

Biomasa residual de industria del Cannabis, una alternativa para la obtención de productos de alto valor agregado

Waste biomass from the Cannabis industry, an alternative for obtaining products of high added value

Juan Alejandro Pérez Aguilar*, Jaime Martín Franco**, Ricardo Benítez Benítez***

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v25n1.102648

RESUMEN

A medida que como sociedad vamos dando más importancia a lograr una economía circular, se hace importante encontrar fuentes renovables aptas para la producción de biocombustibles y bioquímicos. En los últimos años, diversas fuentes de biomasa lignocelulósica han sido estudiadas para estos propósitos. Dentro de estas fuentes de biomasa se encuentra el cáñamo (*Cannabis sativa* L.), siendo parte de una industria que ha crecido a pasos agigantados en las últimas décadas, en Colombia, desde su legalización. Específicamente, la industria del cannabis medicinal es responsable de generar una enorme cantidad de residuos en forma de los tallos de la planta, considerados un subproducto de bajo valor. En esta revisión se compila la información de diferentes estudios sobre el aprovechamiento de la fracción de polisacáridos de biomasa cáñamo, mediante transformaciones químicas y bioquímicas, para la obtención de productos de valor agregado. Se encontró que la mayoría de estudios están enfocados en la obtención de bioetanol o biogás; se encontraron también reportes de otras moléculas como ácido succínico, ácido láctico, furfural, polihidroxicanoatos y bisabolenos. La viabilidad a nivel industrial de todos estos procesos permanece siendo una incógnita, pues los pasos de pretratamiento, hidrólisis y de conversión final utilizados suelen ser costosos. Es necesario que los estudios que realicen en el futuro se enfoquen en optimizar las condiciones de estos procesos y hacerlos verdes y así asegurar que puedan ser escalados.

Palabras clave: *Cannabis sativa*, lignocelulosa, biorefinería, hidrólisis enzimática, bioproductos.

ABSTRACT

As we as a society, give more importance to achieving a circular economy, it becomes important to find renewable sources suitable for the production of biofuels and biochemicals. In the last years, several different sources of lignocellulosic biomass have been studied for these purposes. One of these biomass sources is hemp (*Cannabis sativa* L), being part of an industry that has grown through giant steps in the last decades, in Colombia, since its legalization. Specifically, the industry of medicinal hemp is responsible for the generation of huge amounts of residues in the form of the plant stalks, considered a low value subproduct. This review com-

* Químico, Maestría en Bioingeniería, Universidad del Cauca, QPN, Sector Tulcán, Carrera 2 # 15 (esquina), Popayán, Colombia. ID ORCID: 0000-0002-5094-8989. alejandp@unicauca.edu.co

** Ph.D, Universidad del Cauca, QPN, Sector Tulcán, Carrera 2 # 15 (esquina), Popayán, Colombia. ID ORCID: 0000-0002-5718-0511. jmartinf@unicauca.edu.co

*** Ph.D, Universidad del Cauca, QPN, Sector Tulcán, Carrera 2 # 15 (esquina), Popayán, Colombia. ID ORCID: 0000-0002-8999-3680. rbenitez@unicauca.edu.co

piles the information of several studies about the exploitation of the polysaccharide portion of hemp biomass through chemical and biochemical transformations, obtaining value-added products. It was found that most of these studies focus on the production of bioethanol or biogas; reports of other molecules such as succinic acid, furfural, polyhydroxyalkanoates and bisabolene were also found. Industrial viability of these processes remains a question, since pretreatment, hydrolysis and final conversion steps are usually expensive. It necessary that future studies focus on optimizing conditions of these processes as well as making them green, ensuring that they can be scaled.

Keywords: *Cannabis sativa*, lignocellulose, biorefinery, enzymatic hydrolysis, bioproducts.

Recibido: noviembre 13 de 2022 **Aprobado:** junio 21 de 2023

INTRODUCCIÓN

Cáñamo y marihuana son términos que se refieren a plantas dioicas que pertenecen a la familia *Cannabaceae*. El género *Cannabis* se divide en tres especies, *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis*. *Cannabis indica* es la especie que se asocia con marihuana médica y recreacional, debido a su alta concentración de Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC). Los compuestos THC y cannabidiol (CBD) son los cannabinoides mejor conocidos, y se reconocen por su impacto en el dolor, humor y apetito. El término cáñamo se usa para referirse a *Cannabis sativa* L., que tiene niveles relativamente bajos de THC (típicamente menores a 0,3% peso). *Cannabis ruderalis* contiene niveles de THC entre el de cáñamo y de la marihuana (Gomez *et al.*, 2021).

En el cannabis se han identificado más de 500 compuestos químicos. Los cannabinoides son los metabolitos más abundantes y exclusivos de estas especies. Algunos cuentan con efectos psicotrópicos bien estudiados, pero también se les han atribuido efectos antinociceptivo, anti-epiléptico, cardiovascular, inmunosupresivo, antiemético, estimulante del apetito, antimicrobiano, antiinflamatorio, neuroprotector y efectos positivos en síndromes psiquiátricos, como la depresión, la ansiedad y los desórdenes del sueño (López *et al.*, 2014). Gracias a estas propiedades, el cannabis y sus productos relacionados se han usado ampliamente con fines médicos, recreacionales e industriales. Ha sido utilizado para tratar la epilepsia, síntomas de esclerosis múltiple, estimular el apetito y suprimir las náuseas en pacientes de SIDA, como analgésico, para el control de dolores de cabeza y migraña, mejorar la relajación y reducir la ansiedad (Giraldo *et al.*, 2019).

En Colombia, el desarrollo de la industria del cannabis medicinal tiene ventajas, como la existencia de un marco legal adecuado, menores costos de producción y en particular los costos de los insumos y de la mano de obra, las condiciones de luminosidad, la existencia de una buena infraestructura productiva, la disponibilidad de mano de obra calificada y no calificada, y la existencia de un tejido productivo favorable (Ramírez, 2019). En Colombia la producción de un gramo de flor de cannabis vale

entre 0,5 y 0,8 dólares, mientras que en Canadá puede costar 2,1 dólares. Actualmente, Colombia cuenta con 16 acuerdos comerciales, incluyendo tratados de libre comercio y acuerdos de alcance parcial con países como Canadá, Estados Unidos y con la Unión Europea (Martínez, 2019). Gracias a todo esto, la industria del cannabis medicinal en Colombia se está configurando como una industria farmacéutica importante, altamente sofisticada y con gran potencial para crear empleos e ingresos por importaciones, además de aprovechar un importante mercado doméstico (Ramírez, 2019).

Dentro de la producción de cannabis se contempla la variedad *Cannabis sativa* L. con bajo contenido de THC (<0,3%), cuyo tallo tiene un alto contenido de polisacáridos, lo que genera gran interés en el campo de la biorefinería (Gomez *et al.*, 2021). Sin embargo, en la actualidad, este tallo es descartado como un subproducto, por cada kilogramo de inflorescencia de cannabis cosechado, resultan entre 1.5 y 4.5 kilogramos de tallo desechado (Peterson, 2019). Por ejemplo, para una planta de cannabis medicinal de 500 m², con un promedio de 10 plantas por metro cuadrado y con seis ciclos de cosecha al año; se producirían 2250 kg de biomasa residual (Robertson *et al.*, 2023). El uso de desechos de fibras agroindustriales, como estos tallos, ha sido un tema muy investigado; recientemente se ha buscado usar este tipo de desechos fibrosos para mejorar las propiedades físicas de matrices poliméricas, obteniendo materiales con aplicaciones desde medicina, hasta papelería y textiles (Salinas *et al.*, 2019, 2020). Los tallos de cannabis también se han intentado valorizar mediante la producción de bioetanol (Zhao *et al.*, 2020), biogás (Asquer *et al.*, 2019; Kreuger *et al.*, 2011; Prade *et al.*, 2012), fibras compuestas (Manai *et al.*, 2019), concretos (Jami *et al.*, 2019), biocarbón (Morin-Crini *et al.*, 2019), entre otros. De manera que el cáñamo es una materia prima importante para la economía circular (Gomez *et al.*, 2021).

Según todo lo anterior, el objetivo de esta revisión es recopilar la información disponible en cuanto a la valoración de los polisacáridos estructurales de los tallos de cáñamo para la obtención de distintas moléculas vía fermentaciones o transformaciones químicas y que incluyan

procesos de pretratamiento o hidrólisis. Esto con la intención de dar luz sobre las posibilidades de aprovechamiento de residuos de cáñamo industrial, de cáñamo medicinal, o de cultivos dedicados de cáñamo.

Anatomía y composición del tallo de cáñamo

Los tallos de cáñamo (figura 1), que se encuentran al interior de una capa externa de corteza, contienen dos tipos de fibras, fibras internas cortas, conocidas como "hurds" (xilema), útiles para hacer papel y otros productos industriales, y fibras largas externas conocidas como "bast" (floema), útiles en aplicaciones textiles (Gomez *et al.*, 2021; M. Rehman *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2020). El diámetro de estos dos tipos de fibras es aproximadamente igual, pero las fibras bast pueden ser entre 10 a 100 veces más largas (Gomez *et al.*, 2021). Las fibras hurds representan 60 y 80% del tallo de cáñamo y son la parte menos valiosa de la planta, mientras que las fibras bast representan entre 20 y 40% y son la parte más valiosa del tallo. Existen dos tipos de fibras bast, fibras primarias que representan de 70 al 90% del bast, se extienden por casi la longitud completa del tallo y son más gruesas, y las fibras secundarias, que son entre el 10 y 30% del bast, son más cortas, finas y se encuentran cerca al centro leñoso. Componentes menores como pectinas y ceras se consideran impurezas superficiales (Crini *et al.*, 2020).

La composición química es una propiedad crucial de la biomasa para evaluar su potencial como materia prima en la obtención de bioproductos. Provee los contenidos de las fracciones de celulosa y hemicelulosa para la producción de azúcares fermentables, productos de fermentación, químicos a base de furano y material de composición para papel, biocompuestos y otros productos (Ji *et al.*, 2021). En la pared celular vegetal, la lignina se asocia fuertemente con la celulosa y la hemicelulosa por enlaces covalentes y no covalentes (Sidana & Yadav, 2022); es un factor crucial en la recalcitrancia de la biomasa, previniendo el acceso de la celulosa a la celulosa y reduce la

actividad enzimática por medio de una unión no productiva durante procesos de conversión biológica (Geun *et al.*, 2020), de forma que, a mayor proporción de lignina, mayor resistencia a hidrólisis química y enzimática (Sidana & Yadav, 2022). Las cenizas también actúan como catalizador en algunos procesos de conversión termoquímica (Ji *et al.*, 2021). En la tabla 1 se resumen los resultados de diferentes estudios realizados en la composición del tallo de cáñamo y de sus partes.

Se puede observar que el cáñamo tiene un alto contenido de polisacáridos, lo que lo hace una excelente fuente de azúcares para la obtención de bioproductos (Ji *et al.*, 2021). Este contenido de carbohidratos es similar o mayor al de otros residuos agrícolas como el rastrojo de maíz (34,2% glucano, 22,3% xilano), paja de arroz (37,7% glucano, 19,8% xilano), paja de cebada (41,0% glucano, 22,4% xilano) y bagasa de caña de azúcar (40,4% glucano, 22,4% xilano) (Ji *et al.*, 2021). Las partes de la planta, es notable que el bast tiene un contenido de celulosa que con frecuencia es mayor al 50% y supera al contenido de celulosa en los hurds, el cual no suele superar este valor, aunque sí puede llegar a ser tan altos como 59% (Semhaoui *et al.*, 2018). El contenido de hemicelulosa es altamente variable, desde 5,1% hasta 32,8, pero los valores más bajos se encuentran en el bast, mientras que los hurds son la parte que tiene un contenido más alto. Lo mismo es cierto para el contenido de lignina, que es más alto en el bast que en los hurds. Varía desde 4,0% hasta 28%, que es relativamente bajo, pero aun mayor que el de la fibra de maíz (1,3 - 18,0%) (Zhao *et al.*, 2020). Resumiendo, el cáñamo tiene un alto, aunque variable, contenido de polisacáridos y bajo contenido de lignina; lo que lo hace fuente viable para la obtención de distintos bioproductos.

Un factor que influye en la composición del cáñamo es su variedad, Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang (2020) encontraron diferencias significativas entre cuatro varie-

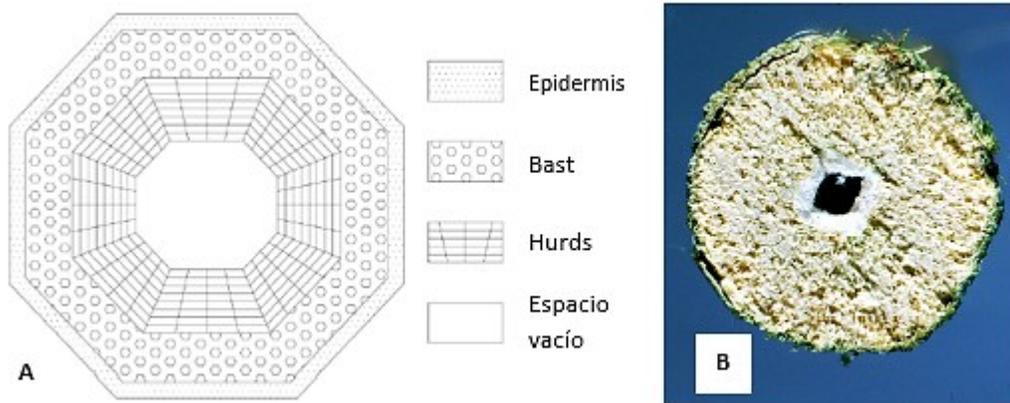


Figura 1. Corte transversal de un tallo de cáñamo, A) representación de sus distintas partes (Stevulova *et al.*, 2014 y B) foto real (Small, 2018).

Tabla 1. Composición de distintas partes del cáñamo.

Muestra	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Ceniza (%)	Otros (%)	Referencia
Paja de cáñamo	40,0	26,0	19,0	3,2	16,0 (Extraíbles)	(Lavoie & Beauchet, 2012)
Hurds	59,0	12,7	14,1	4,7	8,5 (Humedad) 9,6 (Extraíbles)	(Semhaoui et al., 2018)
Hurds	71,9 (Holocelulosa)		22,4	4,4	5,1 (Extraíbles)	(Brazdausks et al., 2016)
Tallos	43,0	14,0 - 15,0	8,0	4,0	3,0 (Proteínas) < 30 (Extraíbles)	(Keiller et al., 2021)
Cáñamo industrial	39,8 - 42,0	15,4 - 15,7	13,2 - 15,0	4,7 - 5,8	3,1 - 3,8 (Proteína) 0,6 - 0,8 (Lípidos)	(Kuglarz et al., 2014)
Bast	55,0	16,0	4,0	4,0	18,0 (Pectinas) 1,0 (Lípidos)	(Garcia-Jaldon et al., 1998)
Hurds	48,0	12,0	6,0	28,0	6,0 (Pectinas) 1,0 (Lípidos)	
Bast	52,0 (Glucosa)	16,9	8,0	-	23,1 (Extraíbles)	(Shin & Sung, 2008)
Hurds	44,5 (Glucosa)	27,1	17,2	-	11,2 (Extraíbles)	
Tallos	36,5	17,0 (Xilano)	21,9	-	13,3 (Extraíbles) 8,4 (Humedad)	(Das et al., 2017)
Hurds	67,4 (Holocelulosa)		18,5	4,0	6,1 (Pectinas) 3,1 (Proteínas)	(Khattab & Dahman, 2019)
Hurds	28,1	18,2	22,6 (Insoluble)	1,0	3,2 (Proteínas)	(Berchem et al., 2020)
Hurds	45,7	24,6	15,8	1,53	5,7 (Extraíbles) 0,8 (Proteínas)	(Bokhari et al., 2021)
Tallos	46,1 (α -celulosa)	24,1	22,8	-	4,1 (Extraíbles)	(Marrot et al., 2021)
Tallos y ramas	32,6 - 44,5	10,6 - 15,5 (Xilano)	15,0 - 21,5	2,6 - 7,6	5,2 - 20,0 (Extraíbles)	(Viswanathan et al., 2020)
Bast	57,5	5,1	16,2 (Insoluble)	2,9	15,5 (Residuales)	(Singh et al., 2018)
Hurds	42,9	20,4	23,9 (Insoluble)	0,0	6,0 (Residuales)	

dades de cáñamo, en las fracciones de celulosa, hemicelulosa como xilano, lignina y extraíbles; consistente con los hallazgos de otro estudio en el que se encontró diferencia en estas mismas fracciones entre las 11 variedades de cáñamo investigadas (Das et al., 2020). Adicionalmente también se ha determinado diferencia significativa en la lignina insoluble en ácido (LIA), la lignina soluble en ácido (LSA) y las cenizas entre cinco variedades de cáñamo (Viswanathan et al., 2020). Cultivar el cáñamo de forma orgánica resulta en mayor contenido de glucano y lípidos, y menor contenido de lignina y cenizas, lo que puede atribuirse a distinta disponibilidad de N y otros nutrientes en distintas etapas de crecimiento (Kuglarz et al., 2014). Por el contrario, otro estudio encontró que el nivel de fertilización con N no tiene efecto significativo en la composición del cáñamo (Sipos et al., 2010).

Pretratamientos e hidrólisis del cáñamo

De igual forma que con otros tipos de biomasa lignocelulósica, debido a la naturaleza recalcitrante del cáñamo, debe sufrir un paso de pretratamiento previo al bioprocesamiento. Se han investigado muchos métodos de pretratamiento usando ácido, álcali, calor, solventes, irradiación con rayos de electrones, molienda mecánica, vapor, microorganismos, así como sus combinaciones. Estos métodos de pretratamiento se compilan en la tabla 2. Para la conversión efectiva de cáñamo industrial, con estos pretratamientos, es necesaria la remoción de lignina y/o hemicelulosa para mejor la accesibilidad enzimática, sin que se dé la formación de compuestos inhibitorios, como el furfural y el hidroximetilfurfural (HMF), que resultan de

la descomposición de carbohidratos e inhiben la fermentación por microorganismos debido a su toxicidad (Ji et al., 2021). La hidrólisis se refiere a los procesos de conversión de polisacáridos a azúcares monoméricos. Estos azúcares son el sustrato en los procesos subsecuentes de la obtención de bioproductos. La lignocelulosa se puede hidrolizar por medio de enzimas (hemi)celulíticas o de forma química con ácido sulfúrico u otros ácidos. La hidrólisis enzimática se ha convertido en un método conveniente porque requiere menos energía y condiciones ambientales suaves, generando menos productos inhibidores (Maitan-Alfenas et al., 2015). La digestibilidad enzimática depende del pretratamiento y de las condiciones de procesamiento de hidrólisis (Ji et al., 2021). En la tabla 2 se resumen los resultados de algunos estudios sobre la efectividad de distintos pretratamientos y condiciones de hidrólisis enzimática en la obtención de azúcares libres.

Los métodos convencionales de pretratamiento de biomasa lignocelulósica han sido ampliamente estudiados en el cáñamo, siendo los más comunes los tratamientos químicos con ácido sulfúrico (H₂SO₄) o hidróxido de sodio (NaOH) y los tratamientos térmicos como el tratamiento con vapor o agua caliente líquida (ACL). El pretratamiento con vapor permite alcanzar una alta liberación de glucanos (82,0-83,0%) con ninguna eliminación de lignina (Z. Barta et al., 2010). La impregnación con SO₂ 2% previo al tratamiento con vapor produce pequeños cambios en la composición de tallos de cáñamo en comparación con el tratamiento sin impregnación; además, el uso de altas tempera-

Tabla 2. Efectividad de pretratamientos y de hidrólisis enzimática del tallo de cáñamo.

Condiciones de pretratamiento	Condiciones de hidrólisis enzimática	Conversión de celulosa	Referencia
Agua caliente líquida; 170 °C; 30 min	CTec3 30 FPU/g biomasa; NS 22,244 140 FXU/g biomasa; pH 5,8; 50 °C; 72 h	53,8 - 70,7%	(Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang, 2020a)
H ₂ SO ₄ 1%; 170 °C; 30 min		41,7 - 58,7%	
NaOH 1%, 170 °C; 30 min		59,0 - 88,9%	
CSLF ¹ seguido de H ₂ SO ₄ 1% p/v; 121 °C; 1 h	Spezyme CP 15 UPF/g glucano; Novozyme 188 60 UI/g glucano	64,0 - 95,9	(Moxley <i>et al.</i> , 2008)
10% p/p lisinato de colina([Ch][Lys]), 90% agua; 120 °C; 3h	Cellic CTec3 y HTec3 9:1 v/v; 20 mg enzima/g biomasa; pH 5,0; 50 °C; 72 h	66,4%	(Choi <i>et al.</i> , 2023)
H ₂ SO ₄ 1% p/v; 160 °C; 30-50 min	Cellic CTec2:HTec2 9:1 v/v 20 mg enzima/g biomasa; 50 °C; 72 h	43,6 - 77,9	(Das <i>et al.</i> , 2020)
NaOH 2% p/p; 140 °C; 1 h	Cellic CTec2:HTec2 9:1 v/v 10 mg enzima/g biomasa; 50 °C; 72 h	96,3%	(Das <i>et al.</i> , 2017)
H ₂ SO ₄ 1% p/p; 160 °C; 30 min		98,7%	
Explosión de vapor; 14,5 bar; 200 °C; 5 min	Celluclast® 10 UPF/g sustrato; Novozyme 188 500 nkat/g sustrato; pH 5,0; 50 °C; 48 h	78,0% ²	(Pakarinen <i>et al.</i> , 2012)
NaOH 1% p/p; 121 °C; 1 h		60,0% ²	
Organosolv: metanol 65% v/v; 165 °C	Cellic CTec2 20 UPF/g glucano; pH 5,5; 50 °C; 72 h	70,0%	(Gandolfi <i>et al.</i> , 2015)
Irradiación por haz de electrones; 450 kGy	Celluclast® 20 UPF/g biomasa; Novozyme 342 (25% volumen del volumen de Celluclast); 50 °C; 48 h	Incremento del 6,2%	(Shin & Sung, 2008)
H ₂ SO ₄ 1% + Vapor; 180 °C; 10 min	Celluclast® 20 UPF/g glucano; Novozyme 188 15 IU/g glucano; pH 4,8; 50°C; 48 h	72,2%	(Kuglarz <i>et al.</i> , 2016)
H ₂ O ₂ 3%; 90 °C; 2 h		82,4%	
Vapor; 215°C; 5 min; 2% SO ₂ (cáñamo seco)	Celluclast® 15 UPF/g biomasa; Novozyme 188 23 UPF/g biomasa; pH 4,8; 40 °C; 96 h	87,6%	(Sipos <i>et al.</i> , 2010)
Vapor; 210 °C; 5 min; 2% SO ₂ (cáñamo ensilado)		89,3%	
H ₂ SO ₄ 2% + Vapor; 180 °C; 10 min	Celluclast® 20 UPF/g glucano; Novozyme 188 15 UPF/g glucano; pH 4,8; 50 °C; 48 h	73,9%	(Gunnarsson <i>et al.</i> , 2015)
NaOH 3%; 121 °C; 1 h		80,1%	
H ₂ O ₂ 3%; 121 °C; 1 h		90,0%	
Agua caliente líquida; 180 °C; 10 min + molienda de disco	Cellic CTec2 16,95 mg celulasa/g sustrato; NS 22,244 4,24 mg celulasa/g sustrato; pH 5,0; 72 h	62,3-85,8%	(Viswanathan <i>et al.</i> , 2020)

¹Fraccionamiento de lignocelulosa a base de solvente de celulosa

²Conversión de carbohidratos totales

turas (≥ 210 °C) lleva a la solubilización de celulosa y a altos contenidos de furfural (Sipos *et al.*, 2010).

El pretratamiento ácido es conocido por ser simple y de bajo costo, con alto rendimiento de xilosa; pero con condiciones fuertes y alta generación de inhibidores de fermentación (Sidana & Yadav, 2022). El tratamiento alcalino con NaOH diluido previene la degradación de azúcares neutralizando los ácidos liberados durante la descomposición de la celulosa y hemicelulosa (Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang, 2020a). El trabajo de Berchem *et al.*, (2020) resalta cómo este tratamiento aplicado a una mezcla de hurds de cáñamo y *Euphorbia lathyris* permite deslignificar la biomasa, produciendo lignina altamente pura. Por el contrario, se ha encontrado que tras tratar 11 distintas variedades de cáñamo con ácido sulfúrico (H₂SO₄), resulta la eliminación de hemicelulosa pero no de lignina (Das *et al.*, 2020). En distintas ocasiones se ha comparado la efectividad de algunos pretratamientos, con resultados consistentes entre ellos: el tratamiento H₂SO₄ resulta en alta eliminación de hemicelulosa (Das *et al.*, 2017; Khattab & Dahman, 2019; Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang, 2020a) y alta remoción de lignina y pectinas mediante tratamiento con NaOH (Khattab & Dahman, 2019; Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang, 2020a).

También se ha investigado el efecto de la combinación de estos tratamientos. El tratamiento con H₂SO₄ resulta en alta producción de furfural y HMF (hasta 4,5 g/L y 7,4 g/L respectivamente (Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang,

2020a), pero cuando se combina con un tratamiento de vapor, estos compuestos pueden producirse en concentraciones tan bajas como 0,02–0,25 g/L (furfural) y 0,04–0,35 g/L (HMF) (Gunnarsson *et al.*, 2015; Kuglarz *et al.*, 2014). La impregnación con H₂SO₄ a altas concentraciones (20–30%) combinado con tratamiento termomecánico produce deslignificación, solubilización de hemicelulosas y reducción en la fracción amorfa de la celulosa, con una producción negligible de los compuestos inhibidores furfural y HMF (0,035 g/L y 0,46 g/L respectivamente) (Semhaoui *et al.*, 2018). Se pueden obtener hurds con alto contenido de celulosa usando molienda para reducir el tamaño de partícula, seguido de deslignificación con solución acidificada de clorito de sodio y remoción de hemicelulosas con NaOH 4% p/v (Bokhari *et al.*, 2021). El uso de ácido fosfórico (H₃PO₄ 84%) como solvente de celulosa, seguido de tratamiento con H₂SO₄ resulta en la destrucción de la estructura de la pared celular y de las estructuras fibrosas, incrementando la digestibilidad enzimática (Moxley *et al.*, 2008). Un proceso interesante consiste en pretratamientos separados con NaOH (pH=13,46) y ácido acético (HOAc, pH=2,25); con la posterior unión de las fracciones sólidas y líquidas, resultando en un pH de aproximadamente 4,80 (Zhao *et al.*, 2021).

Otros tipos de pretratamiento menos comunes incluyen el tratamiento oxidativo con peróxido de hidrógeno alcalino, que resulta en alta remoción de lignina (Gunnarsson *et al.*, 2015; Kuglarz *et al.*, 2016); tratamientos con disol-

vente orgánico, como solución metanólica 65 % (p/p) acidificada con 2,5 % (p/p) de H₂SO₄, que logra disolver en gran parte la lignina y la hemicelulosa, con baja producción de inhibidores (Gandolfi *et al.*, 2015); la irradiación con haz de electrones, capaz de descomponer la estructura de lignocelulosa, disminuyendo particularmente el contenido de hemicelulosa (Joo & Shin, 2011), también incrementa la solubilidad del cáñamo en agua caliente y en solución de NaOH al 1%, así como el grado de hidrólisis (Shin & Sung, 2008); el uso de enzimas peculinolíticas para incrementar el grado de hidrólisis hasta el 64,0% de los carbohidratos teóricos de cáñamo preservado en álcali (Pakarinen *et al.*, 2012); los solventes eutécticos profundos, capaces de reducir en gran parte el contenido de hemicelulosa y lignina (Ahmed, 2021) y los líquidos iónicos que pueden más que triplicar la cantidad de glucosa liberada por hidrólisis enzimática (Smuga-Kogut *et al.*, 2021). Un enfoque eficiente es el desarrollado por Choi y colaboradores (2023), el cual consiste en pretratar la biomasa con el líquido iónico lisinato de colina, llevar el pH hasta 5,0 y realizar la hidrólisis enzimática en el mismo recipiente. En un proceso similar, se utilizó hidrosulfato de trietilamonio [Et₃NH][HSO₄] a 110 °C durante 6 h para pretratar fibra de cáñamo, con la adición gradual de agua y CuCl₂ como catalizador de hidrólisis; obteniendo un grado de hidrólisis máximo de 62,7% a las 4 h de reacción (Roy & Chakraborty, 2023).

Todos estos pretratamientos incrementan la efectividad de los procesos de hidrólisis enzimática para la liberación de azúcares y si se aplican con las condiciones adecuadas se puede alcanzar un alto grado de hidrólisis. Una variedad de enzimas es utilizada para el proceso de hidrólisis enzimática, generalmente una combinación de enzimas con actividad celulasa (Tabla 2), usualmente con concentración de entre 10 y 30 UPF (unidades sobre papel filtro)/g sólido y β-glucosidasa. Gandolfi *et al.*, (2015) optimizaron la carga enzimática y de sólidos en la hidrólisis de hurds de cáñamo con las enzimas CTec2. Encontraron que un incremento de 10 a 20 UPF/g glucano incrementa el grado de hidrólisis en 40%, y que un incremento de sólidos por encima de 10%, disminuye drásticamente el grado de hidrólisis. Otro estudio encontró que la adición de xilanasa a la mezcla de enzimas de celulasa y celobiasa incrementa el grado de hidrólisis total desde 43,7% hasta 54,7%. Realizar dos pasos de hidrólisis incrementa el grado de hidrólisis hasta 62,8%, evitando la inhibición por retroalimentación y realizar un paso de ultrasonificación entre los dos pasos de hidrólisis incrementó la hidrólisis hasta 72,4% (Khattab & Dahman, 2019). La inmovilización de celulasa (EC 3.2.1.4) en nanopartículas magnéticas incrementa su estabilidad térmica a 80 °C e incrementa el grado de hidrólisis de hurds de cáñamo de 89,0 a 93,0% (Abraham *et al.*, 2014).

Por último, otro enfoque para evitar los costos asociados a las enzimas es usar hongos. Dessie y colaboradores (2022) utilizaron un consorcio fúngico cultivado en una mezcla de residuos de cáñamo y cáscara de pomelo como productores de celulasa en un proceso de único recipiente, logrando obtener 39,5 g/L de azúcares reductores a partir de residuos de cáñamo pretratados con ácido oxálico 2%, 121 °C por 30 min.

Bioproductos obtenidos a partir del tallo de cáñamo

Bioetanol

El bioetanol es por mucho el biocombustible más utilizado para transporte en el mundo. Su producción depende de almidón y azúcares en cultivos ya existentes y un gran problema para su producción es la disponibilidad de materia prima. Se espera que la biomasa lignocelulósica represente una porción significativa de la materia prima para producir etanol a medio y a largo plazo (Fatih Demirbas *et al.*, 2011). El bioetanol también es el bioproducto del cáñamo más investigado. El rendimiento predicho de etanol a partir de distintas variedades de cáñamo está entre 70,6 y 91,1 galones/ton de tallos secos de cáñamo (Das *et al.*, 2020, que es comparable a lo que se puede obtener del kenaf, el pasto varilla y el sorgo (Das *et al.*, 2017. Existen estudios de fermentación de hidrolizados de cáñamo con levadura tradicional (*Saccharomyces cerevisiae*), encontrando distintas concentraciones finales de etanol: 9,4-10,0 g/L Kuglarz *et al.*, (2014), 18,2-20,3 g/L (Zhao, Xu, Wang, Griffin, & Wang, 2020a, 15,4-21,3 g/L (Sipos *et al.*, 2010, 7,11-9,93 g/L (Frankowski *et al.*, 2021 y 77 g/L (Zhao *et al.*, 2020b).

Es importante también mencionar que las mejores condiciones para la producción de bioetanol varían según la variedad del cáñamo. Wawro *et al.*, (2021) determinaron que la variedad Tygra produjo 10,5 g/L de etanol por un proceso de hidrólisis y fermentación por separado (SHF) y que la variedad Rajan produjo 7,5 g/L de etanol por un proceso de sacarificación y fermentación simultáneos (SSF), ambos optimizados por metodología de superficie de respuesta.

En ninguno de estos estudios se reportaron los datos de otros azúcares además de glucosa. *S. cerevisiae* solo puede fermentar de forma eficiente azúcares C6, por lo que, considerando el alto contenido en hemicelulosa del cáñamo, hay recursos que no se están aprovechando. Este problema se ha intentado abordar utilizando estos azúcares para obtener otros productos, Kreuger *et al.*, (2011) produjeron etanol mediante fermentación con *S. cerevisiae* de hidrolizado de cáñamo, durante 72 h, obteniendo una concentración de etanol entre 18,4 y 21,3 g/L. Los azúcares no fermentados se utilizaron para la obtención de metano. Con un enfoque similar, Kuglarz *et al.*, (2016) lograron producir 149 g etanol/Mg de cáñamo seco

pretratado con H_2SO_4 1,5% y 115 kg ácido succínico/Mg de cáñamo seco mediante la fermentación con *Actinobacillus succinogenes* 130Z de la fracción líquida del mismo pretratamiento. Ya se ha investigado el uso de microorganismos capaces de fermentar xilosa en extractos de cáñamo sintéticos, específicamente, *Spathaspora passalidarum* y *Picha stipitis* (Gulmen, 2021), así como *S. cerevisiae* SR8, que produce una concentración máxima de etanol de 18,9 g/L tras 24 h de fermentación en hidrolizado de cáñamo (Ju *et al.*, 2022).

Existe todavía una gran oportunidad de mejora en la producción de bioetanol a partir de cáñamo, por ejemplo, mediante el uso de levaduras modificadas o combinaciones de bacterias y levaduras, para aprovechar todos los carbohidratos. También en encontrar el punto óptimo de carga de sólidos, en el que se produzca la mayor concentración de etanol (Zhao *et al.*, 2020). También se ha logrado producir bioetanol a partir de hojas de cáñamo sin adición de celulasas, solamente realizando un tratamiento mecánico; siendo *S. cerevisiae* capaz de hidrolizar la biomasa y fermentar la glucosa producida y resultando en una concentración de etanol de 8% v/v (Waseem *et al.*, 2023), por lo que este enfoque también debería investigarse sobre otras partes del cáñamo más recalcitrantes.

Biogás

El biogás es una mezcla de principalmente metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), con pequeñas cantidades de componentes sulfúricos (H_2S) y una fuente de energía limpia y renovable que podría sustituir a las fuentes de energía convencionales (Fatih Demirbas *et al.*, 2011). Factores como la variedad del cáñamo y el tamaño de partícula afectan el rendimiento de biogás obtenido por la fermentación anaeróbica del cáñamo. El tallo de cáñamo Furfura 75 con tamaño de partícula fina produjo 0,482 L biogás/g, más que lo que se produce con un tamaño de partícula grueso (0,370 L biogás/g) y que el tallo de cáñamo de variedad USO 31 del mismo tamaño de partícula (0,422 L biogás/g). Sin embargo, la mayor cantidad de biogás se obtiene de usar las hojas de cáñamo en lugar del tallo: 0,616 L biogás/g, para la variedad USO 31, presumiblemente debido a su menor cantidad de lignina (Adamoviès *et al.*, 2014).

Matassa *et al.*, (2020) reportaron un potencial de biometano de 0,420 L CH_4 /g sólidos volátiles de bast de cáñamo, un valor mucho mayor al obtenido para los hurds (0,239 - 0,242 L CH_4 /g SV) y para los tallos (0,275 L CH_4 /g SV). El pretratamiento con NaOH diluido (1,6% p/p) a 30 °C durante 24 h, logró incrementar el potencial de biometano de los hurds entre 5,7 y 15,9%.

En un estudio en escala de planta piloto de la fermentación anaeróbica de paja de cáñamo, se alcanzó una pro-

ducción de 0,248 NI biogás/g SV (53,1 %p/p CH_4). Se utilizó un biomejorador que consistió en una preparación enzimática con celulasa, lipasa, xilanasas, entre otros; para mejorar la producción de gas. Al incrementar la carga de sólidos hasta 5% p/p, sin biomejorador, la producción subió un 77,9%; al usar el biomejorador, se mejoró la producción en 129,8% (Asquer *et al.*, 2019).

Ácido succínico

El ácido succínico es uno de los doce bloques de construcción químicos más prometedoros y un precursor de muchas comodidades utilizadas en las industrias de alimentos, química y farmacéutica (Kuglarz *et al.*, 2016). Como se mencionó antes, la fase líquida resultante del pretratamiento del cáñamo se puede utilizar para la obtención de ácido succínico con un rendimiento de 115 kg/Mg de cáñamo seco. Obteniendo los mejores resultados con pretratamiento de ácido 1,5%, por encima del pretratamiento alcalino-oxidativo; debido a que este pretratamiento genera una fase líquida rica en pentosas (Kuglarz *et al.*, 2016). En otro estudio, se produjo ácido succínico a partir del hidrolizado de cáñamo pretratado con H_2SO_4 1% o H_2O_2 3%. El rendimiento aumentó hasta 78,8 y 81,4% respectivamente, al incrementar la relación medio de cultivo:hidrolizado hasta 75:25, con fermentación simultánea de xilosa y glucosa (Gunnarsson *et al.*, 2015).

Furfural, levoglucosano y levoglucosenona

Otra forma de aprovechar los pentosanos en los hurds de cáñamo es mediante la síntesis de furfural. La optimización de un proceso de hidrólisis catalizada por sulfato de aluminio octadecahidrato $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ al 5%, 160 °C durante 90 min, logró un rendimiento de furfural del 62,7%, removiendo 99,2% de las hemicelulosas de la biomasa y reteniendo 95,8% de la celulosa. El rendimiento de furfural se puede incrementar bajo condiciones de 180 °C y 7% de catalizador, pero a costa de perder 30,5% de la celulosa inicial (Brazdausks *et al.*, 2016); lo que no es viable, pues este residuo lignocelulósico se puede aprovechar para otros productos.

El proceso de pirólisis analítica de cáñamo por medio de pirólisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas (Py-GC/MS), produce levoglucosano si se hace un lavado previo del catalizador restante, azúcares solubles y sustancias inorgánicas. El levoglucosano producido representó 38,0% en área de los volátiles detectados. Si no se hace este lavado previo, la pirólisis resulta en la producción de levoglucosenona con área de hasta 24,3% (Rizhikovs *et al.*, 2019).

Ácido L-(+)-láctico

El ácido láctico (AL) es un compuesto usado en la industria de alimentos, cosmética, farmacéutica, textil y química. Más recientemente, su uso se ha expandido a la pro-

ducción de polímeros APL (ácido poliláctico). En el estudio por Gandolfi *et al.*, (2015), a hurds de cáñamo se les aplicó un tratamiento organosolvente de metanol acidificado con subsecuente filtración de la lignina del licor de reacción e hidrólisis enzimática del sólido residual. Las fracciones de carbohidratos C6 y C5 resultantes se llevaron a fermentación con *Bacillus coagulans* XZL4. Las condiciones óptimas de fermentación determinadas fueron 50 °C y pH 5,5, y se logró obtener concentraciones finales de ácido láctico 141 y 109 g/L para la fermentación de azúcares C6 y C5 respectivamente. El rendimiento total fue de 42 g de L-AL por cada 100 g de hurds de cáñamo, con un exceso enantiomérico de 99%, lo que lo hace particularmente aplicable en la producción de APL (Gandolfi *et al.*, 2015).

Polihidroxicanoatos (PHAs)

Poli-3-hidroxibutirato o P(3HB) es un compuesto perteneciente al grupo de los polihidroxicanoatos (PHAs), un grupo de poliésteres biodegradables y biocompatibles, con prometedoras aplicaciones en empaques, medicina y agricultura (Al-Battashi *et al.*, 2019). Los hurds de cáñamo pueden ser utilizados para la producción de PHB mediante la fermentación usando *Ralstonia eutropha* a partir de los azúcares liberados tras su pretratamiento e hidrólisis enzimática. La optimización de las condiciones de fermentación determinó una relación óptima C:N de 20:1 y tras 90 h de fermentación la producción final de PHB fue de 13,4 g/L. El microorganismo fue capaz de utilizar tanto glucosa como xilosa como fuente de carbono, pero con preferencia por glucosa (Khatab & Dahman, 2019).

Los hurds de cáñamo también han sido investigados como materia prima para la producción de polihidroxicanoatos de cadena media (mcl-PHA). El proceso consistió en aplicar un pretratamiento con NaOH al 2,5% p/p a temperatura ambiente durante 6 h, logrando posteriormente una liberación de azúcares de hasta 90%. La fermentación de este hidrolizado con *Pseudomonas putida* permitió obtener una concentración final de mcl-PHA de 0,6 g/L. Este producto presentó monómeros de entre seis y catorce átomos de carbono, dando propiedades como mayor elasticidad y fuerza tensil en comparación el P(3HB) (Hossain *et al.*, 2022).

Bisaboleno

El hidrolizado enzimático de hurds de cáñamo pretratado con [Ch][Lys], con un contenido de glucosa y xilosa de 35,2 g/L y 16,2 g/L respectivamente fue diluido a la mitad de concentración y usado para cultivar la levadura *Rhodospiridium toruloides*, produciendo una concentración de 600 mg/L del terpeno bisaboleno, para ser utilizado como un precursor de combustible para jets (Choi *et al.*, 2023).

Retos y perspectivas a futuro

Si bien existe un gran número de bioproductos que pueden ser obtenidos a partir de los tallos residuales de la industrial de cannabis medicinal, existen un número de desafíos técnicos que deben resolverse para hacer que estos procesos sean aplicables a nivel industrial. En general, la mayoría de estos procesos se encuentran en etapas de madurez tempranas que requieren de mucha más optimización.

Incluso aquellos productos que ya han sido ampliamente investigados pueden no ser viables. El análisis tecnológico realizado por Barta *et al.*, (2010) con base en sus resultados sobre la producción de bioetanol, biogás y combustible sólido a partir de cáñamo, muestra que no existe un escenario económicamente viable para la obtención de estos productos. Aunque los autores reconocen que la materia prima representa gran parte del costo y que usar una fuente más barata (como biomasa residual, y no dedicada) reduciría los costos de producción.

Otra opción es la que tiene, por ejemplo, Pakistán, donde el cáñamo es nativo y crece de forma salvaje en muchas áreas, de manera que se puede utilizar sin mayor inversión (Rehman *et al.*, 2013). También, la coproducción de distintos productos, como bioetanol y biodiésel, es una opción atractiva para incrementar la viabilidad de los procesos (Viswanathan *et al.*, 2021). Esto también es aplicable a la coproducción de bioetanol y CBD (Parvez *et al.*, 2021).

Hemos visto como la obtención de azúcares por medio de hidrólisis enzimática varía enormemente en los distintos estudios. Para mejorar estos resultados se puede empezar a trabajar desde la obtención de variedades de cáñamo con composiciones tan uniformes como sea posible entre cada cosecha. Es también importante trabajar en los pretratamientos que se utilizan. La gran mayoría de estudios usa pretratamientos ya establecidos como pretratamientos mecánicos, hidrotérmicos y termoquímicos, muchas veces sin realizar una optimización de las condiciones. En este sentido, dado que el pretratamiento es un gran gasto energético en una biorefinería, existe la posibilidad de investigar formas para reducir el uso de energía y agua, por medio de, por ejemplo, pretratamientos con solventes eutécticos profundos y líquidos iónicos o simplemente optimizando las condiciones del pretratamiento.

Es de sorprender la poca cantidad de estudios en los que se realiza una optimización de las condiciones de hidrólisis enzimática. Pues dados los altos costos de producción de las enzimas, estas contribuyen en gran parte a los costos de operación de una biorefinería (Maitan-Alfenas *et al.*, 2015). Es por esto que resulta importante reducir el uso de enzimas y el tiempo del proceso, sin sacrificar un alto grado de hidrólisis.

Finalmente, cada proceso subsecuente de la hidrólisis enzimática también debe ser optimizado para obtener los mejores rendimientos posibles. Aunque para los bioproductos más novedosos esto es algo que sólo se ha empezado a hacer, estudios como el realizado por (Zhao *et al.*, 2020b) nos muestran cómo se puede incrementar en una gran proporción la concentración final de bioetanol hasta 77 g/L, cuando los valores normalmente obtenidos no superan los 25 g/L. Obtener resultados así para otro tipo de bioproductos facilitaría su implementación, primero en plantas piloto y posteriormente a nivel industrial.

CONCLUSIONES

La industria del cannabis ha experimentado gran crecimiento en los últimos años, gracias a cambios en la legislación de muchos países que facilitan su uso industrial y en investigación. La industria del cannabis medicinal, específicamente, es responsable de generar una gran cantidad de residuos con una composición alta en carbohidratos celulósicos y hemicelulósicos, que pueden ser aprovechados para la obtención de distintos productos usando una variedad de enfoques biotecnológicos.

Dentro de los bioproductos prominentes se encontró que el bioetanol y el biogás son los que más han sido estudiados. Otros productos que han sido poco investigados son el furfural, el levoglucosano, la levoglucosenona, el ácido L-(+)-láctico, los polihidroxialcanoatos y el bisaboleno.

Para que se dé este aprovechamiento, generalmente la biomasa debe pasar por un proceso de pretratamiento y de hidrólisis. Para el cáñamo, estos pretratamientos se han enfocado a procesos ya bien conocidos como el tratamiento mecánico, hidrotérmico y termoquímico; dando poca atención a pretratamientos novedosos y verdes como los líquidos iónicos, los solventes eutécticos profundos, microondas y ultrasonido.

En cuanto a la hidrólisis enzimática, pocos estudios han realizado una optimización de este proceso y utilizan condiciones que se trabajan rutinariamente para las celulasas. Esta falta de optimización en los procesos hace que sea muy difícil su implementación a gran escala, pues muchas veces no es económicamente viable, ni siquiera para los productos más estudiados.

Es importante entonces que todas estas procedimientos reportados para la obtención de bioproductos sigan siendo optimizados, para así poder llevarlos primero a una escala piloto y luego, industrial. De darse estos avances, en el futuro, los residuos de cáñamo podrían convertirse en una materia prima abundante y de bajo costo para la obtención de distintas comodidades; contribuyendo con la reducción de nuestra dependencia en combustibles fósiles y acercándonos a una economía circular.

AGRADECIMIENTOS

Juan Alejandro Pérez Aguilar agradece al Proyecto Jóvenes Investigadores e Innovadores en el Departamento del Cauca, a la Universidad del Cauca, las entidades aliadas y al Sistema General de Regalías. Los autores agradecen al grupo de investigación de Química de Productos Naturales (QPN) de la Universidad del Cauca por el apoyo prestado para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Abraham, R. E., Verma, M. L., Barrow, C. J., & Puri, M. (2014). Suitability of magnetic nanoparticle immobilised cellulases in enhancing enzymatic saccharification of pretreated hemp biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-90>
- Adamoviès, A., Dubrovskis, V., & Plataèe, R. (2014). Productivity of industrial hemp and its utilisation for anaerobic digestion. *Energy Production and Management in the 21st Century*, 2, 1045–1055. <https://doi.org/10.2495/EQ140982>
- Ahmed, B. (2021). Degumming of Hemp Fibers Using Combined Microwave Degumming of Hemp Fibers Using Combined Microwave Energy and Deep Eutectic Solvent and Deep Eutectic Solvent. https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_theses
- Al-Battashi, H. S., Annamalai, N., Sivakumar, N., Al-Bahry, S., Tripathi, B. N., Nguyen, Q. D., & Gupta, V. K. (2019). Lignocellulosic biomass (LCB): a potential alternative biorefinery feedstock for polyhydroxyalkanoates production. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 18(1), 183–205. <https://doi.org/10.1007/s11157-018-09488-4>
- Asquer, C., Melis, E., Scano, E. A., & Carboni, G. (2019). Opportunities for Green Energy through emerging crops: Biogas valorization of cannabis sativa l. residues. *Climate*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/cli7120142>
- Barta, Z., Oliva, J. M., Ballesteros, I., Dienes, D., Ballesteros, M., & Réczey, K. (2010). Refining hemp hurds into fermentable sugars or ethanol. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 24(3), 331–339.
- Barta, Zsolt, Kreuger, E., & Björnsson, L. (2013). Effects of steam pretreatment and co-production with ethanol on the energy efficiency and process economics of combined biogas, heat and electricity production from industrial hemp. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-56>
- Berchem, T., Schmetz, Q., Lepage, T., & Richel, A. (2020). Single and Mixed Feedstocks Biorefining: Comparison of Primary Metabolites Recovery and Lignin Recombination During an Alkaline Process. *Frontiers in Chemistry*, 8(June). <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00479>
- Bokhari, S. M. Q., Chi, K., & Catchmark, J. M. (2021). Structural and physico-chemical characterization of

- industrial hemp hurd: Impacts of chemical pretreatments and mechanical refining. *Industrial Crops and Products*, 171(July), 113818. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113818>
- Brazdauskas, P., Paze, A., Rizhikovs, J., Puke, M., Meile, K., Vedernikovs, N., Tupciauskas, R., & Andzs, M. (2016). Effect of aluminium sulphate-catalysed hydrolysis process on furfural yield and cellulose degradation of *Cannabis sativa* L. shives. *Biomass and Bioenergy*, 89, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.01.016>
- Choi, J., Rodriguez, A., Simmons, B. A., & Gladden, J. M. (2023). Valorization of Hemp-Based Packaging Waste with One-Pot Ionic Liquid Technology. *Molecules*, 28(3), 1427. <https://doi.org/10.3390/molecules28031427>
- Crini, G., Lichtfouse, E., Morin-crini, N., & Chanet, G. (2020). Traditional and New Applications of Hemp. *Sustainable Agriculture Reviews*, 42. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-41384-2>
- Das, L., Li, W., Dodge, L. A., Stevens, J. C., Williams, D. W., Hu, H., Li, C., Ray, A. E., & Shi, J. (2020). Comparative Evaluation of Industrial Hemp Cultivars: Agronomical Practices, Feedstock Characterization, and Potential for Biofuels and Bioproducts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8, 6200–6210. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06145>
- Das, L., Liu, E., Saeed, A., Williams, D. W., Hu, H., Li, C., Ray, A. E., & Shi, J. (2017). Industrial hemp as a potential bioenergy crop in comparison with kenaf, switchgrass and biomass sorghum. *Bioresource Technology*, 244(August), 641–649. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.008>
- Dessie, W., Tang, J., Wang, M., Luo, X., Liu, X., & Qin, Z. (2022). One-pot conversion of industrial hemp residue into fermentable feedstocks using green catalyst and enzyme cocktails generated by solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products*, 182, 114885. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114885>
- Fatih Demirbas, M., Balat, M., & Balat, H. (2011). Bio-wastes-to-biofuels. *Energy Conversion and Management*, 52(4), 1815–1828. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.10.041>
- Frankowski, J., Wawro, A., Batog, J., & Burczyk, H. (2021). New Polish Oilseed Hemp Cultivar Henola-Cultivation, Properties and Utilization for Bioethanol Production. *Journal of Natural Fibers*, 00(00), 1–13. <https://doi.org/10.1080/15440478.2021.1944439>
- Gandolfi, S., Pistone, L., Ottolina, G., Xu, P., & Riva, S. (2015). Hemp hurds biorefining: A path to green l(+)-lactic acid production. *Bioresource Technology*, 191, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.118>
- Garcia-Jaldon, C., Dupeyre, D., & Vignon, M. R. (1998). Fibres from semi-retted hemp bundles by steam explosion treatment. *Biomass and Bioenergy*, 14(3), 251–260. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(97\)10039-3](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(97)10039-3)
- Geun, C., Meng, X., Pu, Y., & Ragauskas, A. J. (2020). The critical role of lignin in lignocellulosic biomass conversion and recent pretreatment strategies: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, 301(January), 122784. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122784>
- Giraldo, J. M., Benítez Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Arango, P. A., & Franco, J. M. (2019). Determinación y comparación cualitativa de cannabinoides presentes en productos naturales comerciales del departamento del Cauca-Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(3), 789–810. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84992>
- Gomez, F. P., Hu, J., & Clarke, M. A. (2021). Cannabis as a Feedstock for the Production of Chemicals, Fuels, and Materials: A Review of Relevant Studies to Date. *Energy and Fuels*, 35(7), 5538–5557. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c04121>
- Gulmen, M. U. (2021). Development of a recombinant brewing yeast to produce beer from hemp extract (*Cannabis Sativa* L.) [Western University]. <https://ir.lib.uwo.ca/etd/7614>
- Gunnarsson, I. B., Kuglarz, M., Karakashev, D., & Angelidaki, I. (2015). Thermochemical pretreatments for enhancing succinic acid production from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Bioresource Technology*, 182, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.126>
- Hossain, M. A., Mushill, L., Rahaman, M. S., Mains, S. M., Vickers, T., Tulaphol, S., Dong, J., & Sathitsuksanoh, N. (2022). Upcycling agricultural waste to biodegradable polyhydroxyalkanoates by combined ambient alkaline pretreatment and bacterial fermentation. *Industrial Crops and Products*, 185(December 2021), 114867. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114867>
- Jami, T., Karade, S. R., & Singh, L. P. (2019). A review of the properties of hemp concrete for green building applications. *Journal of Cleaner Production*, 239, 117852. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.117852>
- Ji, A., Jia, L., Kumar, D., & Yoo, C. G. (2021). Recent advancements in biological conversion of industrial hemp for biofuel and value-added products. *Fermentation*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation7010006>
- Joo, Y., & Shin, S. (2011). Compositional changes in industrial hemp biomass (*Cannabis sativa* L.) induced by electron beam irradiation Pretreatment. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 3267–3270. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.04.011>
- Ju, Y., Kim, I. J., Kim, S., Olawuyi, I. F., Kim, K., & Kim, S. R. (2022). Deacetylation kinetics of promising energy crops, hemp and kenaf, for cellulosic ethanol production. *GCB Bioenergy*, 14(11), 1150–1161. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12992>

- Keiller, B. G., Potter, M., Burton, R. A., & van Eyk, P. J. (2021). Elucidating the degradation reaction pathways for the hydrothermal carbonisation of hemp via biochemical compositional analysis. *Fuel*, 294(March). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120450>
- Khattab, M. M., & Dahman, Y. (2019). Production and recovery of poly-3-hydroxybutyrate bioplastics using agro-industrial residues of hemp hurd biomass. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(7), 1115–1127. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02109-6>
- Kreuger, E., Sipos, B., Zacchi, G., Svensson, S. E., & Björnsson, L. (2011). Bioconversion of industrial hemp to ethanol and methane: The benefits of steam pretreatment and co-production. *Bioresource Technology*, 102(3), 3457–3465. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.126>
- Kuglarz, M., Alvarado-Morales, M., Karakashev, D., & Angelidaki, I. (2016). Integrated production of cellulosic bioethanol and succinic acid from industrial hemp in a biorefinery concept. *Bioresource Technology*, 200, 639–647. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.081>
- Kuglarz, M., Gunnarsson, I. B., Svensson, S. E., Prade, T., Johansson, E., & Angelidaki, I. (2014). Ethanol production from industrial hemp: Effect of combined dilute acid/steam pretreatment and economic aspects. *Bioresource Technology*, 163, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.049>
- Lavoie, J. M., & Beauchet, R. (2012). Biorefinery of Cannabis sativa using one- and two-step steam treatments for the production of high quality fibres. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 275–283. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.016>
- López, G. E. Á., Brindis, F., Niizawa, S. C., & Martínez, R. V. (2014). Cannabis sativa L., una planta singular. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 45(4).
- Maitan-Alfenas, G. P., Visser, E. M., & Guimarães, V. M. (2015). Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Converting food waste in valuable products. *Current Opinion in Food Science*, 1(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.10.001>
- Manaia, J. P., Manaia, A. T., & Rodrigues, L. (2019). Industrial hemp fibers: An overview. *Fibers*, 7(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/?b7120106>
- Marrot, L., Candelier, K., Valette, J., Lanvin, C., Horvat, B., Legan, L., & DeVallance, D. B. (2021). Valorization of Hemp Stalk Waste Through Thermochemical Conversion for Energy and Electrical Applications. *Waste and Biomass Valorization*, November. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01640-6>
- Martínez, N. (2019). Los desafíos del cannabis medicinal en Colombia. Una mirada a los medianos y pequeños productores. *Informe Sobre Políticas de Drogas*, 1–28. https://www.tni.org/files/publication-downloads/policybrief_52_web.pdf
- Matassa, S., Esposito, G., Pirozzi, F., & Papirio, S. (2020). Exploring the biomethane potential of different industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) biomass residues. *Energies*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/en13133361>
- Morin-Crini, N., Loiacono, S., Placet, V., Torri, G., Bradu, C., Kostjæ, M., Cosentino, C., Chanet, G., Martel, B., Lichtfouse, E., & Crini, G. (2019). Hemp-based adsorbents for sequestration of metals: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 393–408. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0812-x>
- Moxley, G., Zhu, Z., & Zhang, Y. H. P. (2008). Efficient sugar release by the cellulose solvent-based lignocellulose fractionation technology and enzymatic cellulose hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7885–7890. <https://doi.org/10.1021/jf801303f>
- Pakarinen, A., Zhang, J., Brock, T., Maijala, P., & Viikari, L. (2012). Enzymatic accessibility of fiber hemp is enhanced by enzymatic or chemical removal of pectin. *Bioresource Technology*, 107, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.101>
- Parvez, A. M., Lewis, J. D., & Afzal, M. T. (2021). Potential of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) for bioenergy production in Canada: Status, challenges and outlook. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 141 (August 2019), 110784. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.110784>
- Peterson, E. (2019). Industry Report: The State of Hemp and Cannabis Waste. <https://companyweek.com/article/industry-report-the-state-of-hemp-and-cannabis-waste>
- Prade, T., Svensson, S. E., & Mattsson, J. E. (2012). Energy balances for biogas and solid biofuel production from industrial hemp. *Biomass and Bioenergy*, 40, 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.01.045>
- Ramírez, M. (2019). La Industria del Cannabis Medicinal en Colombia. *Fedesarrollo*, 1–61. <https://www.fedesarrollo.org.co/>
- Rehman, M., Fahad, S., Du, G., Cheng, X., Yang, Y., Tang, K., Liu, L., Liu, F. H., & Deng, G. (2021). Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) as an industrial crop: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 52832–52843. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16264-5>
- Rehman, M. S. U., Rashid, N., Saif, A., Mahmood, T., & Han, J. I. (2013). Potential of bioenergy production from industrial hemp (*Cannabis sativa*): Pakistan perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 18, 154–164. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.10.019>
- Rizhikovs, J., Brazdausks, P., Dobeles, G., Jurkane, V., Paze, A., Meile, K., & Puke, M. (2019). Pretreated hemp shives: Possibilities of conversion into levoglucosan and levoglucosenone. *Industrial Crops and Products*, 139(June), 111520. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111520>

- Robertson, K. J., Brar, R., Randhawa, P., Stark, C., & Baroutian, S. (2023). Opportunities and challenges in waste management within the medicinal cannabis sector. *Industrial Crops and Products*, 197(February), 116639. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116639>
- Roy, S., & Chakraborty, S. (2023). Regulatory effects of water in two-phase protic ionic liquid-mediated catalytic conversion of non-edible lignocelluloses to biofuel precursors. *Biomass and Bioenergy*, 168, 106674. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106674>
- Salinas, O. A., Benítez Benítez, R., & Martin Franco, J. (2020). Chemical Modification of Figue Fiber by Alkalization and Esterification Utilizing Figue Fiber Dust as Residue of the Fiquera Industry. *Journal of Natural Fibers*, 00(00), 1–9. <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1841061>
- Salinas, O. A., Benítez, R., & Martin, J. (2019). Un medio de reacción verde para la modificación de celulosa de residuos lignocelulósicos de la industria figuera. *Informador Técnico*, 83(2), 9–12.
- Semhaoui, I., Maugard, T., Zarguili, I., Rezzoug, S. A., Zhao, J. M. Q., Toyir, J., Nawdali, M., & Maache-Rezzoug, Z. (2018). Eco-friendly process combining acid-catalyst and thermomechanical pretreatment for improving enzymatic hydrolysis of hemp hurds. *Bioresource Technology*, 257(February), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.107>
- Shin, S. J., & Sung, Y. J. (2008). Improving enzymatic hydrolysis of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by electron beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 77(9), 1034–1038. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2008.05.047>
- Sidana, A., & Yadav, S. K. (2022). Recent developments in lignocellulosic biomass pretreatment with a focus on eco-friendly, non-conventional methods. *Journal of Cleaner Production*, 335(September 2021), 130286. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130286>
- Singh, P., Garnæs, J., Tunjic, S., Mokkapatil, R. S. S., Thygesen, A., Mackevica, A., Mateiu, V., Daugaard, E., & Mijakovic, I. (2018). Green synthesis of gold and silver nanoparticles from *Cannabis sativa* (industrial hemp) and their capacity for biofilm inhibition. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 3571–3591.
- Sipos, B., Kreuger, E., Svensson, S. E., Réczey, K., Björnsson, L., & Zacchi, G. (2010). Steam pretreatment of dry and ensiled industrial hemp for ethanol production. *Biomass and Bioenergy*, 34(12), 1721–1731. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.003>
- Small, E. (2018). Dwarf germplasm : the key to giant Cannabis hempseed and cannabinoid crops. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(4), 1071–1107. <https://doi.org/10.1007/s10722-017-0597-y>
- Smuga-Kogut, M., Kogut, T., Markiewicz, R., & S³owik, A. (2021). Use of machine learning methods for predicting amount of bioethanol obtained from lignocellulosic biomass with the use of ionic liquids for pretreatment. *Energies*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/en14010243>
- Stevulova, N., Cigasova, J., Estokova, A., Terpakova, E., Geffert, A., Kacik, F., Singovszka, E., & Holub, M. (2014). Properties Characterization of Chemically Modified Hemp Hurds. *Materials*, 7(December), 8131–8150. <https://doi.org/10.3390/ma7128131>
- Viswanathan, M. B., Cheng, M. H., Clemente, T. E., Dweikat, I., & Singh, V. (2021). Economic perspective of ethanol and biodiesel coproduction from industrial hemp. *Journal of Cleaner Production*, 299, 126875. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126875>
- Viswanathan, M. B., Park, K., Cheng, M. H., Cahoon, E. B., Dweikat, I., Clemente, T., & Singh, V. (2020). Variability in structural carbohydrates, lipid composition, and cellulosic sugar production from industrial hemp varieties. *Industrial Crops and Products*, 157(August), 112906. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112906>
- Waseem, W., Noor, R. S., & Umair, M. (2023). The anaerobic transformation of agricultural waste for bioethanol production. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04143-7>
- Wawro, A., Batog, J., & Gieparda, W. (2021). Polish varieties of industrial hemp and their utilisation in the efficient production of lignocellulosic ethanol. *Molecules*, 26(21), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules26216467>
- Zhao, J., Griffin, J., Roozeboom, K., Lee, J., & Wang, D. (2021). Lignin, sugar, and furan production of industrial hemp biomass via an integrated process. *Industrial Crops and Products*, 172(May), 114049. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114049>
- Zhao, J., Xu, Y., Wang, W., Griffin, J., Roozeboom, K., & Wang, D. (2020). Bioconversion of industrial hemp biomass for bioethanol production: A review. *Fuel*, 281(June). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118725>
- Zhao, J., Xu, Y., Wang, W., Griffin, J., & Wang, D. (2020a). Conversion of liquid hot water, acid and alkali pretreated industrial hemp biomasses to bioethanol. *Bioresource Technology*, 309, 123383. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123383>
- Zhao, J., Xu, Y., Wang, W., Griffin, J., & Wang, D. (2020b). High Ethanol Concentration (77 g/L) of Industrial Hemp Biomass Achieved through Optimizing the Relationship between Ethanol Yield/Concentration and Solid Loading. *ACS Omega*, 5(34), 21913–21921. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03135>