

BIORREFINERÍA DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS. *EUCALYPTUS GLOBULUS*

López, F.*; García, J.C.; Feria, M.J.; Zamudio, M.A.M.; Pérez, A.

Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ciencias Experimentales
Universidad de Huelva. Avda. 3 de Marzo s/n 21071. Huelva.

*Autor para correspondencia: baldovin@uhu.es

Boletín del CIDEU 8-9: 75-82 (2010)

ISSN 1885-5237

Resumen

Ante un panorama mundial acuciante en cuanto a escasez de materias primas, energía y fenómenos relacionados con la no biosostenibilidad, efecto invernadero y problemas sociológicos relacionados con el mundo agrario, forestal y rural, la biomasa lignocelulósica, y en particular la de elevada capacidad de producción, se revela como una fuente de materias primas ubicua y sostenible, cada vez más necesaria.

Las tres fracciones química principales constituyentes del material lignocelulósico: celulosa, hemicelulosa y lignina, son en teoría, susceptibles de separación en lo que llamamos un esquema de fraccionamiento integral o Biorrefinería. Estos constituyentes por si solos o sus derivados permiten obtener productos de mayor valor añadido y en multitud de campos con un esquema similar al de la refinería del petróleo.

De la celulosa pueden derivar polímeros celulósicos, como los que utilizamos diariamente con el uso del papel, y de otro tipo. Además es susceptible de hidrolizarse hasta sus monómeros constituyentes para obtener medios fermentables para producción de etanol, biocarburante para transporte.

De las hemicelulosas y sus azúcares monoméricos derivados (pentosas) pueden también derivarse medios fermentables, pero en este caso y dada la mayor variedad de monómeros y oligómeros constituyentes, las posibilidades de obtención de diversos productos químicos se amplían en un amplio espectro. Pueden obtenerse productos para cosmética, farmacia, productos para alimentación animal y humana (principalmente relacionados con alimentos dietéticos y funcionales), algunos tan conocidos como el xilitol, el ácido acético, el furfural y productos poliméricos de síntesis (resinas furánicas) de interesantes propiedades dado su carácter biodegradable en contraste con los plásticos derivados del petróleo.

De la fracción polifenólica o lignina, existe el uso tradicional como combustible que se aplica en el sector de la pasta celulósica, el papel y que supone una valorización energética de la fracción residual. Sin embargo, cobran cada vez más auge las posibilidades de uso en el sector de materiales (tableros), derivados de esteroides con aplicaciones en

farmacia o alimentación funcional, antioxidantes, materiales poliméricos y aditivos de betunes y asfaltos.

Summary

Faced with a global outlook urgent as regards shortage of raw materials, energy and phenomenon related with no biosustainability, greenhouse effect and sociological problems related with the world agricultural, forestry and rural development, lignocellulosic biomass, and particularly that of high capacity of production, emerges as a source of raw materials ubiquitous and sustainable, increasingly necessary.

The three main fractions chemical constituent of lignocellulosic material: cellulose, hemicellulose and lignin, are in theory, capable of separation in that we call a integral fractionation scheme or Biorefinery. These constituents on their own or their derivatives allow obtaining products with higher added value and in many fields with a scheme similar to oil refining.

Cellulose can be derived cellulose polymers, as those used daily with the use of paper, and otherwise. Moreover it capable of hydrolyze itself to its constituent monomers for to obtain fermentable media to produce ethanol, a biofuel for transport.

Of hemicelluloses and their derived monomeric sugars (pentoses) can also derive fermentable media, but in this case and given the greater variety of monomers and oligomers constituents, the possibility of obtaining different chemicals are covered in a broad spectrum. Products are available for cosmetics, pharmaceuticals, food products for human and animal (mainly related to dietary and functional food), some so called xylitol, acetic acid, furfural and synthetic polymer products (furan resin) with interesting properties given its biodegradability in contrast to petroleum plastic.

Fraction of phenolic or lignin, there is a traditional use as a fuel applies in the sector of cellulose pulp, paper and that suppose a energy value of the residual fraction. However, becoming increasingly the possibility of use in the sector use of materials (boards), derived from sterols with pharmaceutical applications or functional foods, antioxidants, polymeric materials and additives of bitumen and asphalt.

¿En que situación estamos?

El modelo de desarrollo social en la UE en la actualidad, en lo que concierne al uso de recursos naturales, se está volviendo insostenible debido al hecho de estar basado en la explotación de combustibles fósiles que acarrearán problemas asociados con el cambio climático por la enorme cantidad de CO₂ que se libera a la atmósfera y el desarrollo de una cultura de consumo basada en la explotación de esos recursos no renovables. Se trata de un déficit global de materias primas, especialmente acuciante en los sectores energéticos y químico básico. El camino hacia un desarrollo sostenible y de renovabilidad de los recursos pasa por la búsqueda o el uso de nuevas fuentes de materias primas y productos químicos y de consumo donde la biomasa forestal lignocelulósica, y especialmente la de alta capacidad de producción, se revela como una fuente “necesaria” de materias primas debido a su ubicuidad, disponibilidad, y carácter poco contaminante. Dado el declive de las fuentes de combustibles fósiles, la biomasa forestal está reconocida en el mundo como la mayor fuente potencial de energía renovable (Clark, 2007; Jefferson, 2006; Deswarte *et al.*, 2007). Su aprovechamiento completo (y no sólo de fracciones azucaradas o amiláceas para la obtención de etanol vía fermentación, fibras para pasta celulósica o combustión completa, o de fracciones residuales, etc.) permitiría, además, la disposición de una tremenda variedad de productos químicos, cuyo desarrollo tecnológico precisa de la integración de todas las etapas, desde el cultivo y recolección hasta las etapas de fraccionamiento y conversión a diferentes productos (Sanders *et al.*, 2007).

Las principales posibilidades del aprovechamiento industrial del material lignocelulósico, de forma integral, o BIORREFINERÍA, pasan por las opciones tecnológicas de utilización energética y de producción de pasta celulósica y papel. Sanders (2007) define 5 elecciones

mayoritarias: calor, electricidad, combustibles para transporte, productos químicos y otros usos industriales. La utilización directa de la biomasa vegetal como combustible para la producción de calor o de electricidad es una opción, pero problemas de transporte, sobreexplotación de recursos y sobre todo la competencia “económica” de otras fuentes de energía (combustibles fósiles) vienen impidiendo su desarrollo, en mayor extensión. A pesar de todo, hoy en día en España, con la legislación actual que prima la producción de “kilowatios limpios”, este aprovechamiento de la biomasa forestal se ha convertido en una estrategia interesante para muchas empresas. El Plan de Energías Renovables en España 2005-2010, del Ministerio de industria, Turismo y Comercio, establece que las energías renovables han de aportar en 2010 el 12% del consumo de energía, el 29,4% de generación de energía eléctrica y el 5,75% del consumo de carburante para transportes mediante biocarburantes (IDAE, 2005).

Ello supone una consecuencia de la firma del Protocolo de Kyoto (1997) por el que en la Unión Europea se establece una reducción conjunta del 8% respecto al nivel de 1990, no pudiendo superar España en más de un 15% las emisiones del año base. Desde esas fechas han ido apareciendo una serie de comunicaciones y directivas europeas que pretenden modificar la dependencia energética de este tipo de recursos naturales no renovables con el fin de que sean sustituidos de forma progresiva por otras fuentes de energía que sean renovables y no contaminantes (Comisión Europea, 1997). En el Libro Verde: Hacia una Estrategia Europea de Seguridad del Abastecimiento energético, COM (2000) 769 final, Comunicación de la Comisión Europea, se establece como objetivo que en el año 2010, las energías renovables alcancen una cuota del 12% en el consumo total y del 22% en la producción de electricidad (Comisión Europea, 2001). La Comunicación de la Comisión Europea “Plan de acción sobre la biomasa” COM

(2005) 628 final, establece medidas para incrementar el desarrollo de la energía de la biomasa a partir de madera, residuos y cultivos agrícolas, con el fin de incrementar la cuota de la energía procedente de fuentes renovables y reducir la dependencia de energía importada, reducir las emisiones de CO₂, creación de empleo en zonas rurales y posible presión a la baja en el precio del petróleo (Comunicación de la Comisión Europea, 2005).

Empresas del sector forestal y del sector de la pasta celulósica como la local ENCE, en sus instalaciones de San Juan de Puerto (Huelva), ya utilizan biomasa vegetal leñosa constituida por subproductos de sus plantaciones de eucalipto, y otra biomasa externa e interna, no solo para la producción de pasta celulósica y papel, sino que de forma cada vez más importante, para la producción de energía eléctrica.

Un problema adicional es el gran desequilibrio que existe en la Unión Europea entre la oferta y la demanda en el sector agrícola, con la aparición de excedentes alimentarios. La solución consiste en conseguir productos de muy alta calidad que los haga competitivos y dirigir la agricultura hacia utilidades no alimentarias (Fernández, 1996; Alfaro *et al.*, 2009). Así, puede hablarse de la elección de especies vegetales de alta producción de biomasa (a menudo se habla de “cultivos energéticos”), a través de programas de prospección, selección y mejora genética y la utilización de la biomasa para fines no alimentarios (energía, pasta celulósica, papel, productos químicos, tableros, tejidos, etc.). Son notables los intentos y avances que se están realizando a nivel mundial en la prospección y producción con muchos tipos de especies vegetales con importantes niveles de producción de biomasa, de más de 50 t/ha/año.

La justificación de este tipo de vegetales está, por un lado, en que se ha incrementado mucho el empleo de maderas clásicas para la producción de pasta celulósica y papel (Atchinson, 1998), por lo

que en algunos lugares ha empezado a producirse un problema de escasez de materias primas, y, por otro lado, en factores como el mayor rendimiento en biomasa, la puesta en valor de terrenos agrícolas marginales, la regeneración de suelos degradados, los efectos relacionados con la contestación social asociada a la introducción de monocultivos en determinadas áreas forestales o el estudio de materiales lignocelulósicos con las mejores aptitudes hacia la obtención de energía, pasta celulósica y otros productos químicos (García, 2008; Alfaro, 2004; Caparrós, 2007). En particular, y como justificación desde el punto de vista energético, el Consejo Europeo adoptó en la Cumbre de Primavera de 2007, el Plan de Acción del Consejo Europeo (2007-2009), por el que establece una política energética basada en tres principios de seguridad en el suministro, eficiencia y compatibilidad ambiental (Consejo de Europa, 2007). En dicha Cumbre se adoptaron los siguientes compromisos vinculantes:

- Reducción del uso de energía primaria global en un 20 % para 2020.

- Ampliación del porcentaje de energías renovables, en la estructura de energía primaria, al 20 % para 2020.

- Reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero en la Unión Europea en un 20 % como mínimo, en 2020 con respecto a 1990.

¿Qué vías tecnológicas posibilitan el fraccionamiento integral del material lignocelulósico o biorrefinería?

Por otra parte, el aprovechamiento integral de especies vegetales implica necesariamente su fraccionamiento. En primer lugar se ha de separar la denominada biomasa residual (hojas y tallos jóvenes principalmente) para conseguir una fracción de biomasa noble (madera). Para la fracción noble se podría contemplar la integración, coordinación y optimización de etapas de fraccionamiento consecutivas, para llegar más allá del esquema de la “plataforma del azúcar” (que incluye etapas de hidrólisis

enzimática y fermentación de la glucosa a etanol), hasta el concepto de “biorrefinería de material lignocelulósico”, con una incidencia importante sobre la obtención de pasta celulósica y papel, pero capaz de proveer un amplio rango de productos de forma similar a la refinería del petróleo bajo un esquema que podría resumirse en la frase: “La biorrefinería del árbol: desde la pasta y el papel hasta los productos químicos y energía” (Clark, 2007). Hoy día, se han probado esquemas a escala de laboratorio o piloto, pero todavía no ha sucedido una implementación comercial importante (Clark, 2007; Kamm and Kamm, 2004).

Es difícil la separación de los principales componentes de la biomasa sin degradar su estructura química. Dada la complejidad en composición y enlaces químicos y físicos no es posible la separación mediante tecnologías convencionales (Nimz and Casten, 1986). La resistencia de la matriz lignocelulósica a su degradación es una de las principales barreras económicas para el desarrollo de la “biorrefinería lignocelulósica” (Zhang *et al.*, 2007). La investigación en este campo es muy amplia y diversa y se genera con rapidez, pero suele centrarse en aspectos particulares, aunque diversos autores postulan esquemas más o menos complejos para fraccionamientos por etapas de distintos tipos de biomasa (Clark, 2007; Koutinas *et al.*, 2007). Ya en 1984, Rijkens realizó una recopilación de estos métodos que, atendiendo a la principal fracción del material que se degrada, distingue entre métodos de deslignificación (solubilizan lignina) y métodos de hidrólisis (solubilizan polisacáridos).

Hay pues que plantear cuales y como han de ser las etapas de fraccionamiento integral y que productos han de buscarse. Las estrategias más prometedoras orbitan alrededor de la obtención de etanol a partir de productos de hidrólisis susceptible de uso como combustible para vehículos de transporte (Hamelinck y Faaij, 2006). Pero además, económicamente, sería preciso el

aprovechamiento de las distintas fracciones poliméricas (lignina, hemicelulosas, celulosas y compuestos valorizables). Actualmente, la identificación de las mejores etapas de fraccionamiento del material lignocelulósico constituye uno de los campos de trabajo más interesantes de investigación y esfuerzos de desarrollo científico (Mosier *et al.*, 2005) en un marco general de evaluación de los mejores materiales lignocelulósicos para su conversión y el contraste entre plataformas bioquímicas y termoquímicas de conversión (Duarte *et al.*, 2007; Wright and Brown, 2007).

Se han propuesto procesos con una primera etapa de deslignificación con disolventes orgánicos buscando la preservación de la lignina (que los procesos alcalinos convencionales de obtención de pasta celulósica no permiten) y la posterior posibilidad de aprovechamiento de fracciones azucaradas u oligoméricas derivadas de los polímeros celulósicos y hemicelulósicos. Por ejemplo, el tratamiento con etanol desarrollado en los años 70 por la compañía General Electric para obtener biofuel y su derivación en el proceso Alcell (Yonghao and Van Heiningen, 1996), u otros los procesos organosolv desarrollados (Formacell, Milox o Acetosolv); pero ninguno de ellos ha conseguido marcar la integración en un esquema de biorrefinería. Yawalata y Paszner (2006) postulan el proceso NAEM como prometedor, donde los compuestos disueltos serían recuperables para obtener azúcares fermentables, lignina sin modificar para la que se prevén varias aplicaciones industriales (Lora and Glasser, 2002), xilitol, fertilizantes, etc. y la capacidad instalada podrían ser sustancialmente menor que las de las actuales fábricas Kraft de pasta celulósica. El proceso Lignol, utiliza una primera etapa etanol/agua al 50%, temperaturas de 200°C y presiones de 400 psi para extraer la máxima cantidad de lignina. La lignina se recupera del licor residual además de azúcares, oligómeros, furfural y ácido acético. Con una primera

etapa de deslignificación organosolv, la tecnología de elección subsiguiente es una posthidrólisis enzimática por la particular accesibilidad de la enzima (se elimina la protección de la lignina y las hemicelulosas) a la celulosa nativa, la no generación de inhibidores tras la deslignificación y porque proporciona mejores rendimientos que la hidrólisis catalizada por ácidos (Pan *et al.*, 2005). Se plantea como una hipótesis interesante, determinar los efectos de las variables del proceso de fraccionamiento vía deslignificación sobre los subsiguientes balances de materia (Pan *et al.*, 2006). Efectos no deseables son la incorporación de extraíbles y una parte de la fracción hemicelulósica a las lejías de deslignificación. De ahí que se plantee otra posibilidad en procesos con una primera etapa hidrolítica.

De las tres posibilidades básicas de hidrólisis de los polisacáridos: hidrólisis con ácidos, enzimática y por autohidrólisis, la última es la menos estudiada y más adecuada al fraccionamiento integral de la biomasa lignocelulósica. Utilizando agua a elevada temperatura, se produce la hidrólisis de los grupos acetilo a ácido acético. Este ácido actúa como catalizador produciéndose la solubilización total o parcial de las hemicelulosas. Pueden realizarse en dos etapas, una de prehidrólisis de hemicelulosas y otra de hidrólisis de celulosa, o combinarse con una segunda etapa oxidante con algún agente que solubilice/degrade la lignina dejando la celulosa en fase sólida o también con algún disolvente orgánico que realice esa deslignificación (Nguyen *et al.*, 2000).

¿Cuales son las utilidades o productos químicos posibles a partir de la biorrefinería del material lignocelulósico?

El abanico de posibles usos de los productos químicos en los que puede fraccionarse el material lignocelulósico es muy amplio. Podríamos considerar en primer lugar la fracción de xilooligosacáridos derivadas del principal

polisacárido hemicelulósico, el xilano, que es el segundo polisacárido más abundante

en el planeta después del glucano constituyente de la celulosa. Los xilooligosacáridos tienen importantes aplicaciones como ingredientes alimentarios. Por ejemplo, la xilobiosa es un 30% más dulce que la sacarosa y tienen las propiedades de ser estables a pH entre 2,5 y 8, buen aroma, son no cariogénicos, bajos en calorías y su hidrólisis en el tracto digestivo es lenta, lo que les hace también adecuados para dietas de adelgazamiento, ingredientes de zumos de bajo pH y bebidas carbonatadas. Los xilooligosacáridos tienen también importantes efectos beneficiosos sobre la flora intestinal no patógena (tipo bifidobacterium) por lo que limitan la actividad de las bacterias enteroputrefactivas evitando la formación de productos tóxicos debido a la producción de ácidos orgánicos de cadena corta como el ácido láctico y el ácido acético. Gracias a estos efectos, los xilooligosacáridos sirven para prevenir infecciones gastrointestinales, reducen diarreas y retienen aguas. Entran dentro de la categoría de alimentos "prebióticos" o alimentos funcionales o alimentos simbióticos.

Un segundo grupo de aplicaciones importantes de los xilooligosacáridos es la obtención de medios fermentables vía posthidrólisis. Medios fermentables para la obtención de etanol o xilitol.

Además, se han descrito aplicaciones de los polisacáridos para la fabricación de poliésteres, fibras de celulosas con superficie modificada, componentes de polioles en poliuretanos, cosméticos, pigmentos y productos farmacéuticos.

Desde el punto de vista químico, de los heteropolisacáridos hemicelulósicos derivan multitud de compuestos como el ácido succínico, fumárico y málico, ácido 2,5 furan dicarboxílico, ácidos aspártico, glucárico, glutámico y levulínico, la 3 hidroxibutirolactona, y alcoholes como el glicerol, sorbitol, xilitol y arabinitol.

Particularmente interesante el ácido succínico, importante monómero para la construcción de múltiples polímeros.

Estos polímeros derivados del xilano de las maderas duras son flexibles, excelentes barreras para el oxígeno, grasas y aromas y entran dentro de las categorías de films, plásticos o bioplásticos por sus características innatas de biodegradabilidad.

Por deshidratación de la xilosa derivada del xilano de las hemicelulosas pueden obtenerse productos de degradación como el furfural. El furfural, por hidrogenación, produce alcohol furfúrico, productos de base para la obtención de resinas furánicas con las mismas aplicaciones que los plásticos "duros" en cuanto a fabricación de piezas rígidas.

Por otro lado, en el proceso de extracción y purificación posthidrólisis de los xilooligosacáridos, se obtienen, necesariamente, unas fases líquidas ricas en compuestos fenólicos antioxidantes y antimicrobianos, derivados, fundamentalmente, de la fracción de lignina soluble del material lignocelulósico. Tradicionalmente, estos compuestos antioxidantes se obtienen de restos de pieles de patata, orujo de olivo, pepitas de uva, bagazo de manzana, semillas y pieles de cítricos, restos de pulpa de zanahoria, hojas de té, subproductos del coco y melazas de soja, etc. Estos compuestos fenólicos, igual que las vitaminas C y E, α -tocoferol y el β -caroteno tienen actividad antibacteriana, antiviral, antimutagénica, antialérgica, anticarcinogénica, antiulcerosa e inhiben el incremento de la presión arterial.

Derivados específicos de la lignina, han demostrado influencias positivas en el desarrollo de enfermedades como el cáncer de mama, próstata y colón y se están comercializando como medicamentos o pseudomedicamentos. Se les han encontrado también efectos positivos sobre

la salud cardiovascular, secreción de estrógenos y osteoporosis. De hecho, nos los encontramos ya habitualmente (concretamente ésteres de sitostanol) en alimentos "saludables" tipo lácteos (danacol, benecol....), margarinas, pastas, quesos, yogures, etc.

Además, las ligninas sin modificar, libres de azufre, han encontrado un importante campo de aplicación para la fabricación de las resinas fenol-formaldehído, de aplicación en la fabricación de tableros de aglomerado y otros materiales rígidos. También en la fabricación de polímeros con dominios alifáticos y aromáticos, surfactantes poliméricos y como emulsionantes en mezclas de betunes y asfaltos.

CONCLUSIONES

Resumiendo, o sintetizado, quizá dos ideas que se pueden apuntar a fecha de hoy, es que el fraccionamiento o biorrefinería del material lignocelulósico pasa necesariamente por la integración de etapas de producción de biocombustibles con las de valorización de otros productos químicos y que los procesos industriales de fraccionamiento no acaban de estar tecnológicamente establecidos. Frente a plataformas tradicionales como las del azúcar o las termoquímicas, cobran fuerza las puramente química que pretenden el fraccionamiento del material por combinación de etapas de hidrólisis en medio acuoso y deslignificación en medio orgánico.

La industria forestal o industria del sector de la pasta celulósica está envidiamente situada para evolucionar desde las actuales instalaciones, que en cierta forma aplican ya un esquema de biorrefinería para obtener pasta celulósica y energía, hacia instalaciones integradas de producción de energía y otros productos químicos a partir de la biomasa lignocelulósica.

Referencias Bibliográficas

- Alfaro, A. (2004). Tagasaste como materia prima para la obtención de pastas celulósicas mediante tecnologías limpias. PhD Thesis. UHU
- Alfaro, A.; Rivera, A.; Pérez, A.; Yáñez, R.; García, J.C.; López, F. (2009). Integral valorization of two legumes by autohydrolysis and organosolv delignification. *Bioresource Technology* 199, 440-445
- Atchinson, J.E. (1998). Update on global use of non-wood plant fibers and some projects for their greater use in the United States. North American Nonwood Fiber Symposium. Atlanta, 1-3.
- Caparrós, S. (2007). Fraccionamiento integral de vegetales no alimentarios para la obtención de pasta celulósica y subproductos. PhD Thesis. UH
- Clark, J.H. (2007). Perspective Green Chemistry for the second generation biorefinery-sustainable chemical manufacturing based on biomass. *J. Chem Technol Biotechnol*, 82, 603-
- Comisión Europea. (1997). Libro Blanco de la Comisión Europea para una Estrategia y un Plan de Acción Comunitarios: Energía para el Futuro: Fuentes de Energía Renovables - COM (97) 599
- Comisión Europea. (2001). Libro verde : Hacia una estrategia europea de seguridad del abastecimiento energético
- Comunicación de la Comisión Europea (2005): Plan de acción sobre la biomasa. [COM (2005) 628 final - Diario Oficial C 49 de 28.2.2006].
- Consejo de Europa (2007). Plan de acción del Consejo Europeo 2007-2009. Una política energética para Europa.
- Deswarte, F. E.I.; Clark, J.H.; Wilson, A.J.; Hardy, J.J.E.; Marriot, R.; Chahal, S.P.; Jackson, C.; Heslop, G.; Birkett, M.; Bruce, T.J.; Whiteley, G. (2007). Toward an integrated straw-based biorefinery. *Biofuels, Bioprod. Bioref*, 1, 245-254
- Duarte, L. C.; Esteves, M.P.; Carvalheiro, F.; Girio, F. (2007). Biotechnological valorization potential indicator for lignocellulosic materials. *Biotechnol. J.*, 2, 1556-1563.
- Fernández, J. (1996). Los cultivos energéticos. pp: 5-17. Jornadas sobre cultivos alternativos no alimentarios. Finca de la Orden, Badajoz, Junta de Extremadura. 26-27 noviembre.
- García., M.M. (2008). Vegetales alternativos a los agroalimentarios para la obtención de pastas celulósicas con tecnologías limpias. PhD Thesis. UHU
- Hamelinck, C.H.; Faaij, A.P.C. (2006). Outlook for advanced biofuels. *Energy Policy* 34: 3268-3283.
- IDAE. Ministerio de Industria, Turismo y Comercio. (2005). Plan de Energías Renovables.
- Jefferson, M. (2006). Sustainable energy development : performance and prospects. *Renew Energy*, 31, 571-582
- Kamm, B.; Kamm, M. (2004). Principles of biorefineries. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64:137-145.
- Koutinas, A.A.; Wang, R.; Webb, C. (2007). The biochemurgist-Bioconversion of agricultural raw materials for chemical production. *Biofuels, Bioprod Bioref*, 1, 24-38.
- Lora, J.H., Glasser, W.G. (2002). Recent industrial applications of lignin: a sustainable alternative to nonrenewable materials. *Journal of Polymer Environmental*, 10: 39-48.

- Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y.Y.; Holtzapple, M.; Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresources Technology* 92: 673-686.
- Nguyen, Q.; Tucker, M.P.; Keller, F.A.; Eddy, F.P. (2000). Two stage dilute acid pretreatment of softwoods. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84-86: 561-576
- Nimz, H.H.; Casten, R. (1986). Chemical processing of lignocellulosics. *Holz Roh-Werkstoff*, 44: 207-212.
- Pan, X.; Arato., C.; Gilkes, N.; Gregg, D.; Mabee, W.; Pye, K.; Xiao, Z.; Zhang, X.; Saddler, J. (2005). Biorefining of Softwoods Using Ethanol Organosolv Pulping: Preliminary Evaluation of Process Streams for Manufacture of Fuel-Grade Ethanol and Co-Products. *Biotechnology and Bioengineering*, 90 (4): 473-481.
- Pan, X.; Gilkes, N.; Kadla, J.; Pye, K.; Saka, S.; Gregg, D.; Ehara, K.; Xie, D.; Lam, D.; Saddles, J. (2006). Bioconversion of Hybrid Poplar to Ethanol and Co-Products Using an Organosolv Fractionation Process: Optimization of Process Yield. *Biotechnology and Bioengineering*, 94 (5): 851-861
- Rijkens, B.A. (1984). Hydrolyses processes for lignocellulosic material. Presentado en: CECD Workshop Cellulose Programme. Brunschweig.
- Sanders, J.; Scott, E.; Weusthuis, R.; Mooibroek, H. (2007). Bio-refinery as the Bio-inspired Process to Bulk Chemicals. *Macomol Biosci*, 7, 105-117
- Wright, M.M.; Brown, R.C. (2007). Comparative economics of biorefineries based on the biochemical and thermochemical platforms. *Biofuels, Biorpod Bioref*, 1, 49-56.
- Yawalata, D.; Paszner, L. (2006). Characteristics of NAEM salt-catalyzed alcohol organosolv pulping as a biorefinery. *Holzforschung*, 60, 239-244
- Yonghao, N.; Van Heiningen, A.R.P. (1996). Lignin removal from Alcell pulp by washing with ethanol and water. *Tappi Journal*, 79 (3): 239-243.
- Zhang, Y.P.; Ding, S.; Mielenz, J.R.; Cui, J.; Elander, R.T.; Laser, M.; Himmerl, M.E.; McMillan, J.R.; Lynd, L.R. (2007). Fractionating Recalcitrant Lignocellulose at Modest Reaction Conditions. *Biotechnol Bioeng*, 97 (2), 214-223.