

# REUNIÓN DE LA RED TEMÁTICA: APROVECHAMIENTO SOSTENIBLE DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA MEDIANTE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS



XXII REUNIÓN DE LA RED TEMÁTICA LIGNOCEL  
La Cristalera, 28-29 Mayo del 2026  
Miraflores de la Sierra (Madrid)



MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



AGENCIA  
ESTATAL DE  
INVESTIGACIÓN





# XXII REUNIÓN DE LA RED TEMÁTICA LIGNOCEL

La Cristalera, 28-29 Mayo del 2026

Miraflores de la Sierra (Madrid)



La Red Temática LIGNOCEL “Red Temática sobre Aprovechamiento Sostenible de Biomasa Lignocelulósica mediante Herramientas Biotecnológicas en la Transición a una Bioeconomía Circular” está financiada por el programa “Redes de Investigación” en el marco del Programa Estatal de Transferencia y Colaboración, del Plan Estatal de Investigación Científica, Técnica y de Innovación 2024-2027 (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades).

MICIU/AEI /10.13039/501100011033

La XXII reunión está organizada por el grupo de investigación Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig) del Instituto de Ciencias Forestales, INIA-CSIC.

## Coordinación y organización general

David Ibarra Trejo, María Eugenia Eugenio Martín y Raquel Martín Sampedro. Instituto de Ciencias Forestales, INIA-CSIC.





# PROGRAMA

**Jueves 28 de Mayo de 2026**

|                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 13:00                                                                                                                                                                                                      | Salida autobús desde Madrid a La Cristalera (Miraflores de la Sierra)                                                                                                                                                  |
| 14:00-14:30                                                                                                                                                                                                | Llegada, registro y recogida de documentación                                                                                                                                                                          |
| 14:30-15:30                                                                                                                                                                                                | Comida                                                                                                                                                                                                                 |
| 15:30-15:40                                                                                                                                                                                                | Bienvenida e Introducción de la Reunión<br><b>INIA-CSIC</b> (Coordinador de la Red Lignocel)                                                                                                                           |
| <b>SESIÓN I. Microorganismos y sus enzimas para un aprovechamiento sostenible de la biomasa lignocelulósica.</b><br>Moderadores: Patricia Ferreira Neila y David González Pérez                            |                                                                                                                                                                                                                        |
| 15:40-16:00                                                                                                                                                                                                | <b>Francisco Javier Ruiz-Dueñas. CIB-CSIC</b><br>Ligninólisis selectiva de la paja de trigo por <i>Agrocybe pediades</i> : un estudio multiómico y químico                                                             |
| 16:00-16:20                                                                                                                                                                                                | <b>Andrea Menés-Rubio. ICP-CSIC</b><br>Estudio estructural y funcional de dos peroxigenasas inespecíficas fúngicas de <i>Candolleomyces (Psathyrella) aberdarensis</i>                                                 |
| 16:20-16:40                                                                                                                                                                                                | <b>Paula Cinca-Fernando. Universidad de Zaragoza</b><br>Actividad deshidrogenasa en aril-alcohol oxidasas: una función emergente en procesos lignocelulósicos y química verde                                          |
| 16:40-17:00                                                                                                                                                                                                | <b>Florian Csarman. ICP-CSIC</b><br>Redefining the Substrate Scope of LPMO via Dual-Domain Display and High-Throughput Engineering                                                                                     |
| 17:00-17:20                                                                                                                                                                                                | <b>Susana Camarero. CIB-CSIC</b><br>Biocatalizadores a medida para la conversión sostenible de ligninas industriales en productos de valor añadido                                                                     |
| 17:20-17:50                                                                                                                                                                                                | Pausa café                                                                                                                                                                                                             |
| <b>SESIÓN II. Microorganismos y sus enzimas para un aprovechamiento sostenible de la biomasa lignocelulósica y otros recursos renovables.</b><br>Moderadores: Elia Tomás Pejó y José Luis González Alfonso |                                                                                                                                                                                                                        |
| 17:50-18:10                                                                                                                                                                                                | <b>Manuel Francisco Blanco. CIEMAT</b><br>Mejora de la robustez celular en <i>Heyndricxia coagulans</i> para la conversión de residuos de poda de jardines en ácido láctico                                            |
| 18:10-18:30                                                                                                                                                                                                | <b>Raquel Farinas-Mera. Universidad de Santiago de Compostela</b><br>Valorización del bagazo de manzana para la producción de biobutanol: inhibición de polifenoles en la fermentación ABE y detoxificación con lacasa |
| 18:30-18:50                                                                                                                                                                                                | <b>Gabriela de Jesús Domínguez Ruiz. Universidad de Alcalá</b><br>Funcionalización enzimática de lignina como plataforma biotecnológica para el diseño de materiales multifuncionales sostenibles                      |
| 18:50-19:10                                                                                                                                                                                                | <b>Marina Minguet Lobato. ICP-CSIC</b><br>Conversión sinérgica de quitina en productos de alto valor añadido en <i>Yarrowia lipolytica</i> : una plataforma de bioconversión polímero-a-producto                       |

|             |                                                                                                                                                                       |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 19:10-19:30 | <b>Juan A. Méndez-Líter. CIB-CSIC</b><br>Algas marinas como materia prima emergente para biorrefinerías: oportunidades y desafíos como alternativa a la lignocelulosa |
| 20:30       | Cena                                                                                                                                                                  |

## Viernes 29 de Mayo de 2026

|                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SESIÓN III. Nuevas Tecnologías para un aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica: Bioproductos y Bioenergía.</b><br>Moderadores: Inmaculada Romero Pulido y Thelmo Lú Chao   |                                                                                                                                                                                                                             |
| 9:30-9:50                                                                                                                                                                           | <b>David Martín Alvarado. IRNAS-CSIC</b><br>Structural characterization of tricin-enriched lignin in two Triticale hybrid cereal straw varieties                                                                            |
| 9:50-10:10                                                                                                                                                                          | <b>Cristina Álvarez. CIEMAT</b><br>Estudio de la obtención de xilooligosacáridos a partir de subproductos agroindustriales de la industria cervecera mediante un proceso hidrotérmico                                       |
| 10:10-10:30                                                                                                                                                                         | <b>Felipe de Salas. CIB-CSIC</b><br>Planta Piloto para la producción de etanol 2G y el aprovechamiento de otros residuos                                                                                                    |
| 10:30-10:50                                                                                                                                                                         | <b>Beatriz Gullón. Universidad de Vigo</b><br>Obtención de 5-HMF a partir de bagazo de manzana mediante disolventes eutécticos profundos y calentamiento asistido por microondas                                            |
| 10:50-11:10                                                                                                                                                                         | <b>Luisa L. García Fuentevilla. ICIFOR-INIA, CSIC</b><br>Extracción con bio-solventes de poda de olivo explosionada para la recuperación de compuestos bioactivos y la mejora en la producción de bioetanol y ácido láctico |
| 11:10-11:40                                                                                                                                                                         | Pausa café                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>SESIÓN III. Nuevas Tecnologías para un aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica: Bioproductos y Bioenergía.</b><br>Moderadores: Cristina Valls Vidal y Jorge Barriuso Maica |                                                                                                                                                                                                                             |
| 11:40-12:00                                                                                                                                                                         | <b>Juan Carlos López Linares. Universidad de Jaén</b><br>Pretratamiento de poda de olivo mediante agua caliente a presión: producción de 2,3-butanodiol mediante <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>                          |
| 12:00-12:20                                                                                                                                                                         | <b>Alberto Lozano. Universidad de Valladolid</b><br>Biorrefinería del bagazo de manzana: coproducción sostenible de oligosacáridos funcionales y 2,3-butanodiol                                                             |
| 12:20-12:40                                                                                                                                                                         | <b>David Sanchez Mata. IMDEA-Energía</b><br>Uso de materiales conductores basados en carbono y hierro para potenciar la digestión anaerobia de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU)                 |

|             |                                                                                                                                                                                                         |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12:40-13:00 | <b>Daniel Cruz Expósito. INIA-CSIC</b><br>Estudio de procesos sostenibles para la producción de nanocelulosa utilizando solventes eutécticos profundos                                                  |
| 13:00-13:20 | <b>Blanca Roncero Vivero. Universidad Politécnica de Cataluña</b><br>Desarrollo de biomateriales basados en nanocelulosa con propiedades avanzadas para aplicaciones en envasado alimentario sostenible |
| 13:20-13:30 | <b>CONCLUSIONES FINALES, PROPUESTAS Y ANUNCIOS</b>                                                                                                                                                      |
| 13:30       | <b>Comida</b>                                                                                                                                                                                           |
| 15:30       | <b>Salida en autobús hacia Madrid</b>                                                                                                                                                                   |



## **SESIÓN I.**

**Microorganismos y sus enzimas para un  
aprovechamiento sostenible de la biomasa  
lignocelulósica**



## **Ligninólisis selectiva de la paja de trigo por *Agrocybe pediades*: un estudio multiómico y químico**

María Isabel Sánchez-Ruiz<sup>a</sup>, Rashid Babiker<sup>a</sup>, Ander Peña<sup>a</sup>, Delphine Chaduli<sup>b</sup>, Anna Lipzen<sup>c</sup>, Jorge Rencoret<sup>d</sup>, Gisela Marques<sup>d</sup>, Ana Gutiérrez<sup>d</sup>, Vivian Ng<sup>c</sup>, Igor V. Grigoriev<sup>c,e</sup>, Marie-Noëlle Rosso<sup>b</sup>, Angel T. Martínez<sup>a</sup> y Francisco Javier Ruiz-Dueñas<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> CIB Margarita Salas, CSIC, 28040 Madrid, España

<sup>b</sup> INRAE, Aix-Marseille Université, 13009 Marseille, France

<sup>c</sup> DOE-JGI, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA

<sup>d</sup> IRNAS, CSIC, 41012 Sevilla, España

<sup>e</sup> Department of Plant and Microbial Biology, University of California Berkeley, Berkeley, CA 94720, USA

E-mail: [fjruiz@cib.csic.es](mailto:fjruiz@cib.csic.es)

Este estudio caracteriza a *Agrocybe pediades*, un hongo saprótrofo del orden Agaricales descomponedor de hojarasca de gramíneas, cuyo potencial para degradar los principales componentes de las paredes celulares vegetales (PCWs) se infiere a partir del repertorio enzimático codificado en su genoma. Esta predicción genómica sugiere una capacidad lignocelulolítica relevante, que se evaluó experimentalmente mediante cultivo en paja de trigo. En estas condiciones, el hongo mostró una degradación preferente de la lignina y la hemicelulosa, preservando en gran medida la celulosa. Para desentrañar las bases moleculares de esta ligninólisis selectiva se combinaron análisis genómicos, transcriptómicos, exoproteómicos y metabolómicos. Esta aproximación multiómica reveló que las etapas iniciales de la degradación de la lignocelulosa se caracterizan por una intensa movilización de enzimas productoras de peróxido de hidrógeno, junto con peroxidasas ligninolíticas de clase II (PODs). Entre las PODs ligninolíticas identificadas, incluidas manganeso peroxidasas (MnPs) y una lignina peroxidasa (LiP), las MnPs fueron las más abundantes. Su actividad ligninolítica se relacionó con la posible oxidación de lignina fenólica mediante quelatos de Mn<sup>3+</sup> y de lignina no fenólica a través de procesos de peroxidación de lípidos insaturados. Esta fase oxidativa estuvo acompañada de la transcripción y secreción secuencial de enzimas activas sobre hemicelulosa, sugiriendo una degradación escalonada del xilano. Las enzimas implicadas en la degradación de otros polisacáridos de la pared celular vegetal aumentaron progresivamente durante el crecimiento. No obstante, la ausencia de secreción de monooxigenasas líticas de polisacáridos, junto con una aparente restricción de la química de Fenton, explicaría la limitada degradación de celulosa por parte del hongo. También se obtuvieron nuevos conocimientos sobre el metabolismo intracelular de los azúcares y compuestos aromáticos liberados durante el proceso. Este enfoque multiómico, respaldado por análisis de resonancia magnética nuclear bidimensional (2D-NMR) y estudios químicos complementarios, proporciona una visión integrada de la deslignificación selectiva por *A. pediades*. Hasta donde sabemos, este trabajo representa el primer marco integrado multiómico y químico para comprender la ligninólisis selectiva, un proceso poco explorado con potencial para la valorización de la biomasa vegetal.

### **Agradecimientos:**

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos GENOBIREF (BIO2017-86559-R), LIG2PLAST (PID2021-126384OB-I00) y LIGNIN (PID2023-152543OB-I00), estos dos últimos con financiación de MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y FEDER, Una manera de hacer Europa. El trabajo (propuesta: 10.46936/10.25585/60001033) llevado a cabo por el U.S. Department of Energy Joint Genome Institute (DOE-JGI) (<https://ror.org/04xm1d337>) está financiado por la Oficina de Ciencia del Departamento de Energía de EE. UU., bajo el contrato n.º DE-AC02-05CH11231.

## Estudio estructural y funcional de dos peroxigenasas inespecíficas fúngicas de *Candolleomyces (Psathyrella) aberdarensis*

Andrea Menés-Rubio<sup>1</sup>, Angela Fernandez-Garcia<sup>2,3</sup>, Miquel A. Galmes-Ordinas<sup>1</sup>, Patricia Gomez de Santos<sup>4</sup>, Israel Sanchez-Moreno<sup>1,5</sup>, Julia Sanz-Aparicio<sup>2</sup>, Miguel Alcalde<sup>1\*</sup>

1. Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (ICP-CSIC), Madrid, España.

2. Departamento de Cristalografía y Biología Estructural, Instituto de Química Física Blas Cabrera (IQF-CSIC), Madrid, España.

3. Institute of Phototrophic Microbiology, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Alemania.

4. EvoEnzyme S.L., Parque Científico de Madrid, Madrid, España.

5. Departamento de Química Bio-Orgánica, Instituto de Química Orgánica General (IQOG-CSIC), Madrid, España.

E-mail : [malcalde@icp.csic.es](mailto:malcalde@icp.csic.es) (autor de correspondencia), [andrea.menes@csic.es](mailto:andrea.menes@csic.es) (ponente)

Las peroxigenasas inespecíficas fúngicas (UPOs) son biocatalizadores altamente versátiles, capaces de insertar oxígeno selectivamente en enlaces C-H no activados, posicionando a estas enzimas como herramientas prometedoras en la síntesis sostenible de compuestos. Concretamente, se presenta el estudio cristalográfico y su perfil de reacción de dos UPOs largas procedentes de *Candolleomyces aberdarensis*, PabUPO-II y Grogu (triple mutante evolucionado de PabUPO-I), adaptadas para su expresión heteróloga en levaduras.

En este trabajo se han resuelto las estructuras cristalinas de ambas enzimas a alta resolución (1,8-2,0 Å), revelando bolsillos catalíticos que combinan rasgos de UPOs de tipo corto y largo, lo cual confiere una reactividad diferencial frente a distintos sustratos de interés biotecnológico. El mutante Grogu presenta un canal de acceso al grupo hemo hidrofóbico, con un residuo Met73 que adopta una conformación dual, dictando la reactividad de la enzima. Por el contrario, PabUPO-II presenta una arquitectura de canal híbrida entre las observadas en UPOs largas y cortas, con un residuo Glu212 más flexible, capaz de adoptar conformaciones alternativas en función del posicionamiento del sustrato.

Tras ensayos de soaking y validación experimental mediante GC-MS frente a alcanos y ácidos grasos de cadena larga (C12 y C14), se ha demostrado que ambas enzimas catalizan su hidroxilación subterminal en posiciones  $\omega-1$  y  $\omega-2$ , generando cetonas y dioles. Llamativamente, PabUPO-II presenta una mayor plasticidad catalítica al promover hidroxilaciones en posiciones  $\alpha$  y  $\beta$  en ácidos dicarboxílicos, lo que sugiere una posible actividad de acortamiento de ácidos grasos.

Además, en reacciones con los norisoprenoides  $\alpha$ -ionona y  $\alpha$ -damascona, ambas enzimas oxidan de manera selectiva en el anillo ciclohexénico y en la cadena alifática vinílica, respectivamente. En este sentido, simulaciones de dinámica molecular realizadas en paralelo indican que la catálisis del mutante Grogu está gobernada por un mecanismo de gating del canal de acceso al hemo, así como la preorganización del sustrato en el entorno del centro activo.

En conjunto, estas enzimas presentan características estructurales y propiedades funcionales híbridas que, no solo nos aportan más información sobre su mecanismo catalítico, si no que abren nuevas oportunidades para su ingeniería y aplicación en procesos biotecnológicos de vanguardia, como es la valorización de biomasa o la biosíntesis sostenible de compuestos.

### Agradecimientos:

Trabajo enmarcado en los proyectos de I+D+I PID2022-142074OB-I00-RAINBOW, PID2022-136367OB-C33, y PID2019-106166RB-I00-OXYWAVE, financiados por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/FEDER, UE. En colaboración con la Fuente de Radiación Sincrotrón ALBA (Barcelona, España), con asistencia en la línea BL13-XALOC.

[3] T. Xu, X. Wang, H. Wang, J. Yao, F. Kong, J. Ren, S. Wang, Efficient conversion of xylose and corncob to furfural using a novel carbon-based solid acid derived from black liquor lignin-tin complexes, J Environ Chem Eng 12 (2024) 114516, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.114516>.

## **Actividad deshidrogenasa en aril-alcohol oxidasas: una función emergente en procesos lignocelulósicos y química verde**

Paula Cinca-Fernando<sup>1,2</sup>, Ana Serrano<sup>3</sup>, Juan Carro<sup>3</sup>, Pablo López-Fernández<sup>4</sup>, Juan Mangas-Sánchez<sup>4</sup>, Patricia Ferreira<sup>1,2</sup>

*1. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza*

*2. Instituto de Biocomputación y Física de los Sistemas Complejos, Universidad de Zaragoza*

*3. Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, CSIC*

*4. IUQOEM, Departamento de Química Orgánica e Inorgánica, Universidad de Oviedo*

E-mail: [pcinca@unizar.es](mailto:pcinca@unizar.es)

Las aril-alcohol oxidasas (AAOs) son flavoproteínas pertenecientes a la superfamilia glucosa–metanol–colina (GMC) implicadas en la degradación de lignina por hongos ligninolíticos. Tradicionalmente, estas enzimas han sido descritas como oxidasas que emplean oxígeno molecular como aceptor de electrones, generando peróxido de hidrógeno necesario para la acción de peroxidasas ligninolíticas. Sin embargo, estudios recientes han puesto de manifiesto la notable versatilidad catalítica de las AAOs, evidenciando su capacidad para actuar también como deshidrogenasas utilizando aceptores alternativos, como quinonas, lo que sugiere un papel fisiológico más amplio en la degradación de biomasa lignocelulósica.

En este contexto, la actividad deshidrogenasa de las AAOs adquiere especial relevancia en entornos ricos en compuestos derivados de la lignina, donde la reducción de quinonas a hidroquinonas puede contribuir a modular el equilibrio redox del sistema. Este proceso podría desempeñar un papel clave en la prevención de reacciones de repolimerización de semiquinonas y radicales derivados de la lignina. Asimismo, las hidroquinonas generadas podrían participar en ciclos redox asociados a la formación de especies reactivas o actuar como mediadores en la activación de otras enzimas implicadas en la degradación de la pared celular vegetal.

Aunque esta dualidad oxidasa/deshidrogenasa ha sido caracterizada principalmente en AAOs fúngicas, evidencias recientes apuntan a que enzimas homólogas presentes en bacterias podrían compartir esta versatilidad funcional. En este trabajo, exploramos la presencia de actividad deshidrogenasa en AAOs, incluyendo variantes bacterianas, evaluando su capacidad para emplear benzoquinona como aceptor de electrones. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que la actividad deshidrogenasa podría estar más extendida de lo previamente considerado, abriendo nuevas perspectivas sobre su papel en la degradación y revalorización de la biomasa lignocelulósica, así como en su capacidad sintética en química verde.

### **Agradecimientos:**

Proyecto TED2021-130803B-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 NextGenerationEU/PRTR; y proyecto PID2022-136369NB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER.

## Redefining the Substrate Scope of LPMO via Dual-Domain Display and High-Throughput Engineering

Florian Csarman<sup>1,2</sup>, David González-Pérez<sup>1</sup>, Miguel Alcalde<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Biocatalysis, Institute of Catalysis, CSIC, Madrid, Spain*

<sup>2</sup> *Department of Biotechnology and Food Science, BOKU University, Vienna, Austria*

E-mail: [florian.csarman@boku.ac.at](mailto:florian.csarman@boku.ac.at); [david.gonzalez.perez@csic.es](mailto:david.gonzalez.perez@csic.es); [malcalde@icp.csic.es](mailto:malcalde@icp.csic.es)

Lytic polysaccharide monooxygenases (LPMOs) catalyse the oxidative cleavage of polymeric carbohydrates, enabling the depolymerisation of recalcitrant polysaccharides. Nature has evolved LPMOs with distinct specificities towards structurally diverse substrates, providing a blueprint for engineering substrate-selective oxidative biocatalysts. Members of different LPMO families exhibit pronounced substrate preferences ranging from crystalline and amorphous cellulose to hemicelluloses and other recalcitrant polysaccharides. Despite this inherent specificity, the molecular determinants governing substrate recognition and selective oxidation remain poorly understood, limiting the rational engineering of LPMOs for tailored applications. Here, we present a yeast surface display platform for LPMO engineering, aimed at refining substrate-binding interfaces towards selected (bio-)polymers. To emulate the multimodular architectures commonly found in natural biomass-degrading systems, we implement a dual-domain surface display strategy in which LPMO catalytic domains are fused to selected carbohydrate-binding modules (CBMs) and other binding domains. Complementary to CBM fusion, the catalytic domain is engineered and evolved to refine substrate recognition while preserving catalytic competence. Libraries of engineered LPMO variants are displayed and subjected to iterative biopanning and enrichment on lignocellulosic substrates (e.g. cellulose fibres) as well as chemically modified derivatives (e.g. cellulose acetate), enabling the selection of variants with enhanced and selective binding properties.

Enriched variants are subsequently advanced to high-throughput activity screening to quantitatively link binding affinity with catalytic performance. Functional characterisation is further supported by amperometric techniques to monitor LPMO peroxygenase activity directly in suspensions of insoluble substrates, providing insights into enzyme performance under process-relevant conditions.

This workflow integrates surface display for binding interrogation, biopanning for substrate-specific enrichment, high-throughput screening for activity profiling, and electrochemical analysis for mechanistic insight to enable the elucidation of molecular determinants governing LPMO substrate specificity and reactivity. Ultimately, this strategy aims to establish a platform for engineering LPMOs with enhanced stability during catalytic turnover, controlled oxyfunctionalisation of (bio-)polymers and tailored substrate preferences for efficient lignocellulose deconstruction and functionalisation.

## Biocatalizadores a medida para la conversión sostenible de ligninas industriales en productos de valor añadido

Beatriz Vázquez, Pablo Aza, Iván Ayuso-Fernández y Susana Camarero  
*Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica. CIB-CSIC, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.*  
E-mail: [susanacam@cib.csic.es](mailto:susanacam@cib.csic.es)

La conversión de lignina en productos químicos y materiales es un paso clave para la transición a una bioeconomía circular <sup>1</sup>. Las propiedades de estabilidad térmica, rigidez estructural y aglutinantes del polímero de lignina son aprovechadas en diferentes aplicaciones. Sin embargo, su aprovechamiento como fuente de compuestos aromáticos alternativos a los derivados del petróleo no ha sido suficientemente explotada. La razón estriba en su estructura heterogénea y la resistencia de sus enlaces C-C y C-O <sup>2</sup>, que hacen que la despolimerización de la lignina en compuestos simples de interés siga representando un reto técnico considerable.

La urgente necesidad de tecnologías innovadoras que permitan aprovechar todo el potencial de la lignina más allá de su valor energético, ha promovido el desarrollo de nuevos métodos para extraer lignina de los licores negros de la fabricación de pasta de papel <sup>3,4</sup>, así como de nuevos métodos para su despolimerización <sup>5</sup>. La despolimerización enzimática de la lignina pasa por el empleo de peroxidasas ligninolíticas y lacasas, las cuales son secretadas por hongos basidiomicetos durante la biodegradación de la madera y otros materiales lignocelulósicos.

Las lacasas fúngicas son biocatalizadores de referencia debido a su actividad ligninolítica y sus bajos requisitos catalíticos. Su elevado potencial redox les confiere capacidades de oxidación muy por encima del de las lacasas bacterianas. Sin embargo, sus actividades más ácidas, su menor estabilidad térmica, y su difícil expresión heteróloga (ninguna lacasa fúngica se ha producido con éxito en sistemas procarióticos) van en detrimento de su aplicación industrial.

Dentro del proyecto ROBUSTOO, estamos respondiendo a ambas necesidades mediante la búsqueda e ingeniería de lacasas más resistentes y eficientes sobre lignina en las condiciones de funcionamiento industrial, y el desarrollo de cepas para su producción heteróloga a gran escala. Concretamente, en el CIB estamos llevando a cabo dos estrategias para obtener lacasas con las propiedades deseadas. Por un lado, estamos utilizando lacasas alcalófilas de alto potencial redox desarrolladas por evolución dirigida <sup>6,7</sup> como punto de partida para mejorar su actividad y estabilidad a pH y temperaturas elevados. Por otro lado, partiendo de secuencias de enzimas de bases de datos seleccionadas computacionalmente, hemos expresado y caracterizado algunas enzimas cuyas propiedades de interés están siendo mejoradas por ingeniería de proteínas.

Las nuevas enzimas se emplearán como biocatalizadores en el fraccionamiento a escala piloto de lignina <sup>8</sup>. Las fracciones obtenidas servirán para obtener resinas 100% bio-basadas como adhesivos de paneles de madera o aditivos en impresión 3D.

**Agradecimientos:** El proyecto ROBUSTOO está financiado por la Unión Europea

1. Mastrolitti, S. et al. In IEA-Bioenergy 2021, Task 42
2. Li, T. et al. Biofuels, Biofpr. 2018, 12:756–787
3. Tomani, P. 2010. Cellulose Chem. Technol. 44 (1-3), 53-58
4. Kouisni, L. et al. ACS Sustainable Chem. Eng. 2016, 4, 5152–5159
5. Pei, Z. et al. Polymers 2024, 16, 2388.
6. Rodríguez-Escribano, D. et al. Biotechnol.biofuels bioprod. 2022. 15:149
7. Rodríguez-Escribano, D. et al. Polymers 2023, 15, 4433.
8. Hämäläinen, V. et al. Front. Bioeng.Biotechnol. 2018, 6:20



## **SESIÓN II.**

**Microorganismos y sus enzimas para un  
aprovechamiento sostenible de la biomasa  
lignocelulósica y otros recursos renovables**



## **Mejora de la robustez celular en *Heyndrickxia coagulans* para la conversión de residuos de poda de jardines en ácido láctico.**

M.F. Blanco\*, J.M. Oliva, C. Álvarez, M. G. Acedos, M.J. Negro, R. Iglesias, I. Ballesteros, A.D. Moreno

Unidad de Combustibles Avanzados y Bioproductos. Departamento de Energía. Ciemat, 28040, Madrid, España.

\*Dirección Actual: CIB Margarita Salas, CSIC, 28040 Madrid, España

E-mail: [manuel.blanco@csic.es](mailto:manuel.blanco@csic.es)

Los residuos de poda de jardines representan un abundante residuo lignocelulósico generado en las ciudades con potencial aplicación en biorefinerías. Estos residuos generalmente se destinan a compost o se incineran, lo cual genera poco valor añadido. A través de su conversión mediante fermentación, pueden ser transformados en ácido láctico, que a su vez puede convertirse en ácido poliláctico (PLA) para la generación de bioplásticos sostenibles. La bacteria *Heyndrickxia coagulans*, es un candidato ideal para fermentar biomasa lignocelulósica, ya que es capaz de utilizar tanto pentosas como hexosas y transformar estos azúcares en ácido láctico mediante fermentación anaerobia a alta temperatura (50 °C). Sin embargo, la fermentación de biomasa lignocelulósica es un proceso complicado debido a los inhibidores que se generan en las etapas de pretratamiento, ya que afectan severamente al rendimiento y productividad del proceso. En este trabajo, se ha sometido a la bacteria *H. coagulans* a un proceso de evolución adaptativa de laboratorio frente a un hidrolizado obtenido tras someter la biomasa de poda de jardines a un pretratamiento de explosión por vapor. La evolución se realizó en dos fases. En primer lugar se llevaron a cabo repeticiones en batch aumentando progresivamente la concentración de hidrolizado desde el 50 hasta el 75%. En segundo lugar se llevó a cabo una fase en biorreactor en configuración *fed-batch* donde de forma continua se incrementó la concentración de hidrolizado hasta alcanzar el 100%. Tras la evolución se llevó a cabo un análisis fisiológico para seleccionar el candidato con mayor tasa de conversión de azúcar en ácido láctico en presencia de inhibidores. La cepa seleccionada consumía todos los azúcares del medio en menos de 18 horas mientras la cepa parental lo hacía a las 48 en presencia de la misma concentración de inhibidores. Así mismo, se llevó a cabo una caracterización molecular de la cepa, mediante la secuenciación del genoma y la expresión diferencial de genes en presencia y ausencia de inhibidores. Esta caracterización permitió identificar dos grandes deleciones en el genoma, de 27 Kb y 73 Kb, así como 7 SNPs en distintos genes con relación en la resistencia a inhibidores o la fermentación. Este trabajo, sienta las bases para generar una cepa de *H. coagulans* capaz de fermentar biomasa lignocelulósica sin necesidad de realizar una etapa de detoxificación, y a su vez arroja información sobre los procesos metabólicos que intervienen en la resistencia a estos inhibidores.

### **Agradecimientos:**

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencias e Innovación de España (MICIU/AEI/10.13039/501100011033) y la Unión Europea (NextGenerationEU/PRTR) a través de los proyectos “RESOPLA” (TED2021-132024B-C22) y “Novel Hybrid Renewable Technologies”, incluidos en el programa “Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia.

## Valorización del bagazo de manzana para la producción de biobutanol: inhibición de polifenoles en la fermentación ABE y detoxificación con lacasa

Raquel Farinas-Mera, Marian Arroyo, Thelmo Lú-Chau, Gemma Eibes  
CRETUS, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Compostela  
E-mail: [raquel.farinas.mera@usc.es](mailto:raquel.farinas.mera@usc.es); [thelmo.lu@usc.es](mailto:thelmo.lu@usc.es); [gemma.eibes@usc.es](mailto:gemma.eibes@usc.es)

La valorización de residuos agroindustriales representa una estrategia prometedora para el desarrollo de biorrefinerías sostenibles. El bagazo de manzana, un subproducto de la industria sidrera, es una materia prima potencial para la producción de biobutanol mediante fermentación acetona-butanol-etanol (ABE) por especies de *Clostridium*, contribuyendo a reducir la dependencia de combustibles fósiles.

El bagazo de manzana contiene azúcares fermentables, pero también compuestos polifenólicos (21,95 mg GAE/g DW) con actividad antioxidante y antimicrobiana que pueden inhibir la fermentación ABE, afectando negativamente el crecimiento microbiano y la productividad. Aunque estudios previos han evaluado polifenoles modelo en distintos sustratos, existe una falta de información sobre el efecto de mezclas reales de polifenoles.

En este estudio se evaluó la influencia de polifenoles derivados del orujo de manzana en la fermentación ABE utilizando su hidrolizado como sustrato, trabajando en un rango de 0,2–0,7 g GAE/L para identificar umbrales de inhibición. Los resultados mostraron un efecto inhibitorio incluso a niveles bajos (0,2 g GAE/L), reduciendo la productividad de butanol en un 22%. Sin embargo, el efecto es mucho más notable a concentraciones altas: a 0,7 g GAE/L, la concentración final de butanol se mantuvo por debajo de 5 g/L y la productividad disminuyó cerca de un 58%, observándose además una fase de latencia de 24h. También se aplicó un tratamiento de detoxificación enzimático mediante lacasa comercial, evaluando diferentes actividades (4800–20000 U/L) y pH (3, 5 y 7), logrando reducciones de polifenoles de hasta un 62,92%.

Los resultados confirman el papel limitante de los polifenoles en la fermentación ABE y demuestran que la detoxificación enzimática es una estrategia eficaz para mitigar este efecto y mejorar la viabilidad del proceso de producción sostenible de biobutanol a partir de biomasa rica en compuestos fenólicos.

**Agradecimientos:** Este trabajo se enmarca en el proyecto Ultreia (ED431F 2020/06) financiado por la Xunta de Galicia. Los autores pertenecen al Grupo de Referencia Competitiva GRS (ED431C 2025/19) y al centro de investigación CRETUS (Red CIGUS). Todos estos programas están cofinanciados por FEDER.

## Funcionalización enzimática de lignina como plataforma biotecnológica para el diseño de materiales multifuncionales sostenibles

Gabriela Domínguez, Juana Rodríguez, Carmen Fajardo, José Manuel Molina Guijarro y Manuel Hernández

*Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Universidad de Alcalá.*

*Crta. Madrid-Barcelona, km 33,600. Alcalá de Henares 28805 Madrid.*

*E-mail: [gabriela.dominguez@uah.es](mailto:gabriela.dominguez@uah.es)*

### ABSTRACT

La valorización de ligninas técnicas como recurso estratégico en el desarrollo de materiales avanzados constituye una prioridad en el marco de la bioeconomía circular. En este contexto, nuestro grupo de trabajo ha consolidado una línea de investigación centrada en la funcionalización enzimática de lignina mediante lacasas fúngicas y bacterianas, que permite modular de forma controlada la estabilidad térmica, la compatibilidad interfacial y la reactividad de la lignina, habilitando su integración eficiente en diferentes matrices poliméricas. De esta forma, esta aproximación metodológica se ha orientado al diseño racional de materiales multifuncionales, obteniendo una amplia variedad de sistemas versátiles con aplicaciones en diversos sectores clave.

En el ámbito del envasado activo, la incorporación de lignina ácido soluble funcionalizada en matrices de ácido poliláctico (PLA) que incorpora nanopartículas inorgánicas con actividad biocida, ha actuado como agente compatibilizante y estabilizador térmico del nanomaterial. Este enfoque ha permitido el procesado del *composite* mediante extrusión para la obtención de películas, preservando a la vez la actividad biocida a las altas temperaturas requeridas, y alcanzando reducciones  $\geq 3 \log_{10}$  frente a *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus* incluso a bajas cargas de agente activo.

Recientemente, el interés del grupo se ha orientado hacia la obtención de nuevos materiales de tipo hidrogel con potenciales aplicaciones en diversos ámbitos de interés: biomédico, agrícola y ambiental. Así, la combinación de lignina funcionalizada y quitosano, dos biopolímeros residuales de gran interés, ha permitido desarrollar un producto biotecnológico con capacidad de actuar como fertilizantes de liberación controlada (CRF), constituyendo una alternativa sostenible a los fertilizantes convencionales. Estos sistemas presentan propiedades estructurales y funcionales adecuadas, tales como una elevada fracción gel y capacidad de absorción de agua, así como perfiles de liberación controlada de urea tanto en solución acuosa como en condiciones simuladas de suelo. Todo ello contribuye a reducir significativamente los procesos de lixiviación y a favorecer la funcionalidad de la microbiota terrestre.

Así mismo se han desarrollado hidrogeles basados en PVA/celulosa/lignina funcionalizada, capaces de integrar agentes biocidas, con potenciales aplicaciones en el campo biomédico como apósitos antimicrobianos. Estos sistemas combinan propiedades mecánicas reforzadas, elevada capacidad de hinchamiento y actividad antimicrobiana, alcanzando inhibición completa de *S. aureus* y reducciones significativas frente a *Pseudomonas aeruginosa*, con perfiles de biocompatibilidad ajustables en función de la formulación.

En conjunto, esta línea de investigación posiciona la lignina funcionalizada enzimáticamente como un bloque de construcción versátil para el desarrollo de materiales sostenibles de altas prestaciones, demostrando su potencial de escalado y transferencia en aplicaciones ambientales, agrícolas y biomédicas.

### Agradecimientos:

Investigación financiada por el Proyecto TED2021-131847-C22 del Ministerio de Ciencia e Innovación y por el proyecto PIUAH24/CC-042 del programa propio de la Universidad de Alcalá

## Conversión sinérgica de quitina en productos de alto valor añadido en *Yarrowia lipolytica*: una plataforma de bioconversión polímero-a-producto

Marina Minguet-Lobato<sup>1</sup>, Heber Gamboa-Meléndez<sup>2</sup>, María Martínez-Ranz<sup>3</sup>, Mengyao Lu<sup>2</sup>, Jose Luis González-Alonso<sup>1</sup>, María Fernández-Lobato<sup>3</sup>, Rodrigo Ledesma-Amaro<sup>2</sup>, Francisco J. Plou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Biocatálisis Aplicada, ICP-CSIC, 28049 Madrid.*

<sup>2</sup>*Departamento de Bioingeniería, Imperial College London.* <sup>3</sup>*CBM-CSIC-UAM, 28049 Madrid*

E-mail: [m.minguet@csic.es](mailto:m.minguet@csic.es)

La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la Tierra, después de la celulosa, y constituye un componente estructural clave en las paredes celulares de hongos y en los exoesqueletos de artrópodos. A pesar de su elevada disponibilidad como subproducto de la industria alimentaria, su baja biodegradabilidad limita su aprovechamiento y conduce a la acumulación de grandes cantidades de residuo. Frente a los métodos químicos tradicionales, la biocatálisis representa una alternativa más sostenible; sin embargo, la mayoría de los enfoques se han centrado en la producción de quitosano y quito-oligosacáridos, y la conversión eficiente de quitina hacia productos bio-basados de mayor valor sigue siendo limitada (1).

En este contexto, presentamos un proyecto de prueba de concepto orientado al desarrollo de una plataforma de bioconversión “polímero-a-producto” en la levadura *Yarrowia lipolytica*, basada en el acoplamiento entre despolimerización extracelular y asimilación metabólica. Como primer paso, se ha diseñado y optimizado una endo-quitinasa de levadura, mejorando su eficiencia catalítica y modulando su perfil de productos (2). Posteriormente, se ha establecido un sistema enzimático sinérgico mediante la combinación de esta quitinasa con una  $\beta$ -N-acetilhexosaminidasa de origen fúngico, permitiendo la despolimerización eficiente de quitina coloidal hasta su monómero, la N-acetil-D-glucosamina. Ambas enzimas han sido producidas heterológicamente en *Pichia pastoris*, lo que ha permitido caracterizar la base mecanística y cuantitativa de la conversión de la quitina a monómero. Adicionalmente, se ha validado la accesibilidad metabólica de la N-acetil-D-glucosamina generada enzimáticamente, demostrando su utilización como fuente de carbono en diferentes cepas de *Yarrowia lipolytica* para la producción de carotenos y precursores lipídicos. Como siguiente paso, el sistema quitinolítico ha sido transferido a diferentes cepas de *Yarrowia lipolytica*, donde se ha comprobado su correcta expresión, secreción y actividad, incluyendo una primera iteración de mejora mediante ajuste del número de copias génicas.

En conjunto, estos resultados establecen las bases para el desarrollo de una plataforma microbiana integrada capaz de convertir quitina en productos de alto valor añadido, abriendo nuevas oportunidades para la valorización biotecnológica de este polisacárido.

### Agradecimientos:

Agradecemos al Ministerio de Ciencia e Innovación de España la concesión de la ayuda predoctoral PRE2020-092330 a la primera autora, que permitió establecer la colaboración entre el Grupo de Biocatálisis Aplicada (ICP-CSIC), el RLA lab (Departamento de Bioingeniería, Imperial College London), y el Grupo de Ingeniería de Enzimas de Levaduras (CBM-UAM-CSIC), en el marco de la cual se está desarrollado este proyecto. Este trabajo está siendo financiado por los proyectos PID2022-136367OB-C31/C32 de la Agencia Estatal de Investigación.

### Referencias:

- (1) Yan Q and Fong SS (2018). *Biotechnol Bioeng*. doi: 10.1002/bit.26782.
- (2) Minguet-Lobato M et al. (2025). *Int J Biol Macromol*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.146538

## Algas marinas como materia prima emergente para biorrefinerías: oportunidades y desafíos como alternativa a la lignocelulosa

Juan A. Méndez-Líter<sup>1</sup>, Cristina Martínez-Pérez<sup>1</sup>, Laura Alfaya Fiaño<sup>1</sup>, Diego Crespo-Roche<sup>1</sup>, Juan Luis Gómez Pinchetti<sup>2</sup>, Antera Martel Quintana<sup>2</sup>, Alicia Prieto<sup>1</sup>, Jorge Barriuso<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>, Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), Madrid, España

<sup>2</sup> Banco Español de Algas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (FCPCT), España

E-mail: [jmendez@cib.csic.es](mailto:jmendez@cib.csic.es), [aprieto@cib.csic.es](mailto:aprieto@cib.csic.es), [jbarriuso@cib.csic.es](mailto:jbarriuso@cib.csic.es)

La transición hacia una bioeconomía sostenible exige diversificar las materias primas renovables para la producción de compuestos de interés. Las materias primas de primera generación han sido los sustratos dominantes para la sacarificación enzimática, y la transición al empleo de sustratos lignocelulósicos (segunda generación), difíciles de degradar, no acaba de implantarse a escala industrial debido a sus elevados costes. Las macro y microalgas marinas representan un reservorio vasto e inexplorado de carbohidratos estructuralmente diversos, desde celulosa y hemicelulosas, a otros mucho más complejos como galactanos sulfatados, ulvanos, alginatos, laminarina y fucoidanos. Sin embargo, estos polisacáridos difieren fundamentalmente de los polímeros vegetales no solo en su composición monosacáridica, sino también en sus enlaces glicosídicos, y sus patrones de sulfatación y entrecruzamiento iónico, lo que supone desafíos únicos para los cócteles enzimáticos disponibles.

En este trabajo, presentamos un marco sistemático para evaluar la biomasa algal como sustrato para sistemas enzimáticos de hongos terrestres. Se seleccionaron trece algas que abarcan los principales grupos taxonómicos y estructurales: *Rhodophyta* (*Palmaria palmata*, *Gelidium canariensis*, *Gracilaria cornea*, *Hypnea spinella*), *Phaeophyceae* (*Laminaria ochroleuca*, *Himanthalia elongata*, *Cystoseira abies-marina*), *Chlorophyta* (*Ulva rigida*, *Valonia utricularis*) y *microalgas* (*Porphyridium cruentum*, *Rhodosorus marinus*, *Euglena cantabrica* y *Nannochloropsis gaditana*). Se realizó una caracterización integral de cada biomasa, incluyendo: análisis elemental, perfil de monosacáridos (glucosa, xilosa, galactosa, fucosa, ramnosa, manosa y ácidos urónicos), espectroscopía FTIR, contenido fenólico, y análisis de composición aminoacídica.

Con el objetivo de valorizar la fracción polisacáridica, se realizaron ensayos de sacarificación con crudos enzimáticos fúngicos. Para mejorar la accesibilidad de los polisacáridos, se aplicó un pretratamiento hidrotérmico (autohidrólisis a 170 °C, 60 min) comparando sistemáticamente biomasa pretratada y no pretratada. El cribado de los crudos enzimáticos de los hongos se estructuró en múltiples niveles: crecimiento en medio líquido con polisacáridos modelo comerciales (laminarina, alginato, fucoidano, carragenano, Avicel y xilano), crecimiento sobre biomasa algal completa, monitorización de actividades enzimáticas a lo largo del tiempo, e hidrólisis enzimática cuantitativa de los polisacáridos comerciales y la biomasa pretratada.

Para ello, se utilizaron cuatro hongos lignocelulolíticos (*Talaromyces amestolkiae*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ustus* y *Ophiostoma piceae*) con el fin de evaluar su capacidad para colonizar y sacarificar estos sustratos. Los ensayos de crecimiento, perfiles de actividad enzimática y observación microscópica identificaron a *T. amestolkiae* como el candidato más versátil. Su crudo enzimático alcanzó rendimientos de sacarificación sobre *Palmaria palmata* pretratada comparables al cóctel comercial Cellic CTec2, y lo superó sobre laminarina, demostrando que los sistemas enzimáticos de estos hongos poseen actividad sobre polisacáridos marinos. Estos resultados evidencian la viabilidad de utilizar la maquinaria enzimática fúngica terrestre para deconstruir biomasa marina, identificando alguno de los

cuellos de botella que deben abordarse para desbloquear el potencial de las algas como materia prima y su integración en estrategias de bioeconomía circular.

**Agradecimientos:**

Agradecemos al proyecto MOLA, PID2024-162673NB-I00 la financiación obtenida para poder desarrollar este trabajo.

## **SESIÓN III.**

### **Nuevas Tecnologías para un aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica: Bioproductos y Bioenergía**



## Structural characterization of tricin-enriched lignin in two Triticale hybrid cereal straw varieties

David Martín-Alvarado<sup>1</sup>, Javier Benito<sup>2</sup>, Francisco Barro<sup>2</sup>, José C. del Río<sup>1</sup>, Jorge Rencoret<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IRNAS-CSIC, Av. de la Reina Mercedes, 10, 41012 Sevilla

<sup>2</sup>Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, Córdoba

E-mail: [david.martin@irnas.csic.es](mailto:david.martin@irnas.csic.es)

Triticale is a hybrid cereal derived from wheat and rye, developed to combine the most favorable characteristics of both species. Its cultivation is primarily concentrated within temperate and cold regions; however, in Spain, it is widely grown in the south, particularly in Andalusia, where its remarkable tolerance to heat and drought is strategically exploited. The harvesting and processing of triticale generate vast quantities of lignocellulosic by-products, such as straw, which contain significant amounts of carbohydrates and lignin and therefore represent a valuable feedstock for the production of high-value chemicals and materials. In this work, the structural characteristics of the lignin isolated from triticale straw were investigated in two varieties, Rosner and Alameda. The lignins were isolated and comprehensively characterized using analytical pyrolysis (Py-GC/MS), nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, and the Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC) method. The results revealed an enrichment of guaiacyl units in both varieties, with a H:G:S ratio of 3:69:28 (S/G of 0.41) for Rosner and 4:59:37 (S/G of 0.63) for Alameda. These compositional differences significantly influenced the distribution of inter-unit linkages. In both samples, the lignin structure was dominated by  $\beta$ -O-4' alkyl-aryl ethers (72% for Rosner and 79% for Alameda), alongside substantial proportions of condensed linkages, including  $\beta$ -5'phenylcoumarans (12% for Rosner and 9% for Alameda),  $\beta$ - $\beta'$  resinols (7% for Rosner and 5% for Alameda),  $\beta$ -1' spirodienones (4% for Rosner and Alameda) and 5-5' dibenzodioxocins (5% for Rosner and 2% for Alameda). Overall, these results indicate that Alameda lignin is relatively less condensed and more enriched in  $\beta$ -O-4' linkages, which enhances its susceptibility to chemical depolymerization, whereas Rosner lignin exhibits a more condensed architecture, implying higher resistance to cleavage and potentially lower reactivity in valorization processes. Such differences are critical when selecting appropriate feedstocks for specific biorefinery applications. Furthermore, both lignins are partially acylated at the  $\gamma$ -OH position ( $\approx$ 10%) with p-coumarates and acetates, a feature that may influence their reactivity and processing behavior. In addition, triticale lignin incorporates significant amounts of tricin (12% for Rosner and 16% for Alameda) as percentages of total lignin monomers, a high-value flavone with numerous potential industrial applications. In line with circular economy principles, triticale straw emerges as a highly promising and sustainable resource for the extraction of this valuable molecule within an integrated biorefinery framework.

### Acknowledgments:

This research was funded by project PID2023-152543OB-I00, funded by MICIU/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Regional Development Fund (ERDF) "A way of making Europe". DMA's contribution was funded through an FPI grant (PREP2023-001584).

***Estudio de la obtención de xilooligosacáridos a partir de subproductos agroindustriales de la industria cervecera mediante un proceso hidrotérmico***

Cristina Álvarez\*, Ainara Tizón, Antonio David Moreno, Ignacio ballesteros, José Miguel Oliva, María del Prado García-Aparicio and María José Negro

*Unidad de Biocarburantes avanzados y Bioproductos. Departamento de Energía CIEMAT,  
28040 Madrid, España*

*\*Autora presentadora e-mail: [cristina.alvarez@ciemat.es](mailto:cristina.alvarez@ciemat.es)*

La obtención de xilooligosacáridos (XOS) a partir de biomasa lignocelulósica representa una estrategia clave en el desarrollo de ingredientes funcionales dentro de la bioeconomía sostenible. En este contexto, el bagazo de cerveza (BSG por las siglas en inglés de Brewers' Spent Grain), principal subproducto sólido de la industria cervecera (~85 %), constituye una materia prima abundante (39 millones de toneladas anuales a nivel mundial) y actualmente destinada principalmente a aplicaciones de bajo valor añadido. El BSG contiene una fracción de hemicelulosa que puede transformarse en XOS de alto valor añadido.

En este trabajo se propone una estrategia integrada para la producción selectiva de XOS de bajo grado de polimerización (DP2–DP5) a partir de BSG. La metodología se basa en una hidrólisis enzimática secuencial (amilasa, glucoamilasa y proteasa) para eliminar almidón y proteínas, enriquecer el residuo en arabinosilanos y minimizar reacciones de Maillard en el tratamiento hidrotérmico posterior. El residuo sólido resultante es entonces sometido a un pretratamiento hidrotérmico en agua en fase líquida a 185 °C, favoreciendo la solubilización y despolimerización selectiva de los arabinosilanos.

El proceso permitió alcanzar una concentración de 13,8 g/L de XOS, con una recuperación del 37,8 % respecto al xilano inicial y un rendimiento de 8,7 g por cada 100 g de BSG en base seca. Destaca la elevada proporción de XOS de bajo grado de polimerización (~50 %), junto con una mínima formación de subproductos, lo que evidencia la selectividad del proceso.

Adicionalmente, el proceso genera corrientes líquidas ricas en azúcares y proteínas con potencial valorización biotecnológica, así como un residuo sólido enriquecido en celulosa, con mayor digestibilidad y potencial aplicación en otros procesos. En conjunto, estos resultados posicionan al BSG como una fuente eficiente y sostenible para la producción de XOS con potencial aplicación como prebióticos, reforzando su integración en esquemas avanzados de biorrefinería y economía circular.

**Agradecimientos:**

Este trabajo ha recibido financiación de la Comunidad de Madrid (BIVALIA-CM, Ref.: TEC-2024/Bio-177).

## Planta Piloto para la producción de etanol 2G y el aprovechamiento de otros residuos

Felipe de Salas, Alicia Prieto, Jorge Barriuso, María Jesús Martínez  
*Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas,  
Calle Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid.  
E-mail: [fsalas@cib.csic.es](mailto:fsalas@cib.csic.es)*

El Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC) cuenta, con una planta piloto concebida, diseñada y construida, en el marco del proyecto Biorrefina y la plataforma para la transición energética del CSIC (TRANSENER) para la producción de etanol celulósico. Nuestro objetivo en el proyecto consistió en la producción de bioetanol de segunda generación a escala piloto, utilizando celulosa procedente de residuos lignocelulósicos pretratados con  $\gamma$ -valerolactona. Tras la etapa inicial de hidrólisis (biorreactor preparado trabajar con una alta consistencia en sólidos) y utilizando celulasas comerciales o producidas en el laboratorio (hongo *Talaromyces amestolkiae*), se llevó a cabo la sacarificación de la celulosa. En un segundo biorreactor se realizó la fermentación de la glucosa utilizando la cepa comercial YSC2 *Saccharomyces cerevisiae*. Finalmente, en otro tanque de 180 litros de volumen, se procedió a la destilación del alcohol utilizando una columna de 5 m de altura, alcanzando una pureza entre 90-95% (v/v). El etanol así obtenido se transfirió a otros socios del consorcio para su transformación en combustible sostenible de aviación (ICP-CSIC) o hidrógeno (ITQ-CSIC), este último destinado a la producción de diésel verde.

Aunque esta planta piloto se diseñó para la producción de etanol 2G, actualmente puede utilizarse con otros fines, ya que recientemente hemos actualizado el reactor de fermentación incorporando sistemas de venteo y de esterilización por vapor, para poder trabajar con microorganismos aerobios. Además de los biorreactores mencionados anteriormente con capacidad para 150 L, disponemos de un biorreactor para sólidos de 3,6 L y otro de líquidos hasta 5 L, para estudiar a pequeña escala distintos procesos. Por último, destacar que el CIB dispone de una infraestructura complementaria con otros equipos, por ej. biorreactores de volúmenes intermedios, sistemas de secado y liofilización, equipos de extracción y purificación y una centrifuga de operación en continuo para el procesado de grandes volúmenes.

**Agradecimientos:** LIA 5: Generación de biofuels a partir de  $H_2$  y  $CO_2$ . Unidad 3: Produccion Bioetanol (H2V2021), 2021-2025

## **Obtención de 5-HMF a partir de bagazo de manzana mediante disolventes eutécticos profundos y calentamiento asistido por microondas.**

Alexandre Rubira<sup>1,2</sup>, Cristiana Martins<sup>1,2</sup>, Beatriz Gullón<sup>1,2\*</sup>, Aloia Romaní<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Enxeñaría Química, Universidade de Vigo, Facultade de Ciencias, 32004 Ourense, Spain*

<sup>2</sup>*Instituto de Agroecoloxía e Alimentación. Universidade de Vigo – Campus Auga, 32004 Ourense, Spain*  
E-mail: [bgullonvigo.es](mailto:bgullonvigo.es)

La creciente preocupación por el agotamiento de los recursos fósiles y la acumulación de residuos agroindustriales está impulsando la búsqueda de estrategias sostenibles para la obtención de compuestos de alto valor añadido. El bagazo de manzana, principal subproducto de la industria de la sidra y los zumos, constituye una fuente renovable de hexosas susceptibles de ser convertidas en 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), una molécula plataforma de gran versatilidad con aplicaciones en bioplásticos, cosméticos, productos farmacéuticos y textiles. El presente estudio evaluó el bagazo de manzana como materia prima para la producción de 5-HMF empleando disolventes eutécticos profundos (DES) y calentamiento por microondas. Para la solubilización de los azúcares de la biomasa se compararon dos estrategias: extracción térmica acuosa y sacarificación enzimática. Los hidrolizados con mayor contenido en hexosas fueron empleados como sustratos para la producción de 5-HMF en un sistema DES basado en una mezcla de cloruro de colina y ácido láctico. La sacarificación enzimática proporcionó una recuperación de hexosas 1,12 veces superior a la extracción térmica acuosa. Para optimizar la producción de 5-HMF, se aplicó un diseño experimental Box-Behnken con el fin de evaluar el efecto de las condiciones de operación, temperatura, tiempo y proporción de hidrolizado-DES, sobre la concentración y el rendimiento molar de 5-HMF. La mayor concentración de 5-HMF (13 g/L) se obtuvo a 160 °C, 30 min y 50% de hidrolizado-DES, mientras que el rendimiento molar máximo (aproximadamente 50%) se alcanzó a 160 °C, 45 min y 65% de hidrolizado-DES. La optimización de respuesta múltiple permitió la maximización simultánea de ambas variables, estableciendo las condiciones óptimas en 164,4 °C, 30 min y 57,16% de hidrolizado-DES. Con el objetivo de mejorar la producción de 5-HMF, se evaluó la incorporación de sales catalizadoras (MgCO<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub>) bajo las condiciones previamente optimizadas. Con la adición de 0,4 mM de AlCl<sub>3</sub> y una proporción de hidrolizado enzimático del 82,9%, se alcanzó una concentración máxima de 5-HMF de 18,48 g/L y un rendimiento molar del 65,56%. En conjunto, los resultados demuestran el potencial del orujo de manzana como materia prima sostenible para la producción de moléculas plataforma de alto valor, y destacan la eficacia de combinar tecnologías sostenibles con sistemas catalíticos basados en DES.

### **Agradecimientos:**

Esta investigación es parte del proyecto Advanced green processes to develop platform chemicals based on food by-products (AdChemFood) (PID2022-138458OB-I00, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/FEDER, UE).

## Extracción con bio-solventes de poda de olivo explosionada para la recuperación de compuestos bioactivos y la mejora en la producción de bioetanol y ácido láctico

Luisa L. García-Fuentevilla<sup>1</sup>, Cristina Álvarez<sup>2</sup>, José L. Fernández<sup>2</sup>, Antonio D. Moreno<sup>2</sup>, Raquel Martín-Sampedro<sup>1</sup>, María E. Eugenio<sup>1</sup>, David Ibarra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICIFOR-INIA, CSIC, Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid

<sup>2</sup>CIEMAT, Av. Complutense, 40, Moncloa, 28040 Madrid

E-mail: [luisa.garcia@inia.csic.es](mailto:luisa.garcia@inia.csic.es)

El agotamiento de los combustibles fósiles y la crisis energética impulsan el uso de biomasa para producir biocombustibles como el bioetanol en el marco de las biorrefinerías [1]. Además, estas biorrefinerías permiten obtener bioproductos como el ácido láctico, muy demandado por sus múltiples aplicaciones, como la producción de plásticos biodegradables, entre otros [2]. Para lograr una producción de bioetanol y ácido láctico de forma sostenible y económicamente viable a partir de biomasa es necesario recurrir a pretratamientos eficaces, como la explosión con vapor. Sin embargo, esta tecnología de pretratamiento genera compuestos inhibidores, especialmente compuestos fenólicos, que dificultan las posteriores etapas de sacarificación y fermentación. Con el fin de eliminar estos inhibidores, este trabajo evalúa bio-disolventes (Etil Lactato (EL), Ciclopentil Metil Éter (CPME), y 2-Metiltetrahidrofurano (2-MeTHF)) para mejorar la producción de bioetanol y ácido láctico a partir de poda de olivo sometida a explosión con vapor. Además, estos inhibidores extraídos pueden ser revalorizados como antioxidantes [3].

De los bio-disolventes evaluados, el 2-MeTHF mostró la mayor capacidad de extracción, obteniendo un extracto con un contenido fenólico de 9.65 mg GAE/mL y una capacidad antioxidante de 22.50 mg TROLOX/mL. Entre los compuestos fenólicos identificados, destacaron la presencia de hidroxitirosol (76.10%), tirosol (11.85%) y oleuropeina (2.6%). EL y CPME también generaron extractos con un contenido fenólico de 6.70 g/L y 4.20 g/L, respectivamente, así como una actividad antioxidante de 10.75 TROLOX/mL para EL y de 8.40 TROLOX/mL para CPME. Respecto a los procesos de fermentación, la extracción con EL, seguido de una etapa de lavado con agua destilada, mostró las mayores mejoras observadas. Así, durante la producción de bioetanol, utilizando *Saccharomyces cerevisiae* como microorganismo fermentativo, la muestra extraída con EL dio lugar a la mayor concentración de etanol (6.85 g/L) y productividad volumétrica (0.18 g/L·h). En el caso del control (muestra sometida a lavado con agua destilada sin extracción), estos valores fueron de 4.60 g/L y 0.12 g/L·h, respectivamente. Con respecto a la obtención de ácido láctico, utilizando *Heyndrickxia coagulans* como microorganismo fermentativo, de nuevo la muestra extraída con EL, seguido de una etapa de lavado con agua destilada, dio lugar a la mayor concentración (15.95 g/L) y productividad volumétrica (0.40 g/L·h). En el caso del control (muestra sometida a lavado con agua destilada sin extracción), estos valores fueron de 14.98 g/L y 0.19 g/L·h, respectivamente. En conclusión, este estudio evidencia el potencial de los bio-disolventes para mejorar los procesos de producción de bioetanol y ácido láctico, al tiempo que facilita la recuperación de subproductos inhibidores, como los compuestos fenólicos, los cuales poseen un alto valor añadido por sus propiedades antioxidantes.

**Agradecimientos:** Los autores quieren expresar su agradecimiento a los proyectos PID2022-141965OB-C21, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y “ERDF A way of making Europe”; y AgroSUSTEC-CM (TEC-2024/BIO-27), financiado por la Comunidad de Madrid.

### Referencias:

- [1] Culaba y col. Bioresour. Technol. 369, 128256 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128256>
- [2] Rahman y col. Bioresour. Bioprocess. 12, 81 (2025). <https://doi.org/10.1186/s40643-025-00923-3>
- [3] Cañadas y col. J. Environm. Manag 344, 118448 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118448>.

## **Pretratamiento de poda de olivo mediante agua caliente a presión: producción de 2,3-butanodiol mediante *Bacillus amyloliquefaciens***

Juan Carlos López-Linares, Carmen Padilla-Rascón, María del Mar Contreras, Inmaculada Romero, Encarnación Ruiz, Eulogio Castro  
Department of Chemical, Environmental and Materials Engineering, University of Jaén, Campus Las Lagunillas s/n, Jaén, 23071, Spain  
Institute of Biorefineries Research (I3B), University of Jaén, Jaén, 23071, Spain.  
E-mail: [clinares@ujaen.es](mailto:clinares@ujaen.es)

Los residuos agrícolas constituyen una fuente energética de primera magnitud. Además de su bajo coste y gran disponibilidad, su aprovechamiento presenta importantes ventajas de carácter ambiental, económico y social. Destaca la poda del olivar, un residuo abundante con una superficie de olivar cultivada de 11,1 Mha (2024) en el mundo (FAOSTAT, 2026). Una posible vía de aprovechamiento y valorización de este residuo puede ser a través de procesos bioquímicos, recuperando los azúcares de su estructura, para ser empleados como moléculas plataforma en la obtención de productos de interés como el 2,3-butanodiol (2,3-BDO). Se trata de un compuesto considerado una importante plataforma industrial, caracterizado por ser ecológico, natural y sostenible. Sus favorables propiedades fisicoquímicas justifican sus numerosas aplicaciones, por ej. como combustible líquido, aditivo alimentario, así como múltiples aplicaciones en los sectores farmacéuticos, de la cosmética y de la pintura (Xu et al., 2025).

El objetivo principal de este estudio fue investigar la producción de 2,3-BDO a partir de poda de olivo mediante *Bacillus amyloliquefaciens*. La poda de olivo fue primeramente sometida a una extracción organosolvente asistida por microondas (10% s/L, 80 °C, 10 min, 38% (v/v) etanol) con objeto de recuperar la fracción rica en compuestos antioxidantes y fenoles de este material. Posteriormente, la poda extraída se pretrató mediante agua caliente a presión con objeto de mejorar su susceptibilidad enzimática, estudiándose la influencia de la temperatura (160-220 °C). Finalmente, se evaluó la eficiencia de la bioconversión de azúcares en 2,3-BDO mediante tres configuraciones de proceso: hidrólisis y fermentación secuenciales (HFS); sacarificación y fermentación simultáneas (SFS); pre-sacarificación y sacarificación y fermentación simultáneas (PSSF). Además, a fin de maximizar las concentraciones de 2,3-BDO y evaluar la escalabilidad industrial del proceso, se estudió la influencia de altas cargas de sólidos (15, 20 y 25%, p/v).

Como resultado, la fracción líquida obtenida después de la extracción organosolvente demostró tener importantes propiedades antioxidantes (contenido en compuestos fenólicos=2,4 g ácido gálico equivalente (AGE)/L; actividad antioxidante=8,4 g Trolox equivalente (TE)/L (método ABTS)). Por otra parte, el pretratamiento con agua caliente a presión a 220 °C permitió obtener los mayores valores de digestibilidad enzimática (100%). Finalmente, la configuración HFS consiguió los mejores resultados de fermentación, obteniéndose hasta 38,3 g/L de 2,3-BDO con una carga de sólidos del 25% (p/v), con un rendimiento de 0,43 g/g.

### **Agradecimientos:**

Los autores agradecen el apoyo económico del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades a través de los proyectos PID2023-149614OB-C21 y PID2023-147967OB-I00/MCIU/AEI/10.13039/501100011033/FEDER, EU. Juan Carlos López Linares agradece al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades por la ayuda Ramón y Cajal recibida (RYC2023-043152-I/MCIU/AEI/10.13039/501100011033).

### **Referencias:**

FAOSTAT, 2026. <http://faostat3.fao.org/> (accessed 09/04/26).  
Xu et al., 2025. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.11.022>

## **Biorrefinería del bagazo de manzana: coproducción sostenible de oligosacáridos funcionales y 2,3-butanodiol**

Alberto Lozano\*, Esther Trigueros, Juan Carlos López-Linares, Mónica Coca, María Teresa García-Cubero, Susana Lucas

*Instituto de Procesos Sostenibles, Universidad de Valladolid, Dr. Mergelina s/n, 47011 Valladolid, España.*

*\*E-mail: [alberto.lozano@uva.es](mailto:alberto.lozano@uva.es)*

El bagazo de manzana (AP) representa uno de los subproductos más abundantes de la industria agroalimentaria, con una producción global de 12 millones de toneladas anuales. A diferencia de las biomásas lignocelulósicas convencionales, el AP destaca por su bajo contenido en lignina y una elevada fracción pectínica (10-25%), lo que lo convierte en un candidato ideal para procesos de valorización bajo condiciones moderadas.

Esta investigación propone un modelo innovador de biorrefinería integrada y libre de disolventes orgánicos que combina extracción con agua asistida por microondas (MAE), ultrafiltración (UF) y procesos secuenciales de hidrólisis enzimática y fermentación (SHF) para la coproducción de compuestos de alto valor añadido. En particular, se aborda la valorización del bagazo de manzana procedente de la industria de procesamiento de zumo mediante la obtención simultánea de pectooligosacáridos (POS) y 2,3-butanodiol (2,3-BD).

La novedad del estudio reside en su enfoque de aprovechamiento total del residuo en tres etapas críticas. En primer lugar, se optimizó la tecnología MAE mediante metodología de superficie de respuesta (136 °C, 8.1 min), logrando una recuperación de oligogalacturonidos (OGaLA) del 53,7% y un rendimiento de pectina del 22,3%. Seguidamente, se implementó una etapa de ultrafiltración con membranas de 3 kDa como alternativa sostenible a la precipitación tradicional con etanol. Este proceso no solo permitió concentrar los OGaLA hasta los 11,5 g/L, sino que enriqueció las fracciones de oligosacáridos entre 2,4 y 3,2 veces, preservando la funcionalidad de los compuestos bioactivos y eliminando impurezas de bajo peso molecular de forma eficiente y escalable.

Finalmente, la biorrefinería cierra el ciclo valorizando el sólido remanente del proceso MAE. Este residuo sólido, selectivamente agotado de fracciones pécicas y enriquecido en glucano (~37%), fue sometido a hidrólisis enzimática y fermentación. Utilizando cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus licheniformis*, se alcanzó una producción de 2,3-BDO, un compuesto plataforma químico versátil, de hasta 10,3 g/L.

Como principal novedad, este estudio integra por primera vez en una única plataforma de proceso (MAE → UF → SHF) la recuperación selectiva de oligosacáridos pécicos funcionales y la producción biotecnológica de 2,3-butanodiol a partir de un mismo residuo, maximizando la eficiencia global del aprovechamiento. Este enfoque dual no solo incrementa el valor añadido del bagazo de manzana, sino que también contribuye al desarrollo de biorrefinerías sostenibles alineadas con los principios de economía circular.

### **Agradecimientos:**

Los autores agradecen el apoyo financiero del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, la Agencia Estatal de Investigación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (proyecto PID2023-147967OB-I00), así como a la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León, cofinanciado por la Unión Europea a través del programa FEDER (CLU-2025-2-06, UIC 320). Se agradece a Muns Agroindustrial (Lérida) la provisión del bagazo de manzana empleado.

## Uso de materiales conductores basados en carbono y hierro para potenciar la digestión anaerobia de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU)

D. Sánchez-Mata<sup>1</sup>, J.A. Villamil<sup>1,2</sup>, J. Feroso<sup>3</sup>, E. Tomás-Pejó<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biotechnological Processes Unit, IMDEA Energy, Madrid, Spain

<sup>2</sup>Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA)

<sup>3</sup>Institute of Catalysis and Petrochemistry (ICP), CSIC, Madrid, Spain.

E-mail: [david.sanchez@imdea.org](mailto:david.sanchez@imdea.org), [jvillamil@nilsa.com](mailto:jvillamil@nilsa.com), [javier.feroso@csic.es](mailto:javier.feroso@csic.es), [elia.tomas@imdea.org](mailto:elia.tomas@imdea.org)

La digestión anaerobia (DA) de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), se ve con frecuencia limitada por problemas de eficiencia y estabilidad debido a la compleja degradabilidad del sustrato. La suplementación con materiales conductores (MC) ha sido ampliamente estudiada como una estrategia fácilmente aplicable a la optimización de la producción de metano (CH<sub>4</sub>), al favorecer la transferencia directa interespecífica de electrones (DIET, de sus siglas en inglés) entre bacterias sintróficas y arqueas metanogénicas. La mayoría de los estudios que evalúan la adición de MC para mejorar la producción de CH<sub>4</sub> se basan en sustratos simples o medios sintéticos, generalmente en ensayos de potencial bioquímico de metano, que distan de aplicaciones representativas y escalables. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de MC sobre la eficiencia de la DA de la FORSU real en operación semicontinua y los efectos en la comunidad microbiana. Los MC objeto de estudio fueron el biocarbón (BC) sintetizado a partir de biomasa de *Miscanthus giganteus*, el carbón activado granular (CAG) obtenido a partir del BC, y las nanopartículas de magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

La DA mesófila (35 °C) se llevó a cabo en reactores tipo tanque agitados continuamente de 5L, con un tiempo de retención hidráulico de 30 días. Se comparó un reactor control (sin aditivos) con reactores suplementados con BC (1 g·L<sup>-1</sup>), CAG (1 g·L<sup>-1</sup>) y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (0,5 g·L<sup>-1</sup>). El reactor control alcanzó una producción específica de CH<sub>4</sub> (PEM, producción específica de metano) de 130,2 ± 6,8 NmL CH<sub>4</sub>·gSV<sup>-1</sup>, con una eliminación de sólidos volátiles (SV) del 46,1 ± 0,1 y un 55,8 ± 0,1 % de CH<sub>4</sub> en el biogás. La adición de MCs de base carbonosa dio lugar a incrementos similares en la PEM, con mejoras del 14,2 ± 7,3 % y 17,1 ± 8,8 % para BC y CAG, respectivamente. El BC presentaba una baja área superficial (S<sub>BET</sub> = 63 m<sup>2</sup>/g db) pero una elevada presencia de grupos funcionales superficiales oxigenados que podrían facilitar la DIET, mientras que el grado de grafitización alcanzado durante la síntesis del CAG se asoció con una mayor conductividad eléctrica y el desarrollo de un área superficial relativamente elevada (S<sub>BET</sub> = 529 m<sup>2</sup>/g db), lo que presumiblemente favoreció la DIET. La adición de 0,5 g·L<sup>-1</sup> de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> mejoró significativamente la eficiencia del proceso, incrementando la PEM y la eliminación de SV en un 34 % y un 11 %, respectivamente. La adición de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> incrementó la abundancia de los géneros *Christensenellaceae* R-7 y *Dojkaibacteria* desde 5,1 % hasta 7,9 % y desde 0,7 % hasta 3,5 %, respectivamente. Por su parte, los MC de base carbonosa favorecieron *Anaerolinaceae* y *Ca. Cloacimonas*, aumentando sus abundancias relativas desde 0,5 % hasta 2,8 % y desde 6,7 % hasta 15,5 %, respectivamente. Estos géneros han sido vinculados al establecimiento de relaciones sintróficas entre arqueas durante la degradación de sustratos complejos. *Methanosaeta* destacó como género dominante de arqueas en todos los reactores, con una abundancia del 0,7 %. Se ha descrito que este género es capaz de participar en procesos de DIET con donadores de electrones. En todos los casos, el uso de MC mejoró la PEM y estimuló grupos microbianos clave en el proceso de DA. De forma destacable, la adición de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> mostró el mayor incremento en el rendimiento del proceso. Estos resultados ponen de manifiesto el potencial de los MC como una estrategia eficaz para mejorar la eficiencia y la estabilidad de la DA de FORSU.

**Agradecimientos** Este trabajo ha sido cofinanciado por la Comunidad de Madrid y la Unión Europea en el marco de la convocatoria “Ayudas para contribuir a la mejora de la cooperación público-privada en I+D+i mediante proyectos tractores en consorcio”. Proyecto Madrid Vuela Sostenible. Ref. 59/180948.9/23.

## **Estudio de procesos sostenibles para la producción de nanocelulosa utilizando solventes eutécticos profundos**

Daniel Cruz Expósito, David Ibarra, Raquel Martín-Sampedro, María E. Eugenio  
ICIFOR-INIA, CSIC, Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid.

E-mail: [danielcruzexpo@gmail.com](mailto:danielcruzexpo@gmail.com);

La nanocelulosa representa un material avanzado de gran interés debido a su origen renovable, elevada superficie específica, capacidad de formar redes fibrilares y potencial aplicación en diferentes sectores. Sin embargo, su producción suele requerir etapas químicas y mecánicas intensivas, por lo que resulta necesario explorar alternativas más sostenibles que faciliten la desestructuración de la fibra celulósica y favorezcan su posterior nanofibrilación. Para optimizar este proceso, en este trabajo se abordó la producción de nanocelulosa a partir de pastas celulósicas de eucalipto pretratadas con solventes eutécticos profundos (DES) basados en cloruro de colina (ChCl). Tras los pretratamientos, las muestras resultantes se procesaron mediante microfluidización para obtener nanocelulosas, que se caracterizaron en términos de rendimiento de fibrilación, transmitancia, potencial zeta y contenido en grupos carboxilo. A partir de ellas se prepararon películas mediante evaporación como alternativa a los plásticos convencionales para envasado. Las películas obtenidas fueron caracterizadas mediante espectroscopia infrarroja para evaluar sus grupos funcionales, así como por sus propiedades ópticas, mecánicas y de barrera, permitiendo establecer una relación entre el estado inicial de la pasta, la química del pretratamiento y las propiedades finales del material.

Para llevar a cabo el pretratamiento, se prepararon dos DES. Uno ácido, formado con ácido oxálico (ChCl:OA:H<sub>2</sub>O 1:1:2), y otro básico formado con urea (ChCl:urea 1:2). Además, para estudiar el efecto del estado inicial de la materia prima, los pretratamientos se aplicaron tanto sobre pasta húmeda, como sobre pasta completamente seca. Esto permitió estudiar la influencia de la presencia de agua en el tratamiento con DES, que disminuye la concentración de los reactivos, pero también reduce la viscosidad, con la consiguiente modificación de la difusión de los reactivos. Los resultados obtenidos muestran que el estado hídrico inicial de la pasta condicionó de forma relevante el comportamiento de las muestras resultantes. Así, en ambos sistemas, el uso de pasta húmeda favoreció el rendimiento de fibrilación ( $\approx 50\%$ ) respecto a la pasta previamente secada ( $\approx 35\%$ ). Esta mayor fibrilación se relacionó con la mayor disponibilidad de grupos hidroxilos en la celulosa húmeda, dando lugar a un mayor contenido de grupos carboxilos con ambos sistemas, especialmente cuando se utilizó el sistema ácido ( $675 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), facilitando así su fibrilación. A su vez, el mayor grado de fibrilación se tradujo en una mayor transmitancia (83% a 600 nm) y en la obtención de películas con mejores propiedades ópticas (transmitancia, 88%; opacidad,  $20 \text{ u.a. mm}^{-1}$ ; y haze 20%), mecánicas (resistencia a la tracción 29 kPa, y elongación a la rotura de 1.3 %) y barrera, con una permeabilidad al vapor de agua de  $4.8\text{--}6.2 \text{ g}\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{día}^{-1}\cdot\text{kPa}^{-1}$ . Además, la caracterización mediante espectroscopia FTIR de las películas obtenidas evidenció modificaciones químicas inducidas por los DES, destacando la aparición de una banda en torno a  $1730 \text{ cm}^{-1}$ , atribuida a grupos carbonilo asociados a ácidos carboxílicos y/o ésteres. Esta banda fue especialmente intensa en las películas obtenidas de pasta húmeda pretratada con el sistema ácido, en concordancia con su mayor grado de funcionalización y contenido de grupos carboxilo.

### **Agradecimientos:**

Los autores quieren expresar su agradecimiento al proyecto PID2022-141965OB-C21, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y "ERDF A way of making Europe"; y al proyecto AgroSUSTEC-CM (TEC-2024/BIO-27), financiado por la Comunidad de Madrid.

## **Desarrollo de biomateriales basados en nanocelulosa con propiedades avanzadas para aplicaciones en envasado alimentario sostenible**

Julia Fernández Santos, Cristina Valls, Oriol Cusola, M.B. Roncero  
*CELBIOTECH\_Paper Engineering Research Group, Universitat Politècnica de Catalunya –  
BarcelonaTech (UPC), Colom, 11, 08222 Terrassa.  
E-mail: [blanca.roncero@upc.edu](mailto:blanca.roncero@upc.edu); [cristina.valls@upc.edu](mailto:cristina.valls@upc.edu)*

El uso masivo de materiales derivados del petróleo en las sociedades actuales ha generado una acumulación significativa de residuos plásticos, con impactos negativos tanto ambientales como en la salud humana. En este contexto, el desarrollo de materiales sostenibles y biodegradables se presenta como una necesidad urgente.

En este trabajo se desarrollaron biomateriales laminares basados en nanocelulosa con potencial aplicación en envasado alimentario. Estos materiales se caracterizan por su transparencia, propiedades barrera y biodegradabilidad. Se abordaron tres estrategias principales: (i) la incorporación de aditivos naturales a nanocelulosa cristalina (CNC), (ii) la combinación de CNC con nanocelulosa fibrilar (CNF) y carboximetilcelulosa (CMC), y (iii) la modificación química de films de CNF mediante oxidación con periodato.

Los resultados mostraron que la adición de compuestos naturales como maltitol y xilitol mejora significativamente las propiedades mecánicas, ópticas y barrera de los films, observándose efectos sinérgicos. Asimismo, la incorporación de CNF y CMC incrementó la resistencia mecánica, la elasticidad y la capacidad barrera, destacando los films con CMC en la conservación de alimentos en ensayos simulados. Por otro lado, la oxidación de CNF con periodato permitió obtener films de nanocelulosa altamente transparentes, elásticos y resistentes, incluso en condiciones de elevada humedad. El tratamiento con periodato redujo la polaridad y mejoró notablemente las propiedades barrera al agua de los films. Además, los grupos aldehído que se forma debido a la oxidación, permitieron la inmovilización de una enzima del tipo lacasa, capaz de captar oxígeno y retrasar el deterioro de los alimentos. Los films funcionalizados mostraron elevada actividad y estabilidad tras almacenamiento y reutilización, evidenciando su potencial como alternativa sostenible a los envases de un solo uso.

Adicionalmente, todos los materiales desarrollados mostraron un comportamiento biodegradable, reforzando su idoneidad como alternativa sostenible frente a los plásticos convencionales. La combinación de propiedades mecánicas, funcionales y ambientales posiciona a estos biomateriales como candidatos prometedores para su implementación en sistemas de envasado más seguros y respetuosos con el medio ambiente.

**Agradecimientos:** Este trabajo se enmarca en el proyecto PID2020-114070RB-I00 (CELLECOPROD), financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033. Los autores agradecen el apoyo del grupo de investigación consolidado AGAUR 2021 SGR 00852. J. Fernández-Santos agradece a la Universitat Politècnica de Catalunya y a la Generalitat de Catalunya el apoyo financiero de su beca predoctoral FI. Cristina Valls y Oriol Cusola son profesores del Plan Serra Húnter.

## **RELACIÓN DE ASISTENTES**

**Alberto Lozano Martín.** Instituto de Procesos Sostenibles. Universidad de Valladolid. Pso. Prado de la Magdalena 3-5, 47011, Valladolid; ([alberto.lozano@uva.es](mailto:alberto.lozano@uva.es))

**Alejandro Rus García.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([alejandro.rus@alumnos.upm.es](mailto:alejandro.rus@alumnos.upm.es))

**Andrea Menés.** Evolución dirigida de enzimas. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([andrea.menes@csic.es](mailto:andrea.menes@csic.es))

**Antonio David Moreno García.** Unidad de Biocarburantes y Productos Avanzados (BIOCAR, CIEMAT). Avda. Complutense 40, 28040 Madrid; ([david.moreno@ciemat.es](mailto:david.moreno@ciemat.es))

**Blanca Roncero Vivero.** Cellbiotech. Ingeniería Papelera. Dpto de Ingeniería Gráfica y Diseño. Universidad Politécnica de Cataluña. Colom 11, 08222 Terrassa; ([blanca.roncero@upc.edu](mailto:blanca.roncero@upc.edu))

**Beatriz Gullón Estévez.** Departamento de Enxeñaría Química, Universidad de Vigo, Facultad de Ciencias, 32004 Ourense; ([bgullon@vigo.es](mailto:bgullon@vigo.es))

**Cristina Álvarez Vaquerizo.** Unidad de Biocarburantes y Productos Avanzados (BIOCAR, CIEMAT). Avda. Complutense 40, 28040 Madrid; ([Cristina.Alvarez@ciemat.es](mailto:Cristina.Alvarez@ciemat.es))

**Cristina Valls Vidal.** Cellbiotech. Ingeniería Papelera. Dpto de Ingeniería Gráfica y Diseño. Universidad Politécnica de Cataluña. Colom 11, 08222 Terrassa; ([cristina.valls@upc.edu](mailto:cristina.valls@upc.edu))

**Daniel Cruz Expósito.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([danielcruzexpo@gmail.com](mailto:danielcruzexpo@gmail.com))

**David Ibarra Trejo.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([ibarra.david@inia.csic.es](mailto:ibarra.david@inia.csic.es))

**David González Pérez.** Evolución dirigida de enzimas. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([david.gonzalez.perez@csic.es](mailto:david.gonzalez.perez@csic.es))

**David Martín Alvarado.** Grupo Biomasa Vegetal. Valorización y Aprovechamiento. IRNAS-CSIC. Av. de la Reina Mercedes, 10, 41012 Sevilla; ([david.martin@irnas.csic.es](mailto:david.martin@irnas.csic.es))

**David Sánchez Mata.** Unidad de Procesos Biotecnológicos. IMDEA-Energía. Avenida Ramón de la Sagra 3, 28935 Móstoles, Madrid; ([david.sanchez@imdea.org](mailto:david.sanchez@imdea.org))

**Egle Narmontaite.** Grupo Biocatálisis Aplicada. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([egle.narmontaite@uam.es](mailto:egle.narmontaite@uam.es))

**Elia Tomás Pejó.** Unidad de Procesos Biotecnológicos. IMDEA-Energía. Avenida Ramón de la Sagra 3, 28935 Móstoles, Madrid; ([elia.tomas@imdea.org](mailto:elia.tomas@imdea.org))

**Elvira Romero Guzmán.** Unidad de Procesos Biotecnológicos. IMDEA-Energía. Avenida Ramón de la Sagra 3, 28935 Móstoles, Madrid; ([elvira.romero@imdea.org](mailto:elvira.romero@imdea.org))

**Encarnación Ruiz Ramos.** Dpto. Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales. Universidad de Jaén. Campus Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén; ([eruiz@ujaen.es](mailto:eruiz@ujaen.es))

**Esther Trigueros Andrés.** Instituto de Procesos Sostenibles. Universidad de Valladolid. Pso. Prado de la Magdalena 3-5, 47011, Valladolid; ([esther.trigueros@uva.es](mailto:esther.trigueros@uva.es))

**Eulogio Castro Galiano.** Dpto. Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales. Universidad de Jaén. Campus Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén; ([ecastro@ujaen.es](mailto:ecastro@ujaen.es))

**Eva García Roves.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([evam.garciaroves@inia.csic.es](mailto:evam.garciaroves@inia.csic.es))

**Felipe de Salas.** Grupo Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CSIC). Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid; ([fsalas@cib.csic.es](mailto:fsalas@cib.csic.es))

**Florian Csarman.** Evolución dirigida de enzimas. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([florian.csarman@boku.ac.at](mailto:florian.csarman@boku.ac.at))

**Francisco Javier Ruiz Dueñas.** Grupo Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica. CIB Margarita Salas, CSIC. C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid; ([fjruiz@cib.csic.es](mailto:fjruiz@cib.csic.es))

**Gabriela de Jesús Domínguez Ruiz.** Dpto. Biomedicina y Biotecnología. Universidad Alcalá de Henares. Autovía A-2, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid; ([gabriela.dominguez@uah.es](mailto:gabriela.dominguez@uah.es))

**Inmaculada Romero Pulido.** Dpto. Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales. Universidad de Jaén. Campus Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén; ([iromero@ujaen.es](mailto:iromero@ujaen.es))

**Irene Paz.** Grupo Biocatálisis Aplicada. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([irenepaz@icp.csic.es](mailto:irenepaz@icp.csic.es))

**José Luis González Alfonso.** Grupo Biocatálisis Aplicada. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([josel.g@csic.es](mailto:josel.g@csic.es))

**José Manuel Molina Guijarro.** Dpto. Biomedicina y Biotecnología. Universidad Alcalá de Henares. Autovía A-2, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid; ([josemanuel.molina@uah.es](mailto:josemanuel.molina@uah.es))

**Jorge Barriuso Maica.** Grupo Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CSIC). Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid; ([jbarriuso@cib.csic.es](mailto:jbarriuso@cib.csic.es))

**Juan A. Méndez-Líter.** Grupo Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CSIC). Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid; ([jmendez@cib.csic.es](mailto:jmendez@cib.csic.es))

**Juan Carlos López Linares.** Dpto. Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales. Universidad de Jaén. Campus Las Lagunillas s/n, 23071 Jaén; ([clinares@ujaen.es](mailto:clinares@ujaen.es))

**Lucía Chamizo Jimeno.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([lucia.chamizo@inia.csic.es](mailto:lucia.chamizo@inia.csic.es))

**Luisa Leonor García Fuentevilla.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([luisa.garcia@inia.csic.es](mailto:luisa.garcia@inia.csic.es))

**Manuel Pascual Hernández Cutuli.** Dpto. Biomedicina y Biotecnología. Universidad Alcalá de Henares. Autovía A-2, Km 33.600, 28805 Alcalá de Henares, Madrid; ([manuel.hernandez@uah.es](mailto:manuel.hernandez@uah.es))

**María E. Eugenio Martín.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([mariaeugenia@inia.csic.es](mailto:mariaeugenia@inia.csic.es))

**Manuel Francisco Blanco.** Unidad de Biocarburantes y Productos Avanzados (BIOCAR, CIEMAT). Avda. Complutense 40, 28040 Madrid; ([manuel.blanco@csic.es](mailto:manuel.blanco@csic.es))

**María José Negro Álvarez.** Unidad de Biocarburantes y Productos Avanzados (BIOCAR, CIEMAT). Avda. Complutense 40, 28040 Madrid; ([mariajose.negro@ciemat.es](mailto:mariajose.negro@ciemat.es))

**María Teresa García Cubero.** Instituto de Procesos Sostenibles. Universidad de Valladolid. Pso. Prado de la Magdalena 3-5, 47011, Valladolid; ([mtgarcia@uva.es](mailto:mtgarcia@uva.es))

**Marina Minguet Lobato.** Grupo Biotransformación Aplicada. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([m.minguet@csic.es](mailto:m.minguet@csic.es))

**Miguel Alcalde Galeote.** Evolución dirigida de enzimas. Instituto de Catálisis y Petroquímica (ICP, CSIC). Marie Curie 2, Cantoblanco, 28049 Madrid; ([malcalde@icp.csic.es](mailto:malcalde@icp.csic.es))

**Mónica Coca Sanz.** Instituto de Procesos Sostenibles. Universidad de Valladolid. Pso. Prado de la Magdalena 3-5, 47011, Valladolid; ([monica.coca@uva.es](mailto:monica.coca@uva.es))

**Patricia Ferreira Neila.** Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza. Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza; ([ferreira@unizar.es](mailto:ferreira@unizar.es))

**Paula Cinca-Fernando.** Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza. Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza; ([pcinca@unizar.es](mailto:pcinca@unizar.es))

**Paula Domingo de Pedros.** Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([paula.domingo@inia.csic.es](mailto:paula.domingo@inia.csic.es))

**Raquel Farinas-Mera.** Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Compostela. 15782, Santiago de Compostela; ([raquel.farinas.mera@usc.es](mailto:raquel.farinas.mera@usc.es))

**Raquel Martín Sampedro.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([raquel.martin@inia.csic.es](mailto:raquel.martin@inia.csic.es))

**Susana Camarero.** Grupo Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica. CIB Margarita Salas, CSIC. C/ Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid; ([susanacam@cib.csic.es](mailto:susanacam@cib.csic.es))

**Thelmo Lú Chao.** Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Compostela. 15782, Santiago de Compostela; ([thelmo.lu@usc.es](mailto:thelmo.lu@usc.es))

**Úrsula Fillat Latorre.** Cellbiotech. Ingeniería Papelera. Dpto de Ingeniería Gráfica y Diseño. Universidad Politécnica de Cataluña. Colom 11, 08222 Terrassa; ([ursula.fillat@upc.edu](mailto:ursula.fillat@upc.edu))

**Verónica Zerpa Camacho.** Grupo Valorización de Biomasa Lignocelulósica: Bioenergía y Bioproductos (ValBioLig). Instituto de Ciencias Forestales (ICIFOR, INIA-CSIC). Ctra. de La Coruña, Km 7.5, 28040 Madrid; ([verzerca@gmail.com](mailto:verzerca@gmail.com))

