

# Efecto de la aplicación de métodos de pre-tratamientos en el proceso de digestión anaerobia de la biomasa lignocelulósica

*Effect of the application of pre-treatment methods in the anaerobic digestion process of the lignocellulosic biomass*

*DraC. Lisbet Mailin López-González<sup>I</sup>lisbet@uniss.edu.cu, DraC. Ileana Pereda-Reyes<sup>II</sup>,  
DraC. Raylen Escobar-Román<sup>I</sup>, DrC. Julio Pedraza-Garciga<sup>I</sup>,  
MSc.Osvaldo Romero-Romero<sup>I</sup>*

<sup>I</sup>Centro de Estudios de la Energía y Procesos Industriales (CEEPI). Universidad de "José Martí Pérez" (UNISS), Sancti Spíritus, Cuba; <sup>II</sup>Centro de Estudios de Ingeniería de Procesos (CIPRO). Instituto Superior Politécnico "José Antonio Echeverría" (Cujae), La Habana, Cuba

## Resumen

Considerables esfuerzos para mejorar la producción de biogás por digestión anaerobia (DA) han estado dirigidos a la comprensión de los procesos microbianos asociados, con el objetivo de optimizar las condiciones ambientales, el diseño de los reactores y los sustratos. El manejo de sustratos es una posibilidad para aquellos que presentan diferentes tipos de limitaciones para su uso en un proceso con vista a alcanzar condiciones óptimas, y por ende, un incremento en el rendimiento de metano. Dentro de las opciones disponibles está el pre-tratamiento de la biomasa lignocelulósica para hacer ésta más digerible a los microorganismos. En el presente artículo se presenta una revisión de los métodos de pre-tratamientos, parámetros de trabajo, ventajas y desventajas y efectos en el rendimiento de metano para algunas biomásas.

**Palabras clave:** pre-tratamiento, digestión anaerobia, producción de biogás.

---

## Abstract

Considerable efforts to improve biogas production by anaerobic digestion (AD) have been focused to the understanding of the associated microbial processes, to optimize the environmental conditions, the design of the reactors and the substrates. The manipulation of substrates is a possibility for those that present different types of limitations for their use in a process aimed at reaching the optimal conditions, and therefore, an increase in methane yield. The pre-treatment of lignocellulosic biomass to make it more digestible to microorganisms is among the available options. This article presents a review of the pre-treatment methods, work parameters, advantages and disadvantages and their effects on methane yield for some biomasses.

**Keywords:** pre-treatments, anaerobic digestion, biogas production.

## Introducción

El número creciente de plantas de biogás, y el incremento de la demanda mundial de bio-metano, han traído como consecuencia la necesidad de proveer costos competitivos en el suministro de los recursos bioenergéticos. En este

contexto el sector del biogás está enfocado no solo a buscar nuevas biomásas; sino también a la aplicación de tecnologías innovativas y de avanzada que mejoren la producción de biogás y la eficiencia de proceso, con un consecuente incremento de su costo efectivo /1/.

Dentro de las alternativas propuestas para biomásas lignocelulósicas está la inclusión de una etapa de pre-tratamiento previo al proceso de DA para una conversión más eficiente de la biomasa recalcitrante, lo cual posibilitaría la aceleración del proceso de hidrólisis, y por tanto mejoraría la producción de biogás /2/. Los métodos de pre-tratamientos se pueden clasificar en mecánico, físico, térmico, químico y biológico /3/.

El objetivo del presente trabajo es presentar una revisión de los métodos de pre-tratamientos, parámetros de trabajo, ventajas y desventajas y efectos en el rendimiento de metano para algunas biomásas.

### **Desarrollo**

Los principales efectos que un pre-tratamiento tiene sobre un sustrato, según los reportes de la literatura existente, pueden ser: reducción del tamaño de la partícula, solubilización, incremento de la biodegradabilidad, formación de compuestos refractarios y pérdida del material orgánico/4/. Una explicación de los métodos, parámetros de trabajo, así como sus efectos se presentan a continuación. Para la organización de los métodos de pre-tratamiento existentes se tomó la clasificación publicada por /5/.

### **Pre-tratamiento físico**

El pre-tratamiento físico se refiere a aquellos métodos que no usan químicos o microorganismos durante el proceso de pre-tratamiento. Los métodos incluyen: reducción de tamaño (triturar o moler), explosión al vapor (*steam explosion-SE*, por sus siglas en inglés, o autohidrólisis), agua caliente presurizada (*liquid hot water-LHW*, por sus siglas en inglés, o termohidrólisis), extrusión e irradiación (ultrasónico y microwave).

### **Reducción de tamaño**

La reducción de tamaño puede alterar la ultraestructura de la biomasa lignocelulósica, incrementa el área de superficie accesible y reduce la cristalinidad de la celulosa y su grado de polimerización, como consecuencia mejora la digestibilidad /6/.

### **Explosión con vapor**

Durante el pre-tratamiento por explosión con vapor la biomasa se somete a temperaturas entre 190-230 °C, mediante la inyección directa de vapor saturado (0,69-4,83 MPa), durante un intervalo de tiempo entre 1 y 10 min. Tras el tiempo de tratamiento, se somete el material a una rápida despresurización lo que provoca una evaporación del agua interna, creando unas fuerzas de cizalladura que producen la separación de las fibras, principalmente de las regiones más débiles (celulosa amorfa). Durante el tratamiento se destruyen parcialmente los enlaces lignina-carbohidrato. La hidrólisis de la hemicelulosa se facilita por ácidos orgánicos como el ácido acético, formado a partir del grupo acetil, contenido en la hemicelulosa. También el agua, la cual posee ciertas propiedades ácidas a altas temperaturas, actúa como un catalizador /5/.

La explosión al vapor ha sido aplicada a varios tipos de biomasa lignocelulósica para incrementar su rendimiento de metano, como paja y bagazo de caña de azúcar /7/, paja de trigo /8/, biofibras digeridas (separadas de la excreta de vaca digerida), residuos de tubos de papel /9/retoños de sauce (*Salix viminalis* Christina) /10/ y restrojo de maíz /11/.

El pre-tratamiento por explosión al vapor (180°C, 15 min) probó ser efectivo para la paja de trigo con un incremento del rendimiento de metano del 20 %, en comparación con la paja de trigo sin pretratar. Cuando la temperatura se incrementó a 200 °C el rendimiento de metano decreció, posiblemente por la degradación de los azúcares a compuestos inhibitorios a la DA /8/. Dos residuos de la agro-industria azucarera, bagazo y paja de caña de azúcar, se probaron a 190 °C por 15 min. Los mejores resultados fueron obtenidos para la paja de caña de azúcar, con un incremento en el rendimiento de metano del 189 %, en comparación con un 17 % encontrado para el bagazo /7/.

### **Pre-tratamiento por agua caliente presurizada**

El pre-tratamiento por agua caliente presurizada (*liquid hot water, LHW*), utiliza agua a elevada temperatura (120 °C-230 °C) como único solvente /12/. En este pre-tratamiento la alta presión aplicada (0,1-2,8 MPa) mantiene el agua en estado líquido, evitando de esta forma pérdidas por volatilización como ocurre durante la explosión con vapor. El agua a alta presión y temperatura penetra la biomasa, hidrata la celulosa, hidroliza entre un 80-100 % la hemicelulosa y solubiliza parcialmente la lignina. LHW es altamente efectivo en el incremento

del área de superficie accesible de la celulosa y, por tanto su degradabilidad enzimática /5/.

También durante el pre-tratamiento LHW la separación del grupo O-acetil, y la sustitución de los ácidos urónicos, encontrados en la hemicelulosa, genera ácido acético y otros ácidos orgánicos, los cuales catalizan la hidrólisis de los polisacáridos, tales como la hemicelulosa en oligosacáridos solubles, y luego en azúcares mono-disacáridos.

Este pre-tratamiento ha sido aplicado a una variedad de sustratos (tabla 1) con resultados positivos. Se observa que a temperaturas medias (120 – 170 °C) con tiempos entre 5 y 30 min fueron más efectivos para sustratos como la paja de trigo, excreta vacuna y torta de aceite de girasol. Por el contrario, fueron necesarias temperaturas altas (200-230 °C) con tiempos entre 10 y 15 min, para alcanzar elevados rendimientos de metano, en el caso de la paja de arroz y residuos de la fruta del aceite de palma.

Para mejorar el rendimiento de metano de la paja de trigo, se probó una temperatura de 200 °C durante 10 min, lográndose un incremento del rendimiento de metano en un 20 % por encima de la paja de trigo sin pretratar /13/. La misma condición fue aplicada a la paja de arroz, con un 222 % de incremento en el rendimiento de metano respecto a la paja no tratada /14/. Para el caso de la paja de trigo se alcanzó un incremento de un 64 % a bajas temperaturas (90 °C y 120 °C) /15/.

En otro estudio /16/ se usó la excreta vacuna sólida y líquida, a diferentes condiciones de temperatura y tiempo de pre-tratamiento. Los mejores rendimientos de metano se obtuvieron a 160 °C durante 5 min con un incremento de 16 % y 58 % para la fracción sólida y la fracción líquida de la excreta vacuna, respectivamente. A temperaturas superiores a 220 °C, la abundancia de inhibidores y otras sustancias no digeribles provocaron rendimientos de metano inferiores al material sin tratar.

**Tabla 1**  
**Efecto del pre-tratamiento por agua caliente presurizada (LHW) sobre el rendimiento de metano para diferentes sustratos**

Sustratos	Temperatura (°C)/ tiempo (min)	Diferencia del yCH <sub>4</sub> (%)*	Referencia
Paja de trigo	220/10	+20	[13]
Paja de arroz	220/10	+222	[14]
Paja de cebada	90/30	+42	[15]
	120/30	+41	
Paja de trigo	90/30	+57	
	120/30	+64	
Paja de arroz	90/30	+5	
	120/30	+32	
Residuo de la fruta del aceite de palma	230/15	+29	[17]
Pulpa del aceite de palma	200/5	+4	[18]
Torta de aceite de girasol	100/4 h	+7	[19]
	150/4 h	-30	
	200/4 h	-25	
	170/5	+20	[20]
Fracción líquida excreta vacuna	160/5	+16	[16]
	220/5	-18	
Fracción sólida excreta vacuna	160/5	+58	
	220/5	-17	
Cachaza	150/5	+55	[18]
	150/20	+63	
	200/5	+21	
	200/20	-9	

\*Diferencia respecto a la biomasa sin pre-tratamiento

En un estudio más reciente /21/ se investigó la aplicación del LHW para mejorar la biodegradabilidad de la cachaza de caña de azúcar. La mejor condición se obtuvo para 150 °C durante 20 min (LHW) con un 63 % de incremento en el potencial de metano respecto a la cachaza sin pretratar. Para una temperatura de 200 °C el rendimiento fue severamente afectado.

Se infiere por tanto, que la composición química y las propiedades estructurales de la biomasa determinan la efectividad del pre-tratamiento LHW. Así tratamientos beneficiosos para un sustrato no lo serán para otro, por lo que cada sustrato debe estudiarse de forma independiente.

### **Pre-tratamiento químico**

Dentro de los pre-tratamientos químicos se encuentran el oxidativo, el ácido y el alcalino, los cuales son abordados a continuación.

### **Pre-tratamiento oxidativo**

En el pre-tratamiento oxidativo un agente oxidante como el peróxido de hidrógeno es suspendido en agua y añadido a la biomasa. El objetivo es obtener

una degradación parcial de la hemicelulosa y deslignificación de la biomasa. En el método de oxidación húmeda se adiciona  $O_2$  en el reactor del pre-tratamiento a temperaturas entre 125-300 °C y presiones de 0,5-20 MPa. El tiempo de tratamiento va desde un par de minutos hasta horas. En la literatura consultada se reportan incrementos en el rendimiento de metano respecto a la biomasa sin pretratar entre 33-120 % /5/.

### **Pre-tratamiento ácido**

El pre-tratamiento ácido incluye el pre-tratamiento con ácido concentrado o diluido. Se han usado principalmente  $H_2SO_4$ , HCl y  $HNO_3$ , a altas temperaturas. Cuando el pre-tratamiento es con ácido fuerte la lignina y la hemicelulosa son solubilizadas, no así para el diluido, donde la lignina es redistribuida /22/. Debido a los altos costos operacionales y de mantenimiento que se requieren para el ácido concentrado, es más recomendable usar ácidos diluidos /3/. En la mayoría de los casos se reporta un efecto positivo en el rendimiento de metano con aumentos entre 20-200 % /5/.

### **Pre-tratamiento alcalino**

Consiste en la adición de bases diluidas (ej. NaOH,  $Ca(OH)_2$ , KOH, y  $NH_3 \cdot H_2O$ ) a la biomasa y su eficiencia depende del contenido de lignina de los materiales. El pre-tratamiento con álcali puede causar un hinchamiento de la fibra, lo que conduce a un aumento del área superficial interna, un descenso de la cristalinidad, una separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos, y una ruptura de la estructura de la lignina /22/.

El pre-tratamiento alcalino y su combinación con el térmico, conocido como pre-tratamiento termo-alcalino (TA), ha sido aplicado para varios tipos de biomasa (usando diferentes agentes alcalinos) con resultados positivos (tabla 2). Su efectividad ha sido atribuida a una apertura de las “válvulas de acetil” y las “válvulas de lignina”, es decir la desacetilización y parcial deslignificación /23/.

**Tabla 2**  
**Efecto del pre-tratamiento alcalino y termo-alcalino sobre el rendimiento de metano para diferentes sustratos**

Sustrato	Condiciones de pre-tratamiento	Diferencia del rendimiento de metano*	Referencia
<i>Agente: Ca(OH)<sub>2</sub></i>			
Paja de arroz	8% g g <sup>-1</sup> ST/25°C/6 días	+74%	[24]
Cachaza	10 g 100 g <sup>-1</sup> ST/100°C/1 h	+34	[25]
	11 g 100 g <sup>-1</sup> ST/100°C/2 h	+43	
Fracción sólida de excreta de puerco	5 g 100 g <sup>-1</sup> ST/70°C/1h	+72 %	[26]
Paja	100 g L <sup>-1</sup> /85°C/16h	+4%	[27]
Heno		-12%	
Helecho		+142%	
<i>Agente: NaOH</i>			
Residuos de tubos de papel	20 g L <sup>-1</sup> /190°C/30 min	+ 21%	[9]
Paja de trigo	10% g g <sup>-1</sup> ST/40°C/24 h	+43%	[28]
	10% g g <sup>-1</sup> ST/100°C/0,5h	+67%	
Ensilaje de forraje de sorgo	10% g g <sup>-1</sup> ST/40°C/24 h	+29%	
	10% g g <sup>-1</sup> ST/100°C/0,5 h	+32%	

\*Diferencia respecto a la biomasa sin pre-tratamiento

En un estudio /26/ realizado con la fracción sólida de la excreta de cerdo se reportó un rendimiento máximo de metano cuando se añaden 5 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup> a 70 °C, durante 1 h, para un incremento del 72 % sobre el sustrato sin pretratar.

Más recientemente, /25/ investigaron el pre-tratamiento termo-alcalino (TA) de la cachaza de caña de azúcar a 100 °C para diferentes condiciones de carga de álcali (4 - 10 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup>) y tiempo de pre-tratamiento (1 h - 3 h). Al no encontrarse diferencias significativas entre 10 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup> por 1 h y 11 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup> por 2 h los autores recomendaron, para reducir gastos químicos y energéticos, la primera condición con un 32 % de incremento en el rendimiento de metano.

Aparentemente, las condiciones óptimas de pre-tratamiento dependen del contenido exacto y de la estructura de la biomasa lignocelulósica /29/.

### **Pre-tratamiento Biológico**

En la actualidad se han probado varios pre-tratamientos biológicos enfocados a obtener mayores rendimientos de biogás. Estos se basan en el uso de hongos, enzimas o el ensilaje. Siendo este último el más aplicado por sus ventajas en el almacenamiento y conservación de la biomasa por largos períodos de tiempo /3/.

Los pre-tratamientos biológicos han sido principalmente probados con hongos que degradan la lignina y la celulosa, y en menor medida la hemicelulosa. En este tratamiento el material lignocelulósico se somete a la acción de determinados microorganismos, como los hongos de la podredumbre blanca o marrón, siendo los hongos blancos los más efectivos. Los hongos excretan enzimas lignolíticas, tales como la lignina peroxidasa y lacasa. La biomasa es inoculada a temperatura ambiente junto con el hongo, y mantenida por varias semanas durante el pre-tratamiento. Durante ese tiempo la celulosa y la hemicelulosa pueden ser degradadas conjuntamente con la lignina /30/. Luego de la aplicación de este tipo de pre-tratamiento para la producción de biogás se reportan incrementos del 15 % en el rendimiento de metano /5/.

Enzimas con determinada actividad hidrolítica han sido aplicadas a la biomasa con vistas a obtener una mayor producción de biogás. El pre-tratamiento aplicado al restrojo de maíz con la enzima lacasa mostró, luego de 24 h de incubación, un incremento de un 25 % en la producción de metano /31/. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el efecto ha sido mínimo, y el costo de las enzimas alto, lo cual hace que la aplicación del pre-tratamiento enzimático sea limitado /5/.

El ensilaje ha sido estudiado como método para incrementar la producción de biogás, sin embargo ningún incremento significativo fue reportado /32/.

### **Formación de inhibidores al proceso de DA**

En general para todos los métodos de pre-tratamiento abordados la selección de los parámetros durante del pre-tratamiento resulta un aspecto importante ya que la producción de compuestos tóxicos pueden inhibir el proceso de digestión anaerobia, decreciendo la productividad y/o el rendimiento de metano. Así los polisacáridos son degradados, y los azúcares resultantes pueden ser descompuestos a ácidos carboxílicos, furanos derivados y fenólicos /33/.

Los furanos derivados incluyen furfural y HMF, y son derivados de la degradación de las pentosas y hexosas, respectivamente. El ácido fórmico se produce durante la degradación de furfural y HMF, mientras el ácido levulínico se forma por la degradación de HMF. Los fenólicos compuestos se generan a partir del rompimiento parcial de la lignina y de la degradación de los carbohidratos.

Los ácidos inhiben el crecimiento celular, específicamente los ácidos débiles no disociados atraviesan la pared celular y se requiere energía para ser exportados

fuera de la célula /33/. El furfural decrece la velocidad específica de crecimiento, y el HMF tiene un mecanismo similar al furfural pero produce una fase de retardo más larga durante el crecimiento. Los fenólicos interactúan con la membrana celular ocasionando una pérdida de la integridad de la membrana y decreciendo su permeabilidad. Sin embargo, las bacterias productoras de metano son capaces de adaptarse a tales compuestos en un cierto período de tiempo, hasta una cierta concentración /34/.

### Comparación de los pre-tratamientos

A modo de resumen se presenta, en las tablas 3 y 4, una comparación entre los pre-tratamientos abordados. Los métodos de pre-tratamiento en un proceso de DA deben ser capaz de: mejorar la biodegradabilidad del sustrato, evitar la pérdida de materia orgánica, evitar la formación de inhibidores, mínimo uso de agua y químicos, bajo consumo de energía, facilidad en la disposición de residuos y bajo costo económico y ambiental /32/.

De acuerdo a la revisión anterior, así como reportes publicados por varios autores /22, 35/, se consideran pre-tratamientos con alto potencial para la producción de biogás la explosión con vapor, el pre-tratamiento con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , agua caliente presurizada y el método oxidativo.

**Tabla 3**  
**Efecto del pre-tratamiento sobre la alteración estructural y composicional de la biomasa lignocelulósica. Adaptado de /22/**

Pre-tratamiento	Incrementa área de superficie accesible	De-cristaliza la celulosa	Solubiliza hemicelulosa	Solubiliza lignina	Altera estructura de la lignina	Forma F/HMF
Reducción de tamaño	Mayor	Mayor				
Explosión con vapor	Mayor		Mayor	Menor	Mayor	Mayor
Agua caliente presurizada	Mayor	ND	Mayor	Menor	Menor	Menor
Oxidativo	Mayor	ND		Medio	Mayor	Menor
Ácido	Mayor		Mayor	Medio	Medio	Mayor
Alcalino	Mayor		Menor	Medio	Mayor	Menor
Termo-alcalino	Mayor	ND	Menor	Medio	Mayor	Menor
Biológico	Mayor	ND	Mayor	Mayor	Mayor	

ND=no determinado, espacio en blanco=no efecto

**Tabla 4**  
**Requerimiento de los pre-tratamientos y efecto sobre el rendimiento de metano (yCH<sub>4</sub>). Adaptado de /5; 36/**

Pre-tratamiento	Energía	Químico	Reducción de tamaño	Incremento yCH <sub>4</sub> (%)	Observaciones
Reducción de tamaño	Alto		Alto	11-13	No es viable económicamente.
Explosión con vapor	Alto		Bajo	17-89	Se puede utilizar vapor recuperado del grupo electrógeno con biogás.
Agua caliente presurizada	Alto		Bajo	20-222	Se puede utilizar vapor recuperado del grupo electrógeno con biogás.
Oxidativo		Alto	Bajo	33-120	Largos tiempos de pre-tratamiento.
Ácido		Alto	Bajo	44-74	Manejo costoso y requiere posterior neutralización. Tóxico y corrosivo.
Alcalino		Alto	Bajo	29-74	NaOH costoso y difícil para recircular. Ca (OH) <sub>2</sub> barato y difícil disolver.
Termo-alcalino	Alto	Alto	Bajo	34-95	Se puede utilizar vapor recuperado del grupo electrógeno con biogás.
Biológico			Alto	0-96	Largos tiempos de pre-tratamiento y baja eficiencia.

Espacio en blanco=no efecto

## Conclusiones

- 1. La inclusión de una etapa de pre-tratamiento previa a un proceso de DA constituye una alternativa a tener en cuenta con vistas a mejorar la etapa de hidrólisis, e incorporar un residuo más fácil de degradar.**
- 2. La selección de los parámetros durante del pre-tratamiento resulta un aspecto importante ya que la producción de compuestos tóxicos pueden inhibir el proceso de digestión anaerobia, decreciendo la productividad y/o el rendimiento de metano.**
- 3. Se consideran pre-tratamientos con alto potencial la explosión con vapor, el pre-tratamiento con Ca(OH)<sub>2</sub>, agua caliente presurizada y oxidativo.**

## Bibliografía

1. WARD, A. J., HOBBS, P. J., *et al.*: "Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources". *Bioresour Technol*, vol 99, num 17, 2008, p. 7928-7940.
2. PAVLOSTATHIS, S. G. y GIRALDO-GOMEZ, E.: "Kinetics of Anaerobic Treatment: A Critical Review". *Crit Rev Env Contr*, vol 21, num 5-6, 1991, p. 411-490.
3. TAHERZADEH, M. J. y KARIMI, K.: "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review". *Int J Mol Sci*, vol 9, num 9, 2008, p. 1621-1651.
4. CARLSSON, M., LAGERKVIST, A., *et al.*: "The effects of substrate pretreatment on anaerobic digestion systems: A review". *Waste Manage*, vol 32, num 9, 2012, p. 1634-1650.
5. ZHENG, Y., ZHAO, J., *et al.*: "Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production". *Prog Energy Combust Sci*, vol 42, num 1, 2014, p. 35-53.
6. KRATKY, L. y JIROUT, T.: "Biomass size reduction machines for enhancing biogas production". *Chem Eng Technol*, vol 34, num, 2011, p. 391-399.
7. DE PAOLI, F., BAUER, A., *et al.*: "Utilization of by-products from ethanol production as substrate for biogas production". *Bioresour Technol*, vol 102, num 11, 2011, p. 6621-6624.
8. BAUER, A., BOSCH, P., *et al.*: "Analysis of methane potentials of steam-exploded wheat straw and estimation of energy yields of combined ethanol and methane production". *J Biotechnol*, vol 142, num 1, 2009, p. 50-55.
9. TEGHAMMAR, A., YNGVESSON, J., *et al.*: "Pretreatment of paper tube residuals for improved biogas production". *Bioresour Technol*, vol 101, num 4, 2010, p. 1206-1212.
10. HORN, S. J., ESTEVEZ, M. M., *et al.*: "Biogas production and saccharification of Salix pretreated at different steam explosion conditions". *Bioresour Technol*, vol 102 num, 2011, p. 7932-7936.
11. BONDESSON, P.-M., GALBE, M., *et al.*: "Ethanol and biogas production after steam pretreatment of corn stover with or without the addition of sulphuric acid". *Biotechnol Biofuels*, vol 6, num 11, 2013, p. 1-11.

12. NITSOS, C. K., KONSTANTINOS, A. M., *et al.*: "Optimization of Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass in the Bioethanol Production Process". *ChemSusChem*, vol 6, num, 2013, p. 110 – 122.
13. CHANDRA, R., TAKEUCHI, H., *et al.*: "Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments". *Energy*, vol 43, num 1, 2012, p. 273-282.
14. CHANDRA, R., TAKEUCHI, H., *et al.*: "Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: A potential and promising method for enhanced methane production". *Appl Energy*, vol 94, num 0, 2012, p. 129-140.
15. MENARDO, S., AIROLDI, G., *et al.*: "The effect of particle size and thermal pre-treatment on the methane yield of four agricultural by-products". *Bioresour Technol*, vol 104, num 0, 2012, p. 708-714.
16. BUDDE, J., HEIERMANN, M., *et al.*: "Effects of thermobarical pretreatment of cattle waste as feedstock for anaerobic digestion". *Waste Manage*, vol 34, num 2, 2014, p. 522–529.
17. O-THONG, S., BOE, K., *et al.*: "Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production". *Appl Energy*, vol 93, num, 2012, p. 648-654.
18. COSTA, A. G., PINHEIRO, G. C., *et al.*: "Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre". *Chem Eng J*, vol 230, num 0, 2013, p. 158-165.
19. FERNANDEZ-CEGRI, V., DE LA RUBIA, M. A., *et al.*: "Effect of hydrothermal pretreatment of sunflower oil cake on biomethane potential focusing on fibre composition". *Bioresour Technol*, vol 123, num, 2012, p. 424-429.
20. MONLAU, F., LATRILLE, E., *et al.*: "Enhancement of methane production from sunflower oil cakes by dilute acid pretreatment". *Appl Energy*, vol 102, num 0, 2013, p. 1105-1113.
21. LÓPEZ GONZÁLEZ, L. M., PEREDA REYES, I., *et al.*: "Effect of liquid hot water pre-treatment on sugarcane press mud methane yield". *Bioresour Technol*, vol 169, num 0, 2014, p. 284-290.
22. HENDRIKS, A. T. W. M. y ZEEMAN, G.: "Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass". *Bioresour Technol*, vol 100, num 1, 2009, p. 10-18.
23. CHANG, V. S. y HOLTZAPPLE, M.: "Fundamentals factors affecting biomass reactivity". *Appl. Biochem. Biotechnol.* , vol, num 84-86, 2000, p. 5-37.

24. SONG, Z., YANG, G., *et al.*: "Optimization of the alkaline pretreatment of rice straw for enhanced methane yield". *Biomed Res Int*, vol, num, 2013, p. 1-9.
25. LÓPEZ GONZÁLEZ, L. M., VERVAEREN, H., *et al.*: "Thermo-chemical pretreatment to solubilize and improve anaerobic biodegradability of press mud". *Bioresour Technol*, vol 131, num 0, 2013, p. 250-257.
26. RAFIQUE, R., POULSEN, T. G., *et al.*: "Effect of thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatments to enhance methane production". *Energy*, vol 35, num 12, 2010, p. 4556-4561.
27. FERNANDES, T. V., BOS, G. J. K., *et al.*: "Effects of thermo-chemical pretreatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass". *Bioresour Technol*, vol 100, num 9, 2009, p. 2575-2579.
28. SAMBUSITI, C., MONLAU, F., *et al.*: "A comparison of different pre-treatments to increase methane production from two agricultural substrates". *Appl Energy*, vol 104, num, 2013, p. 62-70.
29. WYMAN, C. E., DALE, B. E., *et al.*: "Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover". *Bioresour. Technol.*, vol 96, num, 2005, p. 2026 – 2032.
30. ISROI, MILLATI, R., *et al.*: "Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its application: A review". *Bioresources*, vol 6, num 4, 2011, p. 5224-5229.
31. SCHROYEN, M., VERVAEREN, H., *et al.*: "Impact of enzymatic pretreatment on corn stover degradation and biogas production". *Bioresour Technol*, vol 173, num 0, 2014, p. 59-66.
32. VERVAEREN, H., HOSTYN, K., *et al.*: "Biological ensilage additives as pretreatment for maize to increase the biogas production. ". *Renew Energy*, vol 35, num, 2010, p. 2089-2093.
33. PALMQVIST, E. y HAHN-HAGERDAL., B.: "Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition". *Bioresour Technol*, vol 74 num 1, 2000, p. 25-33.
34. MONLAU, F., TRABLY, E., *et al.* : "Do by-products of thermochemical treatment of lignocellulosic materials inhibit anaerobic mixed cultures?. Overview of recent findings". En: *13<sup>th</sup> World Congress on Anaerobic Digestion. Recovering (bio) Resources for the World*, (Santiago de Compostela, España, 25-28 June). ISBN 978-84-695-7756-1, 2013.

35. FDZ-POLANCO, F., VELAZQUEZ, R., *et al.*: "Continuous thermal hydrolysis and energy integration in sludge anaerobic digestion plants". *Water Sci Technol*, vol 57, num 8, 2008, p. 1221-1226.
36. AMIN, F. R., KHALID, H., *et al.*: "Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion". *AMB Expr*, vol 7, num 72, 2017, p. 1-12.