulósica es mediante el uso de microorganismos, ya sean hongos o bacterias.

Sin embargo, el proceso de conversión en compuestos de alto valor añadido, como los levulinatos de alquilo, requiere grandes cantidades de ácidos homogéneos y el uso de biomasa lignocelulósica de origen terrestre, lo que no es sostenible debido a su competencia con otros usos agrícolas y escasa abundancia en comparación con la biomasa del jacinto acuático (*E. crassipes*). Por lo tanto, se ha buscado una forma de transformar estos residuos en otros tipos de productos, como los levulinatos de alquilo, utilizando este tipo de pretratamiento, ya que los levulinatos de alquilo pueden utilizarse como aditivos para combustibles y en la producción de disolventes y plastificantes. Debido a su alta miscibilidad en diésel o gasolina, algunos ésteres de levulinato pueden mezclarse con estos combustibles energéticos y reducir la emisión de gases contaminantes como el NO y NO₂ a la atmósfera. La presencia de levulinatos de alquilo en el combustible diésel mejora algunas de sus propiedades importantes, como el aumento de la lubricidad, el punto de inflamación y la estabilidad de la viscosidad, así como la disminución del contenido de azufre y la toxicidad (Luan et al., 2018) La esterificación del ácido levulínico es una forma prometedora de producir levulinatos de alquilo, como los levulinatos de metilo, etilo, n-butilo y octilo. Entre estos ésteres, la solubilidad del levulinato de etilo es mayor que la de otros levulinatos de alquilo, como el levulinato de butilo o el levulinato de metilo, en la gasolina (Luan et al., 2018). El levulinato de etilo se puede producir mediante una reacción de esterificación entre el etanol y el ácido levulínico con un catalizador en medio ácido. Existen varios estudios

sobre la esterificación catalizada de manera homogénea del ácido levulínico (Alonso et al., 2011; Bart et al., 1994; Deng et al., 2013; Mehdi et al., 2008).

Sin embargo, se necesita un catalizador para promover la reacción entre la celulosa de la biomasa lignocelulósica y el medio de reacción. Los heteropoliaácidos (HPA) de tipo Keggin presentan una serie de ventajas que los hacen muy atractivos como catalizadores ácidos en diversas reacciones en fase líquida homogéneas o heterogéneas que se han utilizado ampliamente en reacciones con celulosa obtenida de fuentes de biomasa pretratadas. Estas ventajas incluyen baja volatilidad, baja corrosividad, alta acidez, alta actividad, flexibilidad y estabilidad térmica. Por ejemplo, los HPA sólidos como el $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ y el $\text{H}_4\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}$, incluso sin ningún soporte, muestran una actividad notable en las reacciones de deshidratación del alcohol, a pesar de tener una superficie relativamente pequeña, generalmente en el rango de $1\text{-}5\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$. Esto se debe a que estas reacciones siguen un mecanismo de catálisis de tipo I (pseudolíquido), en el que todos los protones, tanto superficiales como internos, participan en la catálisis ácida. En este contexto, la superficie se convierte en un factor menos relevante (Izumi et al., 1983; Kozhevnikov y Matveev, 1982; Morin et al., 2007).

Del mismo modo, otro tipo de catalizadores ácidos que destacan son los líquidos iónicos; se trata de tipos especiales de líquidos, cuyos puntos de fusión son inferiores a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Están formados por un catión orgánico bastante sustancial y un anión inorgánico u orgánico (líquidos iónicos moleculares) (Mosafa et al., 2013). Debido a sus propiedades superiores, los líquidos iónicos pueden utilizarse tanto como disolventes como catalizadores. En el contexto de la síntesis de levulinato, algunos investigadores han descrito la actividad catalítica de los líquidos iónicos ácidos en la síntesis de levulinato de alquilo a partir de diferentes carbohidratos. Amarasekara y Wiredu (2014) describieron la conversión en un solo paso de celulosa en levulinato de etilo utilizando líquidos iónicos ácidos como catalizador. El mayor rendimiento de levulinato de etilo se obtuvo al 19 % cuando la reacción se llevó a cabo a $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 h en un medio de agua/etanol que contenía un 38,5 % de agua y utilizando cloruro de 1-(1-propilsulfónico)-3-metilimidazolio como catalizador. En el estudio de Guan et al. (2018), se obtuvo levulinato de etilo a partir de paja de trigo, una biomasa lignocelulósica, utilizando líquido iónico sulfonado. La tasa de conversión más alta, del 86 %, se obtuvo a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 60 minutos en presencia de un líquido iónico de carácter ácido (bisulfato de 1-metil-3-(4-sulfobutil) imidazol) como catalizador, y el rendimiento del levulinato de etilo se calculó en un 16 %, con un contenido en los productos líquidos del 28,1 %.

Como líquidos iónicos, los disolventes eutécticos profundos (DES) integrarían las ventajas de los catalizadores homogéneos y heterogéneos. Los disolventes eutécticos profundos son disolventes de nueva generación, son mezclas de donantes de enlaces de hidrógeno (HBD) y aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA). El punto de fusión de los DES es inferior al de sus componentes debido al enlace de hidrógeno entre HBD y HBA (Mamilla et al., 2019). Los DES tienen las ventajas de los líquidos iónicos, a saber, baja presión de vapor, estabilidad química y térmica, no inflamabilidad, alta solubilidad, bajo punto de fusión y adaptabilidad, pero los DES son más baratos, no tóxicos y biodegradables que los líquidos iónicos (Zdanowicz et al., 2016). Debido a la atención prestada a los disolventes eutécticos profundos y a la mayor disolución de las muestras de biomasa en estos disolventes, se han utilizado en el procesamiento de biomasa: fraccionamiento de biomasa (Li et al., 2018; Liang et al., 2019; Mamilla et al., 2019; Tan et al., 2018; Zhang et al., 2016), conversión de fructosa (Gawade y Yadav, 2018) y conversión de celulosa (Sert et al., 2018). Liang et al. (2019) estudiaron un disolvente

eutéctico profundo sintetizado a partir de cloruro de colina y etilenglicol para el fraccionamiento secuencial de biomasa (Liang et al., 2019). Gawade y Yadav (2018) estudiaron la conversión de D-fructosa en 5-etoximetilfurfural utilizando varios DES bajo calentamiento por microondas. Se descubrió que el cloruro de colina y ácido oxálico era el mejor DES para una conversión del 92 % de D-fructosa con un rendimiento del 74 % de 5-etoximetilfurfural.

Utilización de disolventes eutécticos profundos (DES) en la producción de compuestos de alto valor a partir de biomasa.

Los investigadores y las industrias llevan mucho tiempo utilizando disolventes orgánicos volátiles para diversas aplicaciones en química orgánica, productos farmacéuticos y extracción. Sin embargo, estos compuestos son altamente tóxicos e inflamables, lo que suscita una gran preocupación por la salud humana y el medio ambiente. Además, su uso extensivo, en síntesis, extracción y biotecnología genera una cantidad considerable de residuos (Costa y Aschner, 2014; Domínguez de María, 2017; Singh et al., 2021). Los disolventes neotéricos constituyen una clase de compuestos químicos conocidos por su alta eficiencia y baja toxicidad, comúnmente utilizados como disolventes en aplicaciones industriales y alineado con los principios de la química verde. A diferencia de los disolventes orgánicos, están diseñados para tener baja toxicidad, alta biodegradabilidad y un impacto mínimo en el calentamiento global. Además, los disolventes neotéricos pueden ser solubles en agua, lo que facilita su gestión y eliminación, mientras que muchos disolventes orgánicos son insolubles en agua y pueden suponer un peligro para el medio ambiente y la salud humana. Los disolventes neotéricos representan una alternativa más respetuosa con el medio ambiente y más segura que los disolventes orgánicos convencionales (Singh et al., 2021).

Entre los disolventes neotéricos, una nueva generación de disolventes ecológicos caracterizados por su solubilidad en agua, baja toxicidad, alta biodegradabilidad y mínimo impacto medioambiental son los disolventes eutécticos profundos (DES). Estos han sido ampliamente estudiados y son muy prometedores debido a sus versátiles aplicaciones. Además de minimizar la generación de residuos, los DES se adhieren a los principios de la química ecológica, con el objetivo de reducir el impacto medioambiental de los procesos químicos. Estos disolventes presentan una alta reactividad, gracias a su capacidad para formar enlaces de hidrógeno tanto como donantes como aceptores, lo que los hace versátiles en diversas disciplinas científicas (Espinosa Negrín et al., 2021). Los DES pueden establecer enlaces de hidrógeno con la lignina y otros componentes de la biomasa, lo que puede alterar algunas de las interacciones internas de la biomasa, debilitar su estructura y facilitar su descomposición. Esto puede facilitar el acceso a polisacáridos como la celulosa y la hemicelulosa por parte de enzimas o microorganismos que descomponen la biomasa. La recalcitrancia de la biomasa supone un reto importante para la utilización eficiente de biomasa lignocelulósica, lo que convierte el pretratamiento en un paso crucial para el éxito de la biorrefinería (Espinosa Negrín et al., 2021). Se han desarrollado procesos de pretratamiento ácidos y alcalinos para procesar la biomasa, mientras que los retos técnicos, como el alto consumo de energía, los costes operativos y la corrosión de los equipos derivados de las técnicas aplicadas actualmente, impulsan el desarrollo de nuevos procesos de pretratamiento (Singh et al., 2011). Los DES pueden contrarrestar el efecto de la recalcitrancia de la biomasa gracias a la capacidad de sus componentes para formar enlaces de hidrógeno con los constituyentes de la biomasa. Cuando un DES interactúa con la biomasa, los grupos funcionales presentes en el disolvente interactúan

con los componentes de la biomasa, como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. Estos grupos funcionales actúan como donantes o aceptores de hidrógeno, lo que les permite establecer enlaces de hidrógeno con las entidades químicas de la biomasa (Cañadas et al., 2020; M. B. Singh et al., 2021). Por lo tanto, el DES ha sido reconocido como un disolvente prometedor para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica, aunque su aplicación a la biomasa se encuentra todavía en fase exploratoria (Ai et al., 2020). Esta revisión examina de forma exhaustiva las diversas aplicaciones de los disolventes eutécticos profundos (DES) en el pretratamiento de la biomasa. Destaca su papel en la eliminación de lignina, la reducción de hemicelulosa y la separación y extracción de carbohidratos. También se analiza la producción de nanofibras de celulosa y la extracción de proteínas, lípidos, ácidos grasos, compuestos fenólicos y otros ácidos orgánicos. Además, la revisión aborda la síntesis de moléculas de plataforma como el 5-hidroximetilfurfural (HMF), sus derivados y el ácido levulínico, así como la producción de etanol y polímeros utilizando DES. Se explora la utilidad de los disolventes eutécticos polimerizables profundos. Por último, la revisión ofrece valiosas ideas y herramientas para avanzar en la investigación sobre el uso de sistemas DES en biorrefinerías de alta y baja biomasa.

Síntesis de levulinato de butilo utilizando un heteropoliácido de Keggin a partir de celulosa de *Eichhornia crassipes* obtenida mediante pretratamiento biológico

Las fuentes poco exploradas de biomasa lignocelulósica incluyen las plantas acuáticas, principalmente porque su utilización tradicional ha implicado tratamientos que no son sostenibles desde el punto de vista energético y medioambiental, lo que ha obstaculizado su escalado comercial. La biomasa derivada del jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*) podría ser un valioso precursor para obtener productos industriales de gran interés, contribuyendo a la conservación de los ecosistemas acuáticos afectados por su crecimiento descontrolado (Sindhu et al., 2017). Entre esos compuestos, los levulinatos de alquilo (AL) encontraron amplias aplicaciones, incluyendo aditivos para combustibles, disolventes y plastificantes. Debido a su alta miscibilidad en diésel o gasolina, algunos ésteres de levulinato pueden mezclarse con estos combustibles, reduciendo así la emisión de contaminantes como el NO_x a la atmósfera.

Los levulinatos de alquilo se producen a partir de celulosa utilizando heteropoliácidos (HPA) (Raspolli Galletti et al., 2020; Yamanaka y Shimazu, 2023). Estos catalizadores son atractivos para la alcohólisis de celulosa más recalcitrante e incluso de biomasa real. Los HPA ofrecen una serie de ventajas que los hacen muy atractivos como catalizadores en una variedad de reacciones en fase líquida homogéneas o heterogéneas y se han utilizado ampliamente en reacciones que involucran celulosa obtenida de fuentes de biomasa pretratadas. Estas ventajas incluyen baja volatilidad, baja corrosividad, alta acidez, alta actividad, flexibilidad y estabilidad térmica. Por ejemplo, sólidos como H₃PW₁₂O₄₀ y H₄SiW₁₂O₄₀, incluso sin ningún soporte, muestran una actividad notable en reacciones de deshidratación de alcohol, a pesar de tener una superficie relativamente pequeña, generalmente del orden de 1-5 m²/g. Esto se debe a que estas reacciones siguen un mecanismo de catálisis de tipo I (pseudolíquido), en el que todos los protones, tanto superficiales como internos, participan en la catálisis ácida. En este contexto, la superficie pierde relevancia (Di Menno Di Bucchianico, 2022). Zhao et al. (2015) sustituyeron un protón del H₃PW₁₂O₄₀ de tipo Keggin por cationes monovalentes más grandes, como K⁺ (KH₂PW₁₂O₄₀) y Ag⁺ (AgH₂PW₁₂O₄₀), lo que disminuyó la acidez de Brönsted inicial y convirtió al catalizador en insoluble. Se identificó al KH₂PW₁₂O₄₀ como el mejor catalizador, ya que produjo un rendimiento máximo de EL similar al

obtenido con el $\text{AgH}_2\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ y supuso una síntesis más económica con precursor de KCl, en lugar de AgNO_3 . Además, los autores demostraron que la adición de tolueno aumentaba considerablemente el rendimiento de EL a partir de la fructosa, pasando del 51 % mol (con EtOH puro) al 69 % mol, lo que se atribuyó a la extracción de EL en la fase de tolueno, que impedía la degradación del producto. También se obtuvieron buenos rendimientos de EL a partir de la inulina y la sacarosa, mientras que, una vez más, se obtuvieron rendimientos de EL insatisfactorios a partir de la glucosa y la celulosa (Zhao et al., 2015). De manera similar, Pinheiro et al. (2019) sintetizaron varias sales de estaño de $\text{H}_4\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}$, que eran casi insolubles en un medio alcohólico, y compararon su rendimiento en la síntesis de EL, partiendo de diferentes sacáridos. Los autores demostraron que $\text{Sn}_2\text{SiW}_{12}\text{O}_{40}$ era el catalizador más activo, lo que daba lugar a rendimientos prometedores de EL a partir de fructosa, sacarosa e inulina, y que el intercambio de protones por Sn^{2+} tenía un efecto beneficioso sobre la selectividad de EL. El rendimiento muy alto de la sacarosa (78 % mol), el disacárido de fructosa y glucosa, se atribuyó a la contribución de la unidad de glucosa, que después de haber sido liberada en el sitio catalítico, se isomeriza directamente a fructosa y luego se convierte en EL (Pinheiro et al., 2019).

Sin embargo, el proceso para convertir biomasa lignocelulósica y biomasa celulósica en levulinatos de alquilo requiere grandes cantidades de ácidos homogéneos, y el pretratamiento aplicado es el principal obstáculo para la valorización de este tipo de biomasa. Se ha estudiado la butanolisis de la celulosa en presencia de ácido sulfúrico diluido (aproximadamente 0,2 mol/L), lo que ha dado lugar a buenos rendimientos de BL, aproximadamente un 40 % mol, trabajando en condiciones de reacción típicas ya adoptadas para AL de cadena más corta anteriores (Garves, 1988). Dadas las características de este tipo de biomasa lignocelulósica, como el hecho de ser un material altamente estructurado y muy resistente a la degradación biológica, requiere una etapa de pretratamiento antes de la etapa de hidrólisis, en la que se obtienen azúcares fermentables (Raspolli Galletti et al., 2020). El objetivo del pretratamiento es modificar la estructura de la biomasa y romper la estructura cristalina de la celulosa, aumentando así la accesibilidad del sustrato a la hidrólisis química o enzimática (Di Menno Di Bucchianico, 2022). Se han explorado diversas técnicas de pretratamiento, cada una con ventajas y desventajas específicas (Di Menno Di Bucchianico, 2022; Garves, 1988; Pinheiro et al., 2019; Raspolli Galletti et al., 2020). Las principales desventajas que se observan en los pretratamientos químicos son el alto consumo de reactivos, la corrosión de los equipos, los elevados costes energéticos, la necesidad de altas temperaturas entre 60 y 120 °C, los bajos rendimientos de azúcares y la formación de huminas como productos indeseables tras la reacción (Piñeros-Castro, 2016).

Por otro lado, el pretratamiento biológico es un enfoque ecológico para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica que implica el uso de microorganismos, como hongos o bacterias (Piñeros-Castro, 2016). Estos microorganismos producen celulasas, hemicelulasas, enzimas degradadoras de lignina (lignina peroxidasa, polifenol oxidasa y lacasa) y enzimas reductoras de quinona. Un género de microorganismos atractivo para este proceso es *Bacillus*, que puede producir enzimas extracelulares como celulasas, amilasas y xilanasas para convertir polímeros de carbohidratos en monómeros como azúcares simples o glucosa (Su et al., 2020). Por último, el género *Bacillus* está generalmente reconocido como seguro (GRAS) y tiene características fisiológicas excepcionales y un metabolismo muy adaptable, lo que facilita su crecimiento en sustratos económicos (Su et al., 2020; Westers et al., 2004; Zweers et al., 2008).

DISCUSIÓN

Las biorrefinerías lignocelulósicas se enfrentan a importantes retos, que van desde la selección de materias primas adecuadas hasta técnicas de pretratamiento eficaces, costes de producción y equipamiento, y la gestión de residuos peligrosos para el medio ambiente. La lignina, un componente crucial de las células vegetales, ofrece oportunidades de obtener beneficios comerciales y medioambientales mediante la despolimerización. La ingeniería genética ofrece un medio para modificar el contenido de lignina mediante la regulación a la baja de los genes biosintéticos monolignoides. Sin embargo, el proceso de pretratamiento sigue siendo fundamental para la descomposición de la biomasa lignocelulósica y la producción de azúcar (Bajpai, 2021; Chen y Mu, 2019).

Las tecnologías industriales que adoptan conceptos de biorrefinería deben esforzarse por reducir los costes de pretratamiento y desarrollar un proceso universal aplicable a una amplia gama de materiales. Además, deben garantizar el procesamiento adecuado de subproductos como el furfural, el hidroximetilfurfural, el ácido acético y los compuestos fenólicos para evitar interferencias en el proceso de fermentación. La exploración de alternativas a la celulosa, como los alcanos o los alquenos, podría ofrecer soluciones viables (Bajpai, 2021; Chen y Mu, 2019).

El DES puede inducir la deslignificación selectiva de la biomasa, lo que permite que los polisacáridos permanezcan intactos y se transformen en azúcares monoméricos mediante hidrólisis enzimática. Por este motivo, es necesario realizar una investigación sistemática sobre el impacto de la composición y las propiedades fisicoquímicas del DES en la lignina, la celulosa y la hemicelulosa. Es fundamental comprender de forma exhaustiva los efectos sinérgicos de las estrategias de pretratamiento integradas, que incluyen la química, la fisicoquímica y la biología, para poder ampliar con éxito todo el proceso. Además, la optimización de las condiciones de reacción para el pretratamiento integrado, incluidas la relación sólido-líquido, las relaciones molares HBA/HBD, la temperatura y el tiempo de reacción, junto con otras variables de control del proceso basadas en la naturaleza de la materia prima y los resultados esperados del pretratamiento, es esencial para garantizar la rentabilidad del proceso. Para desarrollar un proceso estándar, es necesario realizar análisis tecnoeconómicos y del ciclo de vida del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica basado en DES. Además, se requiere la producción a gran escala de DES para que estén disponibles como disolventes ecológicos de bajo coste (Bajpai, 2021; Chen y Mu, 2019).

El pretratamiento biológico con hongos desempeña un papel importante en la maximización de la producción de lignina, la prevención de la degradación de la holocelulosa y el aumento del rendimiento de glucosa durante el proceso de hidrólisis enzimática. Eka Sari et al. (2014) informan de que la degradación de la lignina alcanzó el 51,55 % en la sexta semana de incubación del jacinto acuático con *Phanerochaete chrysosporium*. Por otro lado, según lo informado por Jongmeesuk et al. (2014) una concentración enzimática de 0,30 ml/g de jacinto acuático y un tiempo de incubación de 48 h produjeron la mayor concentración de azúcar reductor de $11,95 \pm 0,22$ g/l. Sin embargo, la eficiencia de la hidrólisis de la celulosa del sustrato pretratado dependía de varios parámetros del proceso, como la carga enzimática, la carga de biomasa, el tiempo de incubación y la concentración de tensioactivo (Jongmeesuk et al., 2014). Recientemente, la aplicación industrial del género *Bacillus* sp. ha experimentado un rápido desarrollo, convirtiéndose en la principal fábrica de células microbianas para la

producción de diversos productos industriales (Liu et al., 2017; Schallmeyer et al., 2004), como enzimas (van Dijk y Hecker, 2013), proteínas (Cui et al., 2018), antibióticos (Cherukuri et al., 2020), vitaminas (Acevedo-Rocha et al., 2019) y aminoácidos (Wang et al., 2019). En particular, el género *Bacillus* sp. en los procesos de fermentación de la biomasa lignocelulósica no solo es útil como pretratamiento, sino también para la generación de productos de gran importancia para diversas industrias, como la alimentaria, la cosmética, la química y la farmacéutica. Entre los compuestos producidos por este microorganismo se encuentran la vitamina B2, la vitamina K, el scyllo-inositol, el ácido hialurónico, la N-acetilglucosamina y el ácido γ -poliglutámico (γ -PGA) (Goto y Kunioka, 1992; Su et al., 2020).

CONCLUSIONES

La integración de tecnologías basadas en DES es muy prometedora para hacer económicamente viable la bioconversión de biomasa lignocelulósica en biocombustibles y bioproductos. Además, el desarrollo de estrategias eficientes de recuperación y purificación, junto con la evaluación del ciclo de vida, es esencial para el desarrollo sostenible de los bioprocesos a escala industrial. Esta revisión puede ayudar a los investigadores a explorar nuevas técnicas de extracción basadas en DES o a mejorar las existentes para aumentar la eficiencia de la bioconversión de la lignocelulosa.

Las biorrefinerías lignocelulósicas se enfrentan a importantes retos, que van desde la selección de materias primas adecuadas hasta técnicas de pretratamiento eficaces, costes de producción y equipamiento, y la gestión de residuos peligrosos para el medio ambiente. La lignina, un componente crucial de las células vegetales, ofrece oportunidades de obtener beneficios comerciales y medioambientales mediante la despolimerización. Sin embargo, el proceso de pretratamiento ácido y biológico siguen siendo fundamentales para la descomposición de la biomasa lignocelulósica y la producción de azúcar.

REFERENCIAS

- Acevedo-Rocha, C. G., Gronenberg, L. S., Mack, M., Commichau, F. M. y Genee, H. J. (2019). Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 18-29. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.006>
- Ai, B., Li, W., Woomer, J., Li, M., Pu, Y., Sheng, Z., Zheng, L., Adedeji, A., Ragauskas, A. J. y Shi, J. (2020). Natural deep eutectic solvent mediated extrusion for continuous high-solid pretreatment of lignocellulosic biomass. *Green Chemistry*, 22(19), 6372-6383. <https://doi.org/10.1039/d0gc01560a>
- Alonso, D. M., Wettstein, S. G., Bond, J. Q., Root, T. W. y Dumesic, J. A. (2011). Production of biofuels from cellulose and corn stover using alkylphenol solvents. *ChemSusChem*, 4(8), 1078-1081. <https://doi.org/10.1002/cssc.201100256>
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. y Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851-4861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
- Amarasekara, A. S., y Wiredu, B. (2014). Acidic ionic liquid catalyzed one-pot conversion of cellulose to ethyl levulinate and levulinic acid in ethanol-water solvent system. *Bioenergy Research*, 7(4), 1237-1243. <https://doi.org/10.1007/s12155-014-9459-z>
- Bajpai, P. (2021). *Deep eutectic solvents for pretreatment of lignocellulosic biomass*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-4013-1>

- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review. *Energy Conversion and Management*, 52(2), 858-875. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.013>
- Bart, H. J., Reidetschläger, J., Schatka, K. y Lehmann, A. (1994). Kinetics of esterification of levulinic acid with n-butanol by homogeneous catalysis. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 33(1), 21-25. <https://doi.org/10.1021/ie00025a004>
- Cañadas, R., González-Miquel, M., González, E. J., Díaz, I. y Rodríguez, M. (2020). Overview of neoteric solvents as extractants in food industry: a focus on phenolic compounds separation from liquid streams. *Food Research International*, 136, 109558. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109558>
- Cantarella, M., Cantarella, L., Gallifuoco, A., Spera, A. y Alfani, F. (2004). Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF. *Process Biochemistry* 39(11), 1533-1542. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00285-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00285-1)
- Chen, Y. y Mu, T. (2019). Application of deep eutectic solvents in biomass pretreatment and conversion. *Green Energy and Environment*, 4(2), 95-115. <https://doi.org/10.1016/j.gee.2019.01.012>
- Cherukuri, P. K., Songkiatisak, P., Ding, F., Jault, J. M. y Xu, X. H. N. (2020). Antibiotic Drug Nanocarriers for Probing of Multidrug ABC Membrane Transporter of *Bacillus subtilis*. *ACS Omega*, 5(3), 1625-1633. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03698>
- Costa, L. G. y Aschner, M. (2014). Organic Solvents. En *Encyclopedia of the Neurological Sciences* (pp. 694-695). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00268-2>
- Cui, W., Han, L., Suo, F., Liu, Z., Zhou, L. y Zhou, Z. (2018). Exploitation of *Bacillus subtilis* as a robust workhorse for production of heterologous proteins and beyond. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(145). <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2531-7>
- Deng, J., Wang, Y., Pan, T., Xu, Q., Guo, Q. X. y Fu, Y. (2013). Conversion of carbohydrate biomass to γ -valerolactone by using water-soluble and reusable iridium complexes in acidic aqueous media. *ChemSusChem*, 6(7), 1163-1167. <https://doi.org/10.1002/cssc.201300245>
- Di Menno Di Bucchianico, D., Wang, Y., Buvat, J. C., Pan, Y., Casson Moreno, V. y Leveneur, S. (2022). Production of levulinic acid and alkyl levulinates: A process insight. *Green Chemistry*, 24, 614-646. <https://doi.org/10.1039/D1GC02457D>
- Domínguez de María, P. (2017). Ionic liquids, switchable solvents, and eutectic mixtures. En F. Pena-Pereira y M. Tobiszewski (Ed.), *The application of green solvents in separation processes* (pp. 139-154). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805297-6.00006-1>
- Eka-Sari, E., Syamsiah, S., Sulisty, H. y Hidayat, M. (2014). Effect of biological pretreatment of water hyacinth on enzymatic hydrolysis for bioethanol production. *Asian Journal of Chemistry*, 26(20), 6727-6732. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.16596>
- Espinosa Negrín, A. M., López González, L. M. y Casdelo Gutierrez, N. L. (2021). Pretreatment of lignocellulosic biomass: a brief review of the principal methods applied. *Centro Azúcar*, 48(3), 1-12.
- Garves, K. (1988). Acid catalyzed degradation of cellulose in alcohols. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 8(1), 121-134. <https://doi.org/10.1080/02773818808070674>
- Gawade, A. B. y Yadav, G. D. (2018). Microwave assisted synthesis of 5-ethoxymethylfurfural in one pot from D-fructose by using deep eutectic solvent as catalyst under mild condition. *Biomass and Bioenergy*, 117, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.07.008>
- Goto, A. y Kunioka, M. (1992). Biosynthesis and hydrolysis of poly(γ -glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IF03335. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(7), 1031-1035. <https://doi.org/10.1271/bbb.56.1031>
- Guan, Q., Lei, T., Wang, Z., Xu, H., Lin, L., Chen, G., Li, X. y Li, Z. (2018). Preparation of ethyl levulinate from wheat straw catalysed by sulfonate ionic liquid. *Industrial Crops and Products*, 113, 150-156. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.030>

- Izumi, Y., Matsuo, K. y Urabe, K. (1983). Efficient homogeneous acid catalysis of heteropoly acid and its characterization through ether cleavage reactions. *Journal of Molecular Catalysis* 18(3), 299-314. [https://doi.org/10.1016/S0304-5102\(83\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0304-5102(83)80004-2)
- Jongmeesuk, A., Sanguanchaipaiwong, V. y Ochaikul, D. (2014). Pretreatment and enzymatic hydrolysis from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *KMITL Science and Technology Journal*, 14(2), 79-86.
- Kozhevnikov, I. V. y Matveev, K. I. (1982). Homogeneous catalysts based on heteropoly acids (review). *Applied Catalysis*, 5(2), 135-150. [https://doi.org/10.1016/0166-9834\(83\)80128-6](https://doi.org/10.1016/0166-9834(83)80128-6)
- Li, A. O., Hou, X. D., Lin, K. P., Zhang, X. y Fu, M. H. (2018). Rice straw pretreatment using deep eutectic solvents with different constituents molar ratios: Biomass fractionation, polysaccharides enzymatic digestion and solvent reuse. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(3), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.03.011>
- Liang, X., Fu, Y. y Chang, J. (2019). Effective separation, recovery and recycling of deep eutectic solvent after biomass fractionation with membrane-based methodology. *Separation and Purification Technology*, 210, 409-416. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.08.021>
- Liu, C., Feng, Q., Yang, J. y Qi, X. (2018). Catalytic production of levulinic acid and ethyl levulinate from uniconazole-induced duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource Technology*, 255, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.087>
- Liu, Y., Li, J., Du, G., Chen, J. y Liu, L. (2017). Metabolic engineering of *Bacillus subtilis* fueled by systems biology: recent advances and future directions. *Biotechnology Advances* 35(1), 20-30. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.11.003>
- Luan, Q. J., Liu, L. J., Gong, S. W., Lu, J., Wang, X. y Lv, D. M. (2018). Clean and efficient conversion of renewable levulinic acid to levulinate esters catalyzed by an organic-salt of H₄SiW₁₂O₄₀. *Process Safety and Environmental Protection*, 117, 341-349. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.05.015>
- Mamilla, J. L. K., Novak, U., Grilc, M. y Likozar, B. (2019). Natural deep eutectic solvents (DES) for fractionation of waste lignocellulosic biomass and its cascade conversion to value-added bio-based chemicals. *Biomass and Bioenergy* 120, 417-425. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.12.002>
- Mehdi, H., Fábos, V., Tuba, R., Bodor, A., Mika, L. T. y Horváth, I. T. (2008). Integration of homogeneous and heterogeneous catalytic processes for a multi-step conversion of biomass: From sucrose to levulinic acid, γ -valerolactone, 1,4-pentanediol, 2-methyl-tetrahydrofuran, and alkanes. *Topics in Catalysis*, 48, 49-54. <https://doi.org/10.1007/s11244-008-9047-6>
- Morin, P., Hamad, B., Sapaly, G., Carneiro Rocha, M. G., Pries de Oliveira, P. G., Gonzalez, W. A., Andrade Sales, E. y Essayem, N. (2007). Transesterification of rapeseed oil with ethanol I. Catalysis with homogeneous Keggin heteropolyacids. *Applied Catalysis A: General* 330, 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2007.07.011>
- Mosafa, L., Moghadam, M. y Shahedi, M. (2013). Papain enzyme supported on magnetic nanoparticles: preparation, characterization and application in the fruit juice clarification. *Chinese Journal of Catalysis*, 34(10), 1897-1904. [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(12\)60663-9](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(12)60663-9)
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. y Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6), 673-686. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>
- Oku, H., Matsubara, K. y Booka, M. (2015). Usability of pdf based digital textbooks to the physically disabled university student. *Studies in Health Technology and Informatics*, 217, 3-10. <https://doi.org/10.3233/978-1-61499-566-1-3>
- Piñeros-Castro, Y. (2016). *Aprovechamiento de biomasa lignocelulósica: algunas experiencias de investigación en Colombia* (1ª ed.). Universidad Jorge Tadeo Lozano. <https://www.jstor.org/stable/j.ctv2rcnqc5>
- Pinheiro, P. F., Chaves, D. M. y da Silva, M. J. (2019). One-pot synthesis of alkyl levulinates from biomass derivative carbohydrates in tin(II) exchanged silicotungstates-catalyzed reactions. *Cellulose*, 26, 7953-7969. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02665-w>

- Raspolli Galletti, A. M., Antonetti, C., Fulignati, S. y Licursi, D. (2020). Direct alcoholysis of carbohydrate precursors and real cellulosic biomasses to alkyl levulinates: a critical review. *Catalysts*, 10(10), 1-61. <https://doi.org/10.3390/catal10101221>
- Sassner, P., Mårtensson, C. G., Galbe, M. y Zacchi, G. (2008). Steam pretreatment of H₂SO₄-impregnated *Salix* for the production of bioethanol. *Bioresource Technology*, 99(1), 137-145. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.039>
- Schallmeyer, M., Singh, A., y Ward, O. P. (2004). Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Canadian Journal of Microbiology*, 50(1), 1-17. <https://doi.org/10.1139/w03-076>
- Sert, M., Arslanoğlu, A. y Ballice, L. (2018). Conversion of sunflower stalk based cellulose to the valuable products using choline chloride based deep eutectic solvents. *Renewable Energy*, 118, 993-1000. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.10.083>
- Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A., Madhavan, A., Alphonsa, J. A., Vivek, N., Gnansounou, E., Castro, E. y Faraco, V. (2017). Water hyacinth a potential source for value addition: an overview. *Bioresource Technology*, 230, 152-162. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.035>
- Singh, J., Suhag, M. y Dhaka, A. (2015). Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: a review. *Carbohydrate Polymers*, 117, 624-631 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.012>
- Singh, M. B., Kumar, V. S., Chaudhary, M. y Singh, P. (2021). A mini review on synthesis, properties and applications of deep eutectic solvents. *Journal of the Indian Chemical Society*, 98(11), 100210. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2021.100210>
- Singh, P., Kumar, P., Kumari, K., Sharma, P., Mozumdar, S. y Chandra, R. (2011). A rapid and simple route for the synthesis of lead and palladium nanoparticles in tetrazolium based ionic liquid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78(2), 909-912. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.11.039>
- Su, Y., Liu, C., Fang, H. y Zhang, D. (2020). *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factories*, 19(173), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01436-8>
- Tan, Y. T., Ngoh, G. C., y Chua, A. S. M. (2018). Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch. *Industrial Crops and Products*, 123, 271-277. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.091>
- van Dijk, J. M. y Hecker, M. (2013). *Bacillus subtilis*: from soil bacterium to super-secreting cell factory. *Microbial Cell Factories*, 12(3), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-3>
- Wang, C., Cao, Y., Wang, Y., Sun, L. y Song, H. (2019). Enhancing surfactin production by using systematic CRISPRi repression to screen amino acid biosynthesis genes in *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories*, 18(90), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1139-4>
- Westers, L., Westers, H. y Quax, W. J. (2004). *Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: a biotechnological approach to optimize the host organism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1694(1-3), 299-310. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2004.02.011>
- Yamanaka, N. y Shimazu, S. (2023). Conversion of biomass-derived molecules into alkyl levulinates using heterogeneous catalysts. *Reactions*, 4, 667-678. <https://doi.org/10.3390/reactions4040038>
- Zdanowicz, M., Szychaj, T. y Maka, H. (2016). Imidazole-based deep eutectic solvents for starch dissolution and plasticization. *Carbohydrate Polymers*, 140, 416-423. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.036>
- Zhang, C. W., Xia, S. Q. y Ma, P. S. (2016). Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents. *Bioresource Technology*, 219, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.026>
- Zhao, S., Xu, G., Chang, C., Fang, S., Liu, Z. y Du, F. (2015). Direct conversion of carbohydrates into ethyl levulinate with potassium phosphotungstate as an efficient catalyst. *Catalysts*, 5(4), 1897-1910. <https://doi.org/10.3390/catal5041897>

Zweers, J. C., Barák, I., Becher, D., Driessen, A. J. M., Hecker, M., Kontinen, V. P., Saller, M. J., Vavrová, L. y van Dijk, J. M. (2008). Towards the development of *Bacillus subtilis* as a cell factory for membrane proteins and protein complexes. *Microbial Cell Factories*, 7(10), 1-20. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-7-10>