



HAL
open science

Développement d'un procédé innovant de dégradation enzymatique des parois végétales pour la production de bioéthanol seconde génération

Julien Brault

► **To cite this version:**

Julien Brault. Développement d'un procédé innovant de dégradation enzymatique des parois végétales pour la production de bioéthanol seconde génération. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2013. Français. NNT : 2013INPT0088 . tel-04524450

HAL Id: tel-04524450

<https://theses.hal.science/tel-04524450>

Submitted on 28 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :

M. JULIEN BRAULT

le mercredi 13 novembre 2013

Titre :

DEVELOPPEMENT D'UN PROCÉDE INNOVANT DE DEGRADATION
ENZYMATIQUE DES PAROIS VEGETALES POUR LA PRODUCTION DU
BIOETHANOL SECONDE GENERATION

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (L.C.A.)

Directeur(s) de Thèse :

M. LUC RIGAL

M. GERARD VILAREM

Rapporteurs :

M. BERNARD KUREK, INRA REIMS

M. EULOGIO CASTRO GALIANO, UNIVERSITE DE JAEN

Membre(s) du jury :

Mme CAROLE MOLINA-JOUVE, INSA TOULOUSE, Président

M. GERARD VILAREM, INP TOULOUSE, Membre

M. LUC RIGAL, INP TOULOUSE, Membre

M. MARTIN HERNANDEZ, UNIVERSITE NATIONALE AUTONOME DE MEXICO, Membre

Mme VIRGINIE VANDENBOSSCHE, INP TOULOUSE, Membre

A mes parents,

Remerciements

Je voudrais remercier Mme MOLINA-JOUVE pour avoir accepté d'examiner et de présider ce jury de thèse, et MM. CASTRO GALIANO et KUREK d'avoir accepté de rapporter ce manuscrit dans un temps très court. Vos remarques, et le débat qui suivi, furent fort intéressants.

Merci à M. HERNANDEZ LUNA, qui a examiné cette thèse avec enthousiasme. Ton côté positif et chaleureux me restera à l'esprit.

Je tiens à remercier également mes directeurs de thèse, MM. RIGAL et VILAREM qui ont dirigé cette thèse avec grande humanité. Votre savoir fût très agréable à intégrer.

Virginie, merci pour tout. Ce fût une expérience pour nous deux, et les bons moments resteront dans ma tête comme je l'espère dans la tienne.

Je souhaite remercier également tous les collaborateurs du projet BABETHANOL, avec qui ces réunions polyglottes ont toujours été très enrichissantes.

J'aimerais remercier tout le personnel du laboratoire pour son implication. Que ce soit d'un bonjour, d'un sourire ou d'une aide précieuse, chaque personne a contribué à sa façon à l'établissement de ce manuscrit.

Merci à tous les doctorants : les anciens, les vieux, les moins vieux et les nouveaux. Cette petite communauté en perpétuelle évolution reste un cadre professionnel et extra-professionnel très agréable à côtoyer.

Merci aux amis. Lupita, Guillaume, Julien et Leslie, vous savez tout le bien que je pense de vous. La roue tourne, mais malgré cette dynamique, l'empreinte reste ancrée profondément...

Merci à ma famille, mes cousins, Jean-Luc et Emmanuelle, sans qui, l'impact normatif de la vie serait bien moins spirituel. Ma petite sœur et mes parents, qui ont toujours été les moules qui me tiennent compagnie, accrochées sur ce rocher.

Merci à toi, Anissa, qui illumine mon quotidien, depuis cinq vies...

Table des matières

Introduction générale.....	15
I Le bioéthanol, procédés de production et prétraitements.....	19
I.1 La biomasse, une ressource renouvelable.....	21
I.1.1 Quelques définitions de la biomasse	21
I.1.2 Renouvelabilité de la biomasse	25
I.2 La biomasse, source de vecteurs pour l'énergie	28
I.3 Le bioéthanol	31
I.3.1 La fermentation éthanolique à partir des sucres.....	31
I.3.2 Les procédés de production de bioéthanol	35
I.3.3 Production industrielle de bioéthanol première génération.....	37
I.4 La biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol seconde génération..	42
I.4.1 Disponibilité de la biomasse lignocellulosique	42
I.4.2 Composition de la biomasse lignocellulosique	43
I.4.2.1 La cellulose	47
I.4.2.2 Les hémicelluloses	51
I.4.2.3 Les lignines	54
I.4.3 Accessibilité de la biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol.	56
I.5 La Saccharification de la biomasse lignocellulosique.....	58
I.5.1 Mécanismes d'action des cellulases	59
I.5.2 Interférence des hémicelluloses et des lignines avec la saccharification de la cellulose.....	65
I.5.3 Hydrolyse enzymatique des hémicelluloses.....	66
I.6 Les prétraitements de la biomasse lignocellulosique	69
I.7 L'extrusion bi-vis pour le prétraitement des biomasses lignocellulosiques	80
I.8 Conclusion	88
II Sélection et caractérisation des biomasses lignocellulosiques.....	89
II.1 Origine et disponibilité des matières premières	91

II.1.1	Coproduit de conserverie de maïs doux	92
II.1.2	Coproduit de l'industrie de Tequila : la bagasse d'agave bleue.....	96
II.1.3	Coproduit de production d'huile de palme : le Pinzote.....	99
II.1.4	Coproduit de culture céréalière : la paille d'orge.....	102
II.1.5	Coproduits du bois d'Eucalyptus	103
II.1.6	Coproduits de la viticulture : les sarments de vigne.....	104
II.1.7	Coproduit de l'industrie sucrière : la bagasse de canne à sucre	105
II.2	Conditionnement des matières premières.....	106
II.3	Composition chimique des matières lignocellulosiques.....	108
II.3.1	Le coproduit de conserverie de maïs doux (CCMD)	109
II.3.2	Le coproduit de production de Tequila : la bagasse d'agave (CPT)	110
II.3.3	Le coproduit de production d'huile de palme : le Pinzote (CPHP).....	111
II.3.4	Le coproduit de culture céréalière : la paille d'orge (CCC).....	112
II.3.5	Le coproduit de culture viticole : les sarments de vigne (CCV)	113
II.3.6	Le coproduit de l'industrie sucrière : la bagasse de canne à sucre (CPS).....	114
II.3.7	Le coproduit de culture sylvicole : les résidus d'Eucalyptus (CCS).....	115
II.4	Hydrolysabilité enzymatique de la cellulose et des matières lignocellulosiques	118
II.5	Conclusion.....	122
III	Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis	125
III.1	Etude des conditions de déstructuration en extrudeuse bi-vis	127
III.1.1	Configuration et profil de vis de l'extrudeuse bi-vis.....	127
III.1.2	Déstructuration alcaline des coproduits de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis	131
III.1.3	Déstructuration alcaline et extraction des coproduits de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis.....	135
III.1.3.1	Détermination des conditions limites de fonctionnement de l'extrudeuse	135
III.1.3.2	Influence des conditions d'extrusion alcaline sur le rendement en extrudat ..	139
III.1.3.3	Hydrolysabilité des extrudats obtenus en conditions d'extrusion alcaline	145
III.1.4	Prétraitement du Pinzote, de la bagasse d'agave et de la paille d'orge en extrudeuse bi-vis	146

III.1.5	Conclusion sur le prétraitement par fractionnement alcalin et extraction en extrudeuse bi-vis	151
III.2	Etude du prétraitement alcalin et de neutralisation des coproduits lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis.....	155
IV	Etude de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques prétraités, en extrudeuse bi-vis	163
IV.1	Sélection et mise en œuvre des cocktails enzymatiques	165
IV.1.1	Caractérisation et étude de l'efficacité des cocktails enzymatiques.....	166
IV.1.2	Conditions de mise en œuvre des cocktails enzymatiques.....	168
IV.2	Etude de l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis	172
IV.2.1	Description du dispositif expérimental	172
IV.2.2	Influence du taux d'enzymes et du ratio liquide/solide sur l'imprégnation enzymatique	175
IV.2.3	Intensification du mélange lors de l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis	178
IV.2.4	Augmentation du temps de séjour dans l'extrudeuse bi-vis pour l'imprégnation des enzymes.....	181
IV.2.5	Nature des transformations de la matière lignocellulosique en extrudeuse bi-vis lors de l'imprégnation des enzymes	186
IV.2.5.1	Solubilisation et extraction des sucres	187
IV.2.5.2	Modification des fibres lignocellulosiques	190
IV.2.6	Conclusions sur le procédé de bioextrusion.....	194
IV.3	Etude du bioraffinage des coproduits lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis ...	198
IV.3.1	Extraction et séparation liquide-solide des bioextrudats en extrudeuse bi-vis.	199
IV.3.2	Fractionnement des coproduits lignocellulosiques	207
IV.3.2.1	Fractionnement étagé des coproduits de maïs doux.....	210
IV.3.2.2	Fractionnement étagé du Pinzote.....	214
IV.3.2.3	Conclusion sur le fractionnement étagé des coproduits lignocellulosiques....	216
V	Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques.....	223
V.1	Intégration du procédé en une étape d'extrusion bi-vis à l'échelle pilote industriel	225
V.1.1	Compaction du procédé en une seule extrudeuse bi-vis.....	225
V.1.2	Description de l'extrudeuse bi-vis pilote	227

V.1.3	Mise en œuvre du procédé de bioextrusion du coproduit de maïs doux sur l'installation pilote.....	229
V.1.3.1	Introduction de la matière dans le fourreau de l'extrudeuse bi-vis.....	229
V.1.3.2	Adaptation du profil de vis installé dans le fourreau de l'extrudeuse EV53 ..	229
V.1.3.3	Conditions opératoires et résultats de la bioextrusion pilote du coproduit de maïs doux ..	230
V.1.3.4	Bilan du fonctionnement de l'extrudeuse pilote EV53.....	232
V.1.3.5	Composition et hydrolysabilité des bioextrudats de coproduit de maïs doux obtenus en extrudeuse bi-vis pilote EV53 ..	234
V.1.4	Adaptation du procédé de bioextrusion aux autres coproduits lignocellulosiques ..	238
V.1.4.1	Adaptation des conditions de bioextrusion en extrudeuse bi-vis pilote EVOLUM 53.....	238
V.1.4.2	Rendement, composition et hydrolysabilité des bioextrudats des coproduits lignocellulosiques sélectionnés ..	242
V.2	Conclusion et perspectives d'industrialisation du nouveau procédé de bioextrusion pour la production de bioéthanol.....	247
V.2.1	Evaluation des coûts de production.....	250
	Conclusion générale ..	257
	Partie expérimentale.....	265
P.E.1	Conditionnement des matières lignocellulosiques.....	267
P.E.1.1	Broyage des matières lignocellulosiques.....	267
P.E.1.2	Neutralisation des extrudats alcalins hors extrudeuse ..	267
P.E.1.3	Séparation des filtrats clairs de leurs particules fines insolubles.....	267
P.E.1.4	Transformation à froid des matières lignocellulosiques en holocellulose.....	268
P.E.2	Caractérisation des matières lignocellulosiques ..	268
P.E.2.1	Teneur en humidité.....	268
P.E.2.2	Teneur en matières minérale et organique.....	269
P.E.2.3	Teneur en lipides ..	269
P.E.2.4	Teneur en protéines ..	270
P.E.2.5	Composition en cellulose, hémicelluloses et lignines ..	271
P.E.2.6	Teneur en composés hydrosolubles et organiques solubles ..	273
P.E.2.7	Composition en monosaccharides par hydrolyse acide totale ..	273

P.E.2.8 Composition en composés pariétaux et en monosaccharides par le protocole NERL	274
P.E.2.9 Microscopie électronique à balayage des fibres	274
P.E.2.10 Mesure de viscosité	275
P.E.2.11 Mesure de la cristallinité de la cellulose.....	277
P.E.3 Analyses enzymatiques.....	277
P.E.3.1 Protocole DNS	277
P.E.3.2 Hydrolyse enzymatique en milieu faiblement agité	277
P.E.3.3 Concentration protéique d'un cocktail enzymatique	278
P.E.3.4 Détermination du pH d'une solution	278
P.E.4 Fractionnement et bioextrusion en extrudeuse bi-vis	279
P.E.4.1 Protocole opératoire.....	279
P.E.4.2 Caractéristiques des extrudeuses	280
P.E.4.3 Distribution du temps de séjour.....	281
P.E.4.4 Calcul de l'Energie Mécanique Spécifique (EMS) et de l'Energie Thermique Spécifique (ETS) pour l'extrusion bi-vis	282
P.E.4.5 Détermination du pH de l'extrudat et du filtrat à la sortie de l'extrudeuse	282
P.E.4.6 Extraction des jus sucrés contenus dans les extrudats	283
P.E.4.7 Analyse de la répartition granulométrique des particules	283
Annexes.....	285
Analyse de l'impact environnemental.....	287
Références bibliographiques	291
Résumé.....	314
Summary	314

Introduction générale

La population mondiale ayant presque doublée en quarante ans, sa demande en énergie a suivi la même tendance. Ses besoins alimentaires se faisant de plus en plus importants, et considérant que la surface disponible pour la production de ressources alimentaires est limitée, la production d'énergie à base de biomasse se confronte à une issue inévitable : favoriser l'alimentation ou l'énergie ? Dans un contexte de développement durable et de sauvegarde de l'environnement, les énergies fossiles, dont les stocks s'amenuisent, n'ont pas le vent en poupe.

De cette situation sont apparus les biocarburants de seconde génération, utilisant la partie « non-énergétique » de la biomasse végétale, c'est-à-dire ne rentrant pas en compétition avec l'alimentation. Se targuant d'une étiquette moins polluante que les énergies fossiles, ils font actuellement l'objet d'une attention toute particulière de la part de nombreux centres d'étude et développement de par le monde.

C'est dans ce contexte que le projet international BABETHANOL est né. Projet collaboratif entre l'Europe et l'Amérique latine, financé par la communauté européenne dans le cadre du « Seven Framework Programme » (FP7/2007-2013 ; n°227498), il associe 13 acteurs provenant de 11 pays différents :

- l'INPT-ENSIACET (Laboratoire de Chimie Agroindustrielle, Toulouse, France),
- l'UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Ingeniería Química, Mexico, Mexique),
- le CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, Madrid, Departamento de Energía, Espagne),
- l'INSA (Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, Toulouse, France),
- le VTT (Valtion Teknillinen Tutkimuskeskus, Division of Bio- and Chemical Processes, Espoo, Finlande),
- l'UCR (University of Costa Rica, Escuela de Química, San Jose, Costa Rica),
- APYGEC S.A.R.L. (Tarbes, France),
- MAGUIN S.A.S. (Champs/Marne, France),
- le CMM (Centro Mario Molina para estudios estratégicos sobre energía y medio ambiente A.C., Mexico, Mexique),
- PROCAZUCAR (Mexico, Mexique),
- le CRT (Consejo Regulador del Tequila A.C., Guadalajara, Mexique),
- l'UNIUD-DiSA (Università degli Studi di Udine DiSA Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali, Rome, Italie),
- IICA PROCISUR (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur, Uruguay, Brésil, Chili, Paraguay et Argentine).

Ce projet de recherche a pour objectif le développement d'un procédé durable de bioéthanol de seconde génération, n'entrant pas en compétition avec les usages alimentaires, à partir de nouvelles biomasses lignocellulosiques locales.

Dans ce projet le LCA, Laboratoire de Chimie Agro-industrielle, spécialisé dans le fractionnement des agroressources et les procédés de transformation agroindustrielle, apporte son expertise en fractionnement par extrusion bi-vis, en s'inscrivant dans la thématique « étude et développement du procédé aux différentes échelles », qui donne lieu à cette étude.

Le premier chapitre de cette étude, état de l'art des connaissances sur le domaine des biocarburants et en particulier du bioéthanol, répertorie la biomasse disponible pour la

production de biocarburants, puis décrit les procédés de production de bioéthanol. La composition pariétale de la biomasse lignocellulosique, servant de ressource aux procédés de seconde génération, y est exposée ainsi que sa dégradation biologique par voie enzymatique. Les prétraitements nécessaires à la processabilité de cette biomasse y sont également décrits ainsi que la technologie bi-vis utilisée comme prétraitement thermo-mécano-chimique pendant cette étude.

Le second chapitre est consacré à la description des sept matières premières lignocellulosiques utilisées en tant que « matières modèles » au cours de cette étude. Leurs origines agricoles ou industrielles ainsi que géographiques y sont exposées. Leurs caractérisations physico-chimiques sont aussi étudiées et comparées pour permettre leur classement selon des critères de sélectivité qui permettront d'extrapoler les résultats à d'autres matières.

Le troisième chapitre étudie l'étape de prétraitement du procédé se focalisant sur les effets destructurants du traitement thermo-mécano-chimique, provenant de la combinaison de l'action d'agent alcalin et de l'utilisation d'une extrudeuse bi-vis. Le fractionnement par extraction-séparation en extrudeuse bi-vis y est également étudié ainsi que la neutralisation en continu des matières prétraitées pour les préparer à l'hydrolyse enzymatique.

Le quatrième chapitre expose l'étude de l'injection d'enzymes dans l'extrudeuse bi-vis et leurs actions sur les matières lignocellulosiques prétraitées. La mise au point du procédé y est détaillée ainsi que les variables influençant l'action des enzymes en extrudeuse bi-vis. La nature des transformations de la matière lors de l'imprégnation enzymatique est décrite et analysée. Un nouveau procédé de bioraffinage de la cellulose contenue dans les matières lignocellulosiques, permettant l'extraction étagée des composés pariétaux est ainsi défini.

Enfin le cinquième et dernier chapitre détaille la compaction à l'échelle pilote industriel du procédé général de bioextrusion en une unique étape, réunissant le prétraitement des matières lignocellulosiques et leur imprégnation enzymatique en continu en extrudeuse bi-vis. Les sept matières lignocellulosiques modèles sont traitées et comparées, et l'adaptabilité du procédé est validée. Pour finir l'industrialisation du procédé de production de bioéthanol est étudiée à travers l'évaluation de ses coûts et l'analyse de son impact environnemental.

I Le bioéthanol, procédés de production et prétraitements

I.1 La biomasse, une ressource renouvelable

I.1.1 Quelques définitions de la biomasse

Apparu dans notre vocabulaire il y a moins de cinquante ans, le mot biomasse a fait l'objet de plusieurs définitions (Tableau I-1), qui reflètent le contexte scientifique et d'intérêt dans lequel son contenu a été défini.

Tableau I-1 : Quelques définitions du terme Biomasse

Définitions	Sources
Masse de matière vivante subsistant en équilibre sur une surface donnée du globe terrestre	Le Petit Robert Dictionnaire 2008
Masse totale de l'ensemble des être vivants occupant, à un moment donné, un biotope bien défini	Dictionnaire Larousse 2009
Quantité totale de matière (masse) de toutes les espèces vivantes présentes dans un milieu naturel donné	http://www.techno-science.net
Masse totale des êtres vivants présents à un moment donné dans un territoire délimité, mesuré par unité de surface en milieu terrestre et par unité de volume en milieu aquatique	Dictionnaire Larousse agricole 2002
Masse totale d'organismes vivants dans un biotope déterminé à un moment donné. Elle peut être exprimée par unité de surface s'il s'agit d'un milieu terrestre ou par unité de volume s'il s'agit d'un milieu aquatique	http://fr.wikipedia.org
(i) La totalité de la matière organique vivante dans notre système écologique (ii) La matière végétale produite constamment par photosynthèse (iii) La masse cellulaire des plantes, animaux et microorganismes utilisés comme matière première dans les processus microbiologiques	Dictionnaire des ressources renouvelables (Zoebelein 1997)
Ensemble des matériaux organiques produits annuellement sur terre par la photosynthèse	Chimie: molécules, matière, métamorphoses (Atkins and Jones 1998)
Masse sèche de matières organiques de tous les individus d'une population, d'un habitat ou d'un écosystème	(Campbell 2004)

Ainsi, pour l'Ecologie, dans un écosystème défini par sa biocénose (ensemble des populations animales et végétales vivant en équilibre dans un milieu biologique donné) et son biotope (milieu biologique déterminé offrant à une biocénose des conditions d'habitat relativement stable), la biomasse désigne une quantité - une masse - de matière. Mais, considérée comme une ressource renouvelable, plusieurs points doivent être précisés :

- La nature et l'origine de cette matière : êtres, espèces, organismes vivants ; individus d'une population ou d'un habitat ; masse cellulaire des plantes, animaux et

microorganismes matière première des processus microbiologiques, matière organique vivante ; matière végétale ou matériau organique produit par photosynthèse, etc...

- La référence spatiotemporelle de sa production : la surface (partie aérienne) et le sol de territoires délimités, le milieu aquatique ; un écosystème déterminé à un moment donné ; toute la terre et annuellement, etc...
- Et l'usage ou la destination de cette matière première.

En effet, l'exploitation de la biomasse a de tout temps été l'une des activités principales de l'homme, qui a donné lieu au développement de filières de production et de transformation. Elles peuvent être classées en fonction des secteurs cibles de valorisation, pour lesquels le terme biomasse peut être adjoint d'un qualificatif :

La biomasse alimentaire. De façon spécifique, elle définit la quantité d'individus de chaque étape de la chaîne alimentaire nécessaire pour que le mangeur final prenne une unité de poids. De façon globale, elle peut être considérée comme la source d'énergie et de molécules pour l'alimentation humaine ou animale. Son utilisation peut être directe ou après avoir subi des transformations, comme produit de la filière Agroalimentaire. Une très grande partie de cette biomasse est issue de la production agricole. Mais celle-ci génère aussi des coproduits, tout comme la transformation agroalimentaire, qui ne sont pas exploités uniquement pour l'alimentation animale, mais aussi pour d'autres usages, comme le retour à la terre, ou pour la production d'énergie par exemple. La biomasse alimentaire devrait donc être définie comme la fraction de biomasse cultivée (ou élevée), et transformée pour l'alimentation animale, et directement, ou pour finir, humaine.

La biomasse agricole. Le terme de biomasse est souvent utilisé par les agronomes pour exprimer la masse de matière végétale produite par une plante à l'hectare. Sans préciser la destination de cette matière, il permet de comparer les rendements des différentes productions agricoles. Mais le qualificatif agricole associé à la biomasse devrait faire référence aux usages de la fraction des plantes qui est retournée directement à la terre (enfouissement des parties aériennes, reste des parties souterraines) et par extension aux matières organiques et minérales utilisées comme amendement ou fertilisant, et issues des filières de transformation agroalimentaire ou de recyclage (compost, engrais et fumier, épandages et lisiers, vinasses, boues de station d'épuration des eaux, sous produits des filières de transformation animale, etc...)

La biomasse chimique. Bien que le qualificatif chimique ne soit pas encore consacré, cette fraction de la biomasse pour des usages de production de produits chimiques est bien connue des industries de la parfumerie, de la cosmétique mais aussi des domaines des peintures et vernis (huiles siccatives et leurs dérivés), des tensioactifs (dérivés terpéniques), des épaississants et gélifiants (pectines, guar, caroube, agar, gélatine, ...), des colles (caséines, collagènes, gomme arabique, ...) des pigments (pastel, ...) etc. Plus globalement, elle peut être considérée comme la fraction de biomasse pour la raffinerie des agroressources, et la chimie verte qui en est issue. Aujourd'hui, des exemples sont les tensioactifs, savons, solvants, encres, lubrifiants issus de la transformation lipochimique. Les produits de la

xylochimie, de la sucrochimie ou la protéochimie sont autant d'autres exemples issus de la transformation de cette fraction de biomasse. Ainsi elle pourrait être définie comme la matière première pour tous les synthons et coupes moléculaires issus de sa transformation physicochimique (extraction), chimique (réaction) ou biochimique (transformation biotechnologique).

La biomasse matériau. L'usage de biomasses végétales ou animales pour la production de matériau est sans aucun doute aussi ancien que celui pour l'alimentation. Se protéger, se déplacer, communiquer, aménager et décorer sont des activités humaines dans lesquelles le bois d'œuvre et les produits du bois comme le papier par exemple, les fibres végétales ou animales pour les tissus et les cordages, ont joué un rôle essentiel. Aujourd'hui, les biopolymères (amidon, pectines, latex, ...) ou les polymères synthétisés à partir de monomères naturels (acides polylactiques, polyhydroxyalcanoates), ou encore les fibres végétales sont des bases de matériaux thermoplastiques ou thermodurcissables, de résines, colles ou renfort pour les agromatériaux et les matières plastiques composites, issus de cette fraction de biomasse.

La biomasse énergie. Au-delà de la combustion directe du bois sous forme traditionnelle de bûche, ou plus récemment de briquettes ou de granulés reconstitués, pour lesquels les résidus lignocellulosiques d'origine agricole comme les pailles, ou même des plantes fibreuses annuelles comme le miscanthus sont utilisées, de nombreuses autres productions végétales, voire animales, sont actuellement exploitées pour produire des vecteurs d'énergie, en particulier des carburants liquides ou gazeux. Ainsi, selon la directive européenne sur la promotion des énergies renouvelables (2009/28/CE 2013), la biomasse se définirait comme « *la fraction biodégradable des produits, des déchets et des résidus d'origine biologique provenant de l'agriculture (y compris les substances végétales et animales), de la sylviculture et des industries connexes, y compris la pêche et l'aquaculture, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et municipaux* ».

Ainsi la biomasse apparaît comme une ressource pour de nombreux usages concurrents dont le Tableau I-2 rassemble quelques exemples par filières de production.

Le bioéthanol, procédés de production et prétraitements

Tableau I-2: Exemples de caractéristiques et d'usages des biomasses produites par filière

Origine	Type organes	Constituant principal	Etat de collecte, Hydratation	Exemples	Domaine applications				
					Alimentaire	Agricole	Matériau	Chimie	Energie
Filière céréalière	Graine, racine, tubercule	Amidon	Solide sec	Blés, maïs, sorgho, seigle, avoine,	++		+	+	+
	Sous produit	Lignocellulose	Solide sec	Pailles, tiges, feuilles, rafles, enveloppes		++	+		++
Filière oléagineuse et oléoprotéagineuse	Grain, fruit, tige	Huile	Solide sec	Colza, tournesol, soja, palme	++			++	+
	Coproduit industriel	Protéine	Solide sec concentré	Tourteau	++				
	Coproduit agricole	Lignocellulose	Solide sec	Pailles		++			
Filière sucrière	Racine, canne	Sucre (saccharose)	Solide humide	Betterave, canne à sucre, sorgho sucrier	++				+
	Coproduit industriel	Lignocellulose Pectocellulose	Solide sec	Bagasse Pulpe	+				++
Filière protéagineuse	Feuille, fève, graine	Protéine	Solide sec	Lupin, soja	++				
	Coproduit transformation	Lignocellulose	Solide sec	Pailles		++			++
Filière fruits et légumes	Fruit, graine, bulbe, racine, tige	Varié	Solide humide	Tomate, raisin, ail, carotte	++				
	Coproduit agricole	Lignocellulose	Solide sec	Sarment			+		++
	Coproduit transformation	Varié	Varié	Pulpe, jus, noyau, tourteau	++	+		+	+
Filière élevage et transformation	Divers	Protéine Graisse	Solide	Produit carné et aquatique Os, cartilage, graisse animale	++	+		+	+
Filière plantes aromatiques et fleurs	Feuille, fleur, tige	Varié	Solide sec	Extrait et huile essentielle	+	+		++	
Filière plantes à fibres	Tige, feuille	Lignocellulose	Solide sec	Chanvre, lin, coton			++		+
Filière bois	Tronc, branche	Lignocellulose	Solide sec	Planche			++		
	Coproduit transformation	Lignocellulose	Solide sec	Copeaux, sciure, taillis, écorce			++		++
Filière traitement eaux	Boues, microorganisme	Varié	Solide humide	Boues		++			
Filière déchets	Divers	Varié	Varié	Déchets urbains					++
Filière algues	Cellule entière	Huile, protéine	Solide humide	Spiruline, algues lipidiques	+				+

I.1.2 Renouvelabilité de la biomasse

A la différence des ressources minérales, comme les minerais, ou des ressources fossiles comme le charbon ou le pétrole, dont les gisements sont l'une des clés de voute de l'économie mondiale, la biomasse est considérée comme une ressource renouvelable, c'est-à-dire une ressource naturelle dont le stock peut se reconstituer au moins aussi vite qu'il est consommé. Mais, si l'extraordinaire potentiel de matière produite chaque année ($104,9\text{Gt}_C.\text{an}^{-1}$) (Field et al. 1998) pourrait laisser croire à un gisement quasi inépuisable, la biomasse ne restera renouvelable que dans la mesure où la cinétique de prélèvement sur le stock pour les usages de l'homme pourra rester compatible avec celle de la régénération de ce stock. Dans le cas de certaines exploitations de la biomasse comme l'alimentation humaine ou les matériaux, les signaux d'alarme d'une surexploitation ont déjà été tirés depuis longtemps (érosion des sols et désertification, gestion de l'eau, régression des surfaces cultivables, impact environnemental de l'intensification des cultures, perte de biodiversité, effet de la déforestation, etc...). Mais c'est sans doute avec la prise en compte de l'impact des gaz à effet de serre, et en particulier du CO_2 émis dans l'atmosphère par toutes les activités de l'homme, que la prise de conscience des risques de déséquilibre à l'échelle planétaire (modification du climat et réchauffement, fonte des glaciers, élévation du niveau des mers, acidification des océans, modification des courants marins, etc...) a été la plus sensible ces dernières décennies. Face à l'accroissement des rejets de CO_2 , en particulier liés aux besoins en énergie produite par combustion des ressources fossiles, l'exploitation de la biomasse à des fins énergétiques est apparue comme une solution économique crédible et durable.

En effet, dans le cas de la biomasse végétale, la régénération de la ressource se fait au niveau élémentaire de la cellule, et plus précisément dans le chloroplaste, à travers la photosynthèse, intégrant les réactions photochimiques qui scindent l'eau et libèrent le dioxygène dans l'atmosphère, et les réactions du cycle de Calvin, qui convertissent le CO_2 en phosphoglyceraldéhyde, conduisant par réactions enzymatiques aux composés élémentaires organiques du métabolisme cellulaire (glucides, acides aminés, acides gras,...) (Figure I-1).

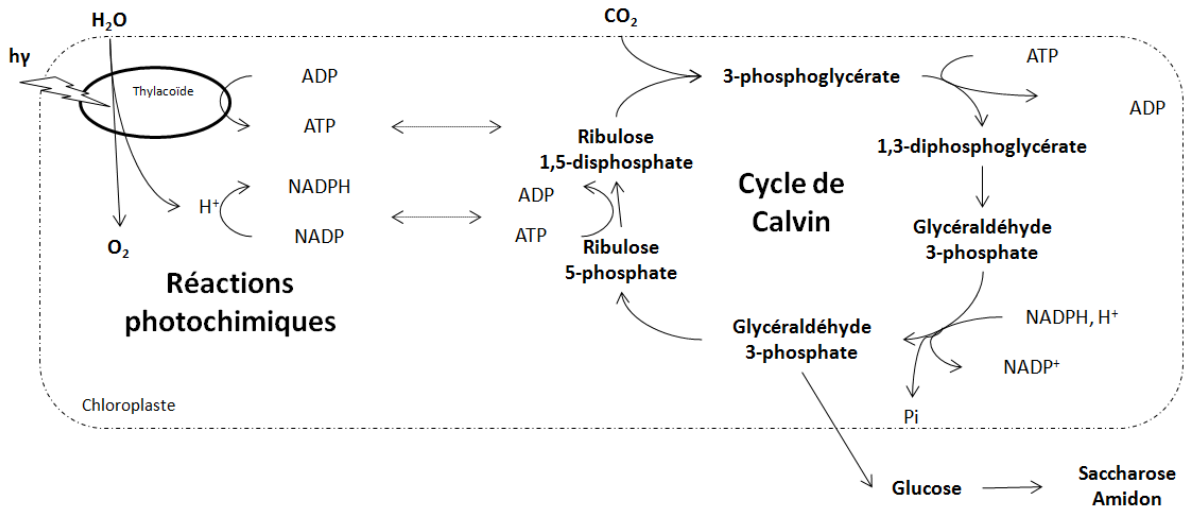
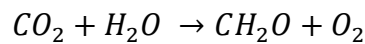


Figure I-1: Schéma des réactions impliquées dans la photosynthèse

De façon simplifiée, en ne considérant que l'équation bilan de la photosynthèse :



Un équivalent molaire de CO_2 (44g) serait ainsi transformé en un équivalent de matière sèche organique hydrate de carbone (CH_2O : 33g) lors du développement annuel de la plante, soit un rendement massique de 68% par rapport au CO_2 , et 1,466g de CO_2 serait consommé par gramme de matière organique de matière végétale formée. En réalité, une partie des sucres et des autres molécules synthétisées, comme les triglycérides, sont aussi utilisés par la plante lors de sa croissance pour produire l'énergie nécessaire à travers le phénomène de la respiration cellulaire aérobie (Figure I-2).

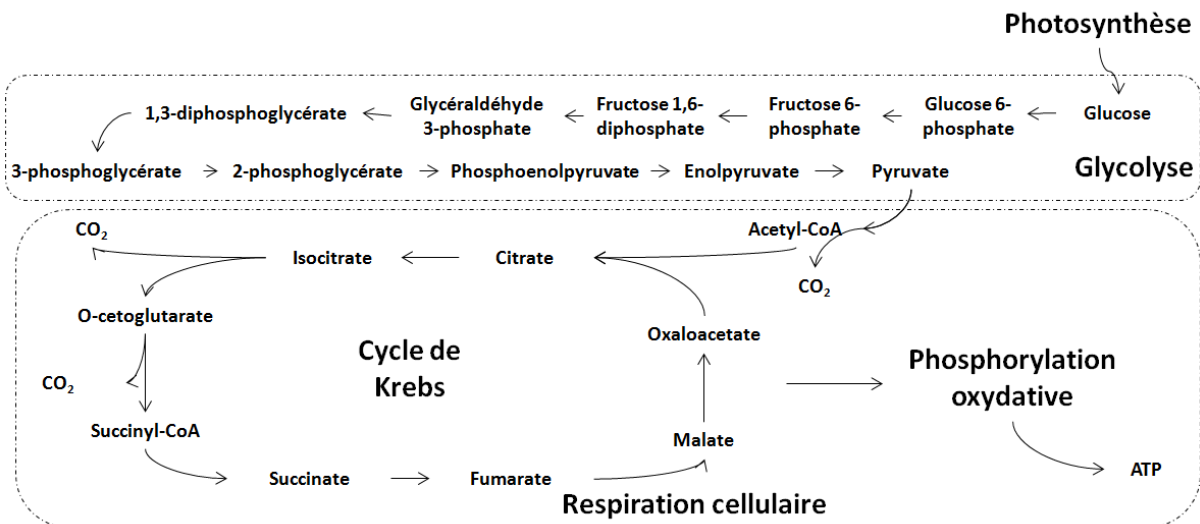


Figure I-2: Schéma des réactions impliquées dans la respiration cellulaire aérobie

Au bilan, la moitié du CO₂ absorbé par la plante est restitué à l'atmosphère lors de son cycle annuel, l'autre moitié, stockée, n'étant libérée qu'à sa mort et sa décomposition dans le sol. Au final, dans le cycle naturel, tout le CO₂ absorbé par la photosynthèse est restitué à l'atmosphère et le bilan carbone du cycle végétal est considéré comme neutre. Mais il permettrait de disposer, à la récolte de la matière végétale avant sénescence et décomposition, d'un stock représentant la moitié des 120 milliards de tonnes de CO₂ absorbé et transformé par la végétation terrestre annuellement. Bien qu'il ne s'agisse que d'une estimation et que la forme chimique de cette matière organique ne soit pas précisée, ce chiffre peut être comparé au 14 milliards de tonnes de CO₂ émis annuellement par 7 milliards d'individus pour leur mobilité (2 tonnes de CO₂ par personne et par an pour les français) (Armoogum 2010). Sans préjuger de la part réellement disponible de cette matière végétale stockable, ni des rendements de transformation permettant son exploitation pour la production d'énergie, cette comparaison justifie l'intérêt porté aujourd'hui à cette ressource renouvelable pour produire de l'énergie, et répondre à la demande mondiale croissante (Figure I-3), en particulier pour le transport.

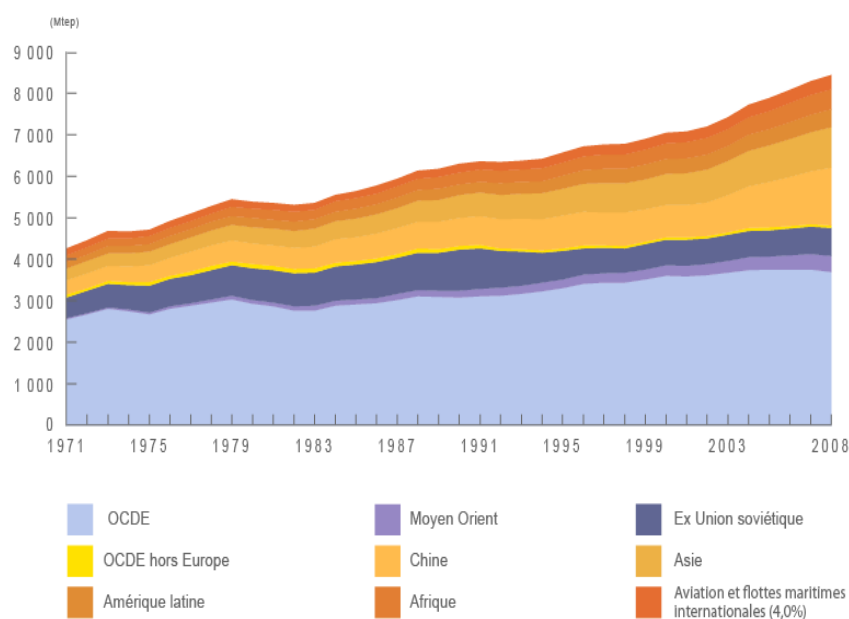


Figure I-3: Evolution de la demande mondiale en énergie depuis 40ans (Source Key World Energy Statistic 2010 ; AIE, 2011)

I.2 La biomasse, source de vecteurs pour l'énergie

De nombreuses voies de conversion de biomasses variées en vecteurs pour la production d'énergie ont été étudiées, qu'il s'agisse de la production de chaleur, d'énergie mécanique et électrique, ou de carburants pour le transport (Figure I-4).

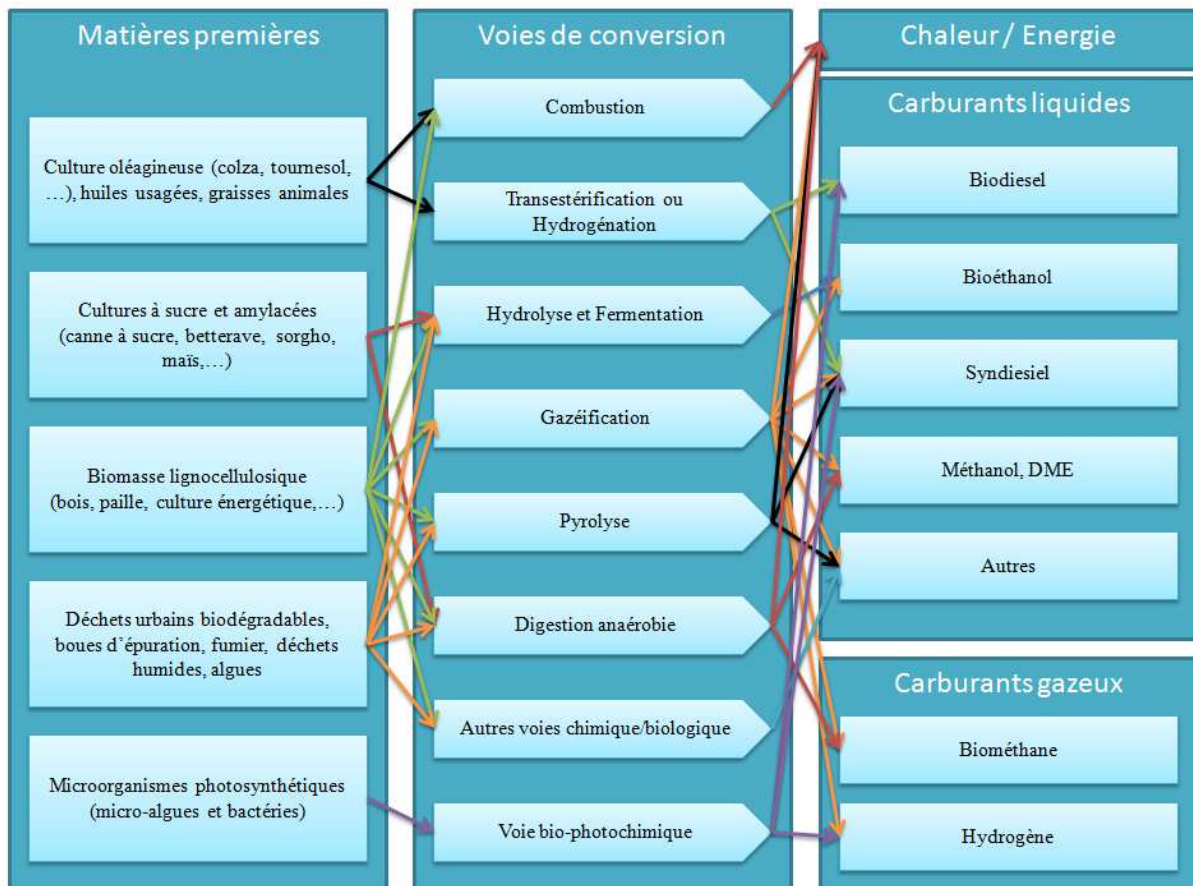


Figure I-4: Les voies de production de bioénergie (IAE Bioenergy 2009; E4tech 2009)

La principale biomasse actuellement exploitée dans ce sens est le bois et ses dérivés (charbon de bois, résidus de taille et des industries de bois d'œuvre, liqueur papetière, bois recyclés), en particulier pour les usages domestiques (chauffage, cuisine,...). Mais les produits et coproduits de l'agriculture, avec le développement des procédés de pelletisation, commencent aussi à y trouver une place non négligeable (Figure I-5).

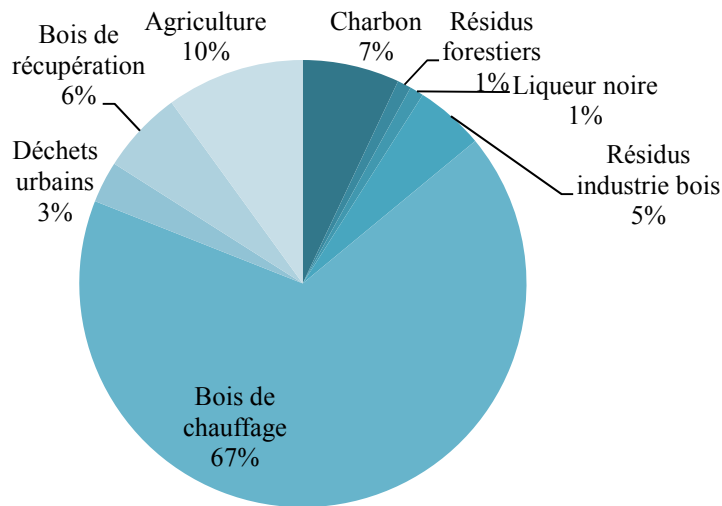


Figure I-5: Répartition des sources de biomasse dans les bioénergies primaires (IAE Bioenergy 2009; IPCC 2007)

Pour la production de chaleur et d'électricité, nombre de procédés et technologies de conversion de la biomasse sont actuellement développés au stade industriel et commercial (Figure I-6).

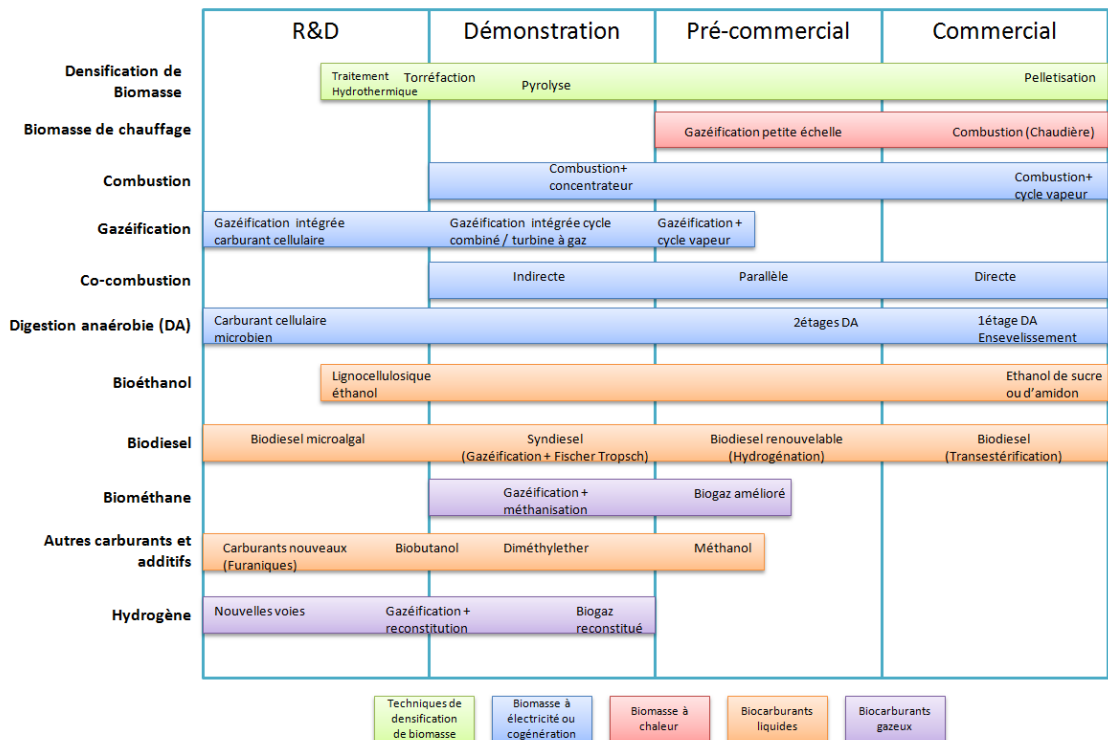


Figure I-6: Etat des principales technologies de transformation des biomasses en bioénergie (IAE Bioenergy ; E4tech 2009)

Mais préalablement à la digestion anaérobie de biomasses conduisant à un vecteur énergétique gazeux, le biométhane, (Figure I-7), ce sont essentiellement la production de bioéthanol à partir de sucres et biodiesel par transestérification des huiles végétales qui sont les plus avancées au plan technologique et industriel pour la production de biocarburants.

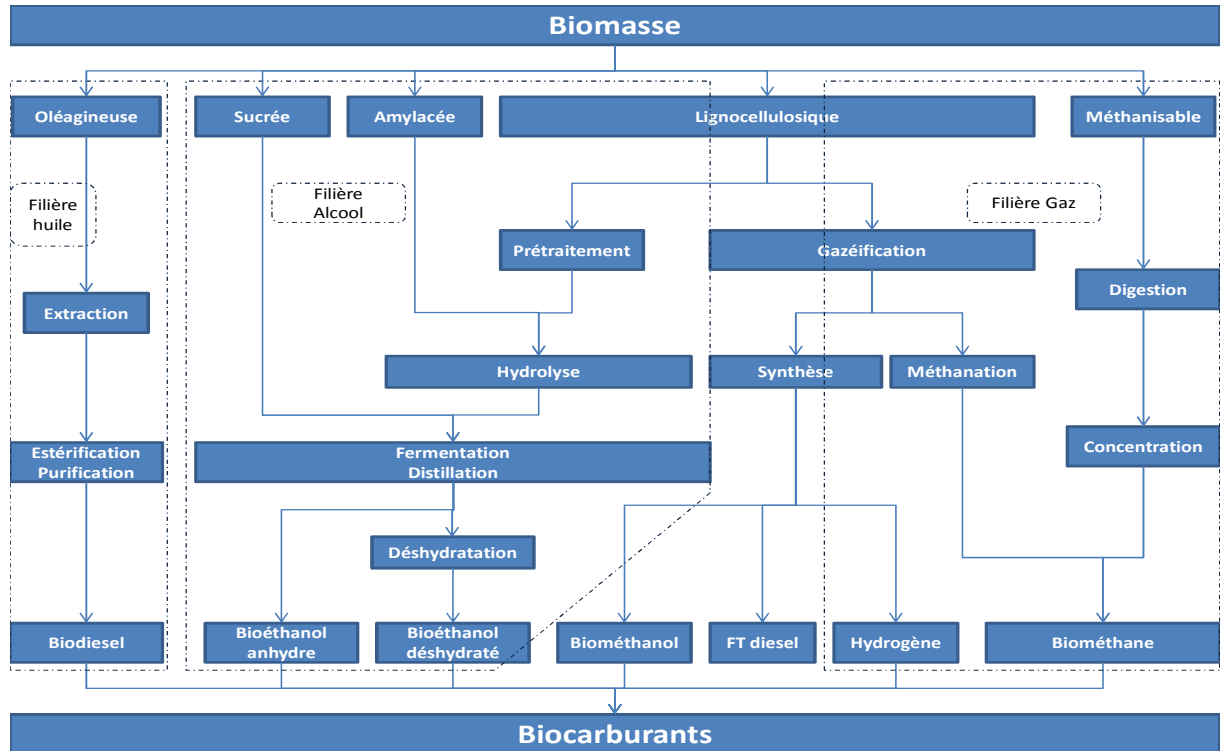


Figure I-7: Voies de transformation de la biomasse en biocarburants

Ils sont largement apparus commercialement dans les usages de carburant liquide pour le transport, mais avec une nette prédominance pour le bioéthanol (Figure I-8), dont la production mondiale devrait quadrupler à l'horizon 2015.

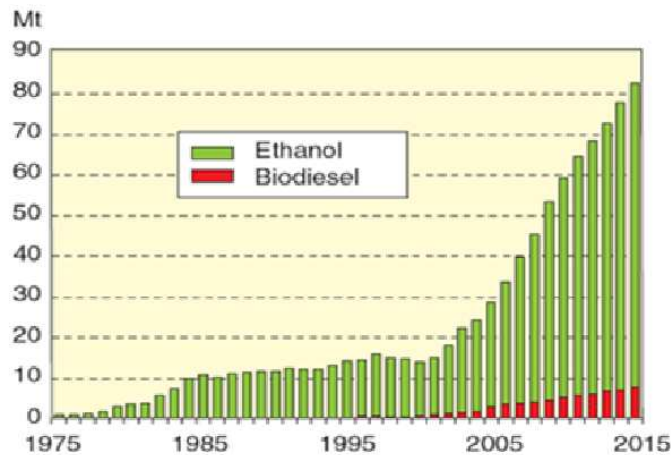


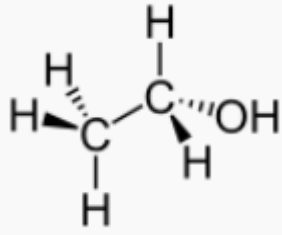
Figure I-8: Évolution de la production de biocarburants dans le monde depuis 30ans et prévision jusqu'en 2015 (Source: Licht and Berg, 2006)

I.3 Le bioéthanol

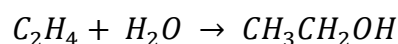
I.3.1 La fermentation éthanolique à partir des sucres

A la différence des biodiesels, qui sont des mélanges d'esters gras de longueurs différentes correspondant à la composition en acide gras de l'huile végétale transformée (C₁₆ à C₁₈), le bioéthanol est un composé chimique pur, l'alcool éthylique, de formule brute C₂H₆O (Tableau I-3). Il diffère en cela aussi des essences qu'il remplace comme carburant, qui sont des « mélanges » d'hydrocarbures de formule brute C_nH_m (C₅ à C₁₀), ne comportant pas d'atome d'oxygène.

Tableau I-3: Caractéristiques de l'éthanol

Nom IUPAC	Ethanol
Synonymes	Alcool éthylique EtOH
Formule brute	C ₂ H ₆ O
Formule développée	
N° CAS	64-17-5
Masse molaire	46.0684 ± 0.0023 g.mol ⁻¹
Densité (à 20°C)	789 g.l ⁻¹
Température de fusion	-114°C
Température d'ébullition	78.4°C

L'éthanol peut être synthétisé par hydratation catalytique de l'éthylène :



Mais l'appellation bioéthanol est réservée à l'éthanol obtenu par fermentation alcoolique des sucres, selon le même procédé que l'alcool dit de bouche, issu de la fermentation de nombreuses matières riches en sucre (alcools de raisin, de grain, de fruit distillés). Le processus biochimique de synthèse de l'éthanol correspond alors à la dégradation du pyruvate formé par glycolyse du glucose, en acétaldéhyde (Figure I-9).

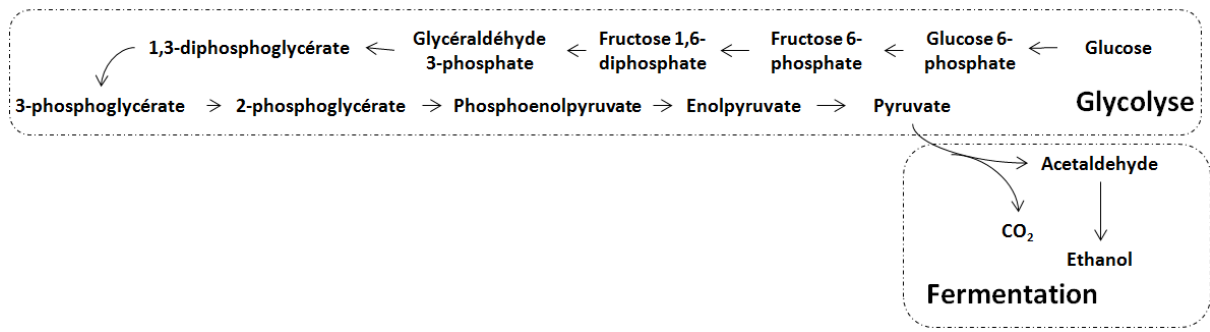
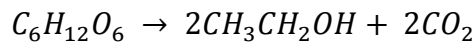


Figure I-9: Processus biochimiques de glycolyse et de fermentation

De nombreuses levures et bactéries sont capables de déclencher la fermentation du glucose (Toivola et al. 1984; Bourat 1992), dont les plus connus et exploités industriellement sont le genre *Saccharomyces* (*cerevisiae*, *carlsbergensis*, *uvarum*,...) et la bactérie *Zymomonas mobilis*.

Au bilan, une molécule de glucose se transforme en deux molécules d'éthanol et libère deux molécules de CO₂.

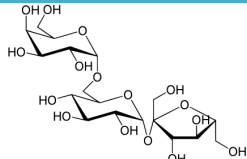
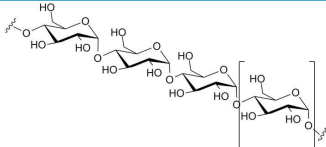
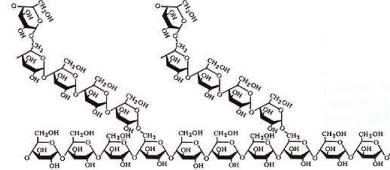
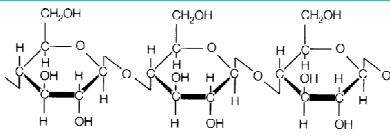
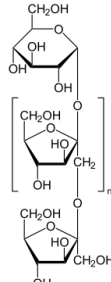


Les isomères de glucose, qu'il s'agisse des aldohexoses comme le mannose ou le galactose, ou des cétohexoses comme le fructose, sont aussi fermentescibles en éthanol.

En réalité, dans la matière végétale, en dehors des cycles métaboliques où ils sont sous forme monomère, les hexoses, et en particulier le glucose et le fructose, se retrouvent sous forme d'oligomères (saccharose, raffinose,...) ou de polymères (amidon, inuline,...) où ils jouent le rôle de réserve énergétique pour la plante, ou sous forme polysaccharidique de structure, comme c'est le cas pour la cellulose (Tableau I-4).

Tableau I-4: Quelques exemples d'oligosaccharides et de polysaccharides et la nature de leurs liaisons osidiques

Nom	Structure	Nature liaison osidique
Maltose		D-glucopyranosyl-(α1→4)-D-glucopyranose
Cellobiose		D-glucopyranosyl-(β1→4)-D-glucopyranose
Saccharose		D-glucopyranosyl-(α1↔β2)-D-fructofuranoside

Nom	Structure	Nature liaison osidique
Raffinose		D-galactopyranosyl-($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-glucopyranosyl-($\alpha 1 \rightarrow 2$)-D-fructofuranoside
Amylose		[D-glucopyranosyl-($\alpha 1 \rightarrow 4$)-D-glucopyranoside] _n
Amidon		
Amylopectine		[D-glucopyranosyl-($\alpha 1 \rightarrow 4$)-D-glucopyranoside] _n et D-glucopyranosyl-($\alpha 1 \rightarrow 6$)-D-glucopyranoside
Cellulose		[D-glucopyranosyl-($\beta 1 \rightarrow 4$)-D-glucopyranoside] _n
Inuline		[D-fructofuranosyl-($\beta 2 \rightarrow 1$)-D-fructofuranoside] _n

La fermentation de ces sucres en éthanol nécessite alors une étape d'hydrolyse, couramment appelée saccharification, pour libérer les formes monomères. Cette étape d'hydrolyse qui consiste en la rupture de la liaison osidique associant les monomères par addition d'une molécule d'eau (Figure I-10), peut être menée en catalyse acide ou enzymatique.

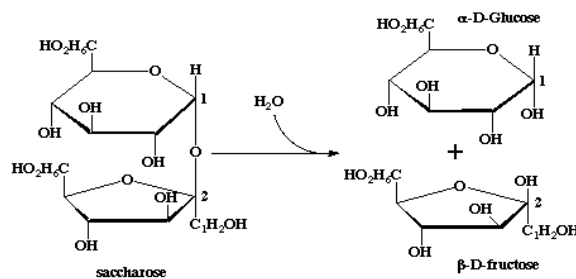


Figure I-10: Hydrolyse du saccharose

Dans le premier cas, les conditions opératoires doivent être adaptées à la force de la liaison osidique associant les monomères (Tableau I-5), en limitant les réactions de dégradation de ces sucres (formation d'anhydrides, cyclodéshydratation et formation de composés

furaniques, formation de produits colorés, d'humines et de produits de condensation, de mélanoïdines et d'hétérocycles par réaction de Maillard en présence d'amines)(Ikan 1996).

Tableau I-5: Conditions opératoires d'hydrolyse acide en fonction de la nature des liaisons osidiques

Nature liaison osidique	Conditions hydrolyse acide				
	Température	Concentration	Temps	Pression	Références
Saccharose	160-200°C	H ₂ SO ₄ (0,1-2% (m/m))	3-12min	1	(Bower et al. 2008)
Amidon	132°C	H ₂ SO ₄ (2% (m/m))	40min	1	(C.H. Choi and Mathews 1996)
Inuline	80°C	H ₂ SO ₄ (pH:2)	40min	1	(Thuesombat et al. 2007)
Cellulose	150-240°C	H ₂ SO ₄ (0,4-1% (m/m))	1-45min	1-20bars	(Faith 1945; E. E. Harris and Beglinger 1946; Thompson and Grethlein 1979; J. F. Harris et al. 1985)
	25-90°C	HCl (40% (m/m))	-	-	(Bergius 1937; Kusama 1960; Antonoplis et al. 1983; Rinaldi and Schüth 2009)

Dans le second cas, permettant de travailler dans des conditions douces préservant la structure des sucres, les enzymes doivent être adaptées à la configuration et l'encombrement stérique de la liaison osidique ciblée. L'hydrolyse enzymatique du saccharose, plus connue sous le nom d'inversion dans l'industrie sucrière, est bien connue (Bowski et al. 1971) et les enzymes appelées invertases (EC 3.2.1.26) sont identifiées. De même celle de l'amidon a été largement étudiée et les enzymes de type amylase (α -amylase (EC 3.2.1.1), β -amylase (EC 3.2.1.2), γ -amylase (EC 3.2.1.3)) sont bien identifiées. Le procédé d'hydrolyse enzymatique qui s'applique aux plantes riches en amidon comme le maïs et les céréales est relativement simple et bien maîtrisé. Il procède en deux étapes : la première consiste en la liquéfaction de l'amidon pendant 1h à 105°C à pH 6-7, grâce à des α -amylases thermostables en présence de Ca²⁺. La deuxième étape met en œuvre des amyloglucosidases à 60°C et pH 5 pendant 4h qui hydrolysent l'amidon liquéfié en glucose. Les inulinases (endo-inulinases (EC 3.2.1.7) et exo-inulinases (EC 3.2.1.80), dont les conditions optimales sont : pH : 5±0,5 et T° : 50±5°C) utilisées pour hydrolyser l'inuline présente dans des matières telles que l'agave, et produire des sirops de fructose, sont également bien connues (J. R. Rocha et al. 2006). Par contre l'hydrolyse enzymatique de la cellulose s'avère nettement plus difficile, d'autant plus que son accessibilité pour les enzymes sera perturbée par les autres constituants des parois cellulaires. Elle a fait l'objet de nombreux travaux de recherche sur lesquels nous reviendrons dans un paragraphe ultérieur, mais cette difficulté explique, que bien que constituée quasi exclusivement de glucose, la cellulose n'ait pas été considérée comme un sucre fermentescible dans les procédés de fermentation.

Ainsi, si la molécule finale est la même pour tous les sucres lors de l'étape de fermentation proprement dite, il sera nécessaire d'adapter le procédé de transformation à la nature de la matière première et aux sucres qu'elle contient.

I.3.2 Les procédés de production de bioéthanol

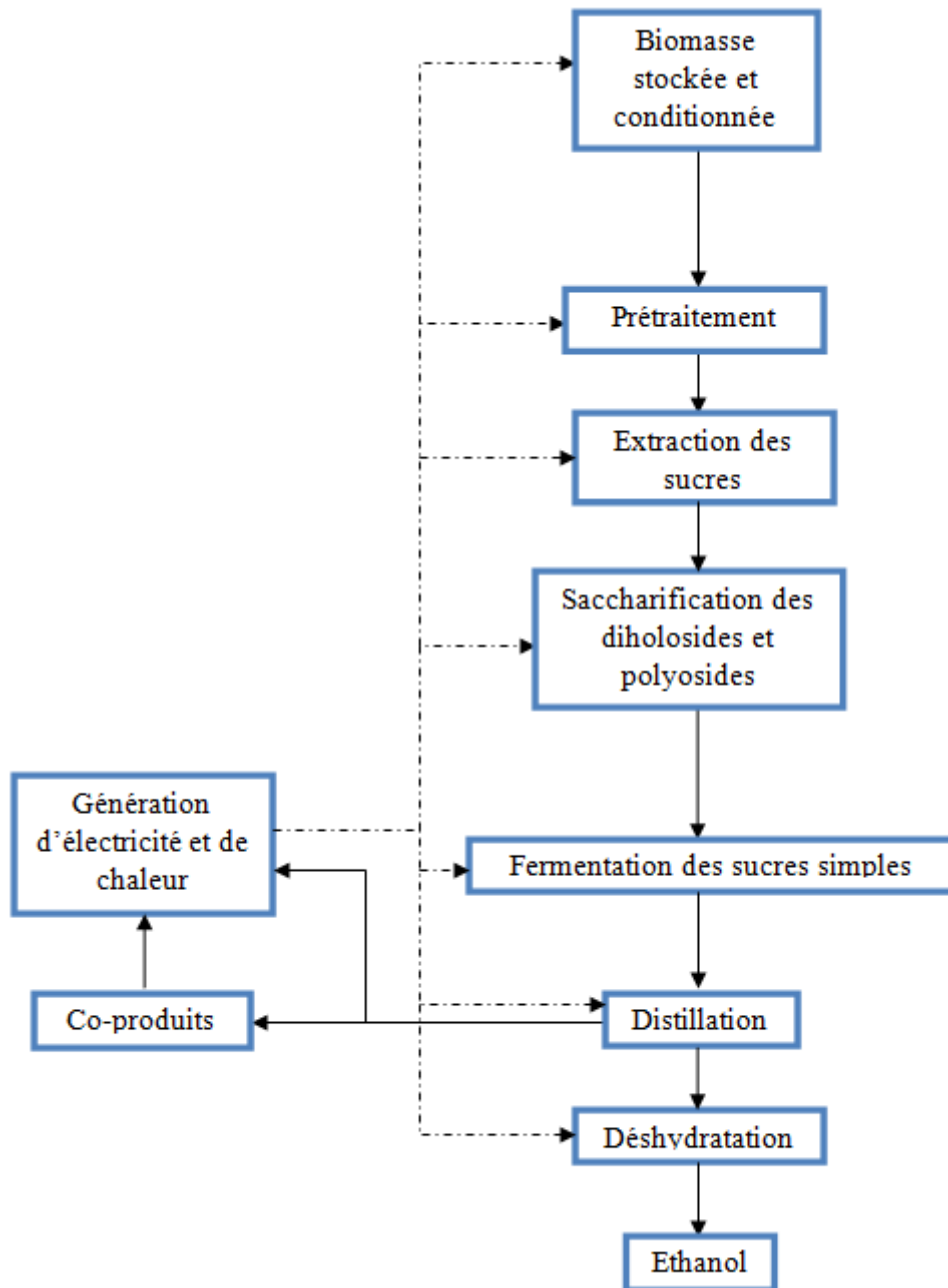


Figure I-11: Procédé de fabrication de bioéthanol

De la biomasse au bioéthanol, le processus de fabrication comporte les étapes suivantes (Figure I-11) :

- La récolte, le conditionnement et le stockage de la matière :

La matière est récoltée et conditionnée en fonction de ses caractéristiques intrinsèques et de la nature des organes qui contiennent les sucres fermentescibles (racine, tige, feuille, grain, etc). Cette étape doit être adaptée à chaque matière pour obtenir un rendement en sucre maximum. Si son utilisation ne se fait pas de suite après la récolte, le séchage voire l'ensilage en conditions contrôlées est nécessaire pour une préservation de la matière pendant le stockage.

- Le prétraitement et l'extraction des sucres

En début de procédé, une étape de prétraitement est nécessaire pour préparer la matière à la saccharification puis à la fermentation. Il peut ne s'agir que d'un broyage/pressage comme pour le cas de la canne à sucre (saccharose) ou de l'agave (inuline), dans le but d'en extraire le jus sucré ou bien d'une extraction liquide/solide comme dans le cas de la betterave (saccharose) ou du grain de maïs ou de blé (amidon). Dans le cas bien plus complexe des matières lignocellulosiques elle devient l'étape prépondérante, responsable du déroulement optimal des phases suivantes. Le but du prétraitement est de mettre la matière sous une forme déstructurée, dont les sucres fermentescibles sont le plus accessible possible pour assurer l'hydrolyse de ces polyosides.

- La saccharification

Etape indispensable pour transformer les polyosides en sucres simples fermentescibles, elle nécessite l'apport d'enzymes produites industriellement qui vont hydrolyser ces polymères en monomères. La saccharification amylolytique est bien connue et est assez simple et rapide à réaliser. L'amidon se liquéfie et se dégrade facilement grâce aux α -amylases. Cette biotechnologie s'est développée à l'échelle industrielle dans le monde entier depuis plusieurs décennies. La saccharification cellulolytique est quant à elle bien plus complexe et longue. Malgré de nombreuses recherches portant sur le sujet, la cellulose est difficilement accessible dans la matrice fibreuse par les enzymes et ces dernières coûtent encore trop cher. Les développements à l'échelle industrielle de cette technologie sont encore à l'étude (Gottschalk, Oliveira, and Bon 2010).

- La fermentation

Connue depuis des millénaires la fermentation qui suit l'hydrolyse utilise les microorganismes comme les levures, bactéries ou moisissures pour transformer les sucres libérés par les enzymes lors de la saccharification en éthanol. Gay-Lussac définit le rendement théorique, nommé « le rendement de Gay-Lussac » à partir de l'équation stœchiométrique suivante :



Le rendement de Gay-Lussac équivaut à 51,1% d'éthanol produit par rapport au glucose initial.

Pasteur précisa plus tard que 3% du glucose était transformé en glycérol, 0,5% en acide succinique, 0,5-0,8% en huiles de fusel et 0,8-1% utilisés pour le développement et le maintien des microorganismes. Ce qui ramène le rendement à 48,4g d'éthanol produit pour 100g de glucose, soit 94,7% du rendement théorique.

Le rendement atteint généralement à l'échelle industrielle est d'environ 90-92% du rendement théorique et les concentrations en éthanol des milieux atteignent entre 8 et 15%.

Dans certains cas la fermentation peut être couplée à la saccharification pour permettre de réduire le temps du procédé et d'éviter les problèmes d'inhibition des enzymes dus à l'accumulation de glucose dans le milieu (Mandels and Reese 1965; Xiao et al. 2004). Dans ce cas le procédé se nomme SSF pour Simultaneous Saccharification and Fermentation, ou saccharification et fermentation simultanées, contrairement au SHF pour Separate Hydrolysis and Fermentation ou hydrolyse et fermentation séparées (Alfani et al. 2000). Cependant la SSF pose le problème d'adaptation de la température et du pH. Ces deux facteurs sont cruciaux pour l'hydrolyse et la fermentation, et doivent prendre des valeurs optimales qui diffèrent pour les enzymes et pour les microorganismes fermenteurs. Dans le cas de la SSF il est nécessaire de trouver des valeurs « de compromis » permettant à l'hydrolyse et à la fermentation de se dérouler simultanément mais forcément de manière moins efficace ce qui conduit généralement à un rendement plus faible en glucose et donc en éthanol (Hahn-Hägerdal et al. 2007; Rudolf et al. 2008).

- La distillation

La distillation permet ensuite la concentration de l'éthanol contenu dans les vins de fermentation grâce à l'utilisation de colonnes à distiller. Cela permet de passer d'une liqueur à environ 10% d'éthanol à de l'alcool, pur à 96 %.

- La déshydratation

L'éthanol est ensuite déshydraté sur tamis moléculaire ou par pervaporation. L'éthanol obtenu est alors dit anhydre à 99,8%.

I.3.3 Production industrielle de bioéthanol première génération

Le bioéthanol est actuellement le biocarburant le plus produit au monde avec plus de 74 milliards de litres en 2009. Ce chiffre est essentiellement le fait des Etats-Unis (55%) où l'essence contient plus de 10 % de bioéthanol, principalement obtenu à partir de maïs, et du Brésil (33%) où le bioéthanol de canne à sucre couvre 22 % des besoins nationaux en carburant. Avec une production de 3,7 milliards de litres en 2009, l'UE se positionne au

troisième rang mondial. Plus récemment, l'Asie, en particulier la Chine, la Thaïlande et l'Inde, s'est aussi lancée dans la production de bioéthanol carburant à grande échelle et compte parmi les plus gros potentiels de production dans les années à venir. En 2009, la production de bioéthanol-carburant en Chine a dépassé les 2 milliards de litres, plaçant ainsi le pays au quatrième rang mondial, derrière l'UE (Figure I-12).

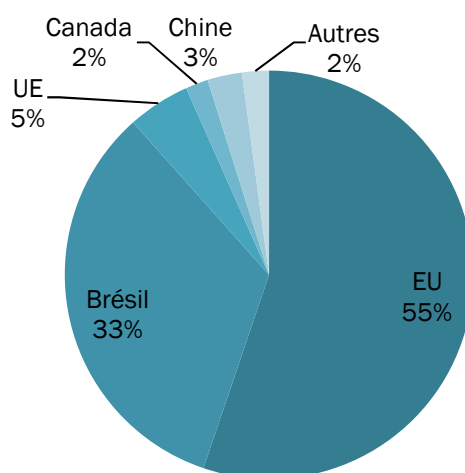


Figure I-12: Répartition de la production mondiale de bioéthanol en 2009 (Sources : eBio, UEPA, EurObserv'ER)

Si l'UE figure à l'heure actuelle au troisième rang mondial derrière les Etats-Unis et le Brésil, sa production est plus faible d'un facteur 10 environ. Cependant l'UE augmente significativement sa production depuis ces dix dernières années avec comme principaux acteurs la France (25 % de la production européenne), l'Allemagne, l'Espagne, la Suède, la Belgique, l'Autriche, et la Hongrie. Elle a atteint en 2012 le chiffre de 5 milliards de litres produits (Figure I-13).

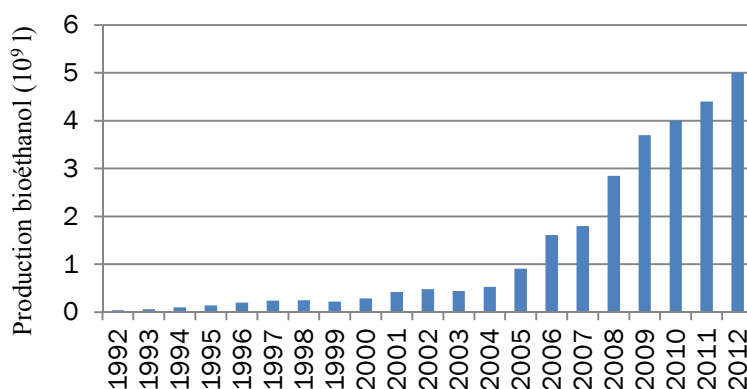


Figure I-13: Evolution de la production de bioéthanol en UE (Sources : eBio, UEPA, EurObserv'ER)

Cette volonté de croissance sur le marché de l'énergie renouvelable, et en particulier dans le domaine de la valorisation de la biomasse, est cadrée par son engagement actuel de part la

directive 2003/30/EC. Cette directive promeut les biocarburants dans les transports et fixait aux états membres un objectif à atteindre en 2010 de 5,75% des ventes totales de carburants sur leur marché. La Commission Européenne a maintenant fixé l'objectif à 10% pour 2020 ce qui implique directement les membres de l'UE dans une politique de développement des biocarburants.

Pour le bioéthanol, cette politique de croissance pose évidemment la question de la ressource. Au regard des principales sources de sucres fermentescibles (saccharose, amidon) actuellement exploitées par les procédés industriels, et des rendements en éthanol espérés (Tableau I-6), la disponibilité potentielle en bioéthanol serait considérable dans le monde (Tableau I-7).

Tableau I-6: Exemple de rendements obtenus à partir de différentes matières pour la production de bioéthanol de première génération (Ballerini 2006; Worldwatch Institute)

Matière végétale	Rendement agricole t/ha	Teneur en sucre de la plante % massique	Teneur en amidon du grain % massique	Rendement éthanol l/t matière végétale	Rendement éthanol m ³ /ha
Canne à sucre	80-90	14-15	-	85	7-8
Betterave	70-75	15	-	92	6-7,7
Sorgho sucrier	50-60	16	-	80	4-5
Maïs	7,2-8,5	-	72	400	2,9-3,4
Blé	7,2-8,3	-	62-65	370	2,5-3,1
Orge	5-7	-	56-59	320	1,6-2,2

Mais une telle projection ne tient pas compte de la concurrence des usages, en particulier pour l'alimentation humaine directe ou indirecte via l'alimentation animale. En effet, les parties des plantes actuellement utilisées pour la production d'énergie sont les mêmes organes de stockage exploités pour la production d'aliments. Avec un espace accessible pour la production agricole défini et limité, voire en régression dans certaines zones de la terre, et face à une population mondiale toujours croissante induisant des besoins alimentaires tout aussi croissants, ces deux objectifs de cultures alimentaire et énergétique sont voués à se confronter. La compétition créée entre ces deux usages a déjà fait accuser les biocarburants de tirer vers le haut les prix du maïs, du soja et du blé entre autre, en créant, plus ou moins artificiellement, une situation de pénurie. Cet impact sur la volatilité des prix pour l'alimentation cause beaucoup de préoccupations sur l'avenir de la situation de certaines populations, et a fait remettre en question le devenir des biocarburants et en particulier du bioéthanol.

Le bioéthanol, procédés de production et prétraitements

Tableau I-7: Production mondiale et des dix plus gros pays producteurs de canne à sucre, betterave sucrière, sorgho sucrier, maïs et blé en 2011 et disponibilité potentielle en bioéthanol correspondant (Source : FAOSTAT)

Canne à sucre (10 ⁶ .t)		Betterave sucrière (10 ⁶ .t)		Sorgho sucrier (10 ⁶ .t)		Maïs (10 ⁶ .t)		Blé (10 ⁶ .t)	
Brésil	734	Russie	48	Inde	7	USA	314	Chine	117
Inde	342	France	37	Nigeria	7	Chine	193	Inde	87
Chine	115	USA	26	Mexique	6	Brésil	56	Russie	56
Thaïlande	96	Allemagne	25	USA	5	Argentine	24	USA	54
Pakistan	55	Turquie	16	Argentine	4	Ukraine	23	France	38
Mexique	50	Pologne	12	Ethiopie	4	Inde	21	Australie	27
Philippines	34	Chine	11	Chine	2	Mexique	18	Canada	25
USA	27	Royaume-Uni	8	Australie	2	Indonésie	18	Pakistan	25
Australie	25	Egypte	7	Brésil	2	France	16	Allemagne	23
Argentine	25	Pays-Bas	6	Burkina Faso	1	Roumanie	12	Kazakhstan	23
Monde	1 794	Monde	272	Monde	54	Monde	883	Monde	704
Disponibilité potentielle en bioéthanol (10 ⁹ .l.an ⁻¹)	152	Disponibilité potentielle en bioéthanol (10 ⁹ .l.an ⁻¹)	25	Disponibilité potentielle en bioéthanol (10 ⁹ .l.an ⁻¹)	4	Disponibilité potentielle en bioéthanol (10 ⁹ .l.an ⁻¹)	353	Disponibilité potentielle en bioéthanol (10 ⁹ .l.an ⁻¹)	260

Par ailleurs, un problème inhérent à l'exploitation de la biomasse énergétique est son coût d'accessibilité : le coût matière première représenterait ainsi 75% du coût total de production d'éthanol (Gnansounou and Dauriat 2005; Gnansounou and Dauriat 2010). De plus, les études d'analyse de cycle de vie menées sur les biocarburants ont mis en évidence que si le bioéthanol obtenu à partir de canne à sucre contribuait peu à l'émission de gaz à effet de serre, il n'en était pas de même pour les autres sources de bioéthanol (Figure I-14).

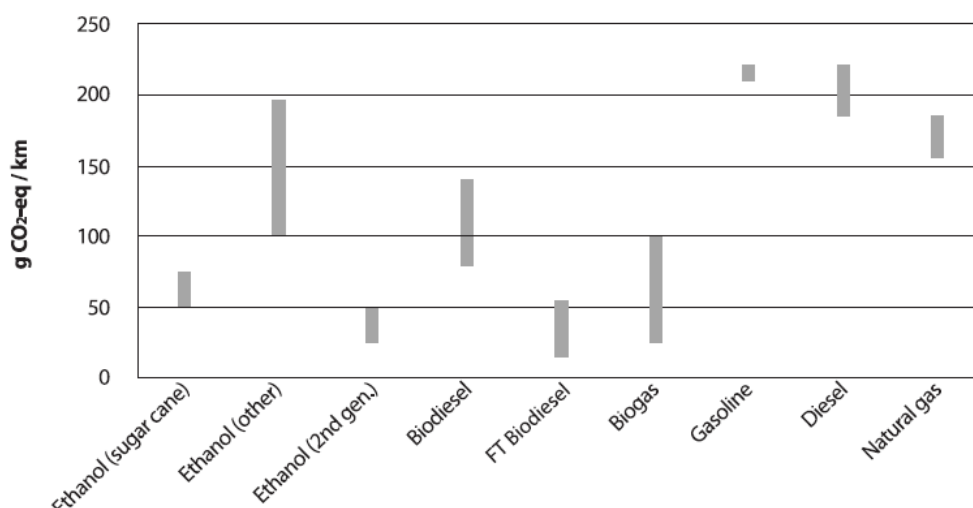


Figure I-14: Amplitude des émissions de GES pour différents types de biocarburants utilisés dans les automobiles. Sources : IEA Bioenergy 2011 tiré de (Cherubini et al. 2009)

Enfin, l'exploitation incomplète de la plante, générant des déchets et des rejets non valorisables, est de moins en moins compatible avec la nécessité d'intensification des procédés et d'économie du carbone, pour faire face à la pénurie annoncée des matières premières.

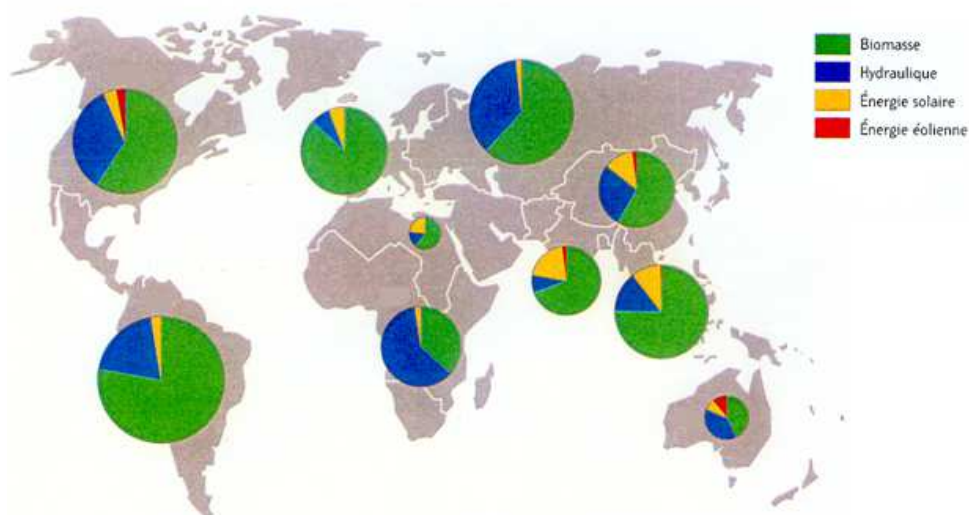
A partir de ces différents constats, le concept de raffinerie du végétal s'est peu à peu imposé comme une solution durable. Ouvert à la valorisation de tous types de biomasses, il vise à une valorisation totale de la plante en s'adaptant aux usages complémentaires des différentes fractions constitutives, et en recherchant un point d'équilibre économique compatible avec une minimisation des impacts environnementaux. Dans le cas de la production de biocarburants et de bioénergie, cela s'est traduit par la mise en place d'une stratégie de recherche et de développement de nouveaux procédés de transformation, dits de seconde et troisième génération, visant à exploiter les fractions de la biomasse non utilisées à des fins alimentaires. Pour la production de bioéthanol, la fraction lignocellulosique des plantes est devenue la cible prioritaire pour ces procédés de seconde génération.

I.4 La biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol seconde génération

I.4.1 Disponibilité de la biomasse lignocellulosique

La production primaire nette annuelle de biomasse lignocellulosique est estimée à 170Gtms.an⁻¹ (Gigatonnes de matière sèche annuelle)(Chartier and Meriaux 1980). Le réservoir mondial quant à lui contient un stock estimé à environ 1800 Gtms. La production primaire représente le potentiel d'énergie renouvelable utilisable annuellement, tandis que le stock fixe l'inventaire mondial qu'il faut maintenir pour éviter tout impact sur l'effet de serre (Claudet 2001).

Les processus de dégradation naturels et le manque de faisabilité technico-économique de la récupération des matières rendent près de 90% de cette biomasse non atteignables. Les 5% à 10% restants, correspondant donc à des volumes compris entre 8,5 et plus de 30 Gtms/an, sont potentiellement mobilisables (Hoogwijk et al. 2003; Hoogwijk 2004; Ballerini 2006). Pour comparaison, la répartition terrestre du potentiel mobilisable des énergies dites renouvelables est représentée sur la Figure I-15.



La biomasse y apparaît très nettement comme la première ressource renouvelable potentielle terrestre. Malgré une forte dominance du continent sud américain, sa distribution entre les différents continents est relativement équitable.

La biomasse lignocellulosique à vocation énergétique à trois origines principales : les résidus forestiers et de l'industrie du bois, les résidus agricoles, et les cultures énergétiques (Tableau I-8).

Tableau I-8: Potentiel mobilisable des différents types de biomasse lignocellulosique (Sources : Hoogwijk 2004; Ballerini 2006)

Type de biomasse lignocellulosique	Potentiel mobilisable (Gtms)
Résidus forestiers et de l'industrie du bois	3,7 - 4,3
Résidus agricoles	8,6 - 8,9
Cultures énergétiques	1,2 - 13,2
Potentiel maximal	13,5 - 31

Les différentes cultures dédiées à la production de biomasse peuvent représenter en fonction de l'allocation de surface, un potentiel tout à fait significatif, elles peuvent être de trois types: annuelles (sorgho fibreux, triticales, luzerne, fétuque), pérennes herbacées (miscanthus, panic érigé) et pérennes ligneuses (taillis à (très) courte rotation de peuplier, saule, eucalyptus). Les coproduits agricoles et agroindustriels représentent aussi un gisement très important. Dans le cadre du projet Babéthanol (Babethanol FP7/2007-2013), une tâche a été consacrée à leur recensement en Europe, en Amérique du sud, centrale et au Mexique (<http://babethanol.com>).

I.4.2 Composition de la biomasse lignocellulosique

La composition de la biomasse lignocellulosique (Tableau I-9) est très variable, aussi bien d'une source à l'autre que pour une même espèce végétale, en fonction des zones et conditions de culture et de l'organe de la plante. Le taux d'humidité de la matière brute est compris, selon la croissance et la période de la récolte, entre 10 et 80%. Bien que pouvant contenir dans certains cas une proportion non négligeable de substances pectiques, la matière sèche de la biomasse lignocellulosique est composée majoritairement de cellulose, d'hémicelluloses et de lignines. Elle peut contenir un certain pourcentage de matière minérale pouvant atteindre des valeurs élevées (10 à 20%) dans certains cas.

Tableau I-9: Composition de la biomasse lignocellulosique de quelques espèces végétales Sources : (Sun and Cheng 2002; Godin et al. 2010)

	Cellulose (%)	Hémicelluloses (%)	Lignines (%)	Cendres (%)
Bois dur	30 - 60	12 - 40	18 - 30	< 1
Feuillus	38 - 49	19 - 26	23 - 30	< 1
Hêtre	43 - 47	20 - 34	21 - 24	< 1
Peuplier	39 - 45	16 - 28	21 - 28	< 1
Saule	33 - 60	12 - 25	18 - 22	< 1
Bois tendre	40 - 56	7 - 35	23 - 35	< 1
Conifères	40 - 45	7 - 14	26 - 34	< 1
Douglas	41 - 56	10 - 32	23 - 28	< 1
Epicéa	40 - 48	22 - 30	27 - 29	< 1
Pailles	28 - 48	20 - 38	3 - 23	2 - 20
Riz	28 - 40	23 - 30	4 - 16	15 - 20
Blé	29 - 41	26 - 37	16 - 21	4 - 9
Orge	31 - 48	20 - 30	10 - 15	5 - 7
Avoine	31 - 37	27 - 38	12 - 19	6 - 8
Seigle	33 - 40	27 - 30	3 - 20	2 - 5
Fétuque	32 - 35	24 - 32	4 - 6	8 - 10
Plantes à fibres	24 - 66	11 - 32	3 - 31	0 - 10
Canne à sucre	32 - 44	22 - 32	19 - 24	1 - 5
Bambou	26 - 43	15 - 26	21 - 31	1 - 5
Roseaux	44 - 45	20 - 21	22 - 23	3 - 4
Lin	43 - 47	16 - 26	21 - 23	5 - 6
Kénaïf	31 - 57	17 - 23	7 - 19	2 - 5
Jute	45 - 53	15 - 21	21 - 26	< 2
Agave	43 - 56	12 - 24	7 - 9	< 1
Sorgho	24-45	19 - 27	8 - 13	8 - 10
Maïs	24 - 41	22 - 29	3 - 9	5 - 6
Dactyle-luzerne	26 - 28	11 - 14	4 - 5	9 - 10
Chanvre	44 - 66	12 - 20	3 - 10	7 - 10
Herbes	22 - 49	0 - 50	5 - 30	3 - 14
Miscanthus	47 - 49	25 - 26	8 - 9	3 - 4
Panic érigé	35- 41	29 - 33	5 - 12	5 - 6
Topinambour	33 - 39	< 2	7 - 12	10 - 11
Consoude	22- 22	8 - 10	5 - 8	13 - 14
Alfa	33 - 38	27 - 32	17 - 19	6 - 8
Sabai	22 - 23	24 - 25	23 - 24	6 - 7

Ces trois composés polymères que sont la cellulose, les hémicelluloses et les lignines, et qui forment la majeure partie de la biomasse lignocellulosique, proviennent des parois cellulaires des végétaux (Brett and Waldron 1996) et prennent souvent le nom de fibres lignocellulosiques (Figure I-16).

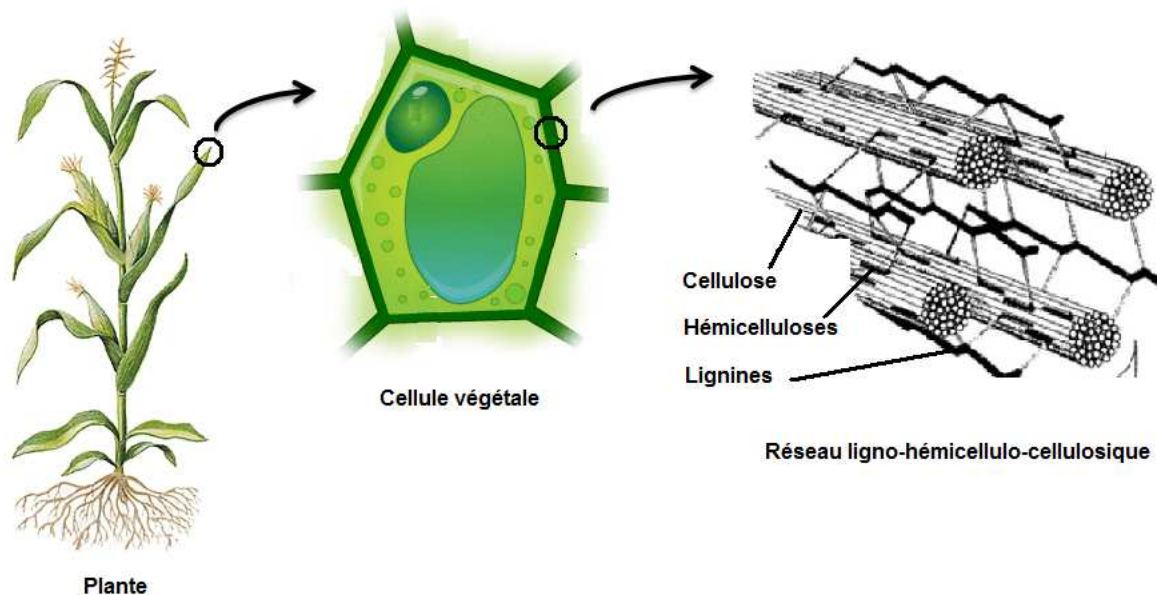


Figure I-16: Schéma de la provenance des fibres ligno-hémicellulosiques adapté de (Yinghuai, Tang, and S. 2013)

Dans ces parois, ces composés forment un réseau très complexe, où les différents polymères et d'autres composés sont entremêlés et inter-liés les uns aux autres (Figure I-17). Cette structure pariétale donne une certaine flexibilité aux cellules, mais reste néanmoins capable de les protéger des attaques externes.

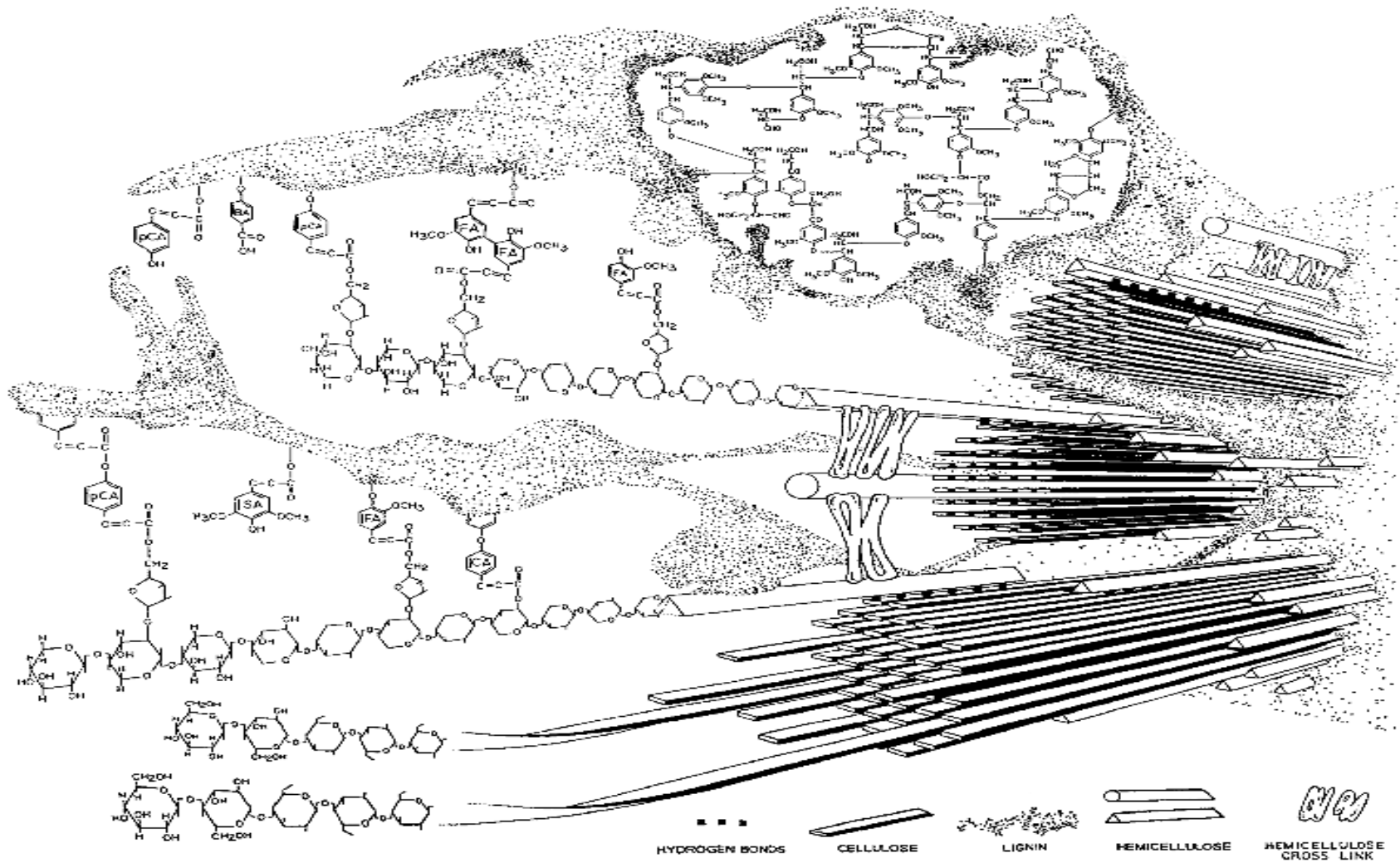


Figure I-17: Schéma des relations existantes entre les différents constituants au sein d'une paroi végétale (Bidlack, Malone, and Benson 1992)

I.4.2.1 La cellulose

Macromolécule caractéristique du règne végétal, la cellulose est bio-synthétisée par les végétaux, des microorganismes comme certaines bactéries et quelques animaux marins. Sa production est estimée à plus de $1,5 \cdot 10^{12}$ de tonnes annuelles (Klemm et al. 2005), ce qui en fait le composé organique le plus abondant sur Terre.

L'étude de sa structure et de ses caractéristiques fascine la science depuis près de deux siècles. En 1922, Staudinger introduisit la représentation structurale, encore aujourd'hui acceptée, de la cellulose (Hon 1994) (Figure I-18).

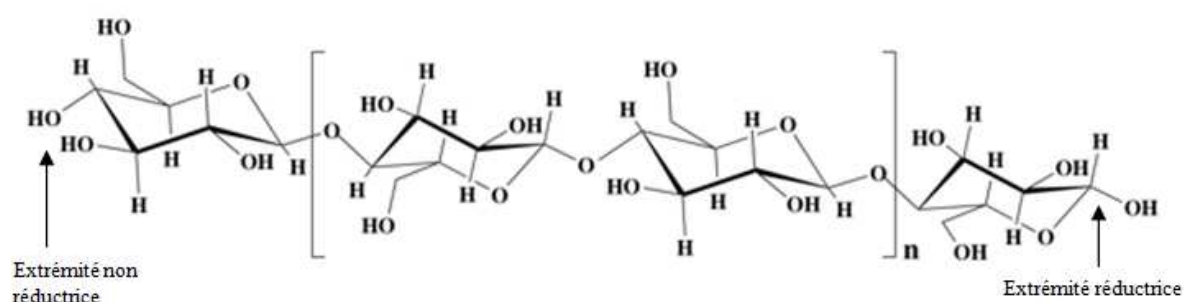


Figure I-18: Chaîne de cellulose

La cellulose est un homopolymère linéaire syndiotactique de formule brute $(C_6H_{10}O_5)_n$, dont le motif monomérique est le D-anhydroglucopyranose (AGU : « AnhydroGlucose Unit » en anglais). Le motif répétitif dans la chaîne linéaire est le cellobiose (dimère) (Fengel and Wegener 1984; Desvaux 2005) mesurant 1,03nm, et issu de la condensation de deux molécules de D-glucopyranose liés par la liaison osidique $\beta(1 \rightarrow 4)$ (Updegraff 1969; Crawford and Crawford 1980; Crawford 1981) (Figure I-18). Le nombre de répétition des AGU définit le degré de polymérisation (DP) de la cellulose. Ce polysaccharide linéaire homogène n'est pas ramifié contrairement à l'amidon et peut présenter des chaînes de longueur variable (DP) allant de quelques centaines de monosaccharides à plus d'une dizaine de milliers. La cellulose de la pulpe de bois, par exemple, a un DP compris entre 300 et 1700 alors que celle provenant de plantes herbacées ou synthétisée par des bactéries a un DP compris entre 600 et 10000 (Klemm et al. 2005). La solubilité des 1,4- β -glucanes est relative à leur DP (Y.-H. P. Zhang and Lynd 2004). Les oligomères constitués de 2 à 6 AGU sont solubles dans l'eau tandis que ceux composés de 7 à 13 AGU le sont partiellement dans l'eau chaude. Un réseau intermoléculaire dense lié par des liaisons hydrogènes, se constitue à partir de 30 AGU et forme des macromolécules dont les propriétés sont similaires à celles de la cellulose : Insolubilité dans la plupart des solvants et haute résistance aux agents chimiques et biologiques (Y.-H. P. Zhang and Lynd 2004; Percival Zhang, Himmel, and Mielenz 2006; Rinaldi and Schüth 2009).

D'un point de vue structurel, les unités de glucose anhydre se trouvent en conformation chaise et possèdent trois fonctions hydroxyles (deux alcools secondaires et un primaire) en position

équatoriale. A partir de ces fonction hydroxyles, des liaisons hydrogènes ($O3-H \cdots O5$) se forment au niveau intramoléculaire stabilisant les liaisons osidiques et conférant une conformation linéaire plate à la chaîne cellulosique (Hon 1994; Zugenmaier 2001). Des liaisons hydrogènes ($O6-H \cdots O3$) intermoléculaires entre les chaînes de cellulose se forment également associant les chaînes côte à côte et formant un feuillet plan (Figure I-19).

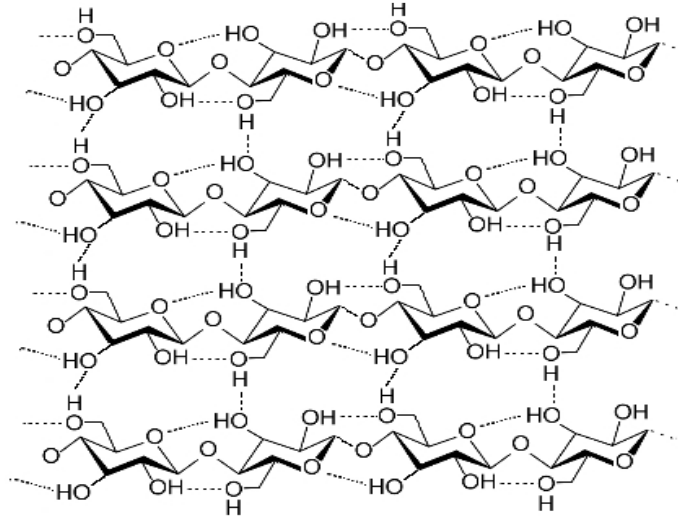


Figure I-19: Feuillet formé par plusieurs chaînes de cellulose liées entre elles par des liaisons hydrogènes

Un empilement de ces feuillets plans (Figure I-20), grâce aux forces de Van der Waals, forme un réseau cristallin, en 3 dimensions, et confère une structure fibrillaire dense à la cellulose nommée microfibrille (Zugenmaier 2001; Jarvis 2003). Ces microfibrilles s'associent elles-mêmes en fibres de cellulose (Figure I-21).

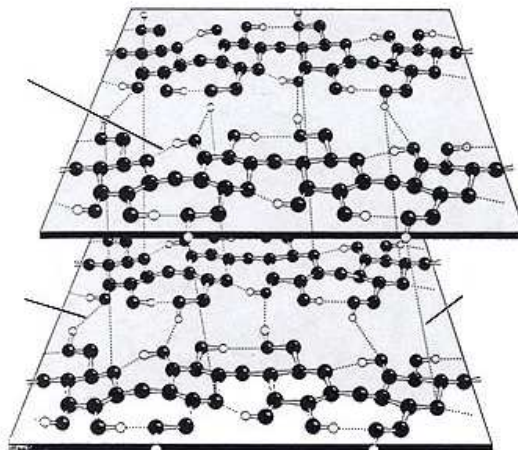


Figure I-20: Empilement de deux feuillets de cellulose

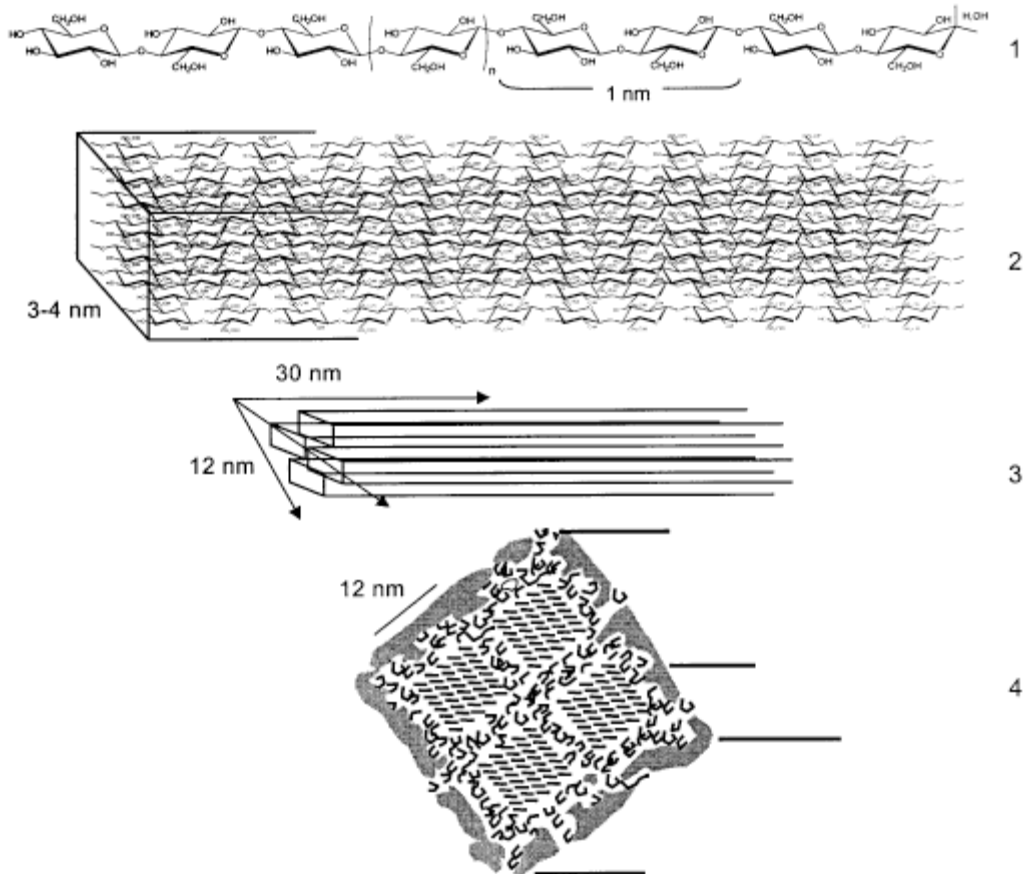


Figure I-21: Différents niveaux d'associations de chaînes de cellulose (1:chaîne linéaire, 2: Empilement de feuillets, 3: microfibrilles de cellulose, 4: microfibrilles de cellulose dans la matrice ligno-hémicellulocellulosique) (Ramos 2003)

Cette structure fibrillaire, et par voie de conséquence les liaisons hydrogènes, sont responsables en partie de la rigidité des parois végétales. Cette structure protège aussi les fonctionnalités chimiques de la cellulose, puisque sa demi-vie face à l'hydrolyse non catalysée à 25°C est estimée entre 5 et 8 millions d'années (Wolfenden and Snider 2001). Comparée à l'amidon, la cellulose est bien plus cristalline et résistante. En effet là où il suffit d'une température de 70°C dans l'eau pour que l'amidon cristallin devienne amorphe, la cellulose requiert une température de 320°C et 25MPa de pression (Deguchi, Tsujii, and Horikoshi 2006).

Différentes formes cristallines, déterminées par diffraction aux rayons X et absorption infrarouge, sont connues pour la cellulose (I_{α} , I_{β} , II, III_I, III_{II}, IV_I, IV_{II}) (O'sullivan 1997; Zugenmaier 2001; Jarvis 2003). Dans la nature la cellulose est synthétisée sous la forme dite de type I (I_{α} abondante dans les parois algales et bactériennes et I_{β} dans les parois végétales) où les chaînes sont orientées parallèlement les une aux autres. Sous l'action d'agents chimiques, la cellulose peut prendre d'autres formes cristallines. La régénération (dissolution et précipitation) de la cellulose de type I ou sa mercerisation dans l'hydroxyde de sodium mène à la cellulose de type II, dont les chaînes sont orientées antiparallèlement (Figure I-22).

Des liaisons hydrogènes intermoléculaires (O₂-H...O₆) se forment alors entre les feuillets rendant cette conversion plus stable, état confirmé par son irréversibilité.

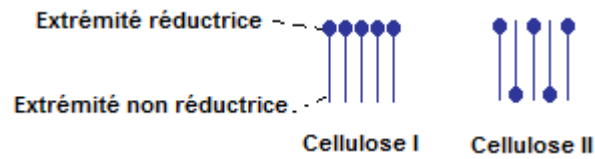


Figure I-22: Orientation des chaînes de cellulose de type I et II

Les formes III et IV sont obtenus par l'action d'agents chimiques (Perez and Mackie 2001) (Figure I-23).

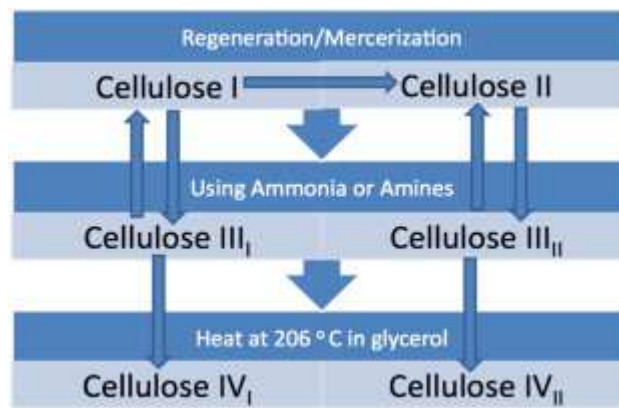


Figure I-23: Différentes étapes de transformation entre les différents types de cellulose (O'sullivan 1997)

Parmi les zones cristallines de la cellulose, des zones moins structurées (les zones amorphes) existent (Figure I-24). Les zones amorphes, de part leur structure désordonnée, sont plus sensibles aux attaques externes physiques et chimiques (Sugiyama, Persson, and Chanzy 1991; Laureano-Perez et al. 2005).

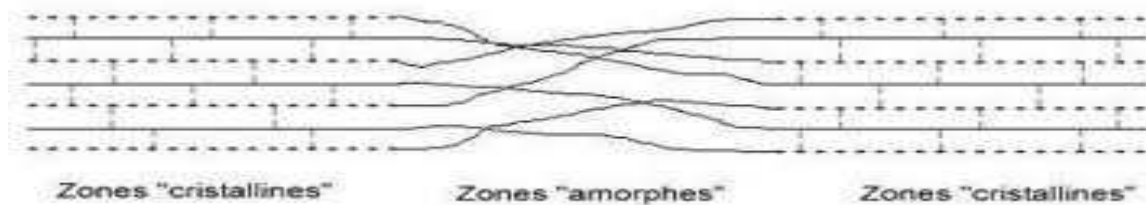


Figure I-24: Fibre de cellulose composée de zones cristallines et amorphes

I.4.2.2 Les hémicelluloses

Se situant en troisième place après la cellulose et la lignine en termes d'abondance sur Terre, les hémicelluloses sont une classe de polysaccharides hétérogènes présents dans presque tous les végétaux. De structure linéaire ramifiée, elles sont composées de différents monosaccharides (Figure I-25), dont des pentoses (xylose, arabinose) et des hexoses (glucose, mannose, galactose, rhamnose) (Bauer et al. 1973; Barbosa et al. 1992; G. Garrote, Dominguez, and Parajo 1999; Gil Garrote, Dominguez, and Parajó 1999; Ogier et al. 1999; Runcang Sun, Lawther, and Banks 1996; R. C. Sun et al. 2000; McKendry 2002).

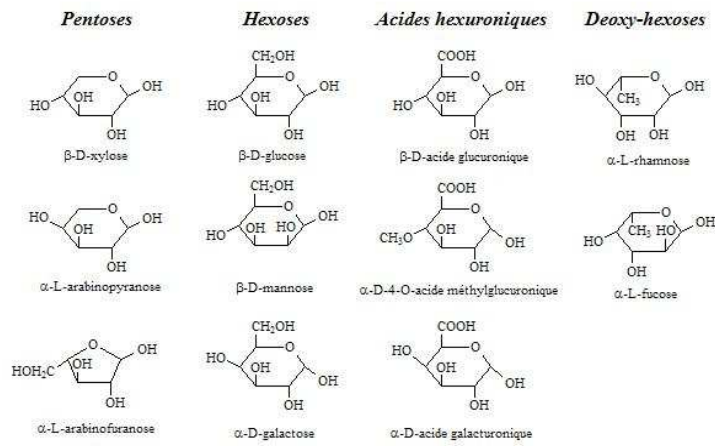


Figure I-25: Différents monosaccharides constitutifs des hémicelluloses

En présence majoritaire de D-pentose, les hexoses sont en quantité moindre. Des acides carboxyliques comme les acides mannuronique, glucuroniques et galacturonique peuvent être également présents. Le xylose est le principal monomère des xylanes, le mannose des mannanes et le galactose des galactanes (Ortwin Bobleter 1994).

Contrairement à la cellulose, les chaînes des hémicelluloses sont plus courtes et ramifiées (Figure I-26). Leur poids moléculaire est plus faible (Tableau I-10). D'enchaînement aléatoire leur structure est amorphe. Tout ceci en fait des chaînes polysaccharidiques moins résistantes que ce soit aux agents acides et basiques qu'aux attaques biologiques (Fengel and Wegener 1984; Saha 2003).

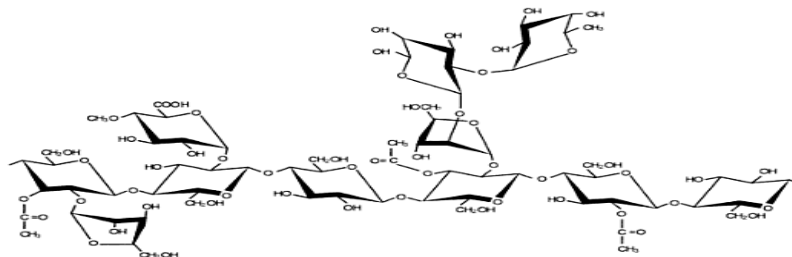


Figure I-26: Exemple de chaîne d'hémicellulose

Les hémicelluloses diffèrent dans leur composition en fonction de leur origine végétale (Tableau I-10 et Tableau I-11). Par exemple celles des conifères sont constituées majoritairement de glucomannanes alors que celles des pailles et herbes sont, elles, constituées principalement de xylanes.

Tableau I-10: Principaux types de polysaccharides constitutifs des hémicelluloses (Carpita and Gibeaut 1993; Ebringerová, Hromádková, and Heinze 2005; Girio et al. 2010)

Type de polysaccharide	Origine	Teneur (%/ms)	Squelette	Ramification	Liaison	Degré de polymérisation (DP)
Arabinogalactane	Conifères	1-3	β -D-Galp	β -D-Galp α -L-Araf β -L-Arap	β -(1→6) α -(1→3) β -(1→3)	100-600
Xyloglucane	Feuillus, Herbes	2-25	β -D-Glcp β -D-Xylp	β -D-Xylp β -D-Galp α -L-Araf α -L-Fucp Acétyl	β -(1→4) α -(1→3) β -(1→2) α -(1→2) α -(1→2)	-
Galactoglucomannane	Conifères	10-25	β -D-Manp β -D-Glcp	β -D-Galp Acétyl	α -(1→6)	40-100
Glucomannane	Conifères, Feuillus	2-5	β -D-Manp β -D-Glcp	-	-	40-70
Glucuronoxylane	Feuillus	15-30	β -D-Xylp	4-O-Me- α -D- GlcpA Acétyl	α -(1→2)	100-200
Arabinoxylane	Céréales	0,15-30	β -D-Xylp	α -L-Araf Feruloyl	α -(1→2) α -(1→3)	-
Glucuronoarabinoxylane	Herbes, Céréales	15-30	β -D-Xylp	α -L-Araf 4-O-Me- α -D- GlcpA Acétyl	α -(1→2) α -(1→3)	-
Homoxylane	Algues	-	β -D-Xylp	-	-	-

Tableau I-11: Compositions des hémicelluloses de certaines biomasses lignocellulosiques (%/ms) (Girio et al. 2010; Alonso Gutierrez 2005)

Matière première	Xyl	Ara	Man	Gal	Rha	Acide uronique	Groupe Acétyl
Eucalyptus	14-19,1	0,6-1	1-2	1-1,9	0,3-1	2	3-3,6
Paille d'orge	15	4	-	-	-	-	-
Noyau d'olive	2-3,7	1,1-1,2	0,2-0,3	0,5-0,7	0,3-0,5	1,2-2,2	-
Bagasse canne à sucre	20,5-25,6	2,3-6,3	0,5-0,6	1,6	-	-	-
Rafle maïs	28-35,3	3,2-5	-	1-1,2	1	3	1,9-3,8
Bagasse d'agave	22	5,5	-	5,5	-	-	-

Les hémicelluloses ont un rôle structural de pontage entre les microfibrilles de cellulose, la matrice ligneuse et les autres constituants de la paroi (Figure I-27 et Figure I-28).

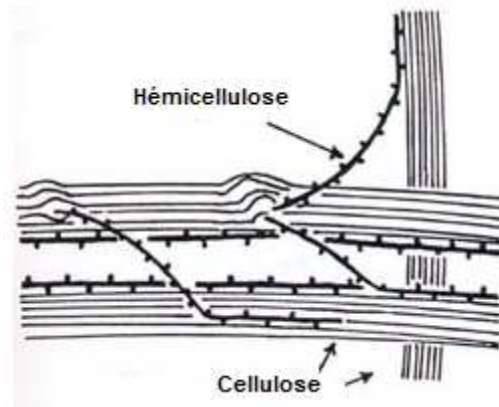


Figure I-27: Rôle de pontage des hémicelluloses entre les microfibrilles de cellulose (Dey and Harborne 1997)

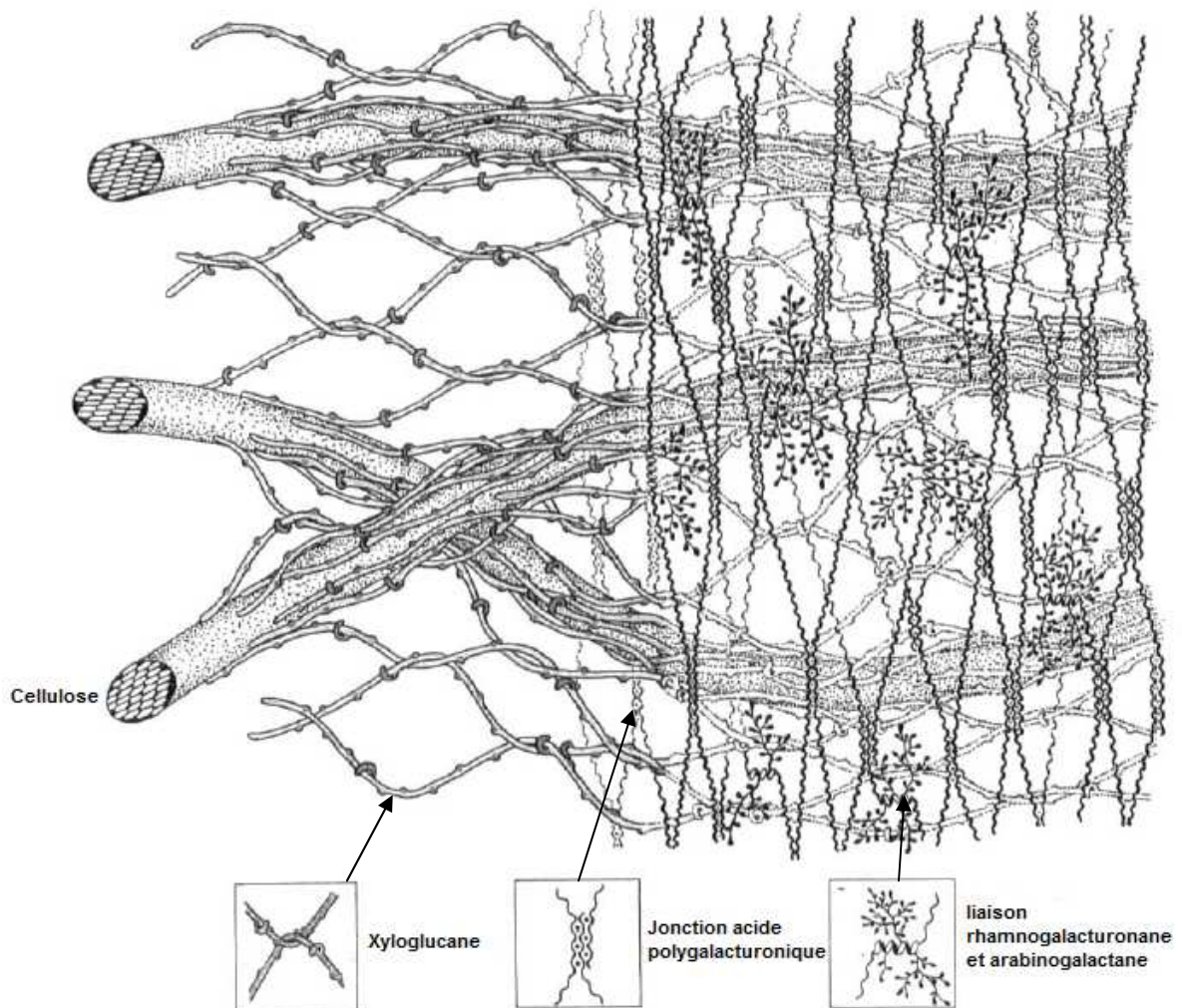


Figure I-28: Exemples de liaisons hémicellulosiques de pontage existantes (Carpita and Gibeaut 1993)

I.4.2.3 Les lignines

Troisième composant principal de la biomasse et deuxième bio-polymère le plus abondant sur Terre, les lignines sont des polymères phénoliques. Les lignines se trouvent aussi dans les parois végétales et leur confèrent rigidité, imperméabilité et résistance aux attaques microbiennes et à la décomposition. On parle de lignines au pluriel du fait de la variabilité des polymères existants même au sein de la même espèce végétal.

Hétéropolymères phénoliques insolubles composées d'unités de phénylpropane, il existe trois principales variations du monomère constitutif appelées monolignols : l'alcool coniférylique, l'alcool sinapylique et l'alcool *para*-coumarylique (Figure I-29). Ces monomères non glucidiques sont liés entre eux par différentes liaisons pour former des hétéropolymères variés (Hendriks and Zeeman 2009).

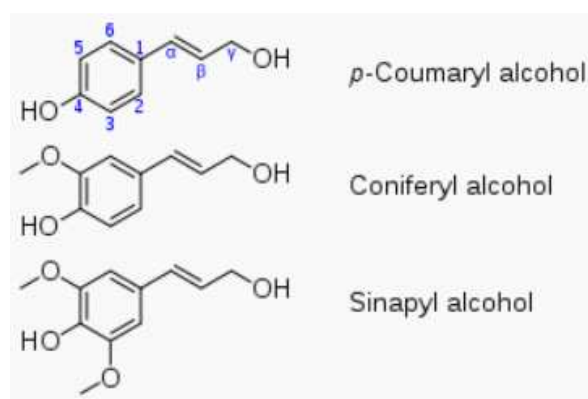


Figure I-29: Principaux constituants des lignines: les monolignols

La polymérisation des trois monolignols est aléatoire, non ordonnée et non répétitive (Figure I-30), ce qui a pour effet de produire des lignines complexes, hydrophobes et amorphes.

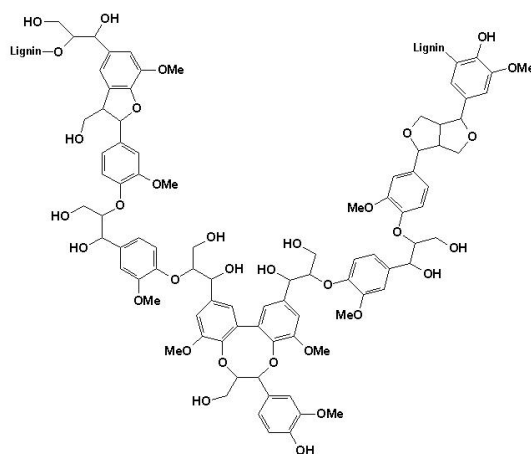


Figure I-30: Exemple de polymérisation de monolignols

Considérées comme “le ciment” des cellules végétales, les lignines sont liées aux hémicelluloses et aux microfibrilles de cellulose par des liaisons éther et ester et consolident la structure des parois végétales (Figure I-31) (J. Lee 1997; Ogier et al. 1999; McKendry 2002; Zhou et al. 2010). De part leur association avec la cellulose et leurs caractéristiques hydrophobe et antimicrobienne, les lignines sont considérées comme entravant la digestibilité de la biomasse (Avgerinos and Wang 1983; Chang and Holtzaple 2000).

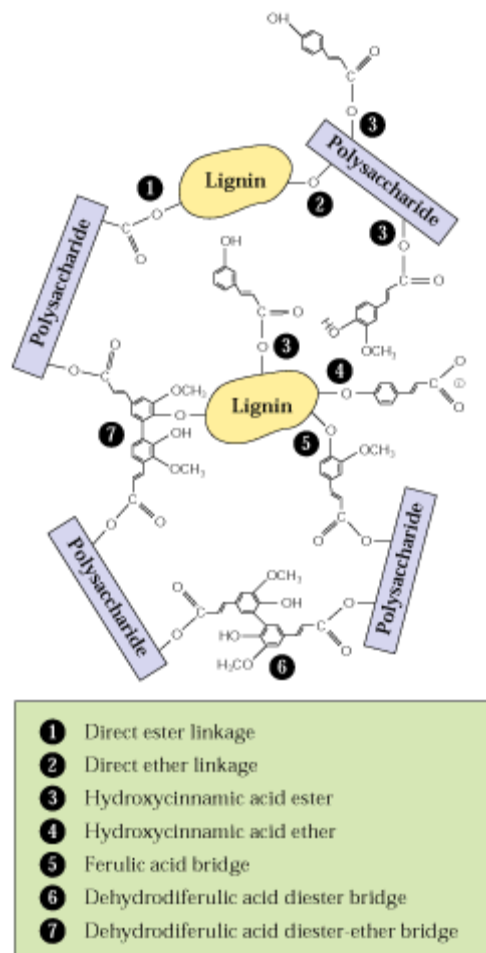


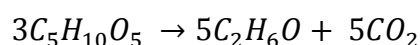
Figure I-31: Liaisons possibles entre les polysaccharides pariétaux et les lignines

I.4.3 Accessibilité de la biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol

Par sa disponibilité et sa composition chimique, la biomasse lignocellulosique est apparue à la fin du siècle dernier comme une ressource renouvelable accessible pour la production de bioéthanol (Solomon, Barnes, and Halvorsen 2007), avec la perspective du développement de procédés dits de seconde génération.

Constituée à plus de 40% en moyenne de cellulose, polyglucose quasiment pur, elle constitue un stock de glucose qui peut être estimé à 68Gtms/an, renouvelable annuellement. Bien qu'encore aujourd'hui réduite par des questions de mode de collecte et de surcoût à la récolte du produit agricole principal (exemple des tiges et rafles de maïs, des tiges de tournesol, des pailles de colza ou de soja,...), ou de la concurrence des usages traditionnels (litière pour animaux d'élevage dans le cas des pailles de blé, voire fourrage ou compléments pour l'alimentation animale, combustible pour la production d'énergie en chaudière par exemple pour l'huilerie de palme, la sucrerie de canne,...), l'existence de filière de production agricole et de transformation agroindustrielle permet d'estimer une accessibilité physique directe à ce stock d'équivalent glucose à plus de 5Gtms/an (Hoogwijk et al. 2003; Hoogwijk 2004; Ballerini 2006).

Cette évaluation du stock accessible ne tient pas compte de l'hypothèse de la culture de plantes dédiées à la production d'énergie par combustion comme c'est le cas du miscanthus ou des taillis à courte rotation. Ni de celle de l'exploitation des terres non cultivables pour l'agriculture mais nécessitant un entretien ou un aménagement pour la préservation des sols. A ce potentiel, il convient aussi d'ajouter celui des hémicelluloses, sous l'hypothèse d'une conversion possible des hexoses et surtout des pentoses qui les constituent. La conversion en éthanol des pentosanes a d'ailleurs fait l'objet de nombreux travaux (Girio et al. 2010) ces dernières années, en particulier pour la sélection de levures et bactéries performantes. Rappelons cependant que le rendement de conversion en éthanol est le même qu'à partir de glucose c'est-à-dire à 0,511g par gramme de xylose :



L'accessibilité économique de cette biomasse lignocellulosique pour la production de bioéthanol doit aussi être pondérée par la question de son coût. Bien que difficile à établir dans le cas général de la matière lignocellulosique, plusieurs éléments peuvent être donnés pour apprécier l'ordre de grandeur de leur valeur économique, dépendante des usages connus ou des applications en développement (Tableau I-12).

Tableau I-12: Exemples d'usages et de prix de différentes biomasses lignocellulosiques (Ademe 2011)

Biomasse lignocellulosique	Usage	Valorisation (€/t)
Coproduit de culture	Amendement organique et minéral	14-20
Pailles, tiges, feuilles céréales	Litière	20-50
	Complément fourrage	
Pailles, tiges Plante à fibre	Papier	50-200
Biomasse énergie	Granulat Combustible	200-350
Fibres matériau	Panneaux particules et fibres	50-160
	Panneaux isolants	
	Charge et renfort thermoplastique	
	Fibres techniques (longues)	

Il apparaît cependant, qu'à l'exception du cas des fibres lignocellulosiques possédant des caractéristiques spécifiques pour des applications à plus forte valeur ajoutée comme les fibres textiles par exemple, le coût de ces matières premières lignocellulosiques reste bien inférieur au coût des matières premières exploitées dans les procédés de transformation en bioéthanol de première génération. La majoration de ce coût lié au transport du site de récolte au site de stockage et de transformation est voisine pour les deux types de matières, avec cependant un surcoût pour les matières lignocellulosiques du fait de leur plus faible densité (0,2t/m³ pour une paille de céréales et 0,6t/m³ pour le grain par exemple) et de leur plus faible teneur en glucose (40% d'équivalent glucose dans une paille et 70% d'équivalent glucose dans un grain).

Dès lors, outre la localisation et le périmètre géographique d'une production de biomasse lignocellulosique, qui définit son accessibilité physique, sa teneur en cellulose et sa densité sous sa forme récoltée deviennent les premiers critères de choix pour leur sélection comme matière première des procédés de production de bioéthanol de seconde génération. Mais l'appréciation d'une accessibilité du gisement doit aussi tenir compte de deux autres points technico-économiques :

- D'une part, la cellulose, pas plus que les hémicelluloses, ne sont directement fermentescibles en éthanol : la cellulose doit être hydrolysée pour libérer le glucose, selon un processus de saccharification, analogue au cas de l'amidon, mais beaucoup plus difficile et coûteux. L'hydrolyse de la cellulose, que ce soit par voie chimique ou enzymatique a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux (Walker and Wilson 1991; Rinaldi and Schüth 2009). A la différence des hémicelluloses, pour lesquelles l'hydrolyse en conditions acide est toujours étudiée et pratiquée (Lavarack, Griffin, and Rodman 2002; Karimi, Kheradmandinia, and Taherzadeh 2006), l'hydrolyse acide de la cellulose est aujourd'hui une voie abandonnée au plan industriel, en raison des conditions opératoires drastiques qu'elle met en œuvre et des contraintes technologiques qu'elle impose. C'est la voie d'hydrolyse enzymatique qui est la plus préconisée, pour laquelle une très grande variété d'enzymes ont été et sont encore étudiées (Ryu and Mandels 1980; Gupta and Lee 2009; Gottschalk, Oliveira, and Bon 2010),

dont certaines sont produites, industriellement et actuellement disponibles sur le marché. Cependant leurs activités sont faibles (de l'ordre de $0,6 \text{ IU}\cdot\text{mg}^{-1}$) comparées à celles des amylases ($100 \text{ IU}\cdot\text{mg}^{-1}$) et il faut environ 40 à 100 fois plus de cellulases que d'amylases pour produire la même quantité de sucres et donc d'éthanol (Ingram et al. 1995; Duff and Murray 1996; Ogier et al. 1999; Merino and Cherry 2007; O'donohue 2008). Le coût en cellulase, selon Novozymes et Danisco-Genecor est de 0,1€ par litre d'éthanol produit. De nombreux efforts de recherche sont faits pour en augmenter l'activité et la résistance, et développer des cocktails enzymatiques plus performants, améliorant la synergie des différentes enzymes. La cible de diminution des coûts de production de ces enzymes est de 50% ($0,05\text{€}/\text{l}_{\text{EtOH}}$ fixé par l'U.S. Department of Energy) (O'donohue 2008).

- D'autre part, le caractère composite de la structure lignocellulosique impose un traitement de déstructuration de cet édifice, pour rendre accessible la cellulose au traitement de saccharification, voir permettre une valorisation des autres constituants : hémicelluloses et lignines. Cette étape de déconstruction de la biomasse lignocellulosique prend souvent le nom de prétraitement dans les procédés de production de bioéthanol. Elle a donné lieu à de très nombreux travaux qui la font ressortir comme une étape clé des procédés de production de bioéthanol de seconde génération, et permet de proposer plusieurs autres critères pour le choix des matières premières lignocellulosiques.

I.5 La Saccharification de la biomasse lignocellulosique

A proprement parler, le terme saccharification ne devrait s'appliquer qu'à la cellulose, voire aux hémicelluloses, puisqu'il s'agit de l'hydrolyse enzymatique de ces polysaccharides, libérant les sucres. La saccharification de la biomasse lignocellulosique fait alors référence au fait que cette hydrolyse enzymatique serait réalisée sur ces polysaccharides et particulièrement la cellulose dans l'édifice ligno-hémicellulo-cellulosique. L'analyse des processus élémentaires de transfert de matière et de réaction la fait apparaître comme une succession d'étapes, à différentes échelle, analogues à celles d'une réaction et d'une extraction solide/liquide (Figure I-32).

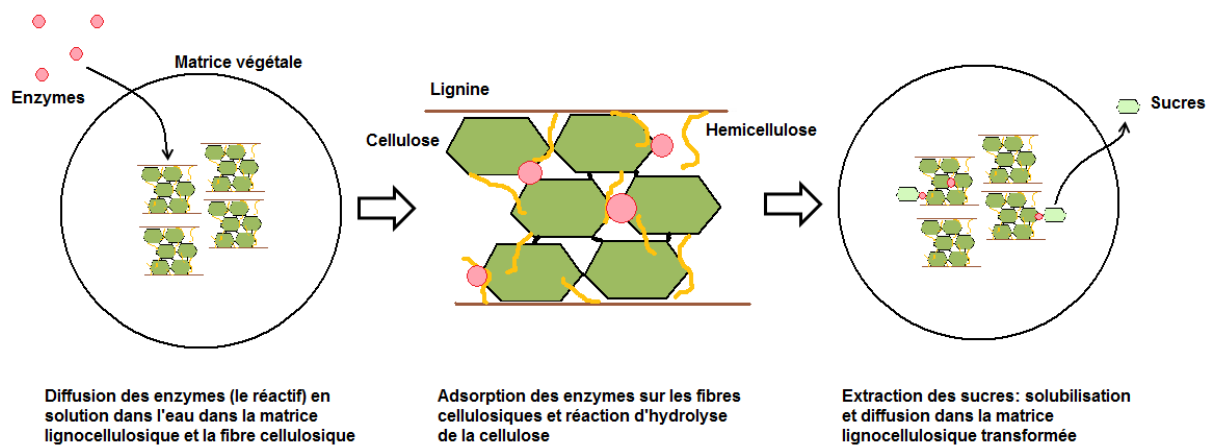


Figure I-32: Schématisation d'une hydrolyse enzymatique en extraction solide/liquide

A priori, et comme dans le cas des réactions en milieu liquide solide, de nombreux facteurs sont susceptibles d'agir sur la cinétique d'une telle transformation. Mais c'est l'étape d'hydrolyse enzymatique de la cellulose qui a sans doute fait l'objet du plus grand nombre de travaux à travers l'étude des mécanismes d'action des cellulases (Cavaco-Paulo 1998; Gupta and Lee 2009; Martinez et al. 2009; Wilson 2009a; Wilson 2009b).

I.5.1 Mécanismes d'action des cellulases

Les enzymes hautement spécifiques du domaine cellulolytique sont produites par tous les organismes qui dégradent la matière végétale, dont en particulier les microorganismes. Certains de ces microorganismes sont capables d'excréter ces enzymes pour une action extérieure à leur organisme. Cette capacité a permis à l'homme de cultiver ces microorganismes pour produire et extraire les enzymes d'intérêt pour une utilisation tierce.

Les principaux microorganismes producteurs de cellulases utilisées à des fins biotechnologiques sont des moisissures et des bactéries dont les plus utilisées sont *Trichoderma reesei* et *Aspergillus spp.* (Szengyel et al. 2000; Ojumu et al. 2004).

L'étude de *Trichoderma reesei*, connu depuis longtemps, a permis de mettre en évidence les mécanismes de fonctionnement des cellulases. On en compte trois généraux correspondant aux activités endocellulasiques, exocellulasiques et celle des β -glucosidases (Coughlan and Ljungdahl 1988; Duff and Murray 1996; Sun and Cheng 2002; Merino and Cherry 2007).

Les endoglucanases ou endocellulasiques (EG, endo-1,4-D-glucanohydrolase, EC 3.2.1.4) sont des protéines de grande taille dont le site catalytique est en forme de crevasse, ce qui leur permet de cliver ponctuellement et aléatoirement les liaisons β -1,4 glucosidiques de la cellulose (Figure I-33). Ce clivage se fait préférentiellement sur les parties amorphes de la cellulose, et libère alors deux extrémités (une réductrice et l'autre non) qui vont permettre

l'accroche du deuxième type d'enzymes, les exoglucanases (Duff and Murray 1996; Bayer et al. 1998; Sun and Cheng 2002).

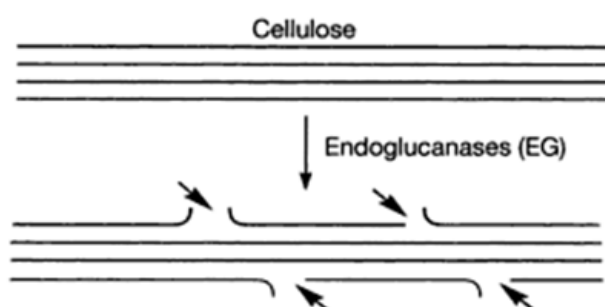


Figure I-33: Mécanisme d'action des EG (Source : Ballerini, 2006)

Les exoglucanases ou cellobiohydrolases (CBH I et II, 1,4- β -D-glucan cellobiohydrolase, EC 3.2.1.91) sont deux types de protéines complémentaires dans la déconstruction du maillage cellulosique, dont le site actif est en tunnel. Elles sont aussi des catalyseurs d'hydrolyse des liaisons β -1,4 glucosidiques. Elles s'accrochent aux extrémités créées par les endoglucanases, CBH I à partir des extrémités réductrices et CBH II à partir des non-réductrices (Figure I-34). Lorsqu'elles s'accrochent à une extrémité, elles vont « remonter » le long de la chaîne cellulosique, qui passe alors dans le tunnel du site actif, et libérer des unités de cellobiose ou de fragments cellulosiques à faible DP. Les chaînes peuvent être sous forme cristalline puisque l'hydrolyse est réalisée sur les extrémités (Ballerini 2006).

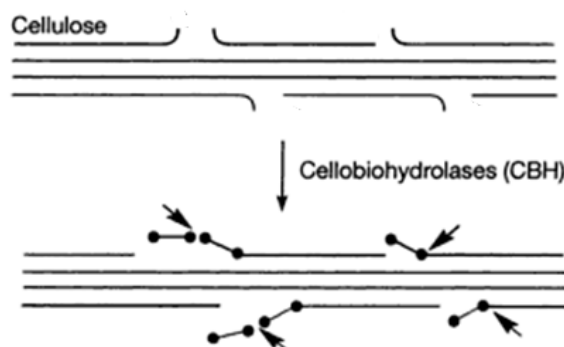


Figure I-34: Mécanisme d'action des CBH (Source : Ballerini, 2006)

Les β -glucosidases ou cellobiases (BGL, EC 3.2.1.21), sont complémentaires aux deux premiers types d'enzyme, car elles vont hydrolyser les liaisons β -1,4 glucosidiques du cellobiose libéré par les exoglucanases, pour libérer les molécules de β -D-glucose (Figure I-35). Elles permettent d'une part de produire les sucres finaux fermentescibles et d'autre part d'empêcher l'inhibition par leurs produits des endo et exoglucanases, par accumulation dans le milieu (Sun and Cheng 2002; Knauf and Moniruzzaman 2004).

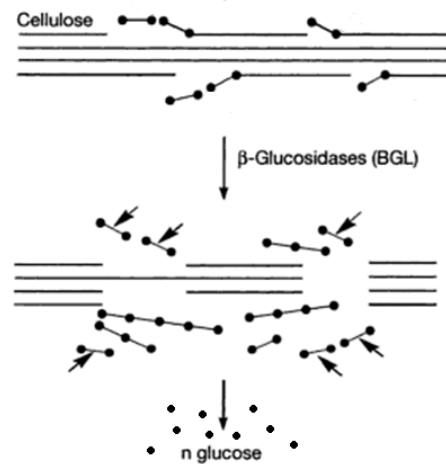


Figure I-35: Mécanisme d'action des BGL (Ballerini 2006)

En présence de cocktails enzymatiques comportant ces différentes catégories d'enzymes, les trois types d'activité se produisent simultanément et fonctionnent en synergie (Y.-H. P. Zhang and Lynd 2004) (Figure I-36).

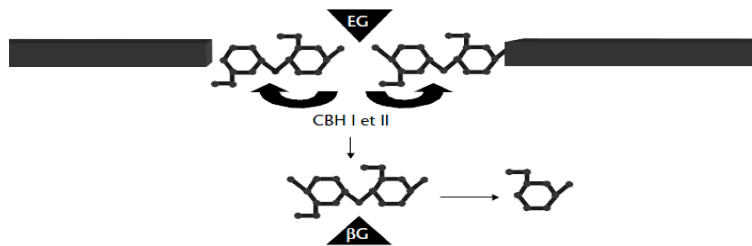


Figure I-36: Synergie des cellulases (O'donohue 2008)

Récemment un autre type de cellulase déployant un autre type de mécanisme d'action permettant d'améliorer l'action des trois autres mécanismes a été trouvé. Il s'agit des polysaccharides monooxygénase (PMO) qui s'adsorbent sur les parties cristallines de la cellulose et, avec l'aide d'un donneur d'électron, clivent la chaîne libérant une extrémité oxydée et une autre extrémité non oxydée (Dimarogona, Topakas, and Christakopoulos 2012). Cette activité améliore l'action générale des cellulases par attaque des zones cristallines, jusqu'alors difficilement accessibles, donnant aux CBH de nouvelles extrémités attaquables. Cette importante avancée dans la compréhension des mécanismes d'hydrolyse de la cellulose, bien que récente, fait l'objet d'une attention particulière des fournisseurs industriels d'enzymes tel que Novozymes qui incorpore ce nouveau type d'enzymes dans leurs cocktails pour en améliorer l'efficacité (Celic Ctec 2).

Comme pour toutes les enzymes, le pH du milieu et la température sont deux facteurs déterminants pour le fonctionnement correct des cellulases (Dixon 1953; Sizer 2006; Cook and Cleland 2007; Purich 2009). En effet, ces deux facteurs agissent sur la conformation des protéines et conditionnent donc la forme du site actif de l'enzyme et donc son activité catalytique. Les enzymes ont ainsi chacune un pH et une température optimum pour la

réaction qui leur incombe, et les courbes d'activité en fonction de ces deux facteurs prennent l'allure générale d'une gaussienne (Figure I-37).

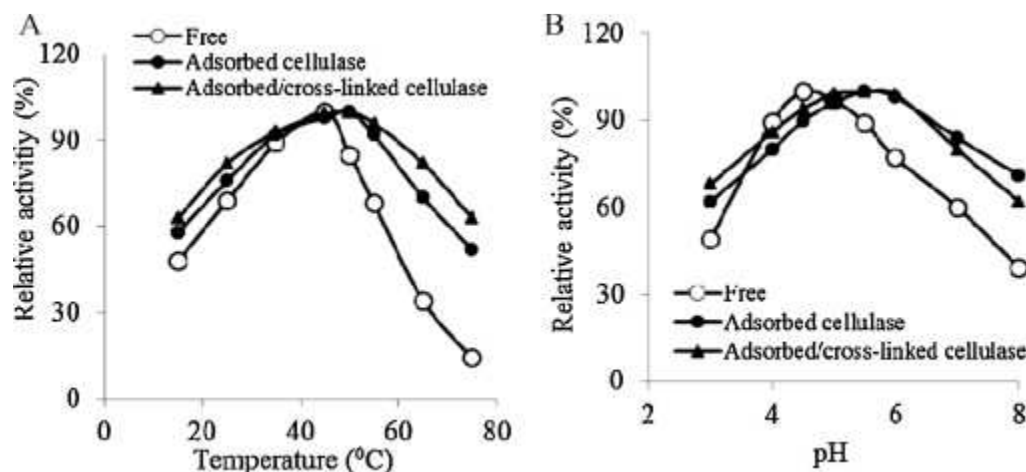


Figure I-37: Exemples de courbes d'activité de préparations cellulases en fonction de la température et du pH (Ince et al. 2012)

Dépendant de leur origine, les conditions de pH et de température optimales pour les cellulases se situent aux alentours de $4,5 \pm 0,5$ et de $50 \pm 5^\circ\text{C}$ (Cavaco-Paulo 1998; Andraeus, Azevedo, and Cavaco-Paulo 1999). De nature protéique, les enzymes sont aussi sensibles à la charge ionique, et donc à la concentration en sel. Ainsi, dans le cas des cellulases de *Trichoderma reesei*, le milieu doit être tamponné à pH 4,8 par une solution de tampon citrate ou acétate de sodium (Adney and Baker 1996).

Enfin, comme dans le cas des catalyseurs chimiques supportés, certaines molécules organiques ou minérales comme les atomes de métaux tels le zinc, le fer ou le cuivre sous forme ionique, peuvent jouer le rôle de cofacteur (ou coenzyme) favorisant la catalyse enzymatique, ou à l'inverse, être à l'origine d'une inhibition de l'activité enzymatique, réversible ou non selon la nature des liaisons qui les associent avec l'enzyme. Dans le cas des cellulases, aucune étude n'a encore prouvé la nécessité d'une présence de cofacteurs ou de métaux dans le milieu (Ryu and Mandels 1980).

Au-delà de son rôle de réactif, puisque la réaction d'hydrolyse en consomme une mole par mole de sucre libéré, ce qui rend évidemment sa présence indispensable au voisinage du site catalytique de l'enzyme, l'eau joue le rôle de solvant assurant le transport des enzymes et la libération du site actif de ces derniers par extraction du sucre libéré. De façon générale, une dilution importante du milieu favorise l'avancement de la réaction d'hydrolyse. Selon certaines études, la consistance idéale du milieu se situe entre 2 et 7,5% pour l'hydrolyse enzymatique de la cellulose (Paquot et al. 1981; Chahal 1985; Stenberg et al. 2000; Szengyel et al. 2000).

Cependant, même dans des conditions de dilution élevée, la saccharification de la cellulose reste une réaction lente, et parfois même limitée (Figure I-38).

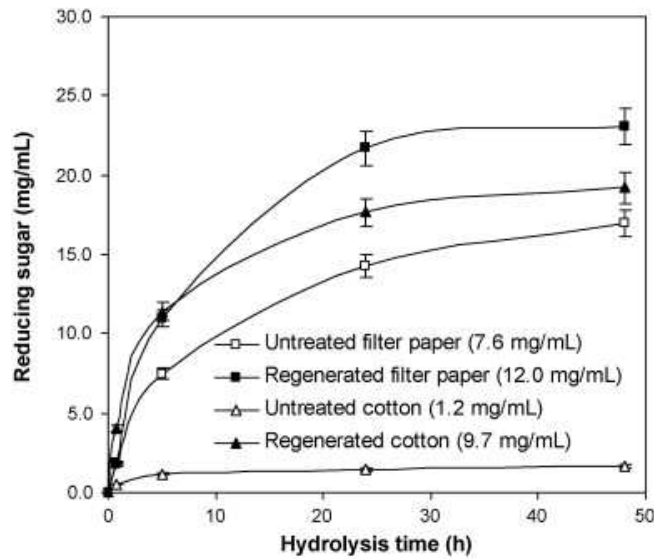


Figure I-38: Cinétique d'hydrolyse de la cellulose pure (papier filtre Whatman No.1) et de coton, brutes et régénérées par liquides ioniques ([BMIM]Cl) ; consistance cellulose : 2% (m/v) ; volume : 1,0 mL tampon citrate avec 1,0 mg cellulases de *T. reesei* à 50 °C. (H. Zhao et al. 2009)

L'augmentation du rapport enzyme/substrat permet, dans une certaine mesure, d'accélérer la réaction (Figure I-39).

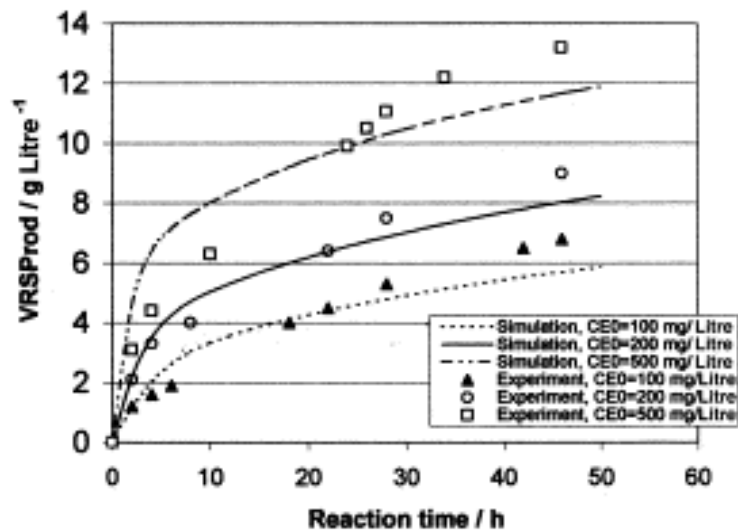


Figure I-39: Amélioration de la réaction d'hydrolyse par augmentation de la charge enzymatique (Gan, Allen, and Taylor 2003).

Mais d'une part, cette voie pénalise fortement le coût en enzymes de la transformation, dans la mesure où celles-ci ne sont pas recyclées. Et d'autre part, son effet est limité par le nombre de sites de fixation possible de l'enzyme par le substrat comme le montre le mécanisme d'action des endoglucanases (Figure I-33) et des exoglucanases (Figure I-34). L'adsorption

des enzymes sur le substrat apparait assez rapide pour les cellulases : 20% des protéines sont adsorbées au bout de cinq minutes de contact (Figure I-40) (Desmons 1986; Jäger et al. 2010).

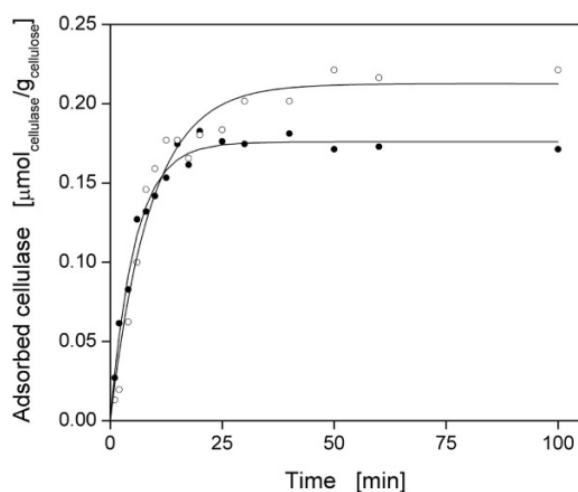


Figure I-40: Cinétique d'adsorption sur de l' α -cellulose de EG (blanc) et de CBH (noir) (α -cellulose : 2. 10 g/L; 0,1 M tampon acetate de sodium pH 4,8 ; T : 45°C ; volume : 1 mL; n = 1000 rpm ; 0,9 g/L cellulase) (Jäger et al. 2010)

Mais la progression de la dépolymérisation par action des endoglucanases et de la libération de cellobiose par action des exoglucanases est lente, et est très dépendante de l'état d'organisation structurale de la cellulose.

Ainsi, de nombreux auteurs ont montré que la cristallinité de la cellulose, qui définit le ratio entre zone cristalline et zone amorphe, est un facteur limitant déterminant pour l'hydrolyse enzymatique (Kerley et al. 1988; Yoshida et al. 2008; Hall et al. 2010; S. Park et al. 2010). L'hydrolysabilité enzymatique ou chimique serait inversement proportionnelle à la cristallinité de la cellulose (Agarwal, Zhu, and Ralph 2011). De même, le degré de polymérisation de la cellulose, qui est intimement lié à sa cristallinité, est également inversement corrélé à l'avancement de l'hydrolyse (Chandra et al. 2007). Enfin, la porosité de l'édifice cellulosique, elle aussi reliée à la cristallinité et au DP de la cellulose, est aussi citée par plusieurs auteurs comme un facteur influençant (Paquot et al. 1981; Thonart et al. 1981; Ken KY Wong et al. 2004).

En conclusion, l'adsorption et la diffusion des enzymes dans l'édifice cellulosique sont dépendantes de son état structural, et doivent être prises en compte pour favoriser son hydrolyse (Peitersen, Medeiros, and Mandels 1977; Alvin O. Converse et al. 1988; A. O. Converse, Ooshima, and Burns 1990; Ooshima, Burns, and Converse 1990; Staahlberg, Johansson, and Pettersson 1991; Lu et al. 2002; Nidetzky and Steiner 2004; Medve et al. 2000; S. B. Lee et al. 2004; Ooshima, Sakata, and Harano 2004). La cristallinité, le degré de polymérisation et la porosité de la cellulose native sont des caractéristiques qui peuvent expliquer la limitation de l'hydrolysabilité et la lenteur de la libération des sucres. Elles peuvent fournir des critères pour le choix de matières lignocellulosiques les plus appropriées à la transformation en bioéthanol. Dans le milieu réactionnel de la saccharification, au delà du pH, de la charge ionique et de la température, qui conditionnent l'activité des enzymes, le

gonflement de la structure polysaccharidique par l'eau est un facteur favorable à l'adsorption des enzymes et l'avancement de l'hydrolyse, d'autant plus qu'elle permet aussi une bonne extraction des sucres, libérant les sites actifs des enzymes. Remarquons cependant, au regard des mécanismes d'action des différentes cellulases qui conduisent à la déstructuration progressive de l'édifice cellulosique et à la liquéfaction du milieu, que l'impact limitant de la cristallinité, du degré de polymérisation et de la porosité sur l'avancement de l'hydrolyse ira décroissant, si l'activité enzymatique n'est pas inhibée.

Dans le cas de la biomasse lignocellulosique, la présence des hémicelluloses et des lignines associées à la cellulose rend plus complexe les phénomènes.

I.5.2 Interférence des hémicelluloses et des lignines avec la saccharification de la cellulose

La structure composite à différentes échelles de la matière lignocellulosique (Paragraphe I.4.2) conduit lors de broyage à des particules de tailles et de formes variables, fonction des conditions du broyage, mais qui sont toujours constituées par des fibrilles de cellulose associées à des hémicelluloses et des lignines. Comme dans tous les processus d'échange liquide/solide, la taille des particules est un facteur important pour la saccharification : la réduction de la taille des particules augmente la surface accessible aux enzymes (MERRILL A. Millett, Effland, and Caulfield 1979; Hiden et al. 2009; da Silva et al. 2010; Vidal et al. 2011), et influence positivement le rendement et la vitesse d'hydrolyse de la matière (Gharpuray, Lee, and Fan 1983a; Dasari and Eric Berson 2007). La réduction de taille est souvent associée à une diminution de la cristallinité de la cellulose (Agarwal, Zhu, and Ralph 2011), ce qui rend difficile la séparation de l'action bénéfique de ces effets du broyage sur le rendement d'hydrolyse (Moore, Effland, and Millett 1972; Andren, Erickson, and Medeiros 1976; 1979; 1983b; Z. Zhu et al. 2009; Kawakubo et al. 2010; 2007; Inoue et al. 2008; 2009; 2010; 2011).

La présence des hémicelluloses et des lignines est aussi susceptible d'agir sur la porosité des particules et donc sur l'étape de diffusion intraparticulaire des enzymes (Mooney et al. 1998). Mais ce sont surtout au niveau des interactions éventuelles avec les protéines que sont les enzymes, que ces deux biopolymères agiront sur la diffusion :

- De part leur structure rigide et leur caractère relativement hydrophobe (Iiyama, Lam, and Stone 1994), les lignines défavorisent la diffusion de l'eau dans la matrice lignocellulosique, et son gonflement. De plus leur structure polyphénolique peut être à l'origine d'association avec les protéines, dont certaines irréversibles, ce qui aura pour conséquence de diminuer l'activité enzymatique (Berlin et al. 2006; Pan 2008). Certains auteurs préconisent la délignification de la matière lignocellulosique préalablement à la saccharification (Pan et al. 2005; Öhgren et al. 2007). Nous reviendrons sur les prétraitements

chimiques qui ont été proposés dans les procédés de production de bioéthanol de seconde génération, mais plusieurs études ont été consacrées à l'action des enzymes lignolytiques (peroxydases et laccases) pour aboutir ou non à une amélioration pour la saccharification (Palonen and Viikari 2004; Moilanen et al. 2011).

- Tout comme pour les lignines, certains auteurs parlent d'un effet barrière des hémicelluloses (Grohmann et al. 1984; Himmel et al. 2007). Cependant, il s'agirait là plutôt d'un effet de limitation physique à l'accès des enzymes car les hémicelluloses sont directement associées aux fibres cellulosiques qu'elles enrobent, avec formation de multiples liaisons hydrogènes. De même nature polysaccharidique que la cellulose, elles ne devraient pas interagir chimiquement avec les protéines que sont les enzymes, et l'activité du site catalytique des cellulases, spécifique des liaisons osidiques de la cellulose, ne devrait pas interférer avec les multiples liaisons osidiques des hémicelluloses, et donc ne pas conduire à l'inhibition de ces enzymes. Par contre les hémicelluloses sont très affines de l'eau, conduisant à la formation de gel. Elles mobiliseront donc l'eau, ralentissant le gonflement de la structure cellulosique, et surtout limiteraient la diffusion des enzymes jusqu'à la cellulose à travers le réseau gélifié formé. L'analyse des résultats des prétraitements visant à l'élimination des hémicelluloses par voie d'hydrolyse acide (J. F. Harris et al. 1985; Y. Sun and Cheng 2005; Saha et al. 2005; Lloyd and Wyman 2005; Cristóbal Cara et al. 2008) ou par extraction alcaline (Bjerre et al. 1996; Helene B. Klinke et al. 2002; Cristobal Cara et al. 2006; Saha and Cotta 2007a; Y. Zhao et al. 2008) ne permet pas de conclure pleinement sur la solidité de cette hypothèse, en raison de la non-sélectivité de ces traitements, en particulier vis-à-vis de la lignine. Cependant de multiples travaux ont été consacrés à l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses, qui s'avère beaucoup plus sélective, et permet en outre de libérer des sucres fermentescibles.

I.5.3 Hydrolyse enzymatique des hémicelluloses

L'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses dans la matière lignocellulosique apparaît à première vue beaucoup plus facile à réaliser que celle de la cellulose :

- Elles sont plus accessibles dans la structure lignocellulosique, et très affines de l'eau. Remarquons cependant que leur association avec les lignines, sous forme de liaisons chimiques, peut aussi constituer un obstacle à leur hydrolyse totale.

- Elles sont amorphe, et les liaisons osidiques associant leur motif monomère sont moins résistantes que celle associant le glucose dans la cellulose.

Cependant l'hétérogénéité de structure, leur caractère substitué ou ramifié et la diversité des monomères constitutifs nécessitent le recours à un grand nombre d'enzymes dont l'activité est très spécifique (Tableau I-13) (Figure I-41).

Tableau I-13: Exemples de différents types d'hémicellulases (K. K. Wong, Tan, and Saddler 1988; Duff and Murray 1996; Saha 2003)

Type d'hémicellulase	Fonction
α -Glucuronidase	Libère l'acide glucuronique
Acétyl-esterase	Libère les groupes acétates acide férulique acide <i>p</i> -coumarique
Xylanase (β -1,4-endoglucanases)	Clive les liaisons glycosidiques des chaînes de xylane
β -Xylosidase	Hydrolyse les xylooligosaccharides en xylose
Galactomannanase	Libère le mannose des galactomannanes
Glucomannanase	Libère le glucose des galactomannanes
Arabinofuranosidase	Sépare l'arabinose du xylose

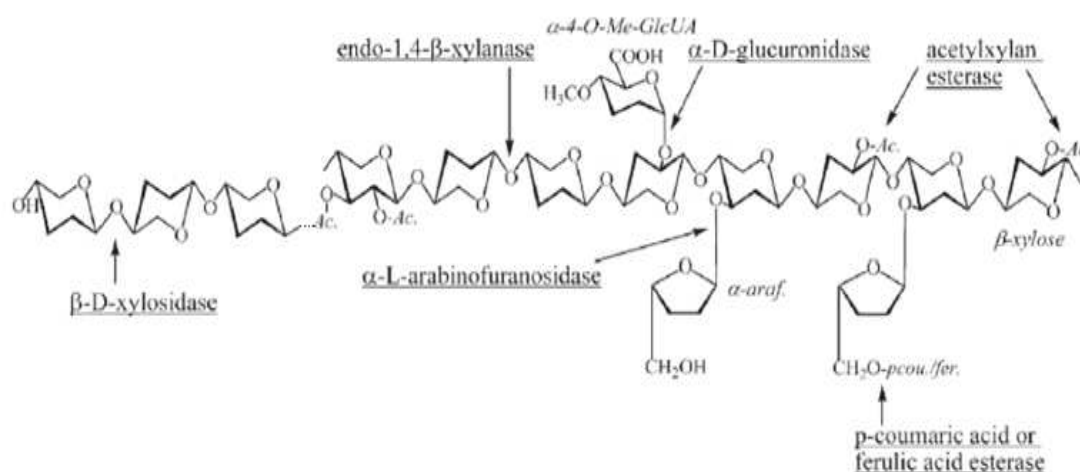


Figure I-41: Exemples de liaisons hydrolysées par certaines hémicellulases (Collins, Gerday, and Feller 2005)

Bien entendu une synergie existe aussi entre ce groupe très varié d'enzymes. Cette synergie est même bien plus importante que pour les cellulases de part la spécificité très importante des enzymes en jeu. En effet certaines xylanases ne scindent pas les liaisons osidiques des chaînes de xylanes si celles-ci sont ramifiées. Les substitués doivent donc être hydrolysés avant pour que les xylanases puissent agir (Gilbert and Hazlewood 1993).

Ainsi pour hydrolyser convenablement les hémicelluloses, il faut utiliser des cocktails d'enzymes contenant les différents types d'enzyme pour une action synergique et donc plus performante (García-Aparicio et al. 2007; R. Kumar and Wyman 2009; Hu, Arantes, and Saddler 2011).

La multiplicité des enzymes à mettre en œuvre, et leur faible disponibilité en quantité commerciale, a néanmoins limité le développement de cette voie de prétraitement de la matière lignocellulosique. Par contre l'introduction de xylanases dans les cocktails enzymatiques pour la saccharification de la lignocellulose a été largement étudiée et exploitée (Roncero et al. 2005; Berlin et al. 2007; García-Aparicio et al. 2007; M. Zhang et al. 2010;

Gao et al. 2011; Hu, Arantes, and Saddler 2011) et plusieurs cocktails industriels en sont déjà pourvus (Novozymes : Cellic Ctec ; Genencor : Accelerase Trio...).

En conclusion, l'analyse des processus de la saccharification enzymatique de la cellulose dans le matériau lignocellulosique fait apparaître deux points dans la perspective du développement des procédés de production de bioéthanol de seconde génération :

- Pour la sélection de la matière première lignocellulosique, au-delà de sa disponibilité, son accessibilité et son potentiel en sucres fermentescibles, le critère de teneur en cellulose devra être complété par sa cristallinité, voire son degré de polymérisation, et des critères de composition chimique comme la teneur en hémicelluloses et en lignines, en matière minérale, ainsi que de caractéristiques physiques comme la densité et la porosité devront être pris en compte.

- Concernant la saccharification, la déconstruction de l'édifice lignocellulosique s'avère indispensable à l'optimisation de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose. Elle a fait l'objet de très nombreux travaux dont certains ont conduit à la mise au point de procédés de prétraitement de la biomasse lignocellulosique en vue de sa conversion en bioéthanol.

I.6 Les prétraitements de la biomasse lignocellulosique

Dans la raffinerie du végétal, l'étape de prétraitement des matières premières rassemble les opérations du fractionnement primaire ouvrant l'accès à l'extraction ou la transformation de ses constituants. Elles peuvent être de nature purement physique, mécanique ou thermique, chimique et biologique ou physicochimique, combinant à des degrés divers des actions mécanique, thermique et chimique ou enzymatique (Tableau I-14), et elles sont présentes dans de très nombreux procédés de transformations agroindustrielles des matières végétales.

Tableau I-14: Prétraitements mis en œuvre dans l'industrie agroindustrielle

Nature du prétraitement	Opération	Exemples dans les filières de transformation agroindustrielle
Thermique	Séchage Cuisson/Coagulation protéines membranaires Stérilisation/Inhibition activité enzymatique Pyrolyse	Ajustement taux hydratation pour stockage matière végétale Préparation expression ou extraction huile oléagineuse, sucres betterave ou canne Extraction ou expression de jus et concentrés de fruits
Mécanique et Thermomécanique	Broyage/Tamisage Depelliculage/Débogage Défibrage thermomécanique	Ecorçage et sciage bois d'œuvre Plaquette, particules pour panneaux Copeaux papeterie Séparation son/farine meunière Séparation amande enveloppe graine oléagineuse huilerie Production de fibres pour panneaux pour composites thermoplastiques
Chimique	Cuisson alcaline	Cuisson papetière
Biologique	Ensilage anaérobie Fermentation aérobie Hydrolyse enzymatique	Production acides Production alcool Dégradation de produits indésirables Formation de précurseurs

Dans le cas de la déstructuration et la déconstruction de la matière lignocellulosique, la plus part de ces actions mécaniques, thermiques et chimiques ou biochimiques peuvent être envisagées, mais plusieurs critères peuvent être énoncés pour définir ce que serait un bon prétraitement pour la production de bioéthanol de seconde génération :

- Le broyage de la biomasse lignocellulosique brute est indispensable, ne serait ce que pour permettre son conditionnement et son stockage, avec un contrôle de sa teneur en eau pour la stabiliser, mais aussi souvent pour permettre une alimentation en solide contrôlée des réacteurs. Notons qu'une première réduction de taille est souvent réalisée au niveau de la récolte et du conditionnement, et que dans le cas des matières issues de procédés de transformation agroindustrielle comme par exemple les bagasses ou les résidus d'huilerie, les

dimensions sont déjà réduites. Une réduction plus poussée de la taille des particules est à priori favorable aux échanges liquide/solide, en augmentant la surface accessible aux enzymes (MERRILL A. Millett, Effland, and Caulfield 1979; Hiden et al. 2009; da Silva et al. 2010; Vidal et al. 2011). Elle pourrait permettre d'atteindre le taux de cristallinité de la cellulose (M. A. Millett, Baker, and Satter 1976; Sun and Cheng 2002). Mais cette étape est très énergivore et réputée pour limiter la faisabilité économique du procédé entier (Cadoche and López 1989).

- Le séchage de la biomasse lignocellulosique est nécessaire à son stockage et son conditionnement lorsqu'elle n'est pas récoltée à une matière sèche suffisante à sa stabilité (15 à 20 % d'humidité) (FAO). Mais au-delà de cette matière sèche, la déshydratation plus poussée tend à augmenter la cristallinité de la cellulose et surtout pénalise la reprise en eau et le gonflement de la matière (Lewicki 1998) ; Elle est contradictoire avec le fait que la saccharification et la fermentation ne peuvent être réalisées qu'en milieu aqueux dilué. Du point de vue des températures, rappelons que la dégradation thermique des hémicelluloses, lignines et de la cellulose débutent respectivement à 200, 110 et 300°C (Ramiah 1970; Kotilainen 2000). En milieu hydraté (à partir de 20% d'humidité), il est cependant possible d'atteindre un ramollissement des lignines entre 50 et 100°C (Triboulot 1983), ce qui permet la déstructuration des fibres lignocellulosiques par traitement thermomécanique. Un tel défibrage, pratiqué pour la production de panneaux de fibres, augmente les surfaces d'échange et pourrait donc s'avérer intéressant pour la saccharification.

- La déstructuration de la barrière physicochimique que constituent les hémicelluloses pour l'accès des enzymes de saccharification à la cellulose peut être obtenue par deux voies : l'hydrolyse acide des hémicelluloses et l'extraction alcaline de ces polysaccharides. La voie d'hydrolyse acide a été largement étudiée, en particulier pour la production de sirops de xylose (Gaset et al. 1991) et leur conversion en xylitol que ce soit par hydrogénation catalytique, ou par voie enzymatique (Alonso Gutierrez 2005). Cette voie est évidemment intéressante puisqu'elle fournirait aussi un substrat pour la fermentation des C5 en éthanol. Mais elle présente un double inconvénient très limitant pour la saccharification de la cellulose et la fermentation éthanolique du glucose :

- Les conditions acides d'hydrolyse des hémicelluloses sont propices à la dégradation des sucres, particulièrement des pentoses et dans une moindre proportion des hexoses, générant des anhydrides de sucres, des produits colorés et des précurseurs de dérivés furaniques, et pour finir du furfural (à partir des C5) et de l'hydroxyméthylfurfural (HMF à partir des C6) (Qian et al. 2005), dont la dégradation produit de l'acide levulinique et de l'alcool formique. De même, même si les lignines ne sont à priori pas solubilisées dans ces conditions, plutôt favorables à leur condensation, la libération de composés phénoliques (acides, alcools, cétones, et aldéhydes) ne doit cependant pas être exclue (J.h and M 1978; O. Bobleter and Concini 1979). Enfin la désacétylation de la matière en conditions acides libère de l'acide acétique. Tous ces composés sont réputés toxiques pour les microorganismes qui fermentent les sucres (Moulin, Boze, and Galzy 1984; Strehaiano 1984; Palmqvist and Hahn-Hägerdal 2000a; Palmqvist and Hahn-Hägerdal 2000b) et sont donc des inhibiteurs de fermentation qui devront être soigneusement extraits de la cellulose, ce qui impose des phases de lavage et donc de dilution dans le procédé.

- Par ailleurs, les conditions acides du traitement sont responsables de la corrosion des matériaux, ce qui grève le coût des installations.

Les bénéfices d'un tel traitement, doivent donc être mesurés au regard du facteur de dilution, des contraintes sur les installations, et de la valorisation possible des extraits C5.

- La voie d'extraction alcaline a tout aussi été étudiée puisqu'elle est celle développée pour la délignification des matières lignocellulosiques pour la fabrication de pâtes à papier et de cellulose purifiée (Gierer 1985; Gierer 1986). Simultanément à l'extraction des lignines, les hémicelluloses sont solubilisées, et entraînées (R. C. Sun and Sun 2002). Les proportions de ces deux biopolymères extraits dépendent des conditions opératoires et en particulier de température et d'alcalinité (Magro 1995). Cette voie alcaline de prétraitement présente le double avantage :

- De contribuer à supprimer la barrière à la diffusion que constituent les hémicelluloses et les lignines. Leur extraction fournit un substrat pour la fermentation des C5, mais aussi plus classiquement, comme dans les procédés papetiers, pour la production d'énergie (combustion en chaudière).
- De permettre un meilleur gonflement de la cellulose par solvatation des liaisons hydrogènes, catalysée par les ions OH⁻, et donc de contribuer à sa décristallisation. Lorsque les conditions sont suffisantes (10%NaOH), la déstructuration peut même atteindre le passage de la cellulose I en cellulose II (Dinand et al. 2002).

Cependant plusieurs limites peuvent apparaître avec ce type de traitement tels que :

- la quantité de réactifs alcalins et le taux de solvant nécessaires, en particulier si l'on veut obtenir une extraction totale des hémicelluloses et lignines pour les valoriser ;

- la dégradation de la cellulose, en particulier la « pelure », la terminaison des chaînes, la scission alcaline et l'oxydation alcaline (Knill and Kennedy 2003), et des sucres par formation des acides polyhydroxyyles, en particulier d'acide lactique (Corbett 1960), qui sont aussi des inhibiteurs de fermentation.

- Intégrés comme prétraitement dans un procédé de production de bioéthanol, les conditions opératoires et les dimensionnements qui en résultent devront être adaptés aux contraintes des étapes de saccharification et de fermentation (neutralisation, charge en sel, élimination des inhibiteurs,...).

Ces différentes voies de prétraitements ont été effectivement étudiées pour améliorer les rendements de saccharification de la biomasse cellulosique, combinées ou non avec des techniques plus innovantes couplant une action mécanique ou thermomécanique à une action chimique (Tableau I-15 à I-19).

Tableau I-15: Différents types de prétraitements de la matière lignocellulosique

Prétraitement	Objectifs	Remarques	Avantages	Inconvénients	Références
Mécanique	Réduction de la taille des particules	Utilisation de différents broyeurs	Augmentation de la surface accessible Diminution du degré de polymérisation et de la cristallinité	Coûts énergétiques trop importants	(Sun and Cheng 2002; Taherzadeh and Karimi 2008; Hendriks and Zeeman 2009)
Biologique	Dégradation de la lignine par des microorganismes Dégradation des hémicelluloses par des microorganismes	Utilisation de peroxydases et laccases produits par les microorganismes	Dégradation des hémicelluloses et lignine Faibles coûts d'investissement et énergétiques Non utilisation du chimique Aspect environnemental	Faibles taux d'hydrolyse Durée longue	(Sun and Cheng 2002; Itoh et al. 2003; Shi et al. 2009; P. Kumar et al. 2009; Sánchez 2009)
Acide	Solubilisation des hémicelluloses Convertir les hémicelluloses solubles en sucres fermentescibles	Utilisation d'acide sulfurique, chlorhydrique, phosphorique, nitrique, fumarique, maléique	Forts taux d'hydrolyse	Formation d'inhibiteurs de fermentation Corrosion de l'équipement et recyclage difficile de l'acide (acide concentré) Coût et manipulation des produits chimiques	Wyman 1996; Mosier et al. 2005; Saha et al. 2005; Taherzadeh & Karimi 2007; Cara et al. 2008; Rocha et al. 2009; Kootstra et al. 2009a; Kootstra et al. 2009b; Kootstra, Mosier, et al. 2009

Tableau I-16: Différents types de prétraitements de la matière lignocellulosique (suite)

Prétraitement	Objectifs	Remarques	Avantages	Inconvénients	Références
Alcalin	Augmentation de l'hydrolysabilité de la cellulose Solubilisation de la lignine Solubilisation des hémicelluloses	Utilisation d'hydroxydes de sodium, potassium, calcium et d'ammonium Plus efficace sur les résidus d'agriculture que sur les résidus forestiers	Peu de dégradation de sucres Gonflement et mercerisation de la cellulose Solubilisation des hémicelluloses et lignine Pas de production d'inhibiteurs de fermentation	Coût et manipulation des produits chimiques	Chang et al. 2001; Mosier et al. 2005; Kim & Holtzapfle 2005; Saha & Cotta 2007a; Saha & Cotta 2007b; Saha & Cotta 2008a; Saha & Cotta 2008b; Taherzadeh & Karimi 2008; Carvalho et al. 2008; Kumar et al. 2009
Ozonolyse	Délignification	Utilisation d'ozone	Délignification importante Pas de production d'inhibiteurs de fermentation	Coût et quantité d'ozone nécessaires importants	(Gould and Freer 1984; Sun and Cheng 2002; García-Cubero et al. 2009)
Organosolv	Solubilisation de la lignine	Utilisation de solvants : -Asam Eau + sulfure alcalin + anthraquinone + méthanol -Organocell Eau + hydroxyde de sodium + méthanol -Alcell (APR) Eau + éthanol -Milox Eau + acide formique + peroxyde d'hydrogène (formant de l'acide peroxyformique) -Acetosolv Eau + acide acétique + acide chlorhydrique -Acetocell Eau + acide acétique -Formacell Eau + acide acétique + acide formique -Formosolv Eau + acide formique + acide chlorhydrique Possibilité de coupler avec un prétraitement acide pour solubiliser les hémicelluloses	Récupération de lignine relativement pure	Nécessité de recycler les solvants pour réduire les coûts et ne pas inhiber l'hydrolyse et la fermentation Coûts importants	Papatheofanous et al. 1995; Sun & Cheng 2002; Sidiras & Koukios 2004; Zhao et al. 2009; Park et al. 2010

Tableau I-17: Différents types de prétraitements de la matière lignocellulosique (suite)

Prétraitement	Objectifs	Remarques	Avantages	Inconvénients	Références
Liquides Ioniques (Ils)	Dissolution sélective de lignine et polysaccharides		Sélectivité	Coût et technologie non aboutis Nécessite plus de recherches sur le sujet	Lee et al. 2008; Yang & Wyman 2007; Wang et al. 2011; Zhao et al. 2009; Li et al. 2009; Li et al. 2010; Li et al. 2009
Micro-ondes		Utilisation de micro-ondes dans une solution de réactifs alcalins diluée			S. Zhu et al. 2006; Keshwani & J. J. Cheng 2009
Ultra-sons	Extraction de lignines, d'hémicelluloses et de cellulose	Prétraitement ou saccharification réalisés sous ultrasons Peu d'études faites	Saccharification de la cellulose améliorée	Nécessite plus d'études	RunCang Sun & Jeremy Tomkinson 2002; Yachmenev et al. 2009
Oxydation humide	Solubilisation des hémicelluloses	Utilise l'oxygène ou l'air comme catalyseur	Peu de formation d'inhibiteurs de fermentation Elimination de la lignine	Coût de l'oxygène	Klinke et al. 2002; Palonen et al. 2004; Palonen & Viikari 2004; C. Martin et al. 2007 Olsson et al., 2005

Tableau I-18: Différents types de prétraitements de la matière lignocellulosique (suite)

Prétraitement	Objectifs	Remarques	Avantages	Inconvénients	Références
Eau chaude liquide (Thermohydrolyse)	Solubilisation des hémicelluloses	Utilisation d'eau chaude liquide (160-240°C) sous 50 bars de pression et à pH entre 4 et 7	Solubilisation des hémicelluloses Dépolymérisation et solubilisation partielles de la lignine Pas de production d'inhibiteurs de fermentation Faibles coûts	Forte demande en eau et énergie	Laser et al. 2002; N. Mosier et al. 2005; C. Liu & C. E. Wyman 2005; C. E. Wyman et al. 2005; Pérez et al. 2008
Explosion à la vapeur	Séparation des fibres Auto-hydrolyse et solubilisation partielle des hémicelluloses	Utilisation d'eau chaude liquide (180-270°C) sous 10 à 50 bars puis détente à pression atmosphérique Possibilité d'utiliser un catalyseur acide pour augmenter l'hydrolyse des hémicelluloses	Solubilisation des hémicelluloses Extraction de la lignine Forts taux de récupération des sucres et d'hydrolyse Faibles coûts et impact environnemental	Dégradation partielle des hémicelluloses Génération de composés toxiques et inhibiteurs de fermentation	Avellar & Glasser 1998; Tengborg et al. 1998; Tengborg et al. 2001; Palmqvist & Hahn-Hägerdal 2000; Alfani et al. 2000; Sun & Cheng 2002; Brownell et al. 1986; Jose Miguel Oliva et al. 2003; Söderström et al. 2002; Söderström et al. 2003; E. Varga et al. 2004; C. Liu & C. E. Wyman 2005; Mats Galbe & Guido Zacchi 2007; I. Ballesteros et al. 2006; N. Mosier et al. 2005; Xuejun Pan et al. 2005; Cristobal Cara et al. 2006; Cristóbal Cara et al. 2007; Cristobal Cara et al. 2008; Hamelinck et al. 2005

Tableau I-19: Différents types de prétraitements de la matière lignocellulosique (suite)

Prétraitement	Objectifs	Remarques	Avantages	Inconvénients	Références
Explosion des fibres à l'ammoniaque (AFEX)	Séparation des fibres Decristallinisation partielle de la cellulose	Utilisation d'ammoniaque anhydre liquide	Diminue la cristallinité de la cellulose Séparation lignine-carbohydrates Augmente la surface accessible Pas de production d'inhibiteurs de fermentation	Peu efficace sur des matières à forte composition en lignine Coût importants Manipulation d'ammoniaque	Sun & Cheng 2002; Laureano-Perez et al. 2005; C. E. Wyman et al. 2005; Teymouri et al. 2005; Eggeman & R. T. Elander 2005; N. Mosier et al. 2005; Mats Galbe & Guido Zacchi 2007; Yang & Wyman 2008; S. Kumar et al. 2009; Bals et al. 2010
Explosion au CO ₂	Extraction de la lignine	Utilisation de CO ₂ supercritique	Augmente la surface accessible Le CO ₂ est produit durant la fermentation et est non toxique et non-inflammable	Faibles rendements en sucres Nécessite un équipement de très haute pression	K. H. Kim & Hong 2001; Schacht et al. 2008; Zheng et al. 2008
Extrusion monovis	Extraction des hémicelluloses et de la lignine	Utilisation de pression et température Pré-imprégnation des réactifs pour une action chimique	Procédé continu Solubilisation et extraction des hémicelluloses et de la lignine	Coût énergétique et des réactifs	(Chinnadurai Karunanithy and Muthukumarappan 2009; Chinnadurai Karunanithy and Muthukumarappan 2010; Chinnadurai Karunanithy and Muthukumarappan 2011; C. Karunanithy and Muthukumarappan 2011; Chinnadurai Karunanithy, Muthukumarappan, and Gibbons 2012)

Il en ressort que:

- Le broyage, même poussé, des matières lignocellulosique est insuffisant pour atteindre une saccharification totale de la cellulose, même s'il en améliore la cinétique (Tahezadeh and Karimi 2008; Hendriks and Zeeman 2009).

- Les prétraitements biologiques mettant en œuvre des lignases et des hémicellulases posent le même type de problème que pour la saccharification de la cellulose (Sánchez 2009), à savoir des rendements d'hydrolyse limités et des temps d'hydrolyse très longs (Itoh et al. 2003; Shi et al. 2009). Leur développement est surtout dépendant de la recherche de cocktails enzymatiques plus performants, et leur production à l'échelle industrielle. Actuellement leur mise en œuvre est plutôt orientée vers un couplage avec les cellulases pour atteindre la conversion de la fraction récalcitrante à la saccharification dans le cas de biomasse lignocellulosique déjà prétraitée par une autre méthode.

- Les prétraitements acides dilués, issus de la voie de saccharification acide des biomasses lignocellulosiques (Tahezadeh and Karimi 2007; Kootstra, Beeftink, et al. 2009a), conduisent effectivement à un fort taux d'hydrolyse des hémicelluloses et améliorent nettement l'hydrolysabilité de la cellulose (Saha et al. 2005; Cristóbal Cara et al. 2008; M. V. P. Rocha et al. 2009; Kootstra, Beeftink, et al. 2009b). Mais ils se heurtent toujours pour le transfert d'échelle à la contrainte de résistance des matériaux, de neutralisation des hydrolysats et de génération d'inhibiteurs si les conditions acides et de température sont trop dures.

- Les prétraitements alcalins ont aussi été largement étudiés (Chang et al. 2001; Kim and Holtzapple 2005; Saha and Cotta 2007b; Saha and Cotta 2007a; Saha and Cotta 2008a; Saha and Cotta 2008b; M. V. P. Rocha et al. 2009). Mais malgré leurs avantages d'extraction simultanée des hémicelluloses et des lignines, et de déstructuration de la cellulose, conduisant à d'excellentes hydrolysabilités enzymatiques, ils se heurtent toujours aux coûts liés aux conditions opératoires (teneurs en alcali et températures élevées de la cuisson) et au procédé de séparation (lavage/dilution). Le développement pilote de cette voie n'a été envisagé que dans le cadre de la filière papetière comme par exemple pour le projet de M-real Hallein AG (Autriche) (<http://www.metsaboard.com>) et reste soumis à la concurrence de la valorisation de la fibre cellulosique dans cette filière (coût de la fibre papetière : 50-200€/t (Cerig 2009)). Remarquons que la saccharification des pulpes papetières obtenues par traitement thermomécanique ou thermomécanochimique ne semble pas avoir été étudiée.

- Des améliorations de l'hydrolysabilité de la cellulose ont été obtenues par délignification de la matière lignocellulosique, en présence de peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en milieu alcalin (Gould and Freer 1984) ou par mise en œuvre de l'ozone (García-Cubero et al. 2009). Mais les coûts en réactifs restent très élevés.

- Issu des procédés dits organosolv développés dans les années 1970 pour l'industrie papetière, le prétraitement de solubilisation des lignines par différentes combinaisons de solvants organiques (éthanol, méthanol, acides acétique, formique), en présence de réactifs ou non, a été étudié comme prétraitement de la matière lignocellulosique (Papatheofanous et al. 1995; Sidiras and Koukios 2004; X. Zhao, Cheng, and Liu 2009; N. Park et al. 2010). Ils

permettent d'extraire une lignine relativement pure, et les hémicelluloses s'ils sont couplés à un prétraitement les solubilisant, mais sont pénalisés par les coûts de recyclage des solvants, nécessaires pour ne pas inhiber l'hydrolyse de la cellulose et la fermentation du glucose. Cette voie est cependant étudiée au stade pilote industriel au Canada (Lignol Innovations Ltd., développement du procédé Alcell, capacité 1t de biomasse par jour) et fait l'objet d'un projet de construction d'une unité de démonstration (100t/j, Suncor Energy of Grant junction Colorado).

- A un niveau plus exploratoire des recherches, des techniques comme la mise en œuvre de liquides ioniques pour une dissolution sélective des lignines et des polysaccharides (S. H. Lee et al. 2008; Wang et al. 2011; Changzhi Li, Zhang, and Zhao 2009; Q. Li et al. 2009; S. H. Lee et al. 2008; Chenlin Li et al. 2010), l'oxydation humide pour la solubilisation des hémicelluloses et l'oxydation des lignines (Helene B. Klinke et al. 2002; Palonen et al. 2004; Martin, Klinke, and Thomsen 2007), l'activation des traitements alcalins par les microondes (S. Zhu et al. 2006; Keshwani and Cheng 2009) ou l'exploitation de l'effet des ultrasons sur la solubilisation des biopolymères (RunCang Sun and Tomkinson 2002; Yachmenev et al. 2009) ont été explorées.

- En condition d'eau pressurisée, où l'eau est maintenue à un état subcritique (160-240°C sous 50bars de pression), le prétraitement de matières lignocellulosiques conduit à la solubilisation des hémicelluloses par thermohydrolyse et une dépolymérisation et solubilisation partielle des lignines (Laser et al. 2002; Mosier, Hendrickson, et al. 2005; Liu and Wyman 2005; Pérez et al. 2008). Cette voie qui conduit à d'excellents résultats d'hydrolysabilité de la cellulose est cependant pénalisée par l'absence d'équipements industriels continus permettant de travailler à de telles pressions et températures. Par contre, ce prétraitement hydrothermique à la vapeur d'eau est intégré dans l'installation pilote de Inbicon (Integrated Biomass Utilization System : IBUS) comme prétraitement de la paille pour sa conversion en éthanol (www.inbicon.com). Une unité de démonstration serait construite au Danemark (port de Kalundborg, capacité 100t de paille par jour produisant 4300t d'éthanol par an).

- Exploitant le principe de la détente brutale après compression mécanique en milieu hydraté sous 10 à 50 bars et haute température (180-270°C), plus connu sous le nom d'explosion à la vapeur, et qui avait été développée initialement pour la filière papetière en discontinu (procédé Iotech) et en continu (procédé Stake) au stade pilote industriel, cette technique de déstructuration des matières lignocellulosiques a été étudiée comme prétraitement, sur l'installation pilote de Souston en France (1t/h, GIEAscaf-IFP-AFME) dans les années 1990, et reprise par plusieurs équipes dans le monde depuis (Tengborg, Galbe, and Zacchi 2001; Cristóbal Cara et al. 2007; Cristobal Cara et al. 2008), sur des installations de laboratoire (Alfani et al. 2000; Oliva et al. 2003; Liu and Wyman 2005) ou petits pilotes. Les faibles temps de séjour (de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes) limitent la solubilisation des hémicelluloses, sous forme de dimères ou d'oligomères, et les rendements d'hydrolyse enzymatique de la cellulose restaient inférieurs à 50%, malgré des conditions de température élevées (jusqu'à 240°C), favorables aussi à la formation des inhibiteurs de fermentation comme le furfural si les durées de traitement sont prolongées. Cependant la

combinaison du prétraitement d'explosion à la vapeur avec la présence d'acide en faibles proportions permettrait d'améliorer nettement l'hydrolysabilité de la cellulose (Tengborg et al. 1998; Söderström et al. 2002; Söderström et al. 2003; Varga, Réczey, and Zacchi 2004; Ballesteros et al. 2006), et c'est cette voie qui a été retenue pour la conception et la réalisation de l'unité pilote Futurol (Procethol 2G) en France.

- La déstructuration des matières lignocellulosiques par détente brutale a aussi été exploitée dans d'autres milieux que l'eau : l'ammoniacque liquide sous pression d'une part, connue sous le nom de procédé AFEX (Teymouri et al. 2005; Y. Kim et al. 2008; Bals et al. 2010), et le CO₂ supercritique d'autre part (K. H. Kim and Hong 2001; Schacht, Zetzl, and Brunner 2008; Zheng, Lin, and Tsao 2008). Malgré des effets intéressants pour l'hydrolysabilité de la cellulose des matières lignocellulosiques, le développement de ces procédés reste pénalisé par les contraintes de mise en œuvre (ammoniacque liquide et recyclage, haute pression de CO₂ supercritique) et les coûts des technologies.

- Récemment, Karunanithy et Muthukumarappan ont proposé de combiner l'action chimique de l'hydroxyde de sodium par imprégnation de la matière lignocellulosique à l'action mécanique obtenue par extrusion monovis (C. Karunanithy and Muthukumarappan 2011). Le procédé, continu, qui permet la solubilisation et l'extraction des hémicelluloses et de la lignine, améliorant l'hydrolysabilité de la cellulose, est cependant pénalisé par le taux de réactifs nécessaires et le coût énergétique de l'extrusion de tels mélanges.

En conclusion, les prétraitements de la biomasse lignocellulosique conduisant à une bonne hydrolysabilité de la cellulose qu'elle contient, mettent en œuvre une combinaison d'action mécanique, thermique et chimique, dont l'intensité est modulée pour augmenter les surfaces d'échange (réduction de taille par broyage, défibrage thermomécanique et déstructuration par compression-détente brutale) et améliorer l'accessibilité de la cellulose aux enzymes (hydrolyse ou solubilisation/extraction des hémicelluloses et des lignines, décristallinisation de la cellulose).

Dans la perspective du transfert d'échelle et d'une faisabilité économique, les procédés doivent répondre à plusieurs objectifs :

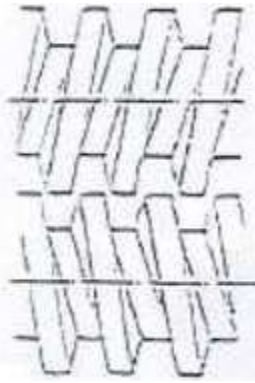
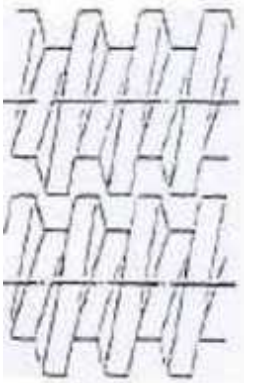
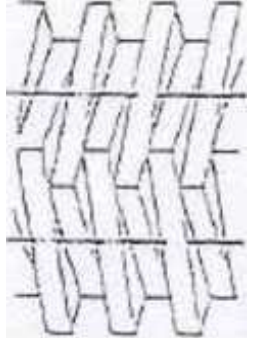

- Etre continus et minimiser les coûts des technologies mise en œuvre, et des dimensionnements pour contrôler l'impact des coûts d'investissement.
- Minimiser les réactifs chimiques pour limiter leur impact sur les coûts de fonctionnement ; De même pour la pression et la température sur les coûts en énergie.
- Minimiser les ratios liquide/solide pour augmenter la consistance dans le réacteur d'hydrolyse enzymatique, la concentration en sucre dans le fermenteur et donc au final la concentration en éthanol.
- Permettre une valorisation des coproduits et effluents de l'ensemble du procédé.

C'est pour tenter d'atteindre ces objectifs que nous nous sommes intéressé à la mise en œuvre de la technologie d'extrusion bi-vis pour la mise au point d'un nouveau procédé de prétraitement des matières lignocellulosiques en vue de leur conversion en bioéthanol.

I.7 L'extrusion bi-vis pour le prétraitement des biomasses lignocellulosiques

Connue depuis bientôt 145 ans, la technologie d'extrusion bi-vis s'est largement développée ces soixante dernières années pour des applications industrielles dans les secteurs de l'agroalimentaire (texturation et formage des matières amylacées et protéiques, formulation d'aliments pour animaux,...), de la plasturgie (compoundage et extrusion des thermoplastiques), et plus récemment de la fabrication des pâtes à papier. Donnant lieu à plusieurs variantes technologiques au niveau des vis (Tableau I-20), le principe de base reste toujours le même : un fourreau ajusté au diamètre des vis (Figure I-42) dans lequel sont installées deux vis parallèles, de profil identique (Figure I-43).

Tableau I-20: Différents types d'extrudeuse

Type	Contra-rotatives	Co-rotatives	Remarques
Non co-pénétrantes			Similaires à deux extrudeuses mono-vis en parallèle Equipements peu utilisés
Co-pénétrantes			Autonettoyantes Equipements très répandus
Remarques	Sens inverse de rotation des vis Très efficace sur le transport de la matière	Même sens de rotation des vis Action de mélange	

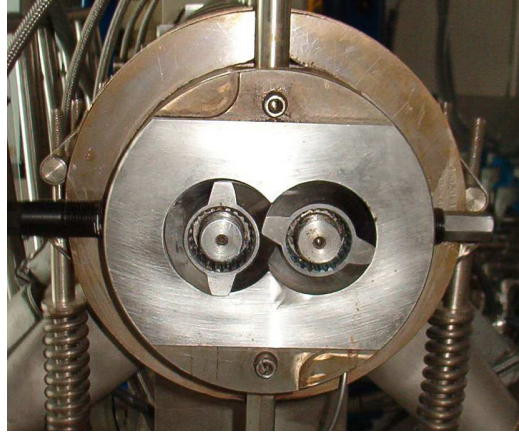


Figure I-42: Coupe de fourreau et vis d'extrudeuse

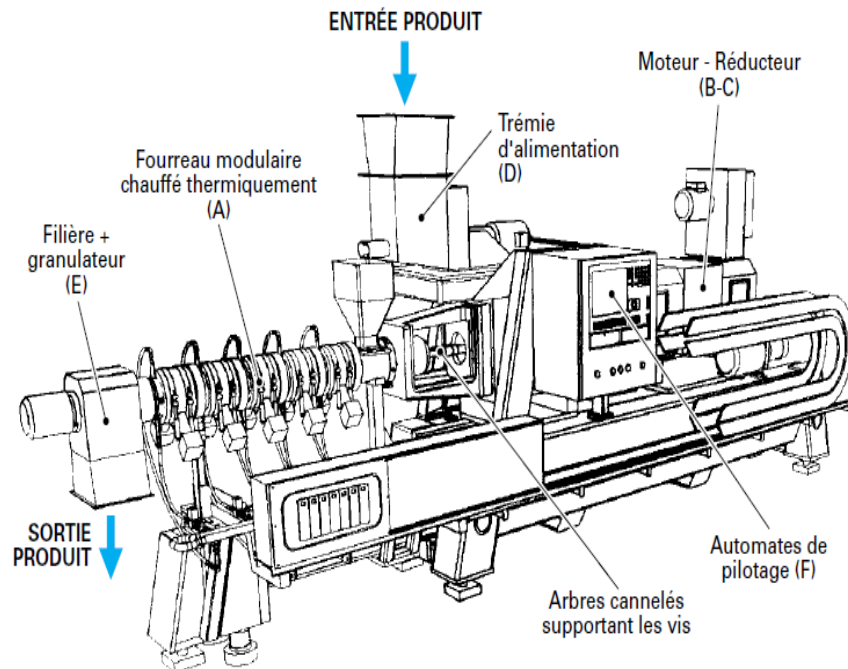


Figure I-43: Schéma d'une extrudeuse

Mais la fabrication par certains constructeurs d'équipement modulables, tant en configuration d'éléments de fourreau (possibilité de thermoréguler, d'injecter des liquides ou des gaz, d'introduire des solides, de filtrer et de dégazer...), qu'en profil de vis installé sur les arbres d'entraînement (Tableau I-21), a permis de développer une stratégie d'exploitation des effets mécanique et thermique que cette machine est capable de produire, et d'y réaliser la plupart des opérations élémentaires du fractionnement et la transformation de la matière végétale (Tableau I-22).

Tableau I-21: Types de vis en extrusion bi-vis

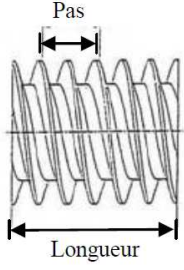
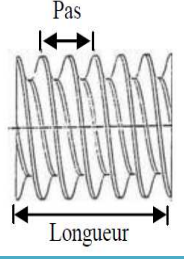
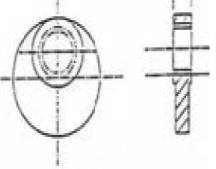
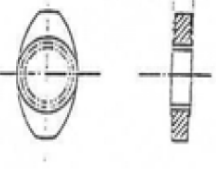
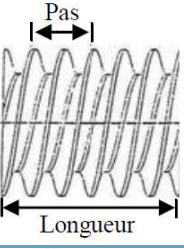
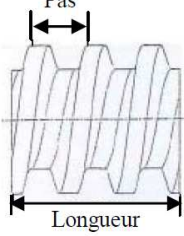
	Dénomination	Schéma	Mélange	Cisaillement	Convoyage	Remarques
Vis à pas direct	Trapézoïdale double filets (T2F)		+	+	+++++	Augmente l'avalement de la matière dans la zone d'alimentation Plus de poussée que C2F
	Conjuguée double filets (C2F)		+	+	+++	
	Conjuguée simple filets (C1F)		+	+	++++	
Éléments malaxeurs	Disque malaxeur monolobe (MAL0)		++	+++	+	Cisaillement plus important que les BB Compression radiale Augmente le temps de séjour
	Disque malaxeur bilobes (BB /MAL2)		+++	++	+/0/-	Forte action de mélange Convoyage positif ou négatif en fonction de l'angle de montage Augmente le temps de séjour
Vis à pas inverse	Contre-filet à double filets conjugués (CF2C)		++++	++++	---	Forte contre-pression Augmente le temps de séjour Forme un bouchon de matière dynamique
	Contre-filet à simple filet conjugué (CF1C)		++++	+++++	----	Très forte contre-pression Augmente le temps de séjour Forme un bouchon de matière dynamique

Tableau I-22: Opérations rencontrées lors du fractionnement de la matière végétale (Rigal 1996)

Opération	Type	Objectif
Broyage	Mécanique	Améliorer l'accessibilité des constituants de la matière aux réactifs
Mélange / Malaxage	Mécanique	Imprégner de la matière en réactifs pour limiter les limitations diffusionnelles
Réaction	Chimique et Thermique	Libération du constituant cible
Extraction	Physico-chimique	Solubiliser les solutés dans la phase liquide
Séparation liquide-solide	Mécanique	Séparer la phase liquide de la phase solide

Ainsi de nombreux procédés mettant en œuvre cette technologie bi-vis ont été étudiés et mis au point pour la transformation en continu de multiples matières premières dans une seule extrudeuse bi-vis conçue à cet effet (Tableau I-23).

Tableau I-23: Procédés de transformation de matières premières par extrusion bi-vis

Opération	Matière première	Référence
Extraction d'huile	Graine de neem	(Faye 2010)
	Graine de colza	(Guyomard 1994)
	Graine de tournesol	(Isobe et al. 1992; Guyomard 1994; Dufaure et al. 1999; Ika Amalia Kartika 2005; I. Amalia Kartika, Pontalier, and Rigal 2005; I. Amalia Kartika, Pontalier, and Rigal 2006; I. Amalia Kartika, Pontalier, and Rigal 2010; Ika Amalia Kartika 2012; Ph Evon et al. 2007; Philippe Evon 2008; Ph Evon et al. 2009)
	Graine de jatropha	(Ph Evon et al. 2013; Ika Amalia Kartika et al. 2013)
	Tournesol plante entière	(Philippe Evon 2008)
	Coriandre	(Sriti et al. 2012)
Estérification de triglycérides	Graine de tournesol	(Lacaze-Dufaure 1998)
Extraction de polysaccharides	Jambon sec	(Foret 2011)
	Paille et son de blé	(Marechal 2001)
Extraction d'hémicelluloses	Paille et son de blé	(Magro 1995; Marechal 2001; Zeitoun et al. 2010; Zeitoun 2011; Jacquemin 2012)
	Sorgho	(Manolas 1993; Senghane N'Diaye and Rigal 2009)
	Bois de peuplier	(S. N'Diaye et al. 1996; S. N'Diaye and Rigal 2000)
Extraction de pectines	Pulpe de betterave	(Jorda 2003)
	Tige et capitule de tournesol	(Vandenbossche 1998)
Estérification de pectines	Tige et capitule de tournesol	(Vandenbossche 1998)
Extraction de protéines	Tournesol plante entière	(Ph Evon et al. 2007; Philippe Evon 2008)
	Luzerne	(Dorothee Colas 2012; D. Colas et al. 2013)
	Jambon sec	(Foret 2011)
Extraction de polyphénols	Pin maritime et peuplier	(Celhay 2013)
Mise en forme	Pulpe de betterave et tourteau de tournesol	(Rouilly 2002; Rouilly, Jorda, and Rigal 2006)
	Tige et capitule de tournesol	(Vandenbossche 1998)

Appliqué comme prétraitement de matières lignocellulosiques pour améliorer l'hydrolysabilité enzymatique de la cellulose, plusieurs auteurs ont confirmé l'apport d'un passage en extrudeuse bi-vis (Tableau I-24).

Tableau I-24: Prétraitement de matières lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis

Matière	Conditions	Résultats	Références
Douglas fir	Taille de particule: 0,2 mm Vitesse de vis: 50 rpm Débit alimentation: 0,09 kg.h ⁻¹ Utilisation d'éthylène glycol, de glycérol, et de diméthyle sulfoxyde Type d'extrudeuse : 2D25S, Toyo Seiki	L'éthylène glycol est le meilleur additif pour la fibrillation Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 62,4% (6 fois plus que le témoin)	S.-H. Lee et al. 2009
Douglas fir Eucalyptus	Procédé de thermohydrolyse à 140-180°C suivie d'extrusion Taille de particule: 3 mm Vitesse de vis: 45-120 rpm Nombre de passages de la matière : 1-5 Température : ambiante Type d'extrudeuse : 2D15 W, Toyo Seiki	Traitement de thermohydrolyse amélioré par extrusion (Douglas fir 5 fois plus que le témoin) Traitement efficace avec le bois	S.-H. Lee et al. 2010
Paille de maïs	Taille de particule: 2 mm Teneur en humidité: 50% Vitesse de vis: 40, 60, 80 et 100 rpm Température: 140°C Débit alimentation: 0,22 kg.h ⁻¹ Hydroxyde de sodium: 0,004, 0,012, 0,013 et 0,04 g.g ⁻¹ de biomasse sèche Type d'extrudeuse : TSE 20 C.W. Brabender	Conditions de prétraitement optimales: Température: 140 °C Vitesse de vis: 80 rpm Hydroxyde de sodium: 0,04 g.g ⁻¹ de biomasse sèche Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 86,8% (3,9 fois plus que le témoin) Xylose: 50,5% (13,3 fois plus que le témoin) Pas de relation entre la cristallinité et les rendements en sucres Le prétraitement alcalin augmente la porosité de la matière par rapport au témoin ce qui augmente les rendements en sucres	(S. Zhang et al. 2012)

Tableau I-25: Prétraitement de matières lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis (suite)

Matière	Conditions	Résultats	Références
Paille de maïs	Taille de particule: 2 mm Teneur en humidité: 22.5-27,5% Vitesse de vis: 40-140 rpm Température: 50-140°C Débit alimentation: 0,22 kg.h ⁻¹ Type d'extrudeuse : TSE 20/40 C.W. Brabender	Conditions de prétraitement optimales: Température: 140 °C Vitesse de vis: 80 rpm Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 48,79% (2,2 fois plus que le témoin) Xylose: 24,98% (6,6 fois plus que le témoin)	(S. Zhang, Xu, and Hanna 2012)
Miscanthus	Taille de particule: 0,5–5 cm Teneur en humidité: 10, 20, 30, 40 et 50% Vitesse de vis: 100 rpm Température: 100°C Débit alimentation: 15–30 kg.h ⁻¹ Pré-mélange avec 12% NaOH Type d'extrudeuse : Cleextral BC45, Cleextral	Conditions de prétraitement optimales: Température: 70°C Vitesse de vis: 100rpm NaOH Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 69% Xylose: 38% Relation inverse entre la teneur en lignines et l'efficacité de l'hydrolyse de la cellulose Délignification optimale de 77% obtenue avec une étape d'extrusion alcaline	(De Vrije et al. 2002)
Paille de riz	Taille de particule: <1 cm Teneur en humidité: 50% Vitesse de vis: 30–150 rpm Température: 80–160 °C Débit alimentation: 5–7 kg.h ⁻¹ Pré-mélange avec acide sulfurique 1 à 3% Extrusion suivie d'une extraction à l'eau chaude Type d'extrudeuse : PSM50, Sino-Alloy Machinery inc	Conditions de prétraitement optimales: Température: 120 °C Vitesse de vis: 40 rpm Acide sulfurique à 3% Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 80% Xylose: 83,7%	(Chen et al. 2011)
Paille de colza	Taille de particule: 1,40–2,36 mm Teneur en humidité: 5 à 10% Vitesse de vis: 19,7rpm Température: 150-165°C Débit alimentation: 0,5 g.min ⁻¹ Pré-mélange avec acide sulfurique 3,5% S/L ratio 1:13 à 1:9 Type d'extrudeuse : DK-EXT-01, Biotron Co	Conditions de prétraitement optimales: Température: 165°C Vitesse de vis: 19,7rpm Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 70,9% (28,8% plus que témoin) Solubilisation des hémicelluloses et augmente la digestibilité de la cellulose	C. H. Choi & Oh 2012

Tableau I-26: Prétraitement de matières lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis (suite)

Matière	Conditions	Résultats	Références
Paille de maïs	Deux étapes : une hydrolyse acide des hémicelluloses à contre courant et une solubilisation alcaline des lignines Type d'extrudeuse : 27mm, Entek Extruders	Conditions optimales: autohydrolyse contrecourant à 210°C suivie imprégnation NaOH (0,06 g.g ⁻¹ biomasse) à 220°C	Kadam et al. 2009
Gousse de soja	Taille de particule: <1mm Teneur en humidité: 20, 25, 30, 35, 40, 45 et 50% Vitesse de vis: 280, 350 et 420 rpm Température: 80, 110 et 140°C Débit alimentation: 1,4 à 2,0 kg.h ⁻¹ / 0,48 à 0,84 kg.h ⁻¹ Pré-mélange avec 0, 5, 10 et 20% d'amidon de maïs Essai avec pré-mélange avec agents chimiques : solutions d'éthylène glycol 1:1, 1:3 et 1:9 Type d'extrudeuse : Micro-18, American Leistritz	Conditions de prétraitement optimales: Température: 80°C Vitesse de vis: 350 rpm Humidité: 40% Maximum en sucres libérés après saccharification: Glucose: 95% (132,2% d'augmentation par rapport au témoin) Plus efficace qu'un prétraitement alcalin ou acide pour la conversion de cellulose	Juhyun Yoo et al. 2011
Son de blé Gousse de soja	Taille de particule: < 1,8 mm Teneur en humidité: 25% Débit alimentation: 1,2 kg.h ⁻¹ Température: Son de blé : 110-150°C Gousse de soja : 110°C Essai avec pré-mélange avec agents chimiques : solutions 10% d'hydroxyde de sodium, d'urée et de thiocarbamide puis extrudés à 150°C Type d'extrudeuse : Micro-18, American Leistritz	Conditions de prétraitement optimales: Température: 150°C et 110°C Maximum en sucres libérés après saccharification: Sucres réducteurs: Blé : 60-73% Soja : 25-36% Meilleur rendement en sucres comparé à un prétraitement mécanique de broyage dans le cas du blé Pas d'amélioration des rendements en sucres avec les agents chimiques.	(Lamsal et al. 2010)

Dans la plupart de ces études :

- L'extrudeuse bi-vis mis en œuvre est un appareillage de laboratoire (Micro-18, American Leistritz ; 27mm, Entek Extruders ; DK-EXT-01, Biotron Co ; TSE 20 C.W. Brabender ; 2D15 W, Toyo Seiki), non modulable et dont la configuration est prédéfinie, de petite capacité (quelques kg.h⁻¹).

- La matière lignocellulosique est le plus souvent finement broyée (capacité d'avalement de l'extrudeuse) et préimprégnée par les réactifs ou les solvants avant introduction dans l'extrudeuse (De Vrije et al. 2002; S.-H. Lee, Teramoto, and Endo 2009; S.-H. Lee et al. 2010; Lamsal et al. 2010; Yoo et al. 2011; S. Zhang et al. 2012).

Ces études mettent en évidence l'apport d'un passage en extrusion à la suite d'un prétraitement chimique. En effet l'action thermomécanique apportée par l'extrudeuse bi-vis permet d'augmenter significativement les rendements de saccharification des matières traitées. Cependant ces études sont effectuées en plusieurs étapes discontinues et séparent les actions chimiques des réactifs ou solvants de l'action physique de l'extrusion. De plus l'utilisation d'une extrudeuse dont la configuration est prédéfinie limite les possibilités d'action sur la matière première.

Quelques études ont choisi de concevoir les profils de vis de l'extrudeuse afin d'affiner au mieux les effets désirés sur la biomasse (compression/décompression de la matière, utilisation de contre filet...) (Kadam, Chin, and Brown 2009a; Lamsal et al. 2010; Chen et al. 2011; Yoo et al. 2011; Chang Ho Choi and Oh 2012) et d'intégrer le prétraitement chimique à l'extrusion en injectant les réactifs dans l'extrudeuse (Kadam, Chin, and Brown 2009a; Chen et al. 2011; Chang Ho Choi and Oh 2012). Ces prétraitements permettent d'allier traitement chimique, thermique et mécanique en une étape unique continue tout en améliorant les rendements de saccharification post prétraitement. Une demande de dépôt de brevet japonais parle même d'une injection d'enzymes saccharifiantes en extrudeuse sans toute fois décrire de conditions opératoires ou de résultats obtenus (Kazuhiro 2009) . Ces études s'inscrivent dans le cheminement de notre étude pour une compaction des étapes de prétraitement et une intégration la plus totale possible du procédé.

I.8 Conclusion

L'utilisation de la biomasse lignocellulosique pour produire des biocarburants de seconde génération est en plein essor. Les points clés qui s'érigent encore comme barrière au développement de ces nouvelles énergies sont le prétraitement de la matière, l'amélioration de l'hydrolyse enzymatique et de la fermentation des sucres (en particulier des pentoses).

Le prétraitement de la biomasse influence énormément les deux autres phases qui s'en suivent, et de ce fait est l'objet de beaucoup d'intérêt pour son amélioration. Divers procédés ont été développés et parmi eux l'extrusion s'avère particulièrement efficace pour déstructurer mécaniquement et thermiquement en continu la matière. De plus l'ajout d'un agent chimique peut y être fait ce qui renforce et ouvre le panel d'effets possibles sur la biomasse.

En ce qui concerne l'effet déstructurant visé par cette étude, l'objectif sera de développer un procédé capable de travailler la matière, tout en extrayant les hémicelluloses et une partie de la lignine pour améliorer l'accessibilité de la cellulose aux enzymes. Les hémicelluloses extraites pourront être hydrolysées pour améliorer le potentiel éthanolique de la matière utilisée. Pour cela un traitement alcalin en extrusion permettra de réaliser ces extractions et cette déstructuration.

Dans un souci d'intégration et de compaction maximale, la phase d'extrusion contiendra les traitements thermique, mécanique et chimique voire biologique dans une seule étape. Une partie de la phase d'hydrolyse pourrait donc être intégrée à ce prétraitement pour en réduire la durée ou le volume de traitement.

Au cours de cette étude il s'agira donc tout d'abord de sélectionner et caractériser les matières premières ainsi que les cocktails enzymatiques nécessaires à l'étude. Le développement du prétraitement en question, suivi de son adaptation à l'échelle pilote puis industrielle, seront ensuite exposés.

II Sélection et caractérisation des biomasses lignocellulosiques

La biomasse lignocellulosique accessible pour la production de bioéthanol est constituée d'une grande variété de matières pariétales végétales, dont l'origine botanique et anatomique, la forme, la structure et la composition ligno-hémicellulo-cellulosique peuvent être très différentes. Notre objectif étant de concevoir et mettre au point un nouveau procédé de transformation de ces matières lignocellulosiques, il est nécessaire d'en sélectionner quelques unes comme représentantes modèles des grandes catégories de biomasses accessibles. Nous présenterons dans ce chapitre les caractéristiques de ces matières premières choisies pour notre étude.

II.1 Origine et disponibilité des matières premières

Sept types de matières lignocellulosiques ont été étudiés comme matières premières au cours de ce projet (Tableau II-1 Tableau II-). Elles ont été sélectionnées et approvisionnées par les partenaires du projet Babethanol.

Tableau II-1: Origine des matières premières étudiées

Matières	Code	Fournisseur	Partenaire du projet	Origine géographique de production (Provenance des matières utilisées)
Coproduit de conserverie de maïs doux	CCMD	Sarl Soupro+	INPT	Monde (France)
Coproduit de production d'huile de palme Pinzote	CPHP	Grupo Numar	UCR	Amérique centrale, Afrique, Asie (Costa Rica)
Coproduit de production de Tequila Bagasse d'Agave bleue	CPT	Tequilera Patrón	CRT	Amérique du nord (Mexique)
Coproduit de production de sucre Bagasse de canne à sucre	CPS	IICA/PROCISUR	IICA/PROCISUR	Amérique du sud, Afrique, Asie, Océanie (Brésil)
Coproduit de culture céréalière Paille d'orge	CCC	Centre for the Development of Renewable Energy Sources (CEDER)	CIEMAT	Monde (Espagne)
Coproduit de culture viticole Sarments de vigne	CCV	IICA/PROCISUR	IICA/PROCISUR	Europe, Amérique du sud (Chili)
Coproduit de culture sylvicole Résidu d'Eucalyptus	CCS	IICA/PROCISUR	IICA/PROCISUR	Amérique du sud, Océanie (Argentine)

II.1.1 Coproduit de conserverie de maïs doux

Le maïs doux est une variété de maïs (*Zea mays*), très proche du maïs traditionnel (Figure II-1), mais cultivé pour son grain riche en sucres. Sa culture est annuelle, et la récolte s'étale de juillet à octobre en France. L'épi est récolté encore vert, lorsque le grain est jeune, humide et tendre.

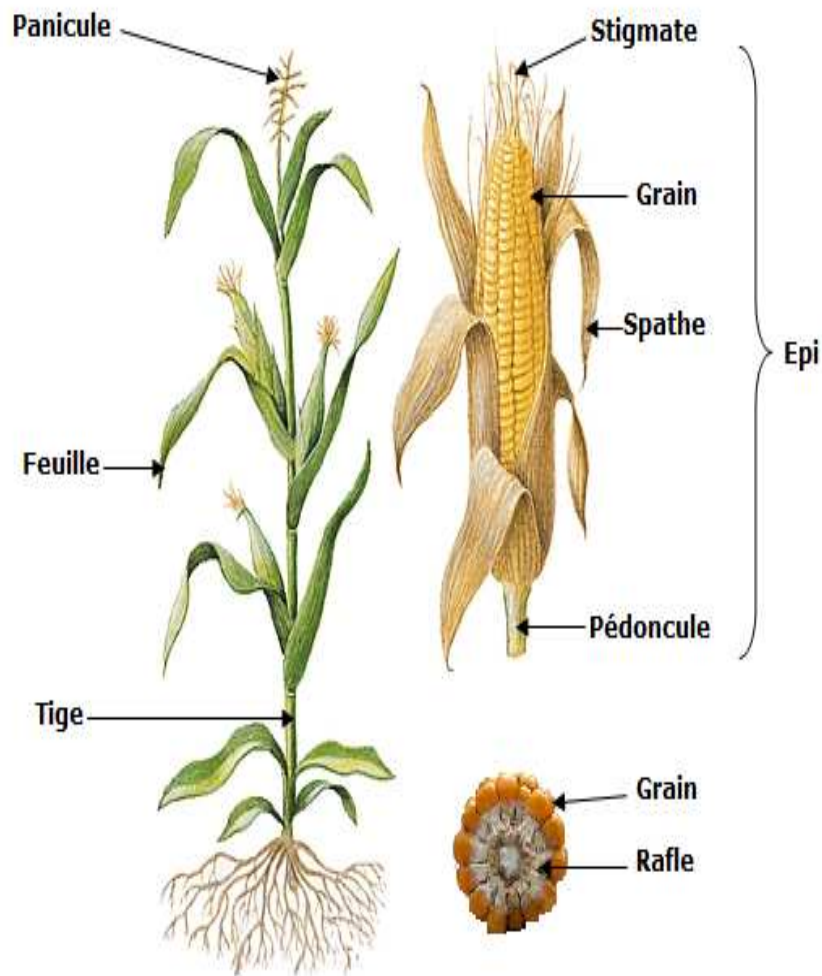


Figure II-1: Maïs doux plante entière (Source : Archives Larousse)

Exclusivement destiné à l'alimentation humaine, il est consommé comme légume, en frais, ou bien congelé (épis entier), ou mis en conserve (en grain). Dans la conserverie, les épis sont effeuillés, puis les grains coupés le long de la rafle et mis en conserve (Figure II-2).

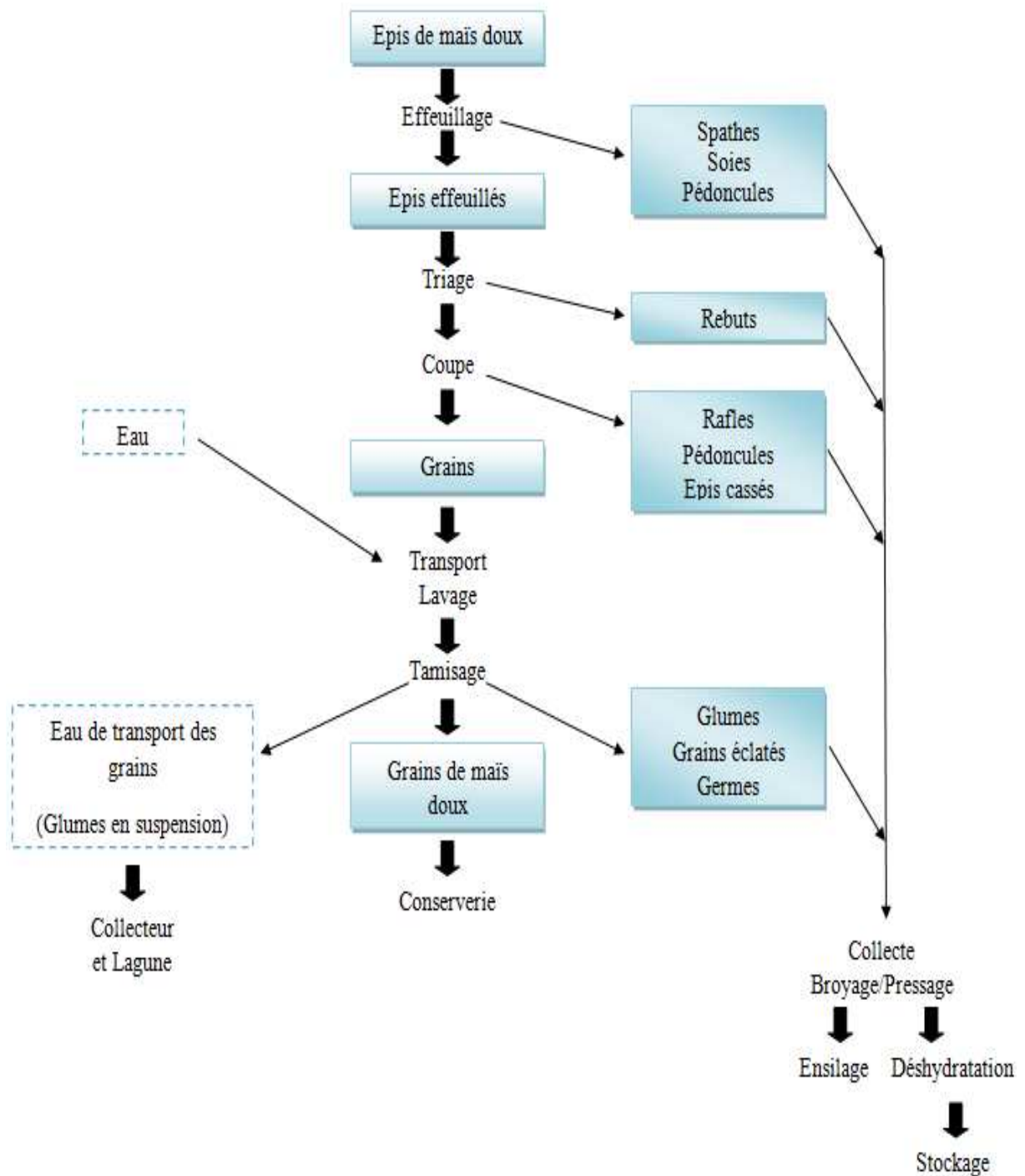


Figure II-2: Schéma de traitement des épis de maïs doux (Makoumbou 1988)

Les coproduits de la conserverie de maïs doux sont constitués essentiellement des feuilles enveloppant les épis (20%), appelées spathes, et des rafles, porteuses des bases de grains (24%). Ils sont pressés pour en diminuer l'humidité (20 à 30%MS), et être ensilés (Irda 2005), ou déshydratés, pour l'alimentation animale. C'est sous sa forme déshydratée, à 90% de matière sèche, fournie par la société Soupro+ (Castelmoron sur lot, 47) que nous l'étudierons.

Dans le monde 390 000 ha de surfaces sont cultivées pour la production de maïs doux (euromais 2009) dont 20% en Union Européenne. La France représente 36% des surfaces de maïs doux cultivés dans l'UE, avec environ 25000 ha localisés principalement en Aquitaine (AGPM) (Figure II-3).

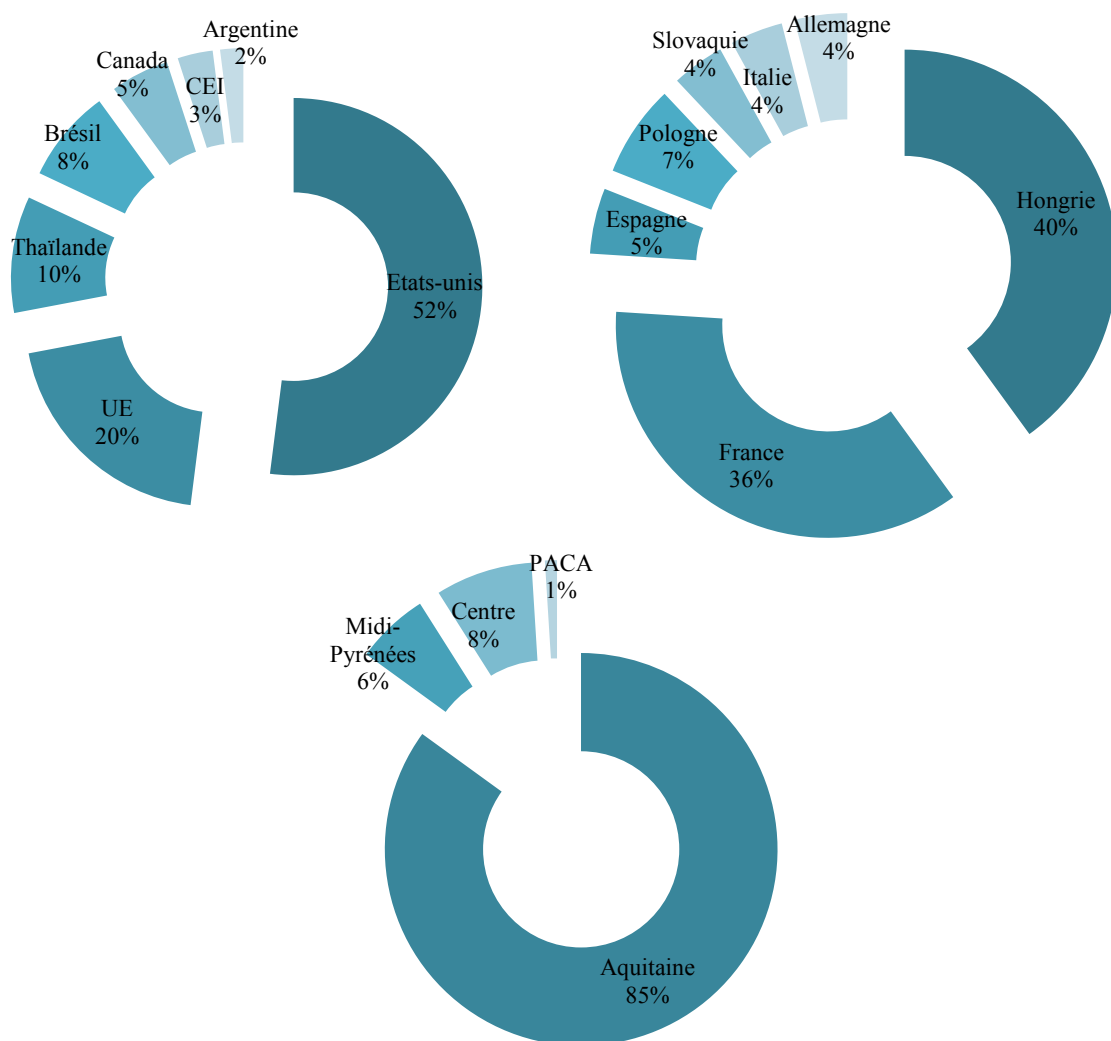


Figure II-3: Répartition des surfaces mondiales, européennes et françaises de culture de maïs doux (moyenne triennale 2008-2010) (Source AGPM)

Selon l'institut de l'élevage (idele.fr) avec un rendement moyen de 20t/ha de biomasse verte, les grains consommables extraits représentent 6 à 10t/ha et les coproduits 10 à 14t/ha. Les coproduits de maïs doux représentent donc entre 50 et 70% du rendement massique de la production de maïs doux. Rapportée aux surfaces cultivées la disponibilité peut donc être estimée à une ressource annuelle comprise entre 250 000 et 350 000t en France et 3 900 000t et 5 460 000t mondiale. Dans le sud ouest de la France les usines de conserverie de maïs doux traitent 280 000 t/an d'épis de maïs doux (Adepale 2011), correspondant à une production localisée en sortie d'usine de 280 000 à 390 000 t/an de coproduits, soit sur une campagne de conserverie (3 mois), environ 3000 à 4000 t/j.

Les coproduits de maïs doux constituent donc une matière première modèle originale pour notre étude :

- Disponible sur les sites concentrés des usines de conserverie, conditionnée sous forme ensilée ou déshydratée.
- Formée d'un mélange de fibres, de feuilles et de particules de rafles.
- Correspondant à une matière végétale produite annuellement et récoltée verte, avant sénescence, dans des zones géographiques au climat tempéré, bien irriguées et issues d'une culture très organisée (sélection des semences, conduite culturale et programmation des récoltes contractualisées).
- N'ayant subi aucun traitement thermomécanique d'extraction et peu de contrainte mécanique (pressage) et thermique (déshydratation).

II.1.2 Coproduit de l'industrie de Tequila : la bagasse d'agave bleue

L'agave bleue (*Agave tequilana*) est une variété d'agave, cultivée pour son cœur autrement appelé piñas (ananas), riche en sève sucrée, utilisée comme matière première pour la production de tequila au Mexique (Figure II-4). C'est une plante pérenne, qui arrive à maturité après environ une dizaine d'année, pour fleurir puis mourir. Elle est récoltée au bout de 6 à 9 ans, avant la floraison. La superficie de culture s'étend au Mexique sur plus de 40 000 ha (Alonso Gutiérrez, 2005).

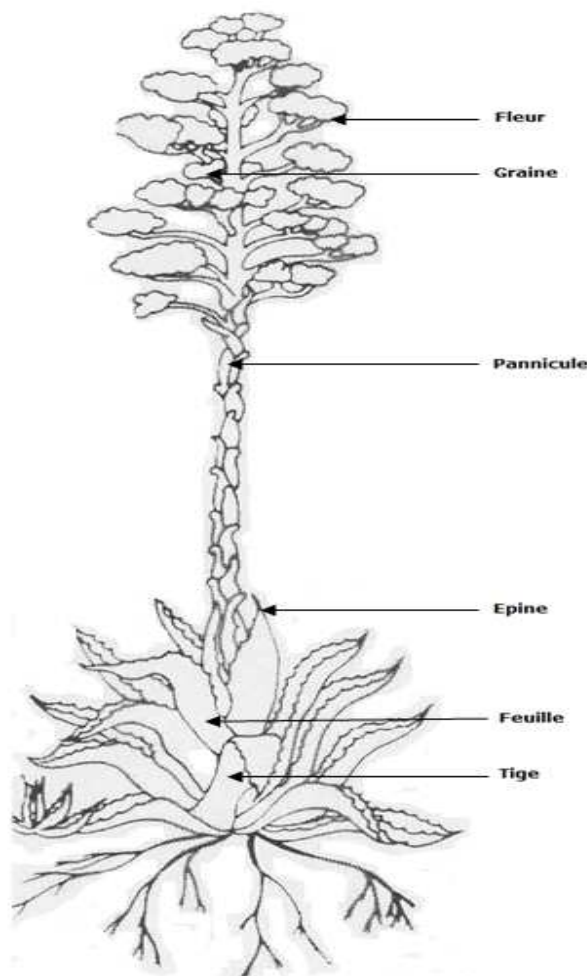


Figure II-4: Agave plante entière (Alonso Gutierrez 2005)

Pour la production de tequila (Figure II-5), les feuilles sont éliminées pour ne collecter que le cœur de la plante. Ce cœur subit ensuite une étape d'hydrolyse à haute température (130 à 185°C) dans un four, puis est pressé pour en extraire tout le jus sucré, qui est par la suite fermenté. Le solide résiduel du pressage est appelé bagasse (Figure II-6). La bagasse d'agave étudiée dans ce travail a été fournie par la société Patrón (site de Jalisco) au Mexique.

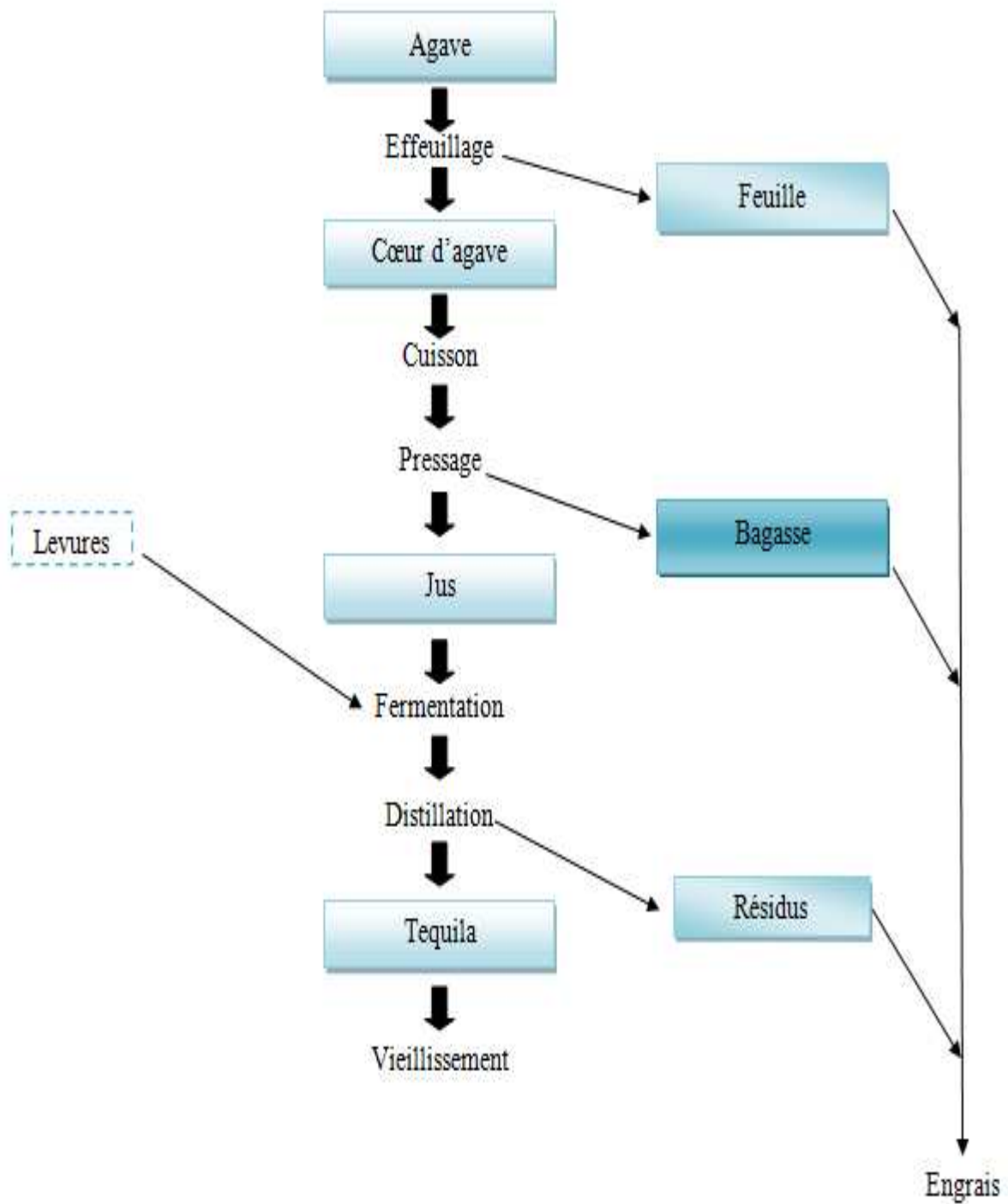


Figure II-44: Schéma de production de téquila



Figure II-6: Photos représentant les étapes de transformation de la plante d'agave (1) au cœur effeuillé (2) et jusqu'à la bagasse (3)

Selon le Conseil de Régulation de la Téquila (CRT), 880 600t d'agaves brutes auraient été utilisées pour produire 253 millions de litres de téquila en 2012 et 500 000t de bagasse humide représenteraient la disponibilité de cette matière au niveau national (crt.org.mx). La capacité moyenne d'une distillerie est de 7000 t/an, soit une production de 4000 t/an et 11 t/j de bagasse sur un site industriel.

La bagasse d'agave constitue donc une matière première modèle :

- Issue d'une plante cultivée dans les régions sèches et semi arides du Mexique.
- Disponible sur les sites industriels des distilleries, conditionnée sous forme sèche (93%MS).
- Formée de fibres de cœur, homogènes, d'un âge de 6 à 9 ans.
- Ayant subi une transformation thermomécanique (cuisson et pressage).

II.1.3 Coproduit de production d'huile de palme : le Pinzote

Le palmier à huile est un arbre cultivé dans les zones tropicales humides pour ses fruits, rassemblés en régimes (Figure II-7), riches en huiles à applications alimentaires et cosmétiques. Les fruits (les drupes) sont constitués d'une coque rigide renfermant une pulpe et une amande toutes deux riches en huiles (huile de palme et huile de palmiste respectivement).

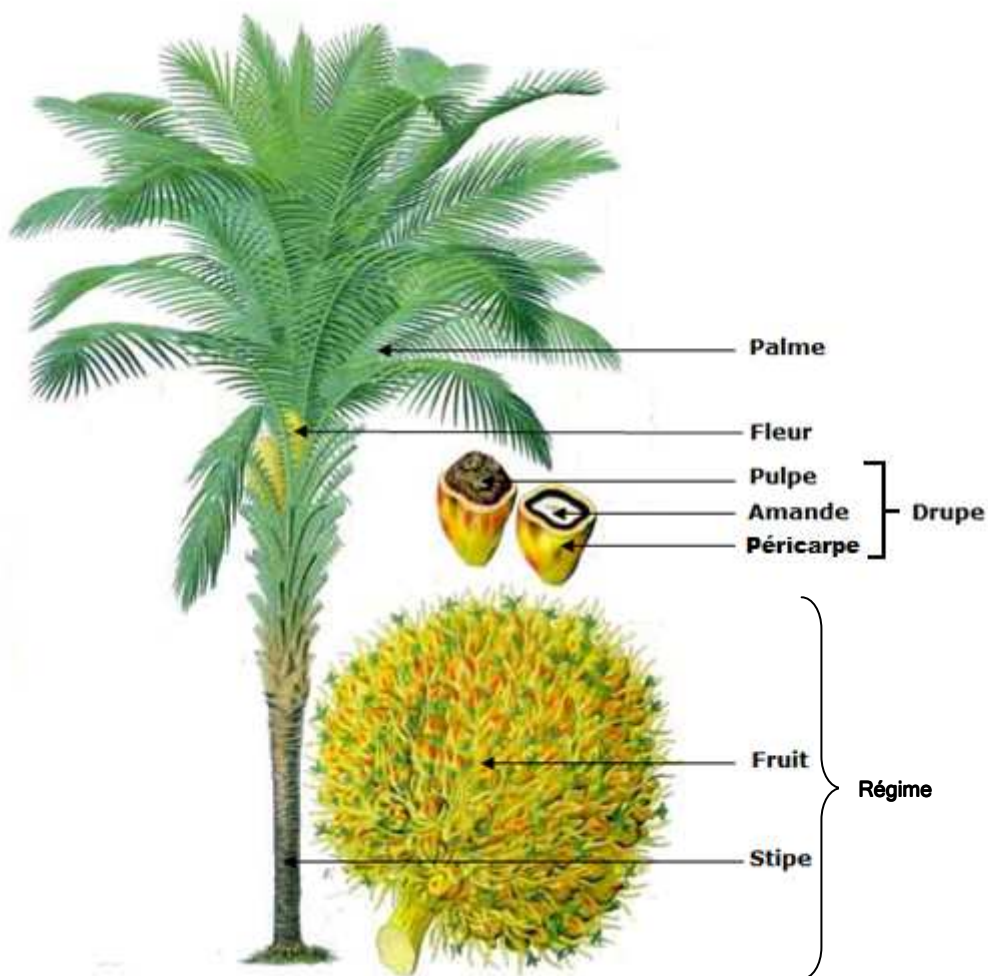


Figure II-7: Palmier à huile et de son fruit

La production d'huile est réalisée à partir de la grappe entière du régime récolté (Figure II-8). Le Pinzote est la partie résiduelle obtenue après l'étape de dégrappage des fruits. Il est constitué en grande partie des fibres issues du régime (Figure II-9). Le Pinzote étudié dans ce travail est fourni par la société Numar au Costa Rica.

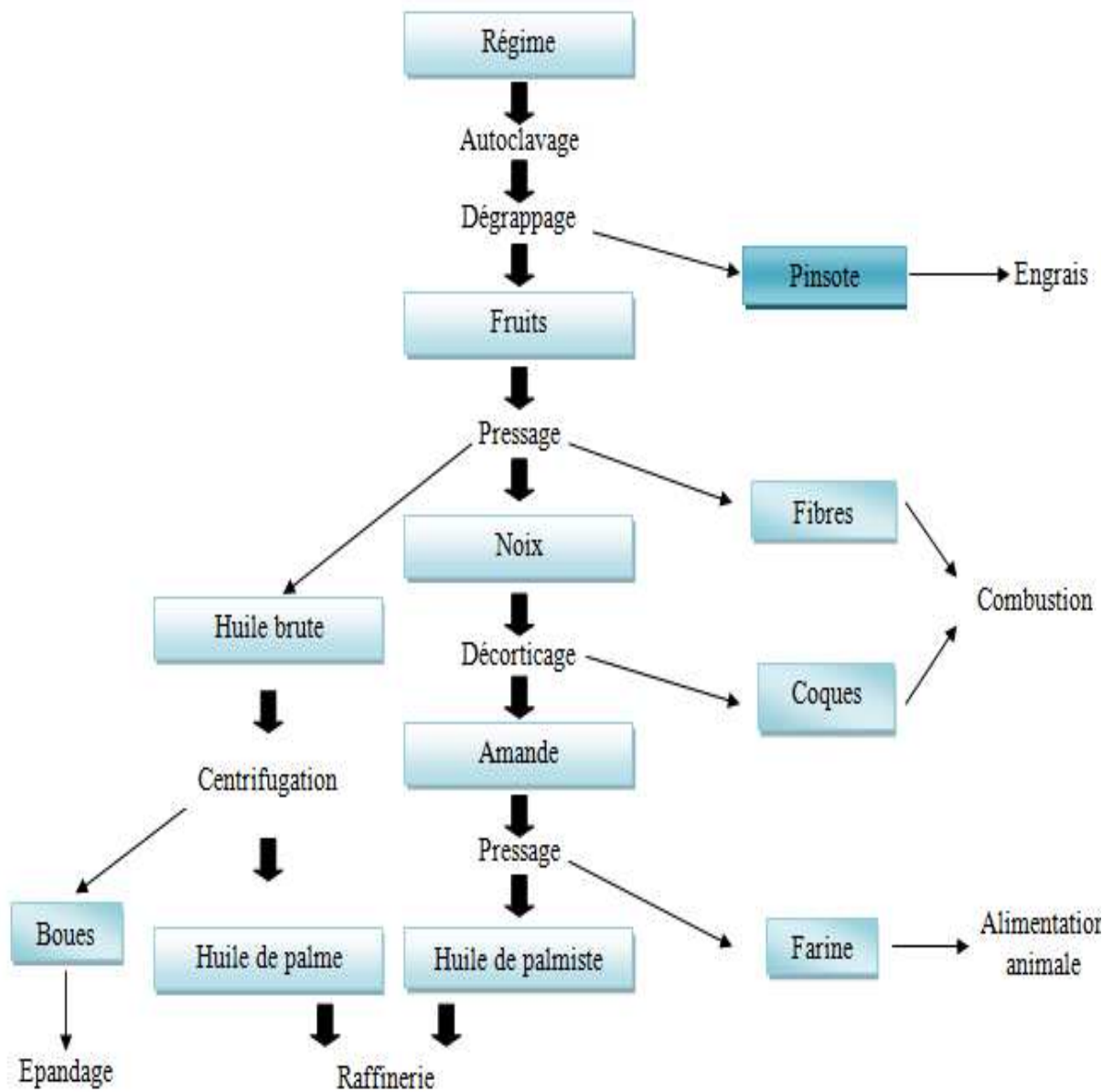


Figure II-8: Schéma d'extraction des huiles de palme et de palmiste



Figure II-9: Photos représentant les fruits sur le régime (1) et le Pinzote après extraction des huiles (2)

En 2011, plus de 16 millions d'hectares de palmeraie ont été cultivés dans le monde pour produire plus de 233 millions de tonnes de régimes de fruits (FAOSTAT).

Selon le groupe Numar l'extraction des huiles génère des coproduits qui représentent entre 58 et 73% massique des régimes traités, dont 18 à 25% représentés par le Pinzote (Tableau II-2). Cela permet d'estimer la disponibilité mondiale annuelle de cette matière première entre 42 et 61 millions de tonnes.

Tableau II-27: Proportion et quantité annuelle des résidus d'huile de palme (Source Numar)

Nom	Proportion massique / régime (%)	Tonnage annuel (10 ⁶ t)	Utilisation
Régime	100	234	-
Pinzote	18-26	42-61	Engrais
Fibres	12-15	28-35	Combustion/Génération d'électricité
Coques	5-8	11-19	Combustion/Génération d'électricité
Boues	21-25	49-59	Epannage
Farine	2-3	4-7	Alimentation animale
Résidus totaux	58-77	134-181	-

Le Pinzote représente donc une matière première modèle originale :

- Issue d'une culture intensive et récoltée annuellement dans les zones tropicales humides pour la filière de production d'huile.
- Disponible sur les sites industriels des huileries.
- Formée de fibres de rameaux support des fruits du régime récolté.
- Ayant subi une opération de cuisson en autoclave, et de dégrappage mécanique des fruits, mais pas de pressage mécanique.

II.1.4 Coproduit de culture céréalière : la paille d'orge

L'orge est la 4^{ème} céréale cultivée dans le monde, traditionnellement dans les zones géographiques méditerranéennes. Cultivée pour son grain, elle est aussi devenue une ressource en paille très importante dans le monde. Les pailles d'orge sont constituées des tiges et feuilles restantes après récolte à maturité des grains. Elles sont conditionnées en balles séchées à 15% d'humidité. La paille d'orge approvisionnée pour cette étude par le CIEMAT provient du Centre for the Development of Renewable Energy Sources (CEDER).

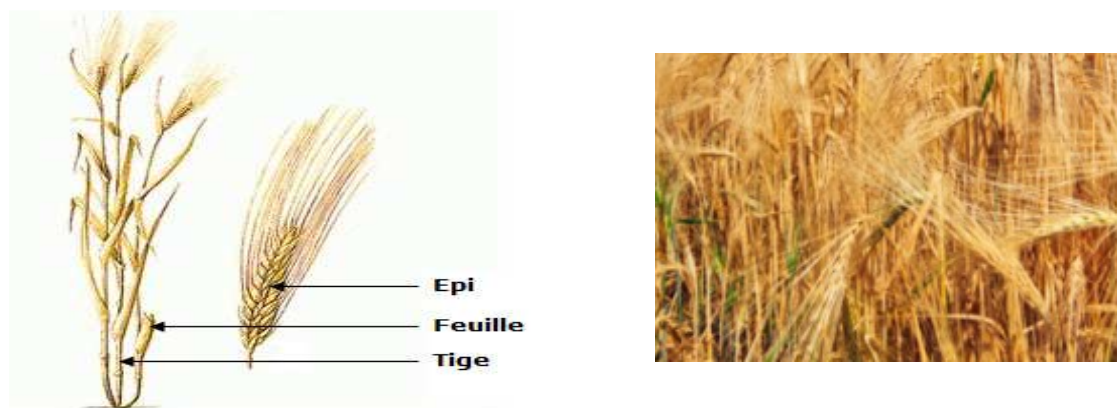


Figure II-10: L'orge plante entière

En 2011, la culture d'orge mondiale s'étend sur une superficie de plus de 48 millions d'hectares, pour une production supérieure à 134 millions de tonnes de grains d'orge (FAOSTAT).

Les rendements en paille varient en fonction du protocole de récolte. Selon l'union des industries de la fertilisation (Unifa) les rendements en paille représentent 75% du rendement en grain pour une paille fauchée à 10 cm du sol, et 50% pour une fauche à 20 cm au dessus du sol. La disponibilité mondiale de cette biomasse serait ainsi comprise entre 67 et 100 millions de tonnes de paille en fonction de la méthode de récolte.

Les pailles d'orge sont une matière première modèle :

- Issue d'une culture traditionnelle céréalière récoltée annuellement comme coproduit sec au champ.
- Disponible avec une filière organisée de récolte et conditionnement, stockable en balle.
- Formée de fibres de feuilles et tiges, comparables aux autres pailles de céréales.
- N'ayant subi aucune opération de prétraitement autre que ceux de la récolte et du conditionnement, et pas de contrainte thermique autre que le séchage au soleil.

II.1.5 Coproduits du bois d'Eucalyptus

Il existe plus de 400 espèces d'Eucalyptus, tous originaire de l'hémisphère sud (principalement l'Australie). Il est aujourd'hui cultivé en Europe, Afrique du nord, Amérique du sud et dans certaines îles (Madagascar, Malte, La Réunion) (Figure II-11). Leur culture et leur transformation industrielle produisent des résidus lignocellulosiques de différentes natures (Tableau II-3).



Figure II-11: Plantation d'Eucalyptus (<http://intothefarm.com>)

Tableau II-3: Produits et coproduits de l'industrie du bois d'Eucalyptus (IICA-PROCISUR)

Résidus industriels	Proportions (%)
Ecorce	7
Sciure	17
Planche	19
Copeaux	8
Chips	48
Autres	1

Leur utilisation est souvent à vocation énergétique, et certains pays comme le Chili ont une demande supérieure à l'offre, d'où une disponibilité nulle. Les coproduits d'Eucalyptus ont été fournis par le partenaire IICA-PROCISUR.

La disponibilité de ces résidus a été évaluée par IICA-PROCISUR pour l'Argentine à $1,7.10^6$ tonnes d'origine industrielle et $3,9.10^6$ tonnes de résidus de taille, et pour l'Uruguay à $0,3.10^6$ tonnes d'origine industrielle et $1,2.10^6$ tonnes de résidus de taille. L'estimation globale pour ces deux pays s'élève donc à environ $7,1.10^6$ tonnes annuelles.

Les résidus de bois d'Eucalyptus sont donc une matière première modèle :

- Issue de la sylviculture et de la transformation des bois dans la zone géographique d'Amérique du sud.
- Disponible sous forme de granulats sur les sites industriels d'exploitation des forêts et de transformation des bois.
- Formée de fibres lignocellulosiques caractéristiques des bois.
- N'ayant subi aucune autre transformation que mécanique (sciage, déchetage).

II.1.6 Coproduits de la viticulture : les sarments de vigne

La vigne, cultivée depuis l'antiquité pour ses baies sucrées, se trouve géographiquement répartie entre le 30^{ème} et le 50^{ème} parallèle au nord et au sud du globe, dans les zones tempérées. C'est une culture à vocation alimentaire qui s'étendait sur plus de 7.10^6 hectares en 2011 (FAO 2011).

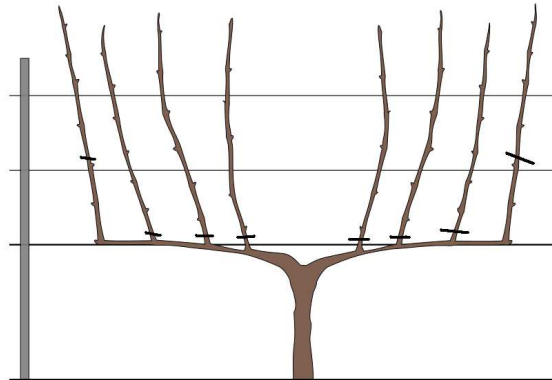


Figure II-12: Schéma d'un cep de vigne et des emplacements de taille



Figure II-13: Sarments de vignes coupés

Les sarments de vignes (Figure II-13) sont les résidus de la taille annuelle de la vigne en saison froide (Figure II-12). Selon l'IRD de Mendoza (Argentine) ces résidus représenteraient en moyenne 2,5 tonnes sèches par hectare cultivé. La disponibilité mondiale de cette ressource serait donc annuellement de plus de 17.10^6 tonnes. Les sarments de vigne broyés étudiés dans ce travail ont été fournis par le partenaire IICA-PROCISUR.

Les sarments de vigne sont donc une matière première modèle :

- Issue d'une culture très largement répartie dans les zones tempérées.
- Disponible au champ en saison froide.
- Formée de fibres lignocellulosiques de bois jeunes.
- N'ayant subi aucune transformation thermomécanique.

II.1.7 Coproduit de l'industrie sucrière : la bagasse de canne à sucre

La canne à sucre est une plante cultivée pour sa tige riche en sucre (Figure II-14). La culture de la canne à sucre est répandue sur plusieurs continents aux latitudes tropicales. Elle représente la plante la plus cultivée sur le plan mondial avec, en 2011, presque $1,8 \cdot 10^9$ tonnes produites (FAO 2011). Le jus de canne contenant le sucre est extrait de la tige par broyage et diffusion. Le résidu fibreux obtenu après extraction du sucre est appelé bagasse. La bagasse étudiée dans ce travail a été fournie par le partenaire IICA-PROCISUR.

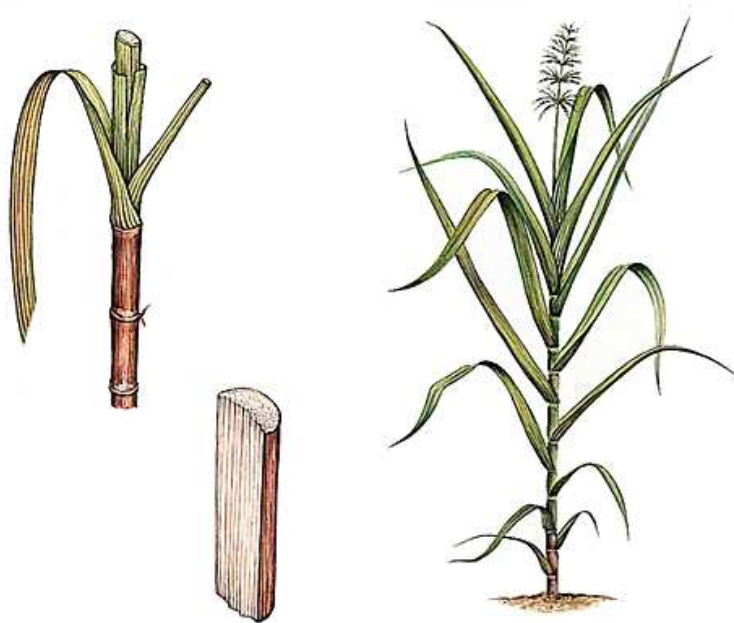


Figure II-14: Plant de canne à sucre (Archives Larousse)

La bagasse, à un taux d'humidité d'environ 50%, représente environ 0,3 tonne par tonne de cannes broyées. Ramené à la production totale mondiale, cela donne une disponibilité mondiale d'environ $300 \cdot 10^6$ tonnes par an (FAOSTAT).

La bagasse de canne à sucre est donc une matière première modèle :

- Issue d'une culture sucrière très abondamment répandue dans les zones tropicales.
- Disponible sur les sites industriels de sucrerie.
- Formée de fibres lignocellulosiques de tiges de plante annuelle sucrière.
- Ayant subi les traitements thermomécaniques de la sucrerie (broyage et diffusion).

II.2 Conditionnement des matières premières

Les sept matières premières sélectionnées pour cette étude ont été reçues déshydratées pour permettre leur stabilité lors de la livraison et durant le stockage. Les résidus de maïs doux proviennent du sud ouest de la France, la paille d'orge d'Espagne, le Pinzote du Costa Rica, la bagasse d'agave du Mexique, les résidus d'Eucalyptus d'Argentine, la bagasse de canne à sucre du Brésil et les sarments de vigne du Chili (Tableau II-1).

La mise au point d'un procédé de transformation de matières végétales impose un contrôle de la forme et de la taille des particules de matière pour permettre leur dosage reproductible et continu lors de leur introduction dans les réacteurs. Toutes les matières premières ont donc été broyées au broyeur à marteau (Electra Type VS1 partie expérimentale n°P.E.1.1) équipé d'une grille de sélection de maille 6mm, exceptions faites des coproduits de maïs doux et pour quelques essais avec la bagasse d'agave et le Pinzote. Pour ces derniers une grille de maille 2mm s'est avéré nécessaire pour une meilleure homogénéité du mélange spathe-rafle permettant son écoulement contrôlé dans les trémies d'alimentation en solide.

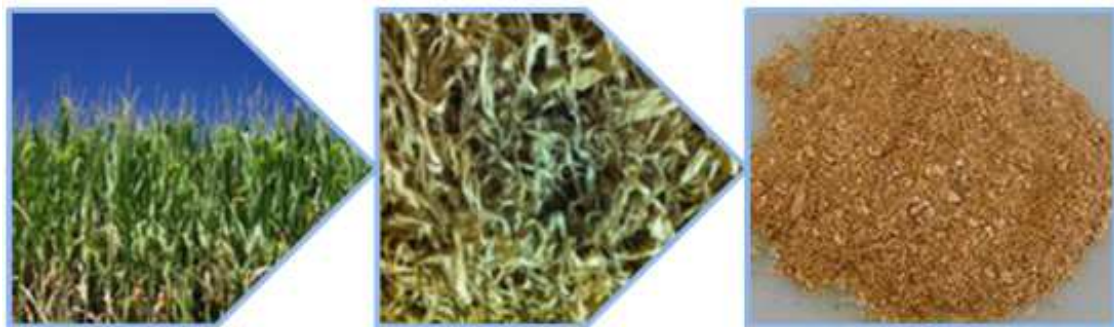


Figure II-45: Coproduit de maïs brut déshydraté et broyé à 2mm



Figure II-16: Pinzote brut sec et broyé à 6mm

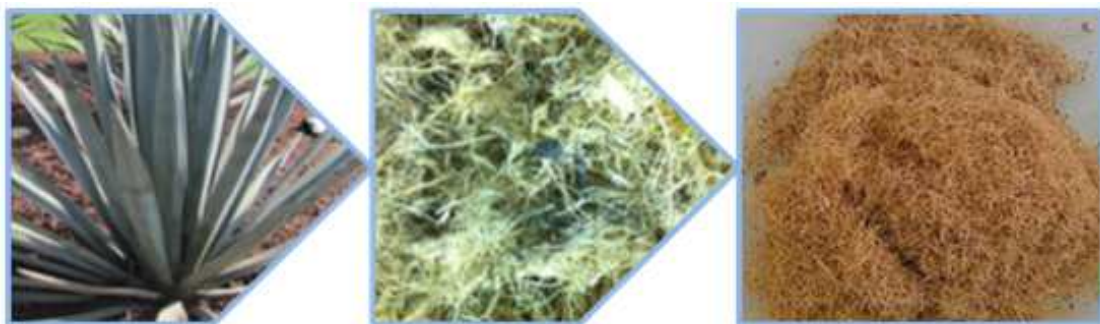


Figure II-17: Bab brut sec et broyé à 6mm



Figure II-18: Paille d'orge sèche brute et broyée à 6mm



Figure II-19: Bagasse de canne à sucre sèche et broyée à 6mm



Figure II-20: Sarments de vigne secs et broyés à 6mm



Figure II-21: Résidus d'Eucalyptus secs et broyés à 6mm

L'observation directe des broyats montre bien que chacune des matières étudiées présentent des caractéristiques physiques différentes (Figures II-15 à II-21). Le Pinzote et les bagasse de canne à sucre et d'agave sont très fibreux, avec des fibres dures assez longues, alors que le coproduit de maïs, très hétérogène, est plutôt du type granulat après broyage. Les fibres des spathes sont peu visibles, de nombreux grains blancs durs provenant des rafles sont présents. La paille d'orge est quant à elle très homogène, avec des brins de fibre de longueur variable, et peu denses. Les résidus d'Eucalyptus et les sarments de vigne se présentent sous forme de plaquettes de fibres agglomérées avec quelques fibres plus individualisées.

II.3 Composition chimique des matières lignocellulosiques

Outre leur disponibilité et leur processabilité au traitement mécanique de broyage, la composition chimique des biomasses lignocellulosiques fournit plusieurs critères essentiels à leur sélection comme matières premières pour la production de bioéthanol.

La répartition des constituants minoritaires non pariétaux et la composition en cellulose, hémicelluloses et lignines de la fraction fibres insolubles ont été déterminées pour les sept matières sélectionnées (par les partenaires du projet), selon les protocoles standards décrits en partie expérimentales n°P.E.2.

II.3.1 Le coproduit de conserverie de maïs doux (CCMD)

Le coproduit de conserverie de maïs doux, pressé, broyé et déshydraté (Tableau II-4) contient une proportion élevée de constituants non pariétaux, avec près de 20% de matière sèche extractible par le réactif au détergent neutre. Les lipides (3,4%MS) et surtout les protéines (6,9%MS) en constituent près de la moitié, soit près de 10% d'insolubles à l'eau chaude, et les hydrosolubles à chaud correspondent à l'autre moitié, avec les matières minérales extraites (3,7%MS) et les glucides libres (5,6% de matière organique hydrosoluble).

Tableau II-4: Composition chimique du coproduit de conserverie de maïs doux

	CCMD Mélangé, pressé, déshydraté	CCMD Mélange natif (1)	CCMD Pressé (2)	
			Rafle	Spathe
Matière minérale (a)	3,7	2,6	2,0	2,0
Lipides (b)	3,4	-	3,5	1,7
Protéines (c)	6,9	6,5	7,4	5,6
Hydrosolubles à 100°C (d)	9,8	28,0	17,3	17,3
Extractibles au réactif au détergent neutre	20,2 ^(e)	41,0	30,0	25,0
Fibre insoluble	79,8 ^(e)	59,0	73,7	75,0
Cellulose	37,9 ^(e)	20,6	29,7	35,2
Hémicelluloses	37,0 ^(e)	33,5-36,3	40,0	37,1
Lignines	4,9 ^(e)	3,4	4,0	2,7

(1)Prélèvements réalisés en sortie d'usine de Géant Vert SERETRAM (Labatut-France) (Makoumbou 1988)

(2)Prélèvements réalisés en sortie d'usine Bonduelle (Bordères France)

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; - : non déterminé

La fraction fibres insolubles se caractérise par des teneurs en cellulose et en hémicelluloses équivalentes (respectivement 38 et 37%MS) associées à une très faible teneur en lignine (<5%MS). L'ensemble de ces valeurs de composition chimique sont cohérentes avec les analyses effectuées antérieurement sur des échantillons de coproduits de conserverie de maïs doux frais en sortie d'usine, avant et après pressage (Tableau II-4).

II.3.2 Le coproduit de production de Tequila : la bagasse d'agave (CPT)

Le coproduit de l'industrie de Tequila que constitue la bagasse d'agave est aussi caractérisée par une teneur en composés non pariétaux extractible au réactif au détergent neutre élevé (près de 24%) (Tableau II-5). Mais les teneurs en lipides et en protéines sont nettement plus faibles, et l'essentiel de cette fraction est constituée par des hydrosolubles à chaud (11,5%), de nature essentiellement organique. Des analyses antérieures réalisées sur des bagasses humides et séchées (Alonso and Rigal 1997; Alonso Gutierrez 2005) confirment ces valeurs et indiquent que les hydrosolubles sont essentiellement constitués par des sucres réducteurs.

Tableau II-5: Composition chimique du coproduit de la production de Tequila: Bagasse d'agave bleue (%/MS)

	CPT	Bagasse humide (1)	Bagasse sèche (1)
Matière minérale (a)	3,1	2,0	6,0
Lipides (b)	1,7	0,7	1,0
Protéines (c)	3,0	2,5	3,0
Hydrosolubles à 100°C (d)	11,5	-	-
Sucres réducteurs	-	22	5-10
Extractibles au réactif au détergent neutre	23,0 ^(e)	-	-
Fibre insoluble	77,0 ^(e)	-	-
Cellulose	43,0 ^(e) (35,6) ^(f)	41,0	43,0
Hémicelluloses	17,0 ^(e) (20,3) ^(f)	18,0	19,0
Lignines	17,0 ^(e) (24) ^(f)	12,0	15,0
Glucose	39,2 ^(f)	-	-
Xylose	20,9 ^(f)	-	-
Arabinose	0,3 ^(f)	-	-

(1) (Alonso and Rigal 1997; Alonso Gutierrez 2005)

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; ^(f) Méthode NERL (Sluiter et al. 2008) ; - : non déterminé

La teneur en fibres insolubles est proche de celle du coproduit de conserverie de maïs doux, avec une teneur légèrement plus élevée en cellulose (43%MS), mais nettement moins d'hémicelluloses (17%MS) et beaucoup plus de lignines (17%MS). Les analyses réalisées au CIEMAT selon la procédure NERL conduisent à des valeurs un peu plus faibles en cellulose, avec un rendement d'hydrolyse acide en glucose de 39%, et un peu plus élevées en hémicelluloses, avec un potentiel en xylose hydrolysé de 21%. Le taux de lignine déterminé par cette méthode serait aussi un peu plus élevé (24%MS).

II.3.3 Le coproduit de production d'huile de palme : le Pinzote (CPHP)

Le coproduit de production d'huile de palme – Pinzote, contient aussi plus de 20% de composés non pariétaux solubles au réactif détergent neutre, mais la fraction lipidique y est majoritaire (6%MS), pour une teneur en protéines faible (3,3%MS) équivalente à celle de la bagasse d'agave.

Tableau II-6: Composition chimique du coproduit de production de l'huile de palme: le Pinzote

	CPHP	OPEFB (1)	OPEFB (2)(3)(4)
Matière minérale (a)	5,8	7,5	0,5-5
Lipides (b)	6	-	-
Protéines (c)	3,3	-	-
Hydrosolubles à 100°C (d)	6,7	-	-
Extractibles au réactif au détergent neutre	19 ^(e)	-	-
Fibre insoluble	81 ^(e)	-	-
Cellulose	39,0 ^(e) (36,4) ^(f)	23,7	32-63
Hémicelluloses	24,0 ^(e) (22) ^(f)	21,6	22-33
Lignines	18,0 ^(e) (18,9) ^(f)	29,2	10-37
Glucose	40,0 ^(f)	-	-
Xylose	23,9 ^(f)	-	-
Arabinose	0,2 ^(f)	-	-

(1) (Omar et al. 2011) ; (2) (Yang et al. 2004) ; (3) (Umikalsom et al. 1997) ; (4) (Law, Daud, and Ghazali 2007) ; (a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; (e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; (f) Méthode NERL (Sluiter et al. 2008) ; - : non déterminé

La fraction hydrosoluble à chaud est également plus faible, constituée majoritairement de minéraux (3,5%MS de matière organique hydrosoluble). Pour la fraction fibres insolubles, la teneur en cellulose est équivalente à celle du coproduits de maïs doux (38 à 39%), ce qui confirme les résultats obtenus par la procédure d'analyse par hydrolyse acide (NREL), avec un potentiel en glucose de 40%. Mais la répartition hémicelluloses-lignines est proche de celle dans la bagasse d'agave, avec 24% d'hémicelluloses et un potentiel en xylose de 24%, et une teneur en lignine voisine des 18%. Les données comparatives avec la littérature ne sont pas exhaustives, mais ces résultats apparaissent cohérents avec la nature de ces coproduits (fibres du régime supportant les fruits) et la présence probable de reste de fruit lors de l'opération de dégrappage (teneur en lipide relativement élevée).

II.3.4 Le coproduit de culture céréalière : la paille d'orge (CCC)

La composition des pailles de céréales a été largement étudiée (Tableau II-7), dont un exemple est donné dans le Tableau II-8 pour la paille de blé.

Tableau II-7: Composition des pailles dans la littérature
(Rowell and Young 1997; Qiabi and Rigal 2013; Magro 1995; Marechal 2001; Sánchez 2009; Adapa, Tabil, and Schoenau 2009)

	Paille de blé	Paille d'orge	Paille d'avoine	Paille de seigle
Matière minérale	2-10	2-7	2-8	2-5
Protéines	2-5	3-4	5-6	-
Lipides	1-2	1-2	1-2	-
Cellulose	29-43	31-45	31-48	33-50
Hémicelluloses	24-32	20-29	23-38	27-30
Lignines	10-21	14-17	13-19	16-19

Tableau II-8: Composition du coproduit de culture céréalière: la paille d'orge

	CCC	Paille de blé (1)	Paille de blé (2)
Matière minérale (a)	6,8	3-8	7,3
Lipides (b)	1,9	0,6	1,1
Protéines (c)	3,6	2,6	3,2
Hydrosolubles à 100°C (d)	10,2	-	13
Extractibles au réactif au détergent neutre	-	15	18
Fibre insoluble	-	85	82
Cellulose	39,1 ^(f)	43	42
Hémicelluloses	25,7 ^(f)	29	31
Lignines	18,2 ^(f)	13	9
Glucose	43 ^(f)	-	-
Xylose	23,8 ^(f)	-	-
Arabinose	3,7 ^(f)	-	-

(1)(Magro 1995) ; (2) PNRB, SPPECABBE, ANR-05-BIOE-006;

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; ^(f) Méthode NERL (Sluiter et al. 2008) ; - : non déterminé

Dans le cas de la paille d'orge, la fraction non pariétale, estimée à 17%MS, contient peu de lipides (moins de 2%MS) et de protéines (3,6%MS), mais une forte proportion de matière minérale (près de 7%MS) ; Les analyses réalisées au CIEMAT selon la procédure NERL situent la répartition cellulose-hémicelluloses-lignines dans la gamme des valeurs relevées dans la littérature, avec une teneur en cellulose (39%MS) proche des trois précédents coproduits, une teneur en hémicelluloses (26%MS) légèrement supérieure à celles de la bagasse d'agave et du Pinzote mais nettement plus faible que celle du coproduit de maïs doux, et une teneur en lignines (18%) voisine de celle du Pinzote et de la bagasse d'agave. Les rendements en glucose, xylose et arabinose obtenus par hydrolyse acide sont respectivement de 43, 24 et 4%.

II.3.5 Le coproduit de culture viticole : les sarments de vigne (CCV)

Le coproduit de culture viticole, le sarment de vigne, contient peu de minéraux (2,3%MS), très peu de lipides (0,6%MS), et peu de protéines (4%MS) (Tableau II-). La fraction extractible à l'eau chaude (10,6%MS) essentiellement de nature organique (10%MS) est ainsi voisine de la fraction extraite au réactif détergent neutre (13,8%MS). Sa teneur en cellulose (43%MS) est un peu plus élevée que celle des quatre précédents coproduits, avec une teneur en hémicelluloses (25,7%MS) supérieure ou comparable à la bagasse d'agave, au Pinzote et à la paille, mais une teneur en lignine (17,5%) un peu plus faible.

Tableau II-9: Composition du coproduit de culture viticole: le sarment de vigne

	CCV	Sarments de vigne (1)
Matière minérale (a)	2,3	3-4
Lipides (b)	0,6	-
Protéines (c)	4,1	-
Hydrosolubles à 100°C (d)	10,6	15-18
Extractibles au réactif au détergent neutre	13,8 ^(e)	-
Fibre insoluble	86,2 ^(e)	-
Cellulose	43 ^(e)	37-48
Hémicelluloses	25,7 ^(e)	18-24
Lignines	17,5 ^(e)	19-22

(1)(Jiménez et al. 2006) ;

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; - : non déterminé

II.3.6 Le coproduit de l'industrie sucrière : la bagasse de canne à sucre (CPS)

La composition de la bagasse de canne à sucre a aussi fait l'objet de nombreux travaux (Tableau II-10). La fraction soluble au réactif détergent neutre représente moins de 6% de la matière sèche, correspondant à des teneurs en lipides, en protéines et en matière minérale faibles (respectivement 1,5, 1,4 et 1,3%MS). Et la fraction hydrosoluble à chaud (5%MS), essentiellement de nature organique (4,6%MS), témoigne bien de l'efficacité de l'extraction du saccharose à laquelle est soumise la canne à sucre et de l'épuisement de la bagasse résiduelle.

Tableau II-10: Composition du coproduit de l'industrie sucrière: la bagasse de canna à sucre

	CPS	Bagasse canne à sucre (1)	Bagasse canne à sucre (2)(3)	Bagasse canne à sucre (4)	Bagasse canne à sucre (5)
Matière minérale (a)	1,5	1,5-5	1,1	2,8	2,1
Lipides (b)	1,4	-	-	2,6	-
Protéines (c)	1,3	-	-	2	-
Hydrosolubles à 100°C (d)	5,1	-	-	-	4,4
Extractibles au réactif au détergent neutre	6,2 ^(e)	-	-	-	-
Fibre insoluble	93,8 ^(e)	-	-	97	-
Cellulose	47,2 ^(e)	32-48	32-55	41	56
Hémicelluloses	34,6 ^(e)	27-32	17-32	36	24,1
Lignines	12 ^(e)	19-24	19-25	20	19,8

(1) (Rowell and Young 1997) ; (2) (Hoareau et al. 2004) ; (3) (Guimarães et al. 2009) ; (4) (Cordova et al. 1998) ; (5) (Jiménez et al. 2006) ;

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; - : non déterminé

La teneur en cellulose de la fraction fibres insolubles (47%MS) est la plus élevée des coproduits jusqu'à présent analysés, associée à une teneur en hémicelluloses (34,6%) proche de celle du coproduit de maïs doux, mais avec une teneur en lignine plus élevée (12%MS) bien que nettement plus faible que celle des autres coproduits. Remarquons que cette valeur de la teneur en lignine apparait plus faible que celles relevées dans la littérature, ce qui peut être attribué à la différence de méthodes de dosage (Van Soest et Wine dans notre cas et Lignine Klason dans les autres).

II.3.7 Le coproduit de culture sylvicole : les résidus d'Eucalyptus (CCS)

Le coproduit de culture sylvicole : les résidus d'Eucalyptus, est la matière lignocellulosique qui contient le plus de fibres insolubles, avec une fraction extractible au réactif détergent neutre de 4% (Tableau II-11), très peu de matière minérale, de lipides et de protéines, comme dans la plupart des bois ; et une fraction hydrosoluble à chaud limitée à 2,4%. Le taux de cellulose est le plus élevé (60%) de tous les coproduits analysés, mais avec aussi la plus forte teneur en lignine (25%).

Tableau II-11: Composition du coproduit de culture sylvicole: le résidu d'Eucalyptus

	CCS	Bois d'Eucalyptus (1)	Bois d'Eucalyptus (2)	Bois d'Eucalyptus (3)
Matière minérale (a)	0,4	-	0,4	0,5
Lipides (b)	0,2	-	-	-
Protéines (c)	0,7	-	-	-
Hydrosolubles à 100°C (d)	2,4	-	4,9	2,9
Extractibles au réactif au détergent neutre	4 ^(e)	-	-	-
Fibre insoluble	96 ^(e)	94	96	-
Cellulose	60 ^(e)	58	54	58,8
Hémicelluloses	11 ^(e)	14	18,9	21,2
Lignines	25 ^(e)	22	23,1	20,6

(1)(Rowell and Young 1997) ; (2) (Pereira 1988) ; (3) (Jiménez et al. 2006) ;

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Norme NF V 03-902 ; (c) Norme NF V 18-100 ; (d) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; ^(e) Méthode Van Soest et Wine (Van Soest and Wine 1967) ; - : non déterminé

La comparaison des compositions chimiques des matières lignocellulosiques permet donc de les classer selon quatre critères principaux :

1- La teneur en cellulose (Figure II-22) qui permet de comparer le potentiel en glucose théoriquement obtenu par hydrolyse enzymatique de la cellulose. Il apparaît que tous les coproduits sélectionnés pour cette étude ont une teneur en cellulose par rapport à la matière sèche voisine ou supérieure à 40%, correspondant à un potentiel en glucose d'au moins 42%. Exception faite des résidus d'Eucalyptus et de la bagasse d'agave, les teneurs en cellulose dans la fraction fibre insoluble (cellulose+hémicellulose+lignine) sont très voisines dans tous les autres coproduits.

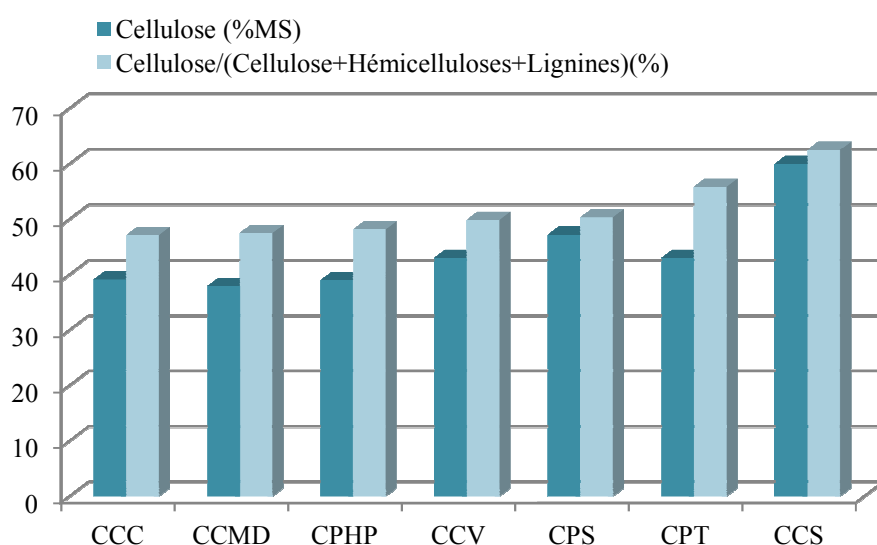


Figure II-22: Comparaison de la teneur en cellulose des coproduits lignocellulosiques étudiés

2- Leur teneur en hémicelluloses (Figure II-23), qui sont susceptibles de limiter l'accessibilité de la cellulose aux enzymes cellulolytiques en jouant un rôle barrière et diluant de la cellulose dans la matrice holocellulosique. Les coproduits sélectionnés contiennent des proportions croissantes d'hémicelluloses, qui s'échelonnent d'un minimum de 11% pour les coproduits d'eucalyptus, à un maximum de 37% pour le coproduit de maïs doux. Remarquons que l'effet de dilution par les hémicelluloses, exprimé par le taux de cellulose dans l'holocellulose (cellulose+hémicelluloses) varie de près de 50% pour le maïs doux, à 70% pour bagasse d'agave et plus de 80% pour les résidus d'Eucalyptus, en passant par des valeurs proches de 60% pour les quatre autres produits.

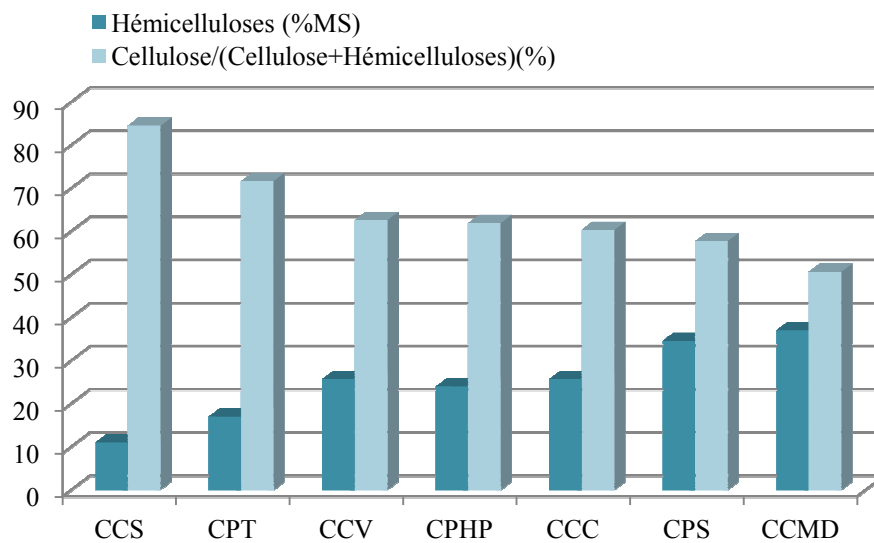


Figure II-23: Comparaison de la teneur en hémicelluloses dans les coproduits lignocellulosiques de l'étude

3- Leurs teneurs en lignines (Figure II-24), sont susceptibles d'interagir avec les enzymes cellulolytiques du fait de leur composition polyphénolique, et de jouer un effet barrière, associées aux hémicelluloses (complexe hémicellulose-lignine) (Grabber 2005; Öhgren et al. 2007), et par leur caractère plus hydrophobe (Iiyama, Lam, and Stone 1994). La teneur en lignines des coproduits sélectionnés décroît significativement de 25% dans le cas de l'eucalyptus à moins de 5% dans le cas du maïs doux, et la proportion de lignines dans la fraction fibres insolubles (lignine/ (lignine+hémicelluloses+cellulose)) est de près du double dans la bagasse d'agave de celle de la bagasse de canne à sucre.

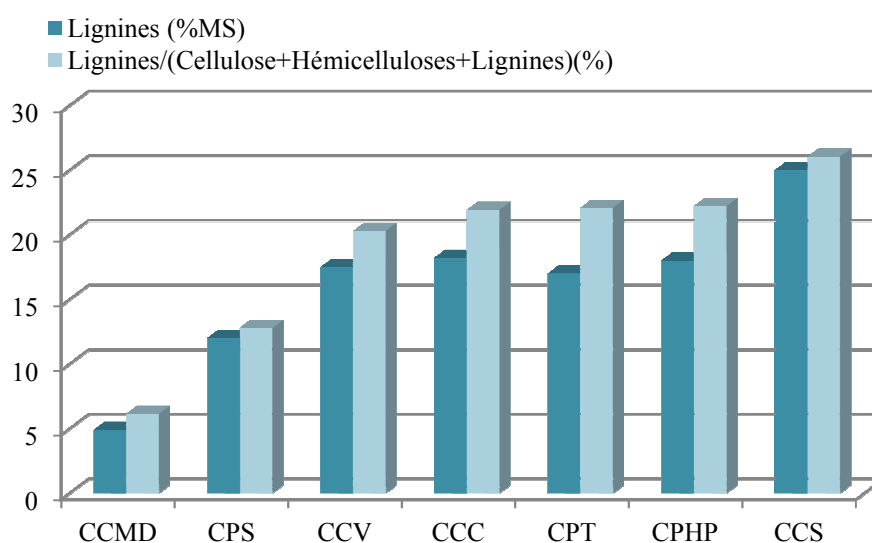


Figure II-24: Comparaison de la teneur en lignines dans les coproduits lignocellulosiques de l'étude

4- Leur teneur en composés non pariétaux (Figure II-25). L'effet de ces composés sur l'hydrolyse enzymatique de la cellulose dépendra de leur nature et de leur hydrosolubilité. La teneur en extractibles à l'eau des coproduits reste limitée, de près de 10% dans la plupart à moins de 3% dans l'Eucalyptus, d'autant plus que la température d'hydrolyse enzymatique est limitée à 50°C.

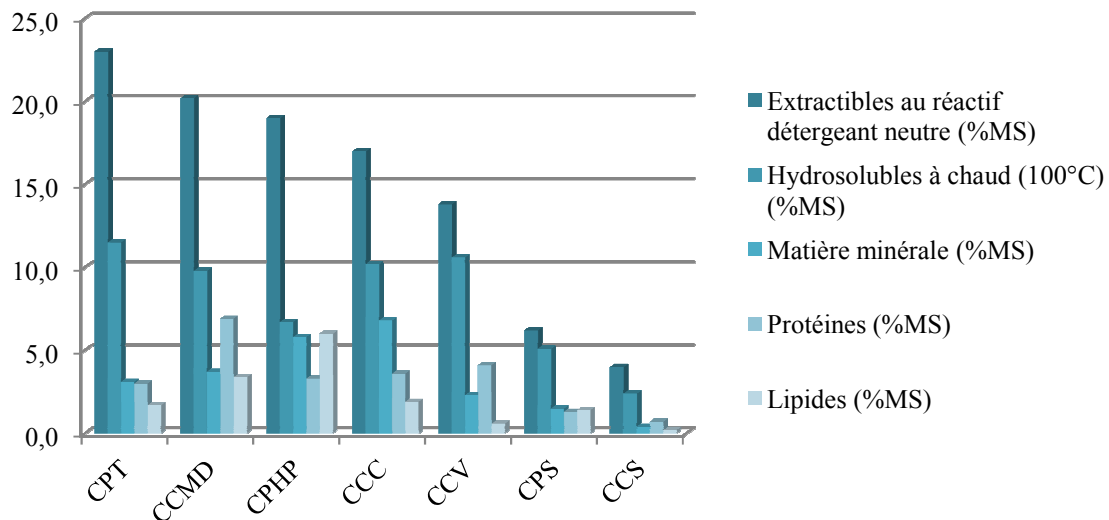


Figure II-25: Comparaison des teneurs en composés non pariétaux des coproduits lignocellulosiques de l'étude

II.4 Hydrolysabilité enzymatique de la cellulose et des matières lignocellulosiques

L'hydrolysabilité enzymatique des matières lignocellulosiques est une grandeur délicate à définir : mesurée comme le rendement en glucose (ou en sucres) obtenu par mise en contact de la matière lignocellulosique avec les cellulases, elle dépend des conditions opératoires, du prétraitement de la matière, de la nature du cocktail enzymatique... C'est pourquoi un protocole de mesure de l'hydrolysabilité enzymatique de la cellulose a été défini pour toute notre étude :

L'échantillon de matière lignocellulosique est pesé et mis (en tenant compte de sa matière sèche) dans trois tubes supportant la pression du type PYREX 25. Du tampon acétate ou citrate 50mM pH 4.8 est ajouté pour ajuster la consistance (m/m) à la valeur souhaitée (1% dans les conditions diluées). Une solution enzymatique, préalablement préparée, y est ajoutée jusqu'à obtenir la concentration ou l'activité enzymatique souhaitée.

Les tubes sont déposés dans un bain thermostaté agité à 50°C et laissés pendant 24, 48 ou 72h (un tube est prélevé tous les 24h).

Les tubes prélevés sont soit analysés par la méthode au DNS pour doser les sucres réducteurs, soit mis dans un bain à ébullition pendant 5min pour arrêter l'activité enzymatique et analysés après filtration à l'HPIC pour doser les monosaccharides libérés.

Les sucres dosés sont rapportés soit à la matière sèche de l'échantillon de matière lignocellulosique, soit au taux de polysaccharide correspondant.

La mise en œuvre de ce protocole nous a permis de comparer les différents coproduits sélectionnés pour notre étude (Figure II-26).

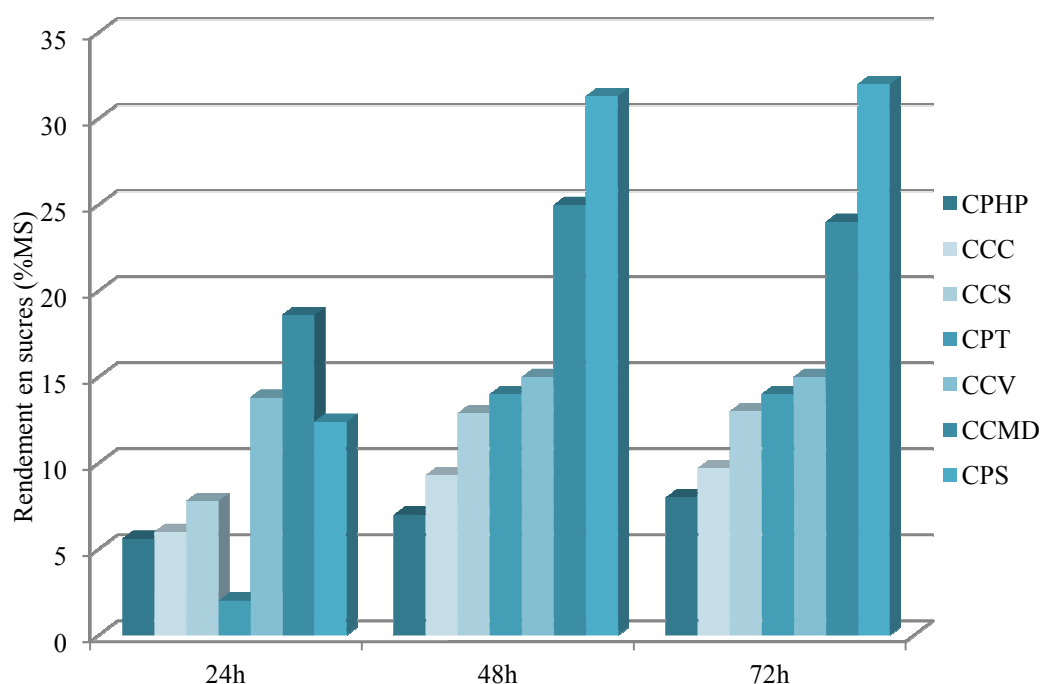


Figure II-26: Hydrolysabilité enzymatique de la cellulose des coproduits lignocellulosiques sélectionnés pour l'étude (Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 50mM, consistance 1%, pH 5, 45°C, enzymes : 10FPU/g Celluclast 1.5L, 100nkat/g Novozym 188)

Il apparait que :

- Au bout de 24h, la libération de sucres par l'action des enzymes est quasiment nulle à partir de bagasse d'agave, limitée à 5 et 7%MS pour le Pinzote, la paille d'orge et l'Eucalyptus, voisine de 12% pour les sarments de vigne et la bagasse de canne à sucre, et de 18% pour les coproduits de maïs doux. Ce premier résultat semble indiquer que l'accessibilité de la

cellulose aux enzymes est meilleure dans le cas de la bagasse de canne à sucre, des sarments de vigne et des coproduits de maïs doux, bien que la présence de glucides libres dans ce dernier cas nécessite probablement de pondérer les rendements en sucres.

- L'hydrolyse enzymatique se poursuit au cours des 24 heures suivantes, pour atteindre un maximum de rendement en sucres libérés au bout de 48 heures voisin de 7-9% pour le Pinzote et la paille d'orge, de 12-15% pour l'Eucalyptus, les sarments de vigne et la bagasse d'agave, et de 24 et 32% respectivement pour le maïs doux et la bagasse de canne à sucre. Par comparaison, le rendement d'hydrolyse d'une matière très ligneuse comme les noyaux d'olive (33% de lignines pour 16% de cellulose et 16% d'hémicelluloses) dans les mêmes conditions opératoires est très faible (< 2%MS).

Rapporté à la teneur en cellulose de chacun des coproduits, l'évolution du rendement en sucres en fonction de la teneur en lignines (Figure II-27) montre clairement que l'hydrolysabilité de la cellulose est limitée, d'autant plus que la teneur en lignines est élevée.

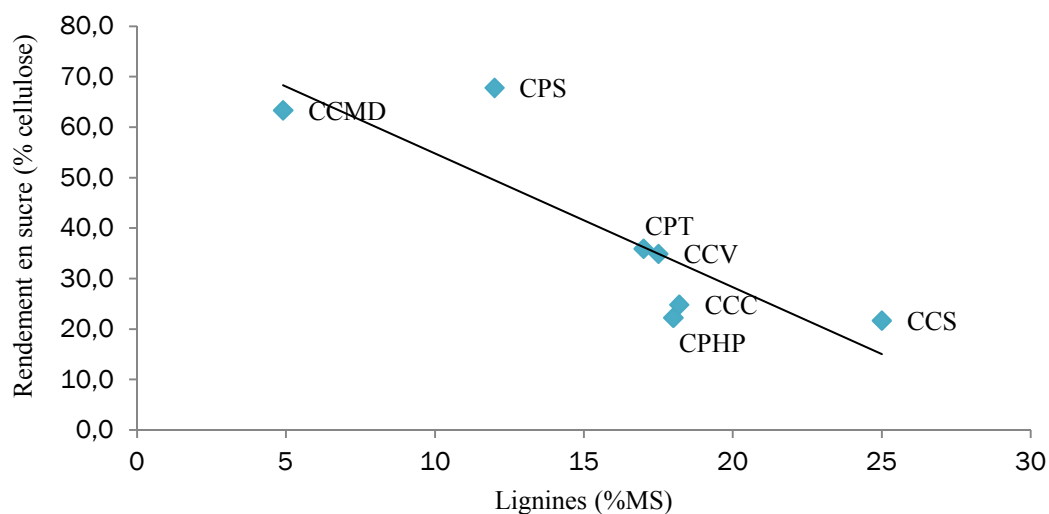


Figure II-27: Rendement en sucres libérés par hydrolyse enzymatique de la cellulose en fonction de la teneur en coproduits lignocellulosiques étudiés

La corrélation apparaît encore plus nette lorsque le taux de lignines est exprimé par le rapport lignines/cellulose+hémicellulose (Figure II-28), traduisant l'impact prépondérant de l'effet barrière des lignines pour l'accès des enzymes cellulolytiques à la cellulose dans l'édifice holocellulosique (cellulose+hémicelluloses).

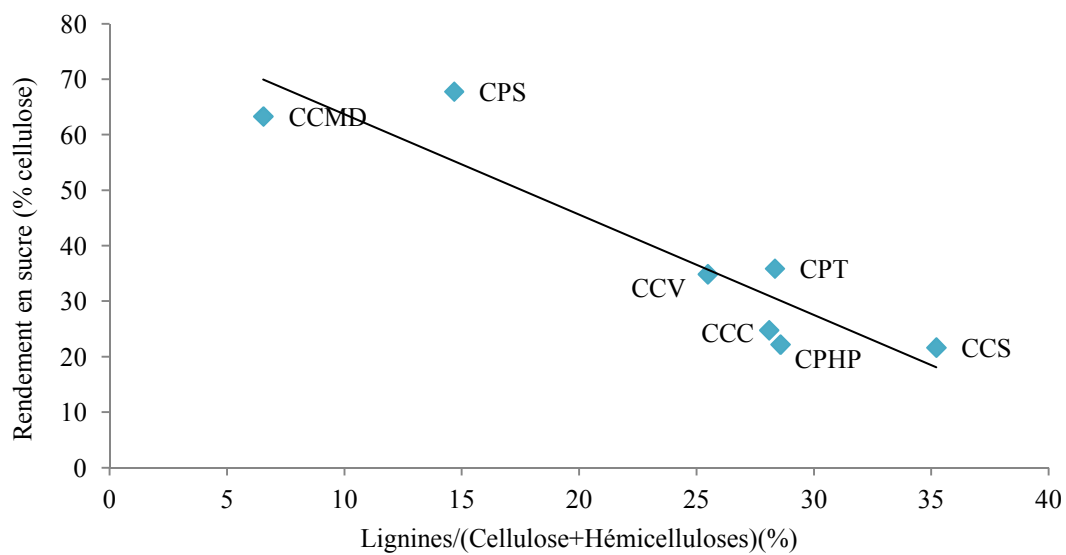


Figure II-2846: Evolution de l'hydrolysabilité de la cellulose dans les coproduits lignocellulosiques étudiés en fonction du ratio lignines/holocellulose

Cet effet limitant des lignines sur l'hydrolyse enzymatique de la cellulose est en accord avec les observations de nombreux auteurs (Iiyama, Lam, and Stone 1994; Berlin et al. 2006; Öhgren et al. 2007; Pan 2008). Remarquons cependant que les écarts de rendement en sucres hydrolysés par rapport à la droite de régression obtenue à partir des points expérimentaux ($y = -1,8098x + 81,804$ $r^2 = 0,8458$) pourrait aussi traduire le fait que d'autres facteurs, comme la teneur en hydrosolubles et en composés non pariétaux et la teneur en hémicelluloses, ont aussi un effet, moins important, sur l'hydrolysabilité de la cellulose. Et il est aussi remarquable de constater que les deux matières lignocellulosiques conduisant à une hydrolysabilité supérieure à la valeur prévue (bagasse de canne à sucre et d'agave : expérimental 68 et 36% pour 55 et 31% calculés respectivement) sont celles qui sont issues d'un prétraitement thermomécanique intense d'extraction des sucres libres de la plante (paragraphe II.3.6 et II.3.2), susceptible d'avoir déstructuré l'édifice lignocellulosique.

II.5 Conclusion

Sur l'échelle de disponibilité, les sept matières lignocellulosiques sélectionnées pour cette étude ne sont pas équivalentes en terme de matière sèche accessible (Tableau II-12), avec des tonnages très importants (>50 millions de tonnes/an) pour la bagasse de canne à sucre, la paille d'orge et le Pinzote, et plus de dix fois plus faible pour les sarments de vigne, les résidus d'Eucalyptus, le maïs doux et la bagasse d'agave.

Mais plusieurs facteurs doivent être évoqués pour pondérer cette disponibilité :

- L'origine industrielle, concentrée sur des sites industriels de première transformation (comme c'est le cas pour les bagasses de canne à sucre et d'agave, le Pinzote et les coproduits du maïs doux), doit être comparée à l'origine agricole ou sylvicole des autres matières (paille d'orge, sarment de vigne et résidu d'Eucalyptus), qui nécessitent une filière de collecte spécifique.

- La concurrence des usages de ces coproduits qui aura un impact sur le prix d'achat des matières, voire dans certains cas sur leur disponibilité en cas de pénurie des ressources concurrentes pour l'alimentation animale et la production d'énergie par combustion directe.

- la composition chimique, en particulier la teneur en cellulose, matière première pour la production d'éthanol. Sous l'hypothèse d'une conversion de la fraction hémicellulosique, l'échelle de disponibilité sera légèrement modifiée. Mais c'est le critère d'hydrolysabilité de la cellulose qui risque surtout de peser sur la disponibilité réelle de ces matières pour la production de bioéthanol. A l'exception de la bagasse de canne à sucre et des coproduits de maïs doux, dont les hydrolysabilités de la cellulose, bien que limitées, sont relativement élevées (68 et 63% du potentiel en cellulose), toutes les autres matières voient leur potentiel en sucres diminué d'un facteur proche de 10, du fait de leur teneur en lignines. Ce qui justifie pleinement la mise au point d'un nouveau procédé de prétraitement de ces coproduits pour améliorer l'hydrolysabilité de la cellulose, à laquelle nous allons nous attacher maintenant.

Sélection et caractérisation des biomasses lignocellulosiques

Tableau II-12: Comparaison des disponibilités théoriques et réelles des coproduits lignocellulosiques étudiés pour la transformation en sucres et en éthanol

Coproduit lignocellulosique	Disponibilité 10 ⁶ t.MS.an ⁻¹	Origine	Usage concurrent	Potentiel cellulose		Potentiel hémicelluloses		Potentiel éthanol ⁽¹⁾		Hydrolysabilité	
				%MS	10 ⁶ t.an ⁻¹	%MS	10 ⁶ t.an ⁻¹	Ex cellulose 10 ⁶ t.an ⁻¹	Ex hémicelluloses 10 ⁶ t.an ⁻¹	%MS	Potentiel sucre hydrolysé 10 ⁶ t.an ⁻¹
Bagasse canne à sucre	300	Industrielle (extraction saccharose)	Combustible	47	141	35	105	72	18	32	96
Paille d'orge	100	Agricole (récolte grain)	Fourrage	39	39	26	26	20	13	9,7	9,7
Pinzote	60	Industrielle (production huile palme)	Combustible	39	23	24	14	12	12	8	4,8
Sarment de vigne	18	Agricole (taille vigne)	Combustible	43	8	26	5	4	2,5	15	2,7
Eucalyptus	7	Sylvicole	Combustible	60	4	11	1	2	0,5	13	0,9
Coproduit maïs doux	5	Industrielle (conserverie)	Alimentation animale	38	2	37	2	1	1	24	1,2
Bagasse d'agave	0,5	Industrielle (production Tequila)	Combustible Compostage	43	0,2	17	0,1	0,1	0,05	14	0,07

⁽¹⁾ Rendement en éthanol ex cellulose ou ex hémicelluloses : 0,511 %

III Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

La déstructuration de l'édifice ligno-hémicellulo-cellulosique est donc une étape incontournable pour l'hydrolyse enzymatique efficace de la cellulose et la fermentation des sucres libérés en éthanol. Notre objectif dans ce chapitre est d'étudier les conditions de cette déstructuration par voie thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis. L'effet de l'extraction et la solubilisation de matières organiques sur l'hydrolysabilité de la matière sera ainsi évalué, dans le cas de deux coproduits sélectionnés pour leur composition modèle : le coproduit de maïs doux, constitué à 80% de fibres pariétales riches en cellulose et hémicelluloses, mais pauvres en lignines, et le Pinzote, lui aussi constitué à 80% de fibres, nettement plus ligneuses (26% des fibres), pour une teneur en cellulose équivalent (45% des fibres). Les résultats seront comparés au cas de la paille d'orge étudiée par le CIEMAT en Espagne et de la bagasse d'agave étudiée par l'UNAM au Mexique. Puis, l'adaptation des matières extrudées au milieu d'hydrolyse enzymatique sera étudiée, en ligne dans l'extrudeuse bi-vis à la suite de la déstructuration.

III.1 Etude des conditions de déstructuration en extrudeuse bi-vis

Les conditions d'extraction alcaline en extrudeuse bi-vis des hémicelluloses et des lignines de matières lignocellulosiques comme le sorgho fibre et le bois de peuplier (S. N'Diaye et al. 1996; Celhay 2013), ou les pailles de blé (Magro 1995; Marechal 2001; Zeitoun 2011) ont été largement étudiées au Laboratoire de Chimie Agroindustrielle. Les travaux réalisés nous ont permis de définir la configuration et le profil de vis d'une extrudeuse bi-vis pour la déstructuration de nos coproduits.

III.1.1 Configuration et profil de vis de l'extrudeuse bi-vis

L'extrudeuse bi-vis mis en œuvre pour cette étape de notre étude est une extrudeuse de type BC45 fabriquée par la société CLEXTRAL (Firminy, France) (Figure III-1) (partie expérimentale n°P.E.4).

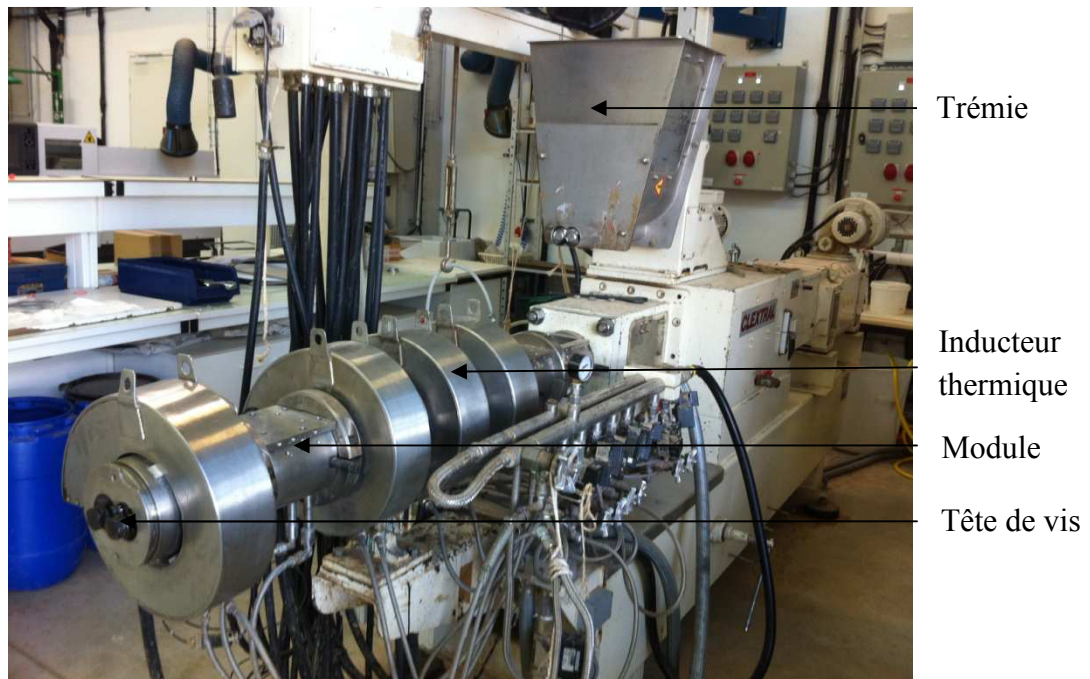


Figure III-1: Extrudeuse bi-vis CLEXTRAL BC45

Elle est équipée de 7 fourreaux modulaires de 20cm de longueur, permettant de réaliser un fourreau d'une longueur totale de 1,4m du premier module d'entrée du solide au dernier module de sortie de l'extrudat. Le premier module est équipé d'une ouverture supérieure pour l'introduction du solide par l'intermédiaire d'un doseur à vis (Type 40, CLEXTRAL). Chacun des autres modules sont équipés d'ouvertures latérales pour l'injection de liquides par l'intermédiaire de pompes débitométriques (CLEXTRAL DKM K20-2P-P16 et DKM K20-2-P32). Ces modules peuvent être chauffés par l'intermédiaire de colliers induthermes, la température étant régulée par circulation d'eau dans la paroi du fourreau. Un module spécifique de filtration, équipé de 6 éléments en demi-coquille dans la partie inférieure du fourreau, comportant des orifices de 1mm à l'entrée et 2mm à la sortie, peut être installé en substitution d'un module thermostaté (Figure III-2).



Figure III-2: Module de filtration de l'extrudeuse bi-vis CLEXTRAL BC45

A l'intérieur du fourreau ainsi constitué par les sept modules raccordés par des colliers, et définissant une section ouverte en forme de huit (Figure III-3), sont installés les éléments de vis sur les deux arbres parallèles cannelés.

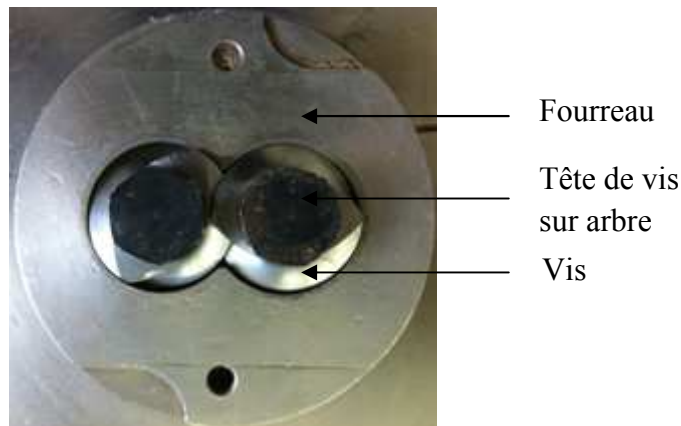


Figure III-3: Vue de face des vis insérées dans le fourreau

Les éléments de vis installés sont des éléments standards fournis par la société CLEXTRAL (Tableau I-21) de forme et de dimension variables, adaptées pour réaliser le transport, le mélange, le cisaillement et la compression de la matière. La distance entre les axes des arbres cannelés est de 45mm, pour un diamètre de vis de 52mm, définissant un système de vis co-pénétrantes, l'ajustage filet-gorge des vis de convoyage étant tel qu'il interdit l'accumulation des matières transportées selon un trajet en double huit (vis autonettoyantes). Pour favoriser le transport de la matière, les vis de convoyage peuvent être choisies à double filets conjugués (C2F) et les vis tournant dans le même sens, l'extrudeuse bi-vis est dite à vis co-rotative et co-pénétrantes. Les éléments malaxeurs monolobes (MAL0) ou bilobes (MAL2 ou BB), ainsi que les contrefilets (CF2C) sont des éléments restrictifs qui ralentissent ou s'opposent à l'écoulement de la matière, provoquant son accumulation locale, et l'intensification des phénomènes de cisaillement et de compression auxquels elle est soumise. Le sens de montage des éléments malaxeurs, et le pas de vis des contrefilets permettent de moduler l'intensité de ces phénomènes et le temps de séjour de la matière dans ces zones. Dans le cas des contrefilets, la formation d'un bouchon dynamique de matière peut être obtenue, conduisant au pressage de la matière et à la séparation d'une phase liquide recueillie en amont à travers la surface ouverte du module de filtration. La progression en aval de la matière comprimée dans les contrefilets est assurée par des ouvertures en demi-lune en haut des filets du contrefilet, voire par l'espace filet-fourreau (Figure III-4).

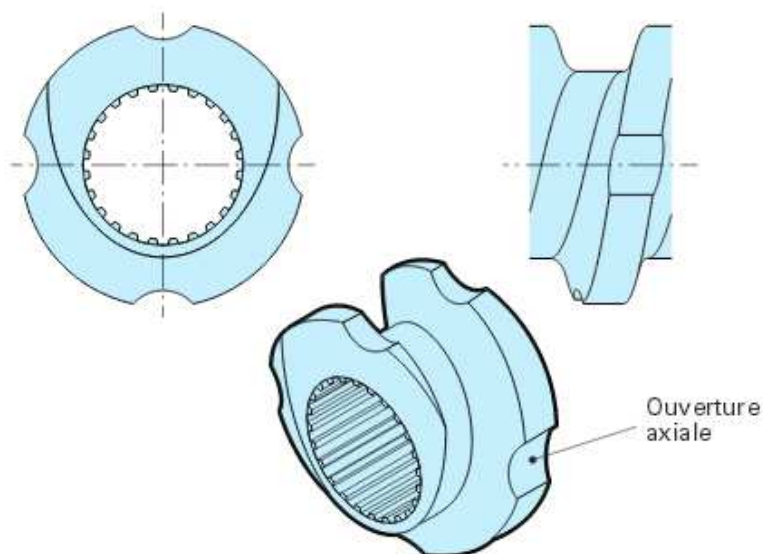


Figure III-4: Vues d'un contrefilet (Techniques de l'ingénieur, Réf : TI100/42150210)

L'agencement des vis sur les arbres cannelés d'amont en aval, définit le profil de vis. Avec la configuration des fourreaux modulaires, le profil de vis permet d'élaborer des réacteurs de fractionnement de la matière végétale dans lesquels plusieurs opérations élémentaires vont pouvoir être réalisées en continu, successivement et en interaction, dans chacune des zones du fourreau (Figure III-5).

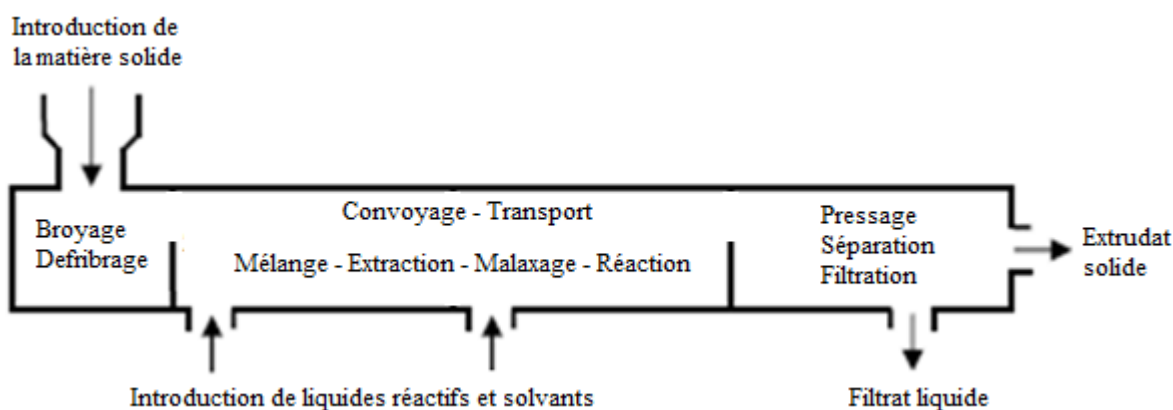


Figure III-5: Schéma général de fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Ainsi les différentes étapes du prétraitement des coproduits lignocellulosiques en vue de l'amélioration de leur hydrolysabilité enzymatique ont été successivement étudiées dans les différentes zones de l'extrudeuse bi-vis.

III.1.2 Déstructuration alcaline des coproduits de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Le coproduit de conserverie de maïs doux déshydraté et broyé est choisi comme substrat modèle. La configuration et le profil de vis de l'extrudeuse bi-vis sont rassemblés dans la Figure III-6.

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de destruction						Zone de convoyage			
	1		2		3		4		5		6		7	
Température							Oui		Oui				Oui	
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	10x10	50	50	25	50	50	50	50	25	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	50	33	33	90°	33	25	-25	33	33	33	25	25	33

Figure III-6: Configuration et profil de vis pour l'étude de la déstructuration alcaline des coproduits de conserverie de maïs doux

Le solide est introduit dans le premier module à un débit Q_s contrôlé voisin de 10 kgMS.h^{-1} . La vitesse de rotation N des vis est fixée à $110 \text{ tours.min}^{-1}$ (rpm) ($Q_s/N \approx 0,1$). L'hydroxyde de sodium, choisi comme réactif alcalin de déstructuration chimique, est introduit en solution dans l'eau en fin du second module, avant les éléments malaxeurs (BB), installés dans le troisième module. Les éléments de vis contrefilet (CF2C) sont installés dans le module 4 et les trois derniers modules sont équipés de vis de convoyage à pas direct jusqu'à la sortie de l'extrudat.

Le Tableau III-1 rassemble les conditions opératoires des essais réalisés aux différents taux d'hydroxyde de sodium par rapport à la matière sèche introduite et températures définis par un plan d'expérience de Doehlert dans le domaine expérimental 22 à 67 kg NaOH/kg CCMD sec et 50 à 120°C.

Tableau III-1: Conditions opératoires du plan d'expériences pour l'étude de l'influence du taux de soude et de la température sur la déstructuration thermo-mécano-chimique du coproduit de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Essai	Q_s		Q_L	[NaOH]	Q_{NaOH}/Q_s	L/S	T	I	Q_{Extrudat}		
	(kg.h^{-1})	(kgMS.h^{-1})	(kg.h^{-1})	(%)	(%)	($\text{kg.h}^{-1}/\text{kg.h}^{-1}$)	(°C)	(A)	(kg.h^{-1})	(kgMS.h^{-1})	(kgMO.h^{-1})
1	10,8	9,7	20,2	18	52	1,1	120	6	31,0	12,7	7,8
2	11,3	10,2	19,8	18	35	1,3	50	7	31,1	13,7	8,9
3	10,0	9,0	20,2	25	56	1,2	104	8	30,1	12,9	6,6
4	10,8	9,7	19,4	11	22	1,6	68	9	30,2	12,7	9,7
5	10,1	9,1	20,4	11	25	1,6	102	7	30,5	11,5	8,2
6	10,4	9,3	20,3	25	67	1,1	68	8	30,6	14,0	7,1
7	10,1	9,1	20,2	18	40	1,4	85	7	30,4	12,2	6,9

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis (Figure III-) ; Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit : 2mm

Dans de telles conditions de taux de soude, l'énergie mécanique spécifique reste faible ($EMS = \frac{Couple \times Vitesse}{Débit}$), conformément aux observations antérieures sur d'autres matières (S. N'Diaye et al. 1996).

En sortie de l'extrudeuse bi-vis, le mélange extrudé est lavé à l'eau (5kg d'eau/kg de solide) pour en extraire la totalité des matières solubilisées par le traitement d'extrusion, et les teneurs en glucose et en autres sucres (xylose, arabinose, galactose et mannose) de l'extrudat ainsi lavé sont déterminées par hydrolyse acide et dosage HPLIC (partie expérimentale n°P.E.2.7). La teneur en sucres résiduels de l'extrudat et donc le rendement en sucres extraits peuvent ainsi être calculés. Les extrudats lavés sont ensuite soumis à l'hydrolyse enzymatique de la cellulose dans les conditions de détermination de l'hydrolysabilité précédemment définies (paragraphe II-4) (partie expérimentale n°P.E.3.2). Le rendement en glucose libéré par hydrolyse, exprimé en g pour 100g de matière sèche d'extrudat lavé permet de mesurer le gain d'hydrolysabilité en fonction du taux de soude et de la température de prétraitement en bi-vis, et la détermination du taux de glucose résiduel dans l'hydrolysate solide par rapport au taux de glucose dans l'extrudat confirme l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique.

L'ensemble des résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau III-2.

Tableau III-2: Teneur en sucres et hydrolysabilité des extrudats de coproduits de conserverie de maïs doux obtenus en extrusion bi-vis en fonction de la teneur en soude et de la température

Essai	NaOH/MS (%)	T (°C)	Teneur en sucres des extrudats lavés		Hydrolysabilité	
			Glucose (% / glucose initial)	Autres sucres (% / sucres initiaux)	Taux de glucose libéré (% / MS)	Teneur en glucose résiduel après hydrolyse enzymatique (% / glucose)
1	52	120	85,7	32,4	54	10,9
2	35	50	89,2	45,4	43	16,3
3	56	104	86,5	47,4	45	16,2
4	22	68	100,0	68,1	39	10,9
5	25	102	91,6	38,9	42	6,7
6	67	68	83,4	45,5	36	9,6
7	40	85	87,0	46,0	40	16,0

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis (Figure III-); Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit : 2mm ; Dosage par HPLIC ; Hydrolysabilité (partie expérimentale n°P.E.3.2)

L'analyse des courbes d'isoreponse de teneur en sucres des extrudats lavés et de leur hydrolysabilité, obtenues par traitement des résultats avec le logiciel NEMRODW montre que :

- Dans le domaine 20 à 35% de taux de soude et 50 à 85°C, moins de 10% de glucose sont perdus lors du traitement en bi-vis, voire moins de 5% lorsque le taux de soude reste inférieur à 25% (Figure III-7). L'augmentation du taux de soude ou de la température au delà de ces valeurs favorise nettement la perte en glucose, jusqu'à des valeurs pouvant atteindre 20% ce qui traduit une dégradation significative de la cellulose.

- Simultanément, l'augmentation du taux de soude et/ou de la température favorise la solubilisation et donc l'extraction lors du lavage à l'eau des extrudats, des autres sucres que le glucose, traduisant l'entraînement croissant des hémicelluloses (Figure III-7). Entre 20 et 35% de taux de soude et 50 et 85°C, de 40 à 50% des hémicelluloses seraient ainsi solubilisées et extraites.

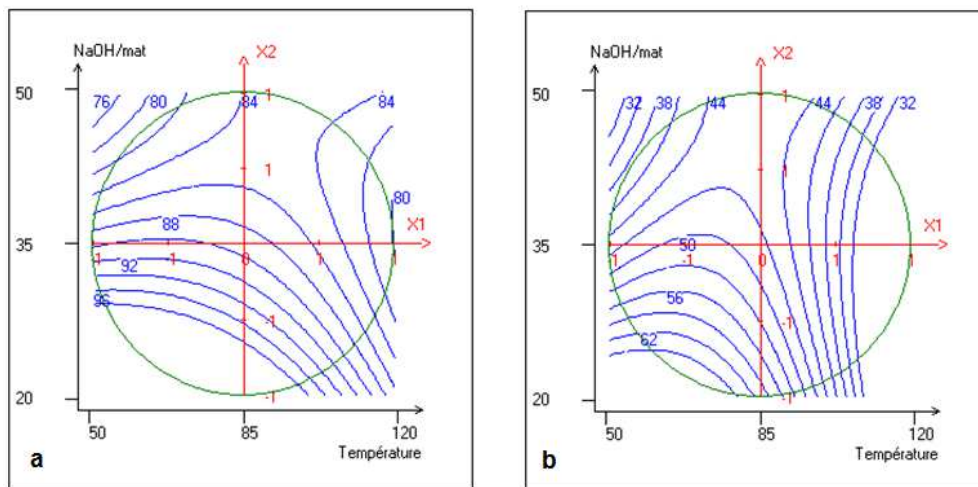


Figure III-7: Courbes d'isoréponse de la teneur en glucose (% / glucose initial) (a) et des autres sucres (% / sucres initiaux) (b) résiduels dans l'extrudat lavé en fonction du taux de soude et de la température du traitement en extrudeuse bi-vis

- L'hydrolysabilité des extrudats lavés, exprimée par le rendement en glucose libéré par rapport à la matière sèche apparaît insensible au taux de soude mis en œuvre lors de l'extrusion, alors que l'élévation de la température au-delà de 85°C semble l'augmenter (Figure III-8). Cette dernière tendance apparaît confirmée par le fait que l'augmentation de la température minimise bien le taux de glucose résiduel dans la matière après hydrolyse enzymatique (Figure III-8). Par contre l'augmentation du glucose résiduel, non hydrolysé, avec l'augmentation du taux de soude pourrait apparaître contradictoire. Mais ce résultat pourrait s'expliquer d'une part par le fait qu'à fort taux de soude, la dégradation plus prononcée de la cellulose, signalée par la perte en glucose, se traduirait par une récalcitrance à l'hydrolyse enzymatique plus importante.

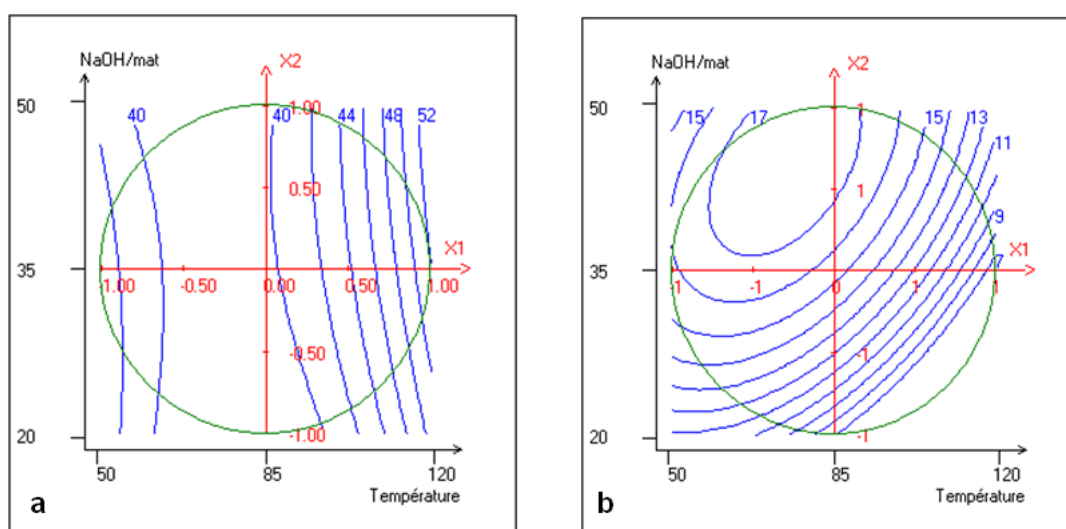


Figure III-8: Courbes d'isoréponse du glucose libéré par hydrolyse enzymatique (a) et du glucose résiduel dans l'extrudat après hydrolyse enzymatique (b) en fonction du taux de soude et de la température du traitement en extrudeuse bi-vis

En conclusion il apparaît bien que le prétraitement alcalin du coproduit de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis, pour des temps de séjour extrêmement limités, de l'ordre de quelques minutes, permet d'augmenter significativement l'hydrolysabilité de cette matière lignocellulosique. Dans le domaine expérimental étudié, si l'augmentation de la teneur en soude et de la température sont des orientations favorables à l'extraction des hémicelluloses, et probablement des lignines bien que ce point n'ait pu être contrôlé, elle n'est pas nécessaire pour l'amélioration des rendements d'hydrolyse enzymatique. Au contraire, au-delà de 30% de taux de soude, la dégradation de la cellulose se traduit par une perte significative en glucose potentiel. Aux plus faibles taux de soude, la perte en glucose reste contenue à moins de 5%, pour une hydrolysabilité de la matière sèche de l'ordre de 40%. Ce qui, compte tenu de la matière organique extraite par le prétraitement alcalin (30% de MO extraite) conduirait à un rendement d'hydrolyse enzymatique de la cellulose voisin de 90%. La déstructuration de la matière lignocellulosique en extrudeuse bi-vis apparaît donc suffisante pour des taux de soude limités à moins de 20%.

Ces résultats nous ont conduits à étudier la combinaison du traitement alcalin avec l'extraction et la séparation des matières organiques solubilisées dans l'extrudeuse bi-vis.

III.1.3 Déstructuration alcaline et extraction des coproduits de conserverie de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Les coproduits de conserverie de maïs doux déshydratés et broyés sont choisis comme substrat modèle. La configuration et le profil de vis de l'extrudeuse bi-vis sont rassemblés dans la Figure III-9.

	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de destruction				Zone de lavage		Zone de filtration		Zone de compression		Zone de convoyage	
Module	1		2		3		4		5		6		7			
Température							Oui		Oui							
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F	C2F	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	10x10	50	50	25	50	50	50	25	50	25	50	25
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	50	33	33	90°	33	25	-25	33	33	25	25	-25	33	25	

Figure III-9: Configuration et profil de vis pour l'étude de la déstructuration alcaline et l'extraction des coproduits de conserverie de maïs doux

Dans cette configuration, le profil de vis et l'introduction du solide et de la solution alcaline sont identiques dans les quatre premiers modules à celle précédemment mis en œuvre pour l'étude. Les malaxeurs bilobes, situés dans le module 3, sont montés avec un angle de 90° pour augmenter l'effet de cisaillement de la matière après injection de la solution alcaline. Dans le cinquième module l'eau d'extraction est injectée par l'intermédiaire d'une pompe débimétrique, et le module de filtration est installé en sixième position, en amont immédiat de contrefilet CF2C installés au début du septième module. Ces contrefilets assurent la compression de la matière en formant un bouchon dynamique responsable du pressage et de la séparation d'une phase liquide, récupérée à travers le filtre. La mise en fonctionnement stable d'une telle configuration de l'extrudeuse comme extracteur et séparateur liquide solide nécessite plusieurs adaptations des conditions opératoires. Ces adaptations permettent de déterminer les conditions limites de fonctionnement pour le remplissage de l'extrudeuse et pour l'efficacité d'une séparation liquide/solide par filtration. Elles sont réalisées par une série d'essais préliminaires.

III.1.3.1 Détermination des conditions limites de fonctionnement de l'extrudeuse

Les conditions limites de fonctionnement de l'extrudeuse comme extracteur séparateur peuvent être directement observées d'une part à travers l'absence de filtrat, qui traduit un mauvais pressage de la matière dans les contrefilets du septième module, et d'autre part l'engorgement du fourreau, avec accumulation de liquide qui remonte en aval jusqu'à l'alimentation en solide. De nombreux facteurs sont susceptibles d'agir sur ces limites, parmi lesquels le débit de solide et la vitesse de rotation de vis (limite de capacité d'avalent et de

transport du solide dans le fourreau, conduisant à un engorgement en solide, voire au blocage des vis), le débit de liquide (limite de débit de filtration sur la surface filtrante du module 6, conduisant à un engorgement en liquide dans le fourreau), et de façon plus complexe, le taux de soude, la température, le ratio liquide/solide et le taux de cisaillement du mélange (vitesse de rotation des vis), à travers la modification de la texture du mélange, le rendant apte ou non à la formation d'un bouchon dynamique dans les contrefilets et donc au pressage de la matière.

A partir d'un point de fonctionnement stable, les conditions limites sont explorées en faisant varier les différents facteurs et en observant la stabilité et l'évolution de l'intensité du courant moteur, ainsi que les débits de filtrat et d'extrudat, l'efficacité de pressage pouvant être suivie par la matière sèche des extrudats, et celle de la séparation liquide/solide par le taux de particules solides entraînées au filtrat. Il est déterminé par centrifugation des filtrats et mesure de la matière organique contenue dans le culot et le surnageant (partie expérimentale n°P.E.1.3).

Le Tableau III-3 donne quelques exemples de conditions limites de fonctionnement pour le coproduit de maïs doux, illustrant l'effet des débits de solide et de liquide, pour des ratios liquide/solide croissants.

Tableau III-3: Exemples de conditions limites du fonctionnement de l'extrudeuse bi-vis pour la déstructuration alcaline et l'extraction des coproduits de conserverie de maïs doux

Q_s (kgMS.h ⁻¹)	Q_L (kg.h ⁻¹)	L/S (kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹)	NaOH/MS (%)	N (rpm)	T (°C)	I (A)	Observations
20,5	64,3	3,8	12,0	120	50	25-30	Filtration instable
19,9	115,0	6,2	11,0	120	114	13	Mauvaise filtration
7,4	68,4	6,1	51,0	100	50	6	Mauvaise filtration
5,4	48,9	10,8	10,3	100	50	22	Engorgement liquide
2,8	49,7	15,7	58,8	100	50	6	Engorgement liquide

Pour des conditions de fonctionnement stables, à 100°C, et des débits de solide et de liquide correspondant à des ratios liquide/solide compris entre 4,7 et 8 (Tableau III-4) la séparation est opérante, conduisant à un filtrat chargé de particules fines.

En l'absence de soude, la matière organique ainsi entraînée au filtrat représente 18% de la matière organique entrante, dont moins de 7% sous forme soluble et 11,5% sous forme insoluble. L'augmentation du taux de soude jusqu'à 35% favorise l'extraction de matière organique, mais surtout sous forme de particules insolubles : la séparation par pressage-filtration devient moins efficace (Figure III-10) et le rendement en matière organique à l'extrudat diminue.

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-4: Influence du taux de soude sur la séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis pour la déstructuration alcaline et extraction des coproduits de conserverie de maïs doux

Q _S kgMS.h ⁻¹	Q _L kg.h ⁻¹	NaOH/MS %	L/S kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹	Total kg.h ⁻¹	Q _{fil}		Q _{ext}		I A	Rendement		
					MO insoluble kg.h ⁻¹	MO soluble kg.h ⁻¹	kgMS.h ⁻¹	kgMO.h ⁻¹		MO séparée %	MO solubilisée %	Mo insoluble entraînée %
9,3	71,1	0,0	7,8	67,2	1,0	0,6	7,5	7,3	50	18,1	6,6	11,5
10,3	64,2	8,5	4,7	51,8	0,9	2,2	8,9	8,2	18	28,3	19,8	8,5
8,5	70,8	9,4	6,9	62,2	0,6	1,3	7,0	6,7	17	24,2	16,4	7,8
7,9	73,3	10,5	7,6	62,4	0,5	1,3	6,7	6,2	17	23,1	16,5	6,6
9,1	74,6	24,5	7,0	69,6	0,9	0,5	8,1	7,6	7	34,0	18,4	15,6
7,0	76,1	32,4	6,4	70,9	2,2	0,9	6,3	5,3	9	45,9	13,8	32,1

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9; Vitesse de vis : 110rpm ; Température : 100°C ; Granulométrie du coproduit : 2mm

Pour des taux de soude très élevés (56,2%), le rendement en matière organique solubilisée pourra être amélioré (40%) en augmentant le rapport liquide solide (L/S=12), mais plus de 20% de la matière organique initiale est entraînée sous forme d'insolubles et le rendement en extrudat n'est plus que de 40% de la matière organique du coproduit introduite.

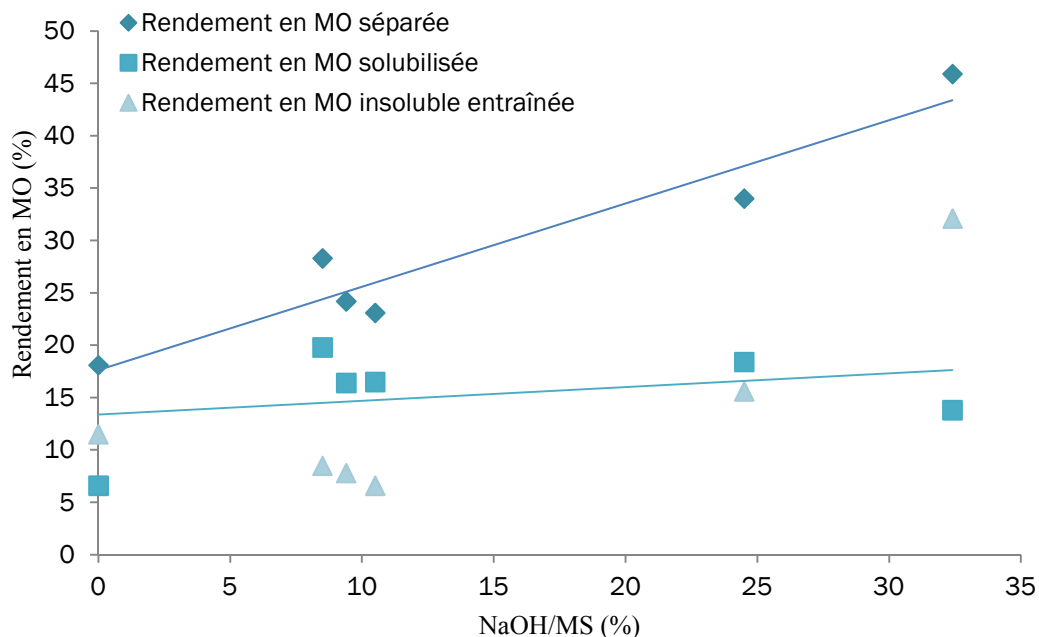


Figure III-10: Evolution des rendements en MO extraites et séparées en extrudeuse bi-vis en fonction du taux de soude par rapport à la matière sèche de coproduit de maïs doux

Cet effet du taux de soude se confirme pour les essais réalisés à d'autres températures et ratio liquide/solide (Tableau III-5).

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-5: Influence du taux de soude sur la séparation liquide-solide à d'autres température et ratio liquide/solide en extrudeuse bi-vis pour la déstructuration alcaline et extraction des coproduits de conserverie de maïs doux

Q _S kgMS.h ⁻¹	Q _L kg.h ⁻¹	NaOH/MS %	L/S kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹	Total kg.h ⁻¹	Q _{fil}		Q _{ext}		I A	Rendement		
					MO insoluble kg.h ⁻¹	MO soluble kg.h ⁻¹	kgMS.h ⁻¹	kgMO.h ⁻¹		MO séparée %	MO solubilisée %	Mo insoluble entraînée %
6,0	71,5	9,3	10,9	54,0	0,4	0,4	5,3	5,0	22	15,1	7,7	7,4
6,9	72,0	16,5	8,9	60,6	0,9	0,9	6,4	5,8	9	18,7	12,9	5,8
4,5	73,0	18,3	13,6	64,0	0,4	0,4	3,6	3,3	10	19,2	9,8	9,4
5,7	69,1	39,5	8,7	59,5	0,8	0,8	4,7	4,5	7	21,5	15,2	6,3
4,5	68,0	78,6	8,5	61,2	2,0	2,0	3,4	2,4	6	57,7	46,6	11,1

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9; Vitesse de vis : 110rpm ; Température : 50°C ; Granulométrie du coproduit : 6mm

Dans tous les cas, pour des taux de soude élevés, correspondant à un fort taux de matière organique solubilisée (20 à 40%), l'hydrolysabilité de l'extrudat est supérieure à 45%/MS (Figure III-11).

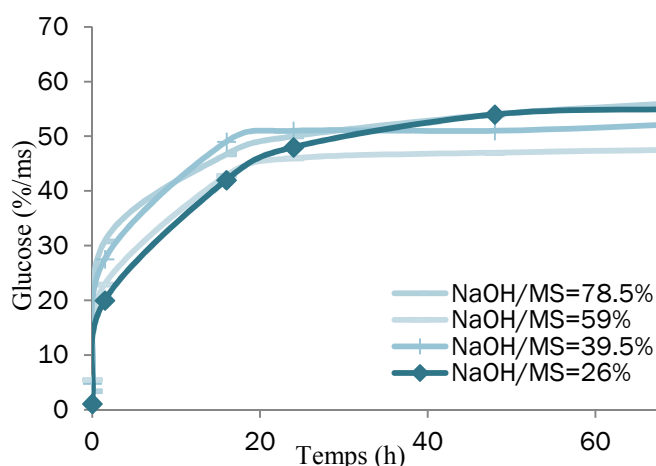


Figure III-11: Hydrolysabilité des extrudats de coproduits de maïs doux traités avec des taux de soude élevés

Ceci confirme les résultats obtenus précédemment lors de l'étude de l'étape de fractionnement alcalin sans filtration en extrudeuse bi-vis (paragraphe III-1-2).

Le couplage de la déstructuration alcaline des coproduits de maïs doux avec l'extraction de matière organique solubilisée par l'action de la soude est bien efficace en extrudeuse bi-vis pour l'amélioration de l'hydrolysabilité de la matière ainsi prétraitée. Cependant, à taux de soude élevé, l'entraînement de matière organique insoluble au filtrat se solde par des rendements en extrudat plus faibles et une perte en cellulose probable.

Au bilan, le rendement en glucose, obtenu par hydrolyse enzymatique de l'extrudat, sera plus faible si la fraction insoluble entraînée au filtrat n'est pas convertie (Tableau III-6).

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-6: Rendements en glucose obtenus par hydrolyse enzymatique des extrudats de coproduit de maïs doux

Conditions d'extrusion			Rendement extraction	Rendement hydrolyse	
NaOH/MS (%)	T (°C)	L/S (kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹)	MO extrudat (%/MO coproduit maïs doux)	Glucose (%/MS extrudat)	Glucose (%/MS coproduit maïs doux)
9,4	100	6,9	75,8	35	29
10,5	100	7,6	76,9	35	30
16,5	50	8,9	81,3	37	32
18,3	50	13,6	80,8	37	30
24,5	100	7,0	66,0	42	27
32,4	100	6,4	54,1	49	40
39,5	50	8,7	78,5	52	40
56,2	100	12,0	39,2	44	35
78,6	50	8,5	42,3	56	40

Conditions opératoires: Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9

L'étude de l'influence des variables opératoires de l'extrusion devrait permettre de limiter cette perte.

III.1.3.2 Influence des conditions d'extrusion alcaline sur le rendement en extrudat

Les trois facteurs étudiés sont le ratio liquide/solide, le taux de soude et la température dans le domaine expérimental rapporté au Tableau III-7.

Tableau III-7: Domaine expérimental du plan d'expérience

Facteur	Définition	Unité	Centre du domaine U ₁ ^o	Pas de variation ΔU ₁
Ratio liquide/solide	Q _L /Q _S ⁽¹⁾	kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹	8	3
Taux de soude	Q _{NaOH} /Q _{SS} ⁽²⁾	kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹	22,5	12,5
Température	T ⁽³⁾	°C	75	25

⁽¹⁾ : Q_L : Débit total de liquide injecté, Q_S : Débit de solide introduit

⁽²⁾ : Q_{NaOH} : Débit de soude injectée, Q_{SS} : Débit de matière sèche de coproduit de maïs doux introduit

⁽³⁾ : Température de consigne du fourreau

La configuration de l'extrudeuse bi-vis est la même que précédemment (Figure III-9).

Les réponses étudiées sont :

- R_{MO} : Le rendement en matière organique extraite au filtrat, défini par différence avec le rendement en MO extrudée

- R_G : Le rendement en glucose extrait défini par différence avec le rendement en glucose présent dans l'extrudat

- R_{Sng} : Le rendement en sucres (hors glucose) extraits défini par différence avec le rendement en sucres (hors glucose) présents dans l'extrudat

La réalisation de 11 expériences réparties dans le domaine expérimental définit un plan d'expériences permettant de calculer les 10 coefficients des modèles polynomiaux de second degré reliant les réponses aux variables codées étudiées :

$$Y = b_0 + b_1 \cdot X_{L/S} + b_2 \cdot X_{NaOH} + b_3 \cdot X_T + b_{11} \cdot X_{L/S}^2 + b_{22} \cdot X_{NaOH}^2 + b_{33} \cdot X_T^2 + b_{12} \cdot X_{L/S} \cdot X_{NaOH} + b_{13} \cdot X_{L/S} \cdot X_T + b_{23} \cdot X_{NaOH} \cdot X_T$$

Avec $X_{L/S} = (U_{L/S} - U_{L/S}^0) / \Delta U_{L/S} = (L/S - 8) / 3$

$$X_{NaOH} = (U_{NaOH} - U_{NaOH}^0) / \Delta U_{NaOH} = (NaOH - 22,5) / 12,5$$

$$X_T = (U_T - U_T^0) / \Delta U_T = (T - 75) / 25$$

Les conditions opératoires et les résultats expérimentaux des essais d'extrusion ainsi définis sont rassemblés dans les Tableau III-8, Tableau III-9 et Tableau III-10.

Tableau III-8: Répartition des points expérimentaux du plan d'expérience pour l'étude de l'influence du ratio liquide/solide, du taux de soude et de la température d'extrusion de coproduit de maïs doux

Essai	X_1	X_2	X_3	L/S	NaOH	T
1	1	1	-1	11	35,0	50
2	1	0	1	11	22,5	100
3	1	-1	-1	11	10,0	50
4	0	1	1	8	35,0	100
5	0	0	0	8	22,5	75
6	0	-1	1	8	10,0	100
7	-1	1	0	5	35,0	75
8	-1	0	-1	5	22,5	50
9	-1	-1	1	5	10,0	100
10	0	0	1	8	22,5	100
11	0	1	-1	8	35,0	50

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9; Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit de maïs doux : 2mm

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-9: Conditions opératoires et résultats expérimentaux du plan d'expérience pour l'étude de l'influence du ratio liquide/solide, du taux de soude et de la température d'extrusion de coproduit de maïs doux

Essai	Q _s		Q _L		L/S	NaOH/MS	T	Q _{fil}		Q _{ext}	
	kg.h ⁻¹	kgMS.h ⁻¹	Q _{NaOH} kg.h ⁻¹	Q _{eau} kg.h ⁻¹	kg.h ⁻¹ /kg.h ⁻¹	%	°C	kgMS.h ⁻¹	kgMO.h ⁻¹	kgMS.h ⁻¹	kgMO.h ⁻¹
1	11,3	10,2	19,8	92,4	11	35,0	50	8,0	4,7	5,7	5,1
2	12,5	11,4	31,2	78,1	11	22,5	100	5,4	3,1	11,8	7,9
3	6,3	5,4	22,3	48,9	11	10,0	50	1,2	0,9	5,3	5,0
4	7,0	6,3	21,9	40,0	8	35	100	2,2	3,0	4,1	3,0
5	10,8	9,7	19,4	58,2	8	22,5	75	4,2	2,7	8,5	6,6
6	8,8	7,9	20,7	51,6	8	10,0	100	3,0	1,8	6,7	6,2
7	10,1	9,1	20,2	25,3	5	35,0	75	5,9	4,0	6,9	4,8
8	9,1	8,2	20,4	33,5	5	22,5	50	4,2	2,1	7,8	5,8
9	11,5	10,3	24,4	38,6	5	10,0	100	3,3	2,8	8,9	7,1
10	10,1	9,1	20,3	52,5	8	22,5	100	4,5	3,0	7,0	5,8
11	6,8	5,7	22,5	47,9	8	35,0	50	3,3	1,2	4,6	4,5

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9 ; Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit de maïs doux : 2mm

Tableau III-10: Rendement en matière organique, en glucose et en sucres autres que le glucose extraits par fractionnement alcalin et séparation liquide en extrudeuse bi-vis dans les conditions du plan d'expérience

Essai	X ₁	X ₂	X ₃	R _{MO}	R _G	R _{Sng}
1	1	1	-1	47,9	18,7	63,1
2	1	0	1	28,3	28,7	36,1
3	1	-1	-1	15,1	10,0	25,0
4	0	1	1	50,0	28,0	68,0
5	0	0	0	29,3	2,2	44,6
6	0	-1	1	23,1	13,2	28,4
7	-1	1	0	45,4	28,9	64,6
8	-1	0	-1	26,5	3,1	32,5
9	-1	-1	1	28,3	10,0	28,0
10	0	0	1	34,0	16,6	35,0
11	0	1	-1	21,5	22,8	55,0

Bien que la répartition des essais dans le domaine expérimental ne soit pas parfaitement uniforme, ce qui pénalise la précision des prévisions obtenues par interpolation, les écarts entre les valeurs expérimentales des réponses obtenues en chacun de ces points, et les valeurs calculées grâce au modèle du second degré sont relativement faibles, conduisant à une estimation de l'écart type pour la prévision de $\pm 4,4\%$ et $\pm 3,1\%$ respectivement pour les rendements en glucose et en sucres autres que le glucose extraits. Remarquons toutefois que cette estimation de l'écart type est plus importante pour la matière organique extraite ($\pm 13,4\%$) ce qui rend le modèle moins fiable pour cette réponse.

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-11: Comparaison des valeurs expérimentales et calculées grâce au modèle pour les rendements d'extraction

Essai	R_{MO}		R_G		R_{Sng}	
	Expérimental	Calculé	Expérimental	Calculé	Expérimental	Calculé
1	47,90	42,66	18,70	20,43	63,10	61,90
2	28,30	32,33	28,70	27,37	36,10	37,03
3	15,10	16,31	10,00	9,60	25,00	25,28
4	50,00	49,60	28,00	28,13	68,00	67,91
5	29,30	30,91	2,20	1,67	44,60	44,97
6	23,10	17,06	13,20	15,20	28,40	27,01
7	45,40	43,79	28,90	29,43	64,60	64,23
8	26,50	23,28	3,10	4,17	32,50	31,76
9	28,30	33,13	10,00	8,40	28,00	29,11
10	34,00	31,58	16,60	17,40	35,00	34,44
11	21,50	28,75	22,80	20,40	55,00	56,67

L'analyse des courbes d'isoréponse tracées grâce à ces modèles, en tenant compte des écarts type des prévisions, montre alors que :

1- C'est le taux de soude qui a un effet prépondérant sur le rendement en matière organique extraite (Figure III-12). Son augmentation de 10 à 35% double ce rendement à ratio liquide/solide élevé (> 8), et entre 22,5 et 35% de soude, l'élévation de la température tend à augmenter l'extraction de matière organique.

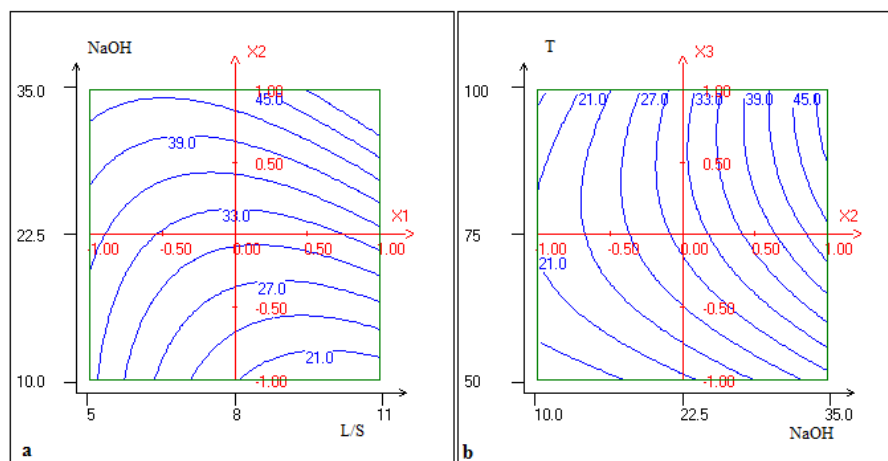


Figure III-12: Courbes d'isoréponse du rendement en matière organique extraite dans le plan NaOH, L/S pour T fixée à 75°C (a) et dans le plan T, NaOH pour L/S fixé à 8 (b)

Même à 22,5% de taux de soude, l'extraction de matière organique reste contenue entre 20 et 30% (Figure III-13).

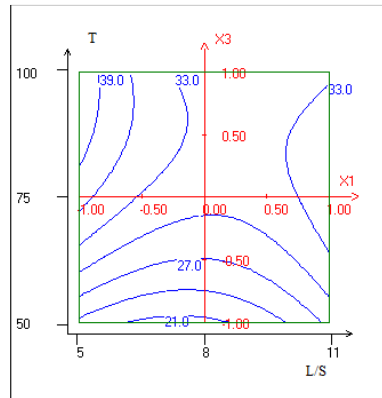


Figure III-13: Courbe d'isoréponse du rendement en matière organique extraite dans le plan T, L/S pour NaOH fixé à 22,5%

2- Le rendement en glucose extrait, et donc sa perte dans l'extrudat, reste inférieur à 2% pour des valeurs de taux de soude inférieures à 22,5%, à température inférieure à 75°C et pour une large gamme de ratio liquide/solide (5 à 10) (Figure III-14). L'augmentation du taux de soude au-delà de 22,5%, ou de la température au-delà de 75°C tend à favoriser l'extraction du glucose, jusqu'à des valeurs pouvant atteindre près de 30%. L'effet du ratio liquide/solide est beaucoup moins important.

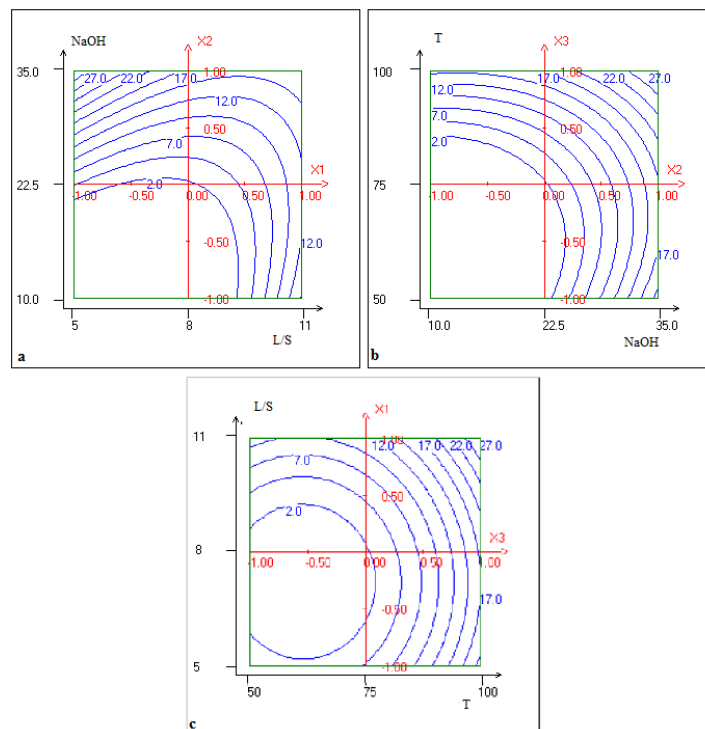


Figure III-14: Courbes d'isoréponse du rendement en glucose extrait dans le plan NaOH, L/S pour T fixée à 75°C (a), dans le plan T, NaOH pour L/S fixé à 8 (b) et dans le plan L/S, T pour NaOH fixé à 22,5% (c)

3- L'effet du taux de soude est aussi prépondérant sur l'extraction des sucres autres que le glucose dont l'origine peut essentiellement être attribuée aux hémicelluloses (Figure

III-15). Entre 10 et 22,5% de taux de soude, ce rendement d'extraction reste compris entre 30 et 40%. Mais il peut atteindre près de 65% à fort taux de soude, l'effet d'une augmentation du ratio liquide/solide ou de la température restant faible.

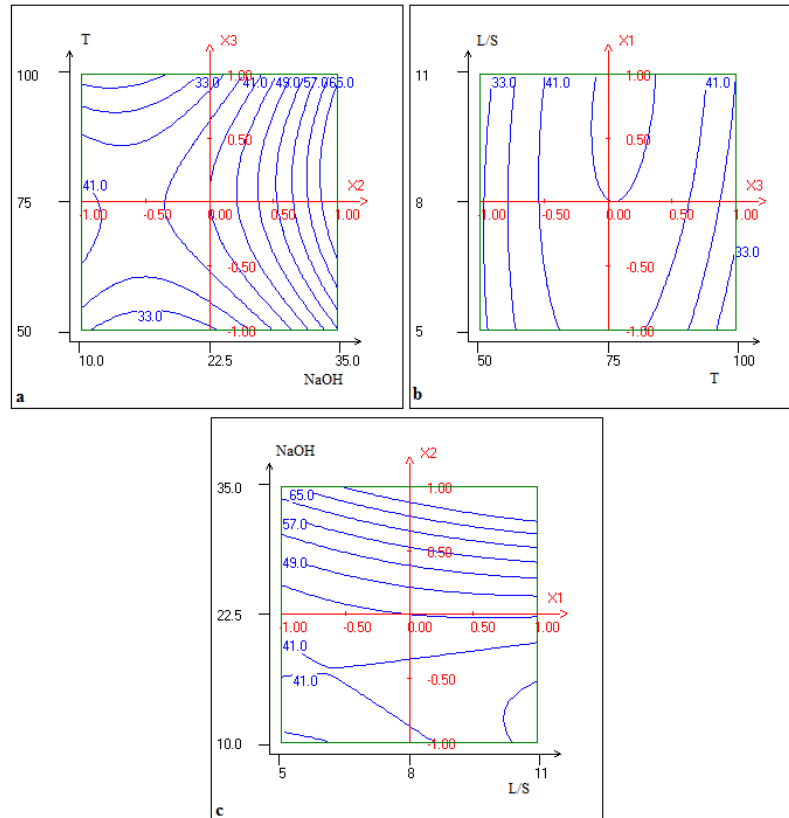


Figure III-15: Courbes d'isoreponse du rendement en sucres (hors glucose) extraits dans le plan T, NaOH pour L/S fixé à 8 (a), dans le plan L/S, T pour NaOH fixé à 22,5% (b) et dans le plan NaOH, L/S pour T fixée à 75°C (c)

Ces résultats, qui sont en accord avec ceux obtenus précédemment, montrent bien que l'augmentation du taux de soude lors de l'extrusion au-delà d'une valeur de 20%, sont favorable à l'extraction de matière organique, sous forme d'hémicelluloses en particulier, mais aussi d'une perte en cellulose traduite par l'extraction de glucose. Il apparaît nécessaire de diminuer le taux de soude si l'on veut limiter la perte en glucose de l'extrudat. Toute la question est alors de déterminer à partir de quel taux de soude le prétraitement en extrudeuse bi-vis devient efficace pour augmenter l'hydrolysabilité de l'extrudat tout en minimisant la perte en glucose lors de l'extraction.

III.1.3.3 Hydrolysabilité des extrudats obtenus en conditions d'extrusion alcaline

L'hydrolysabilité des extrudats obtenus par prétraitement alcalin et extraction en extrudeuse bi-vis, à différents taux de soude est déterminée selon le même protocole que précédemment (partie expérimentale n°P.E.3.2). Elle est exprimée par le taux de glucose libéré par rapport à la matière sèche de l'extrudat, puis par rapport à la teneur en glucose de l'extrudat avant hydrolyse enzymatique. Ce qui permet de calculer le rendement en glucose par rapport à la matière sèche du coproduit de maïs doux introduit.

Par comparaison avec le coproduit de maïs doux brut, dont l'hydrolysabilité plafonne à 22% par rapport à la matière sèche, soit 58% par rapport à la cellulose qu'il contient, le prétraitement en extrudeuse en l'absence de soude ajoutée n'est pas suffisant pour augmenter significativement l'hydrolyse de la cellulose. Les valeurs légèrement supérieures d'hydrolysabilité (27%) s'expliquent par l'extraction de 18% de matière organique lors de l'extrusion. Rapportée à la matière sèche de coproduit de maïs doux de départ, les hydrolysabilités redeviennent identiques (22%) tout comme celles par rapport à la cellulose (58%), sous l'hypothèse que l'extrusion à l'eau ne génère pas de perte de cellulose.

Le prétraitement d'extrusion avec 10% de taux de soude améliore significativement l'hydrolysabilité de l'extrudat, qui atteint 35% de sa matière sèche dans ces conditions d'extrusion (NaOH/MS=10%, L/S=7, T=100°C) 24% de matière organique sont extraits au filtrat, avec moins de 5% de glucose extrait. L'hydrolysabilité par rapport à la cellulose contenue dans l'extrudat, estimée à 41%, serait alors de 85%. Elle n'est donc pas totale mais le rendement en glucose libéré par hydrolyse enzymatique par rapport au coproduit de maïs doux est de 30g / 100g de matière sèche soit un gain de 36% obtenu par ce prétraitement.

A partir de 18% de taux de soude, l'hydrolysabilité des extrudats atteint 37% de la matière sèche, soit 41% de la matière organique. Dans ces conditions d'extrusion (L/S=13,6, T=50°C) la matière organique extraite représente 19%, avec une perte en glucose limitée à 5%. L'hydrolysabilité de la cellulose des extrudats serait alors de 86% et le rendement en glucose libéré par hydrolyse enzymatique est de 30g / 100g de coproduit de maïs doux sec soit 79% du rendement maximum théorique d'hydrolyse enzymatique de la cellulose contenue dans cette matière première.

Rappelons pour des taux de soude de valeurs plus élevées (>35%), l'hydrolysabilité atteint plus de 50% de la matière sèche de l'extrudat, mais que ce résultat est lié à l'extraction d'une fraction croissante de matière organique (20 à 60%MO extraite) ce qui fait que le taux de cellulose dans l'extrudat augmente et que le rendement d'hydrolyse enzymatique en glucose libéré par rapport à la cellulose reste le même. Au bilan, le rendement en glucose par rapport au coproduit de maïs doux n'augmente pas, voire diminue compte tenu de la perte en glucose entraîné au filtrat.

Ainsi le prétraitement par fractionnement alcalin et extraction à l'eau des coproduits de maïs doux est efficace en extrudeuse bi-vis, conduisant à une hydrolysabilité de plus de 80% pour un taux de soude de 10 à 20%, et quasiment totale à partir de 35%. L'influence de la température et du ratio liquide/solide agira surtout sur le rendement d'extraction et de séparation, en particulier des hémicelluloses. Cette efficacité du prétraitement des coproduits de maïs doux a été comparée pour d'autres coproduits.

III.1.4 Prétraitement du Pinzote, de la bagasse d'agave et de la paille d'orge en extrudeuse bi-vis

A la différence du coproduit de maïs doux, le Pinzote, la bagasse d'agave et la paille d'orge se caractérisent par des taux de lignines plus élevés (22 à 26% par rapport à la fibre) et une teneur en hémicelluloses plus faible (22 à 30% par rapport à la fibre) pour des teneurs en cellulose équivalentes (47 à 51% par rapport à la fibre). Par ailleurs la texture de ces matières est différente (paragraphe II-2). Les conditions de prétraitement alcalin et d'extraction de ces coproduits en extrudeuse bi-vis ont dû être adaptées, tant du point de vue thermomécanique que chimique.

La configuration et le profil de vis des extrudeuses bi-vis sont du même type que ceux choisis pour le maïs doux, mais adaptés au type d'extrudeuse mis en œuvre par les partenaires du projet (CLEXTRAL EVOLUM 25 de 6 modules de 100mm au CIEMAT (Espagne), et CLEXTRAL EVOLUM 25 de 10 modules de 100mm à l'UNAM (Mexique)).

Les essais de prétraitement du Pinzote ont été menés par nos soins sur l'extrudeuse bi-vis BC45 précédemment décrite avec le même profil de vis que celui utilisé pour le coproduit de maïs doux (Figure III-9).

La déstructuration thermomécanique du Pinzote requiert plus d'énergie que celle du maïs doux, et les intensités du courant moteur, et donc l'énergie mécanique spécifique transmise à la matière diminuent principalement avec le taux de soude croissant (Tableau III-12). La séparation liquide-solide dans le module de filtration est plus facile que pour le maïs doux, dans une large gamme de température, de ratio liquide/solide et de taux de soude, ce qui témoigne de l'aptitude de cette matière très fibreuse à former un bouchon dynamique dans les contrefilets, efficace pour le pressage du mélange.

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-12: Conditions opératoires du fractionnement alcalin du Pinzote en extrudeuse bi-vis

Q_s (kgMS.h ⁻¹)	NaOH/MS (%)	L/S (kg.h ⁻¹ /kg.h ⁻¹)	T (°C)	I (A)	EMS (W.h.kg ⁻¹)	MO extraite (%)
5,2	11,5	10,8	50	30-33	504-554	6,3
5,5	16,3	9,8	50	22-28	350-445	5,2
4,7	27,7	10,4	50	18-19	335-353	8,3
7,3	33,3	6,4	50	15	180	15,3
6,2	38,7	7,1	50	15	211	18,2
5,0	39,0	9,0	50	13-14	227-245	14,9

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9; Vitesse de vis : 120rpm ; Granulométrie du Pinzote : 6mm

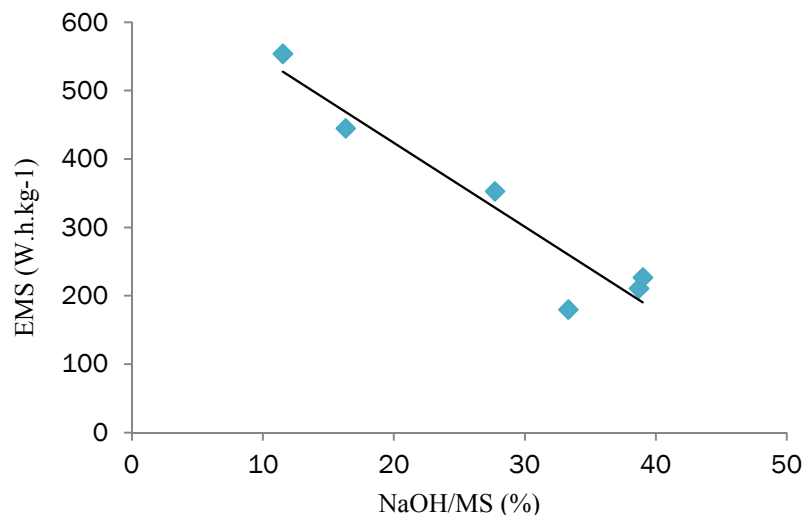


Figure III-16: Energie mécanique spécifique du fractionnement alcalin du Pinzote en extrudeuse bi-vis en fonction du taux de soude

L'analyse des rendements en glucose libéré par hydrolyse enzymatique (partie expérimentale n°P.E.3.2) obtenus dans les conditions de taux de soude croissants montre que l'hydrolysabilité des extrudats augmente (Figure III-17), de façon beaucoup plus importante que pour les coproduits de maïs doux, du fait de la faible hydrolysabilité du Pinzote (8%MS).

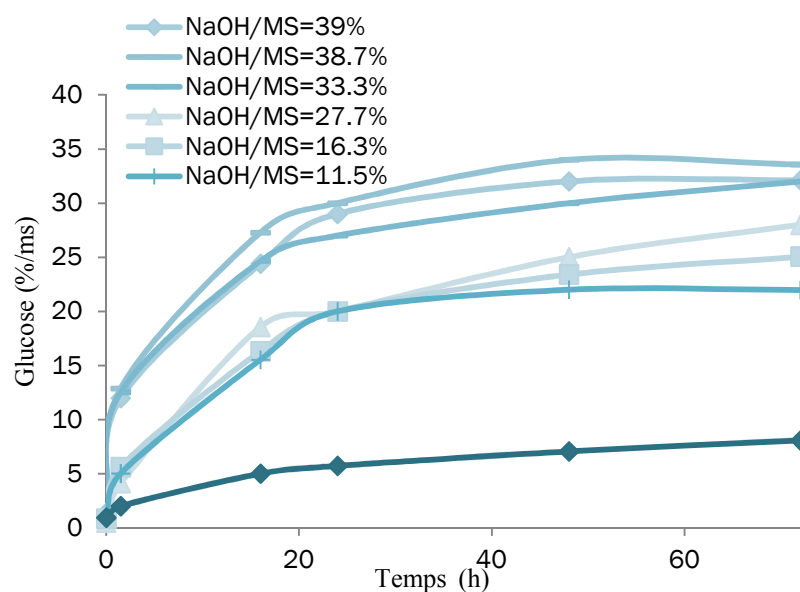


Figure III-17: Hydrolysabilité des extrudats de Pinzote traités à différents taux de soude en extrudeuse bi-vis

Ainsi à 11,5% de taux de soude, l'hydrolysabilité par rapport à la matière sèche de l'extrudat atteint 22%, soit compte tenu de la matière organique extraite, une valeur de 48% par rapport à la cellulose contenue dans cet extrudat, alors qu'elle n'était que de 22% en l'absence de prétraitement. Le rendement en glucose libéré atteint 17g / 100g de Pinzote sec introduit, ce qui est plus de 2 fois celui obtenu sans prétraitement. L'augmentation du taux de soude à 16% améliore encore ce résultat, avec une hydrolysabilité par rapport à la matière sèche de l'extrudat de 25%. Dans ces conditions de prétraitement, le rendement en matière organique extraite et séparée est de 5%, et le rendement en glucose par rapport au Pinzote introduit atteint 18%, ce qui représenterait 50% du glucose potentiel contenu dans ce coproduit. Une hydrolysabilité proche de 100% ne sera atteinte que pour des taux de soude nettement plus élevée (35 à 45%), pour lesquels l'hydrolysabilité par rapport à la matière sèche de l'extrudat est de 32 à 34%, correspondant, pour une perte en matière organique au filtrat de 15 à 20%, à un rendement en glucose libéré de 26g / 100g de Pinzote introduit.

Ces résultats prouvent l'efficacité du prétraitement de fractionnement alcalin et d'extraction en extrudeuse bi-vis pour le Pinzote. Mais à la différence du maïs doux, le taux de soude requis pour atteindre une hydrolysabilité maximum est plus élevé.

Les essais de prétraitement de la bagasse d'agave ont été menés en collaboration avec l'UNAM, avec la même configuration que pour le Pinzote et le maïs doux (Figure III-9). La déstructuration de la bagasse d'agave ne requiert pas une énergie mécanique spécifique élevée, proche de celle pour le coproduit du maïs doux (Tableau III-13). La séparation liquide-solide est efficace pour une large gamme de taux de soude et de ratio liquide/solide, avec des rendements en matières organiques entraînées au filtrat compris entre 20 et 40%, un

peu plus faibles que ceux obtenus avec le maïs doux dans une gamme de conditions opératoires équivalentes.

Tableau III-13: Conditions opératoires de la déstructuration alcaline en extrudeuse bi-vis de la bagasse d'agave

Essai	Q _s	NaOH/MS	L/S	T	I	EMS	MO extraite
	(kgMS.h ⁻¹)	(%)	(kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹)	(°C)	(A)	(W.h.kg ⁻¹)	(%)
1	6,8	9	8,3	114	8	103	31,0
2	7,6	11	6,8	71	12	138	27,1
3	4,3	13	7,6	86	13	264	28,0
4	2,6	17	16,9	100	8	269	29,5
5	6,3	19	7,7	114	12	166	21,7
6	5,6	26	7,0	86	12	187	29,7
7	2,6	34	17,7	100	9	303	27,8
8	3,6	49	12,5	57	9	219	16,8

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III-9; Vitesse de vis : 120rpm ; Granulométrie de la bagasse d'agave : 6mm

Bien que l'hydrolysabilité des extrudats ait été mesurée à l'UNAM avec d'autres cocktails enzymatiques (Boosted Celluclast : 80%Celluclast Novozymes + 20% Accelerase BG Genecor et Boosted Cellulase : 75% Cellulase Aldrich + 25% Cellobiase Sigma Aldrich) que celui mis en œuvre jusqu'à présent (partie expérimentale n°P.E.3.2), les résultats obtenus montrent la même évolution en fonction du taux de soude utilisé lors de l'extraction (Figure III-18) : l'augmentation du taux de soude améliore significativement l'hydrolysabilité des extrudats.

Tableau III-14: Hydrolysabilité des extrudats de bagasses d'agave traitées en bi-vis (analyses réalisées par l'UNAM)

Essai	NaOH/MS	L/S	T	MO extraite	Hydrolysabilité	
	(%)	(kg.h ⁻¹ / kg.h ⁻¹)	(°C)	(%)	Boosted Celluclast (% sucres réducteurs)	Boosted Cellulase (% sucres réducteurs)
1	9	8,3	114	31,0	45	60
3	13	7,6	86	28,0	55	72
5	19	7,7	114	21,7	60	75
7	34	17,7	100	27,8	68	85
8	49	12,5	57	16,8	72	98
Non traitée	-	-	-	-	30	45

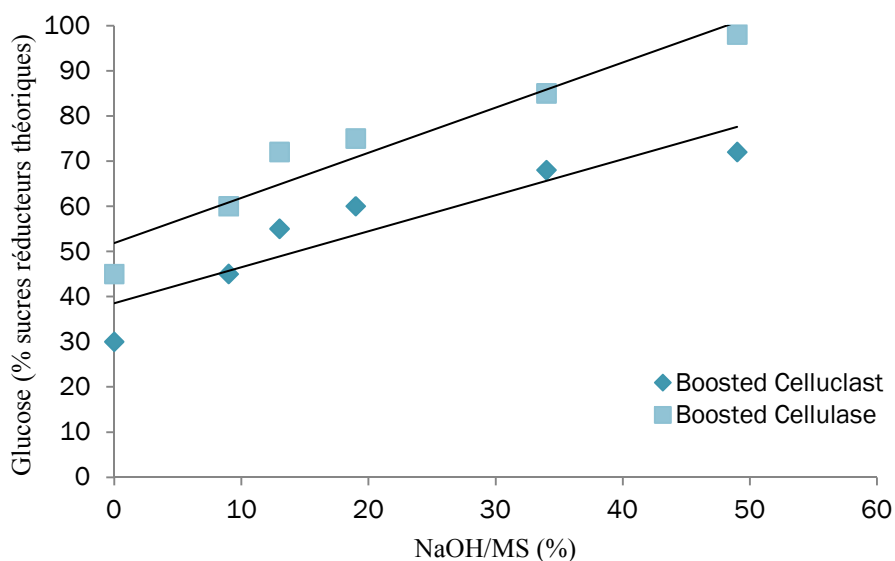


Figure III-18: Evolution de l'hydrolysabilité de la bagasse d'agave traitée en extrudeuse bi-vis en fonction du taux de soude

Enfin, les essais de prétraitement de la paille d'orge ont été réalisés par le CIEMAT, avec une extrudeuse de plus petite taille, mais une configuration et un profil de vis équivalent. L'hydrolysabilité des extrudats est déterminée avec un cocktail enzymatique sélectionné en partenariat avec le VTT (90% Cellic CTec et 10% Cellic HTec de Novozymes). Les résultats obtenus pour une gamme de température de 50 à 100°C et de 2,75 à 7,50% de taux de soude, montrent que l'hydrolysabilité des extrudats augmente essentiellement avec l'augmentation du taux de soude pour atteindre au voisinage de 6% de taux de soude des valeurs de 90% de rendement en glucose libéré par l'action enzymatique par rapport au glucose présent dans les extrudats. A 10% de taux de soude, l'hydrolysabilité est améliorée d'un facteur 5 par rapport à la paille d'orge non traitée et d'un facteur 2 par rapport à la paille d'orge extrudée à l'eau en l'absence de soude, pour atteindre 50% de la matière sèche de l'extrudat (Figure III-19).

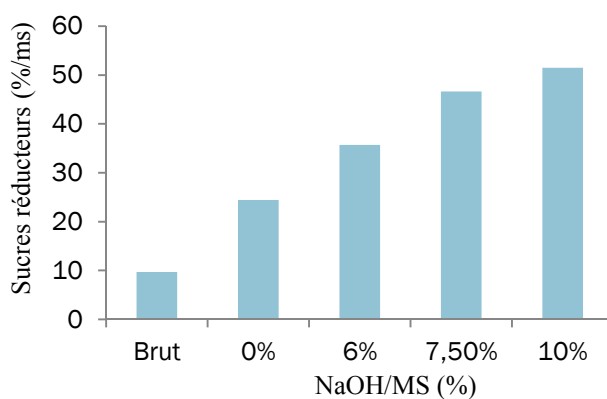


Figure III-19: Hydrolysabilité de pailles d'orge traitées en extrudeuse bi-vis en fonction du taux de soude

III.1.5 Conclusion sur le prétraitement par fractionnement alcalin et extraction en extrudeuse bi-vis

Le fractionnement thermo-mécano-chimique alcalin en extrudeuse bi-vis des coproduits lignocellulosiques étudiés est donc très efficace pour l'hydrolysabilité enzymatique de la cellulose qu'ils contiennent :

- L'effet thermomécanique des éléments restrictifs du profil de vis assure une déstructuration physique de la matière, avec ouverture des fibres (Figure III-20). Le choix des éléments restrictifs, le taux d'eau et la température peuvent agir sur l'état de défibrage, mais ce traitement seul est insuffisant pour améliorer significativement l'hydrolysabilité enzymatique de la cellulose. Tout au plus permettra-t-il d'extraire les fractions hydrosolubles de la matière.



Figure III-20: Extrudats prétraités en traitement alcalin en bi-vis (a): bagasse d'agave, (b): coproduit de maïs doux, (c): Pinzote

- L'effet chimique de la base assure une déstructuration chimique des fibres par solubilisation de matières organiques, en particulier d'hémicelluloses et de lignines, en fonction du taux de soude mis en œuvre. Leur extraction et leur séparation, sous forme d'un filtrat, sont rendues possible par l'aménagement d'une zone d'extraction dans le fourreau : injection d'eau de lavage, pressage du mélange dans les contrefilets et filtration des extraits en amont sur une grille de filtration. La sélectivité de la filtration (matière organique soluble/matière organique insoluble) dépend des conditions opératoires : la génération de fines particules par le traitement thermomécanique et le taux de solubilisation de matière organique dépendent de la température et du ratio liquide/solide, et surtout du taux de soude. L'augmentation du taux de soude minimise l'énergie mécanique spécifique transmise à la matière, qui est aussi dépendante de sa structure initiale, plus ou moins dure.

- la combinaison des effets thermomécaniques et chimiques améliore l'accessibilité de la cellulose aux enzymes, et permet d'atteindre des valeurs proches de 50% en rendement en glucose libéré par rapport à la matière sèche des extrudats pour tous les coproduits étudiés.

Fonction du taux de soude mis en œuvre dans une gamme de 5 à 15% lors de l'extrusion, ces rendements d'hydrolyse enzymatique correspondent à une hydrolysabilité de la cellulose de 45 à 90% selon les coproduits. L'augmentation des taux de soude permet d'atteindre des hydrolysabilités encore plus élevées, mais la perte en cellulose par dégradation et/ou entraînement au filtrat lors de l'extrusion pénalise le rendement en glucose hydrolysé par rapport au coproduit de départ. Le meilleur compromis hydrolysabilité/perte en cellulose se situe à des valeurs de taux de soude différentes pour chacune des matières (Tableau III-15).

Tableau III-15: Zone de compromis hydrolysabilité/perte en glucose en fonction du taux de soude mis en œuvre pour le prétraitement des coproduits en extrudeuse bi-vis

Coproduit	Taux de soude	Hydrolysabilité des extrudats	Perte en glucose	Rendement en glucose par rapport à la matière sèche du coproduit
	% /MS _{coproduit}	g glucose/%g MS _{extrudat}	% glucose potentiel	g glucose/%g MS _{coproduit}
Coproduit de conserverie de maïs doux	5-12	35	< 5	30
Bagasse d'agave	5-12	30	< 8	24
Pinzote	15-25	25	< 5	18
Paille d'orge	5-7,5	50	< 10	-

Cet effet de la soude et les différences de taux de soude optimums pour l'hydrolysabilité peuvent s'interpréter à partir de plusieurs remarques :

- La composition des fractions non fibreuses des coproduits n'est pas la même, et leurs interactions avec la soude ne sont pas identiques. Ainsi, les lipides contenus en plus forte proportion dans le Pinzote (6%MS) et le coproduit de maïs doux (3,5%MS) peuvent être responsables d'une consommation de ce réactif par saponification. De même les protéines contenues dans le coproduit de maïs doux (7%MS) et dans une moindre proportion, dans les trois autres coproduits (3 à 4%MS), sont susceptibles de mobiliser la soude, qui deviendrait moins disponible pour la déstructuration chimique des fibres. D'autres composés hydrosolubles comme les acides organiques, natifs ou issus de la dégradation thermique, peuvent aussi conduire au même effet. Ces différences de composition des fractions non fibreuses (moins de 17% pour la paille d'orge dont 7% de matière organique contre 20 à 23% pour les trois autres) pourraient contribuer à expliquer les plus faibles taux de soude requis pour une déstructuration efficace de la paille d'orge.

- Les proportions de lignines sont clairement corrélées à l'hydrolysabilité des coproduits (paragraphe II-4). Mais la proportion de soude nécessaire à la destruction de l'effet barrière à l'hydrolyse enzymatique dont elles seraient responsables n'est pas corrélée à sa teneur dans les coproduits : les coproduits de maïs doux qui ne contiennent que 5% de lignines, requièrent près de deux fois plus de soude que les pailles d'orge, qui en contiennent 18%. Tout au plus, on remarquera que la proportion de la lignine par rapport à la cellulose et à

l'holocellulose (cellulose+hémicellulose) est plus faible dans la paille d'orge (46 et 28%) que dans la bagasse d'agave (52 et 36%) et le Pinzote (57 et 35%). En réalité, les dosages des lignines effectués sur les différents extrudats traités dans la gamme 5 à 15% de soude montrent que le taux d'extraction des lignines reste relativement faible (20 à 30% dans le cas de la paille d'orge et de la bagasse d'agave). L'amélioration de l'hydrolysabilité des matières lignocellulosiques ne serait donc pas liée à l'extraction et l'élimination des lignines, mais à la déstructuration de l'organisation structurale qui les associe à la cellulose et aux hémicelluloses (hydrolyse des liaisons esters et éthers) (Grabber et al. 2004).

- Les hémicelluloses sont aussi responsables d'une mobilisation de la soude, à la fois pour neutraliser les acides uroniques et féruliques qu'elles contiennent, mais surtout pour assurer leur solvataion (liaisons hydrogènes avec la cellulose et interhémicellulosiques) et leur solubilisation. De ce point de vue, les teneurs plus élevées requises pour l'amélioration de l'hydrolysabilité du coproduit de maïs doux que de la paille d'orge sont cohérentes avec les teneurs en hémicelluloses (respectivement 37 et 25,7%). En réalité le dosage des hémicelluloses présentes dans les extrudats, du xylose et des autres sucres d'origine hémicellulosique, montrent que dans la gamme d'amélioration de l'hydrolysabilité des extrudats, peu ou très peu d'hémicelluloses sont extraites ou séparées au filtrat. L'amélioration de l'hydrolysabilité ne serait donc pas liée à l'extraction proprement dite des hémicelluloses, mais à leur desassociation d'avec la cellulose, autorisant son gonflement et sa décristallinisation et donc favorisant son accessibilité pour les enzymes cellulolytiques. Cette dernière hypothèse apparaît confirmée par les mesures de cristallinité de la cellulose avant et après traitement en extrusion alcaline et de taux de cellulose de type II réalisées par l'UCR (Costa Rica) sur différents échantillons (Tableau III-16).

Tableau III-16: Evolution du taux de cristallinité de la cellulose après le prétraitement alcalin en extrudeuse bi-vis des coproduits lignocellulosiques

Coproduit	Cristallinité de la cellulose		Taux de cellulose II / taux de cellulose I après traitement
	Natif	Prétraité	
Coproduit de conserverie de maïs doux	68	71	22-28
Bagasse d'agave	23	42	18-32
Pinzote	67	65	15
Paille d'orge	77	50	28

Les taux de cristallinité de la cellulose contenue dans les matières lignocellulosiques natives et prétraitées ont été obtenus, après séchage à 103°C, par diffraction aux rayons X (partie expérimentale n°P.E.2.11). Le séchage modifiant la cristallinité de la cellulose, il est difficile de discerner les variations obtenues par le prétraitement alcalin et celles obtenues par séchage de la matière lignocellulosique. C'est pourquoi aucune corrélation ne pourra être tirée de l'évolution de la cristallinité entre les coproduits lignocellulosiques bruts et ceux prétraités.

La présence de cellulose de type II dans tous les extrudats issus du prétraitement prouve que le traitement alcalin réalisé en extrudeuse bi-vis atteint l'ensemble de l'édifice lignocellulosique, jusqu'au gonflement de la cellulose en solution alcaline autorisant un réalignement des chaînes de polymères de cellulose d'une organisation parallèle à l'état natif naturel (cellulose de type I) à une organisation antiparallèle (cellulose de type II) comme dans le cas de la mercerisation (Dinand et al. 2002). Aucune corrélation n'a pu être établie entre le taux de cellulose II mesuré et les conditions de taux de soude et de température du traitement d'extrusion. Il est néanmoins raisonnable de supposer que la présence de cellulose II est un indicateur du bon gonflement de la cellulose, et donc d'une meilleure accessibilité pour les enzymes.

Un indicateur supplémentaire de l'efficacité de la déstructuration du matériau lignocellulosique est donné par la cinétique d'hydrolyse enzymatique (Figure III-17). Ainsi le suivi de l'apparition du glucose dans le milieu d'hydrolyse enzymatique montre qu'après prétraitement, 8% du glucose est libéré au bout de 5h alors que cette valeur n'était atteinte qu'après 48h sans prétraitement. Bien qu'il soit difficile de discerner à quelle phase du processus de réaction enzymatique cette accélération peut être attribuée (action des endoglucanases, des exoglucanases et des β -glucosidases), il apparaît que les phénomènes de diffusion des enzymes dans l'édifice fibreux prétraité en extrudeuse bi-vis sont nettement moins limitants.

Ainsi le prétraitement de la matière lignocellulosique en extrudeuse bi-vis la prédispose pour accueillir les enzymes. Cependant le milieu alcalin dans lequel est gonflée la cellulose n'est pas compatible avec l'activité des enzymes. La neutralisation des extrudats était jusqu'à présent réalisée après extrusion, avant introduction dans le réacteur d'hydrolyse (partie expérimentale n°P.E.1.2). Il apparaît dès lors très intéressant d'étudier cette étape de neutralisation directement dans l'extrudeuse bi-vis.

III.2 Etude du prétraitement alcalin et de neutralisation des coproduits lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis

Plusieurs acides peuvent être mis en œuvre pour neutraliser les extrudats alcalins dans la bi-vis. Les acides organiques, comme l'acide acétique par exemple, posent le problème de l'introduction dans le milieu de sels organiques supplémentaires susceptibles d'interférer avec la fermentation éthanolique (H. B. Klinke, Thomsen, and Ahring 2004). Par ailleurs leur prix les pénalise par rapport aux acides minéraux dont les plus courants sont les acides chlorhydrique, sulfurique et phosphorique.

Tableau III-17: Comparaison de caractéristiques et du prix de quelques acides

Acide	Formule	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	pKa (25°C)	N° CAS	Prix ^a (€)
Acétique	C ₂ H ₄ O ₂	60,05	4,76	64-19-7	58 (1l)
Chlorhydrique	HCl	36,46	-3	7647-01-0	86 (1l à 37% (m/m))
Phosphorique	H ₃ PO ₄	97,99	2,12 ; 7,21 ; 12,67	7664-38-2	42 (1kg à 85%(m/m))
Sulfurique	H ₂ SO ₄	98,08	-3 ; 1,9	7664-93-3	38 (1l)
Nitrique	HNO ₃	63,01	-1,37	7697-37-2	38 (1l à 70%(m/m))

^a : Prix Sigma-Aldrich sur de petits volumes à pondérer à l'échelle

L'avantage de ce dernier est d'être un triacide, ce qui minimise la masse d'acide à introduire (67% en moins par rapport à l'acide sulfurique et 10% en moins par rapport à l'acide chlorhydrique) et par voie de conséquence, la masse de matière minérale introduite dans le milieu. De plus les phosphates sont susceptibles d'apporter une valeur ajoutée aux effluents nettement plus importante que les chlorures ou les sulfates, et ils sont réputés pour ne pas interférer avec les milieux d'hydrolyse ou de fermentation, d'autant moins que le cation de la base utilisée pour l'action alcaline pourra être choisi (par exemple le potassium). L'acide phosphorique est donc retenu comme agent de neutralisation des extrudats dans l'extrudeuse bi-vis.

L'efficacité de la neutralisation est étudiée en premier lieu par injection de l'acide phosphorique dilué en proportion légèrement supérieure à la stœchiométrie par rapport à la quantité d'ion OH⁻ introduits (Figure III-21).

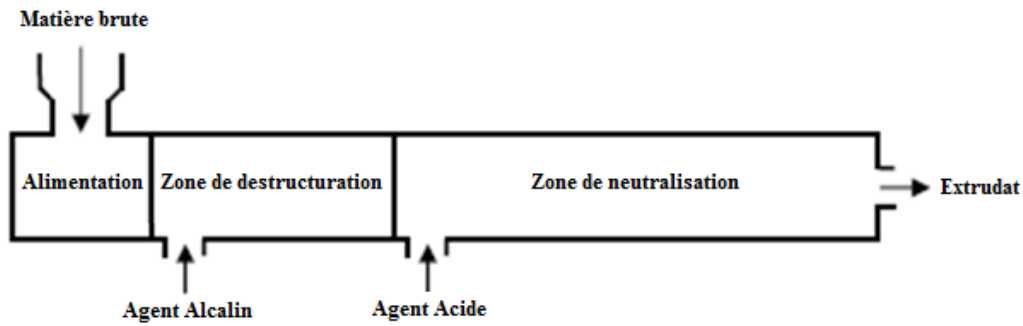


Figure III-21: Schéma de la déstructuration thermo-mécano-chimique alcaline suivie d'une neutralisation en extrudeuse bi-vis

Le début du profil de vis installé dans le fourreau de l'extrudeuse bi-vis BC45 (Figure III-22) (module 1 à 4) est le même que celui mis en œuvre pour étudier le fractionnement alcalin (paragraphe III-1-2).

	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de déstructuration				Zone de neutralisation			Zone de convoyage		Zone de mélange		Zone de convoyage	
Module	1		2		3		4		5			6		7			
Chauffage	-		-		-		Oui		Oui			Oui		Oui			
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	BB	C2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	10x10	50	50	25	50	5x5	50	50	50	25	5x5	50	
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	50	33	33	90°	33	25	-25	33	90°	33	33	25	25	-45°	25	

Figure III-22: Configuration et profil de vis pour l'étude de la neutralisation après déstructuration alcaline des matières lignocellulosiques

L'acide est injecté sous forme diluée dans l'eau (4% (m/m) d'acide phosphorique), en aval du contrefilet installé en fin du module 4. Deux séries de bilobes montées à 90°, neutres pour le convoyage, et à -45°, provoquant une rétention de la matière et une augmentation du temps de séjour, sont installées respectivement dans les modules 5 et 7. Le profil de température de consigne décroît de 100°C dans la zone de déstructuration alcaline vers 50°C dans celle de neutralisation. Le pH des extrudats en sortie bi-vis (Figure III-23) est contrôlé (partie expérimentale n°P.E.4.5).



Figure III-23: Extrudats de coproduit de maïs doux et de Pinzote neutralisés en extrudeuse bi-vis

Les résultats obtenus pour deux coproduits modèles (coproduit de maïs doux et Pinzote) montrent que la neutralisation est parfaitement opérante dans l'extrudeuse (Tableau III-18).

Tableau III-18: Conditions opératoires de la neutralisation en extrudeuse bi-vis

Matière	Maïs	Maïs	Pinzote
Granulométrie (mm)	2	2	6
S _s (rpm)	110	110	120
Q _S (kg.h ⁻¹)	7,7	9,2	10,0
Q _S /S _s	0,07	0,08	0,08
Q _{NaOH} (kg.h ⁻¹)	22	21	20
[NaOH] (%) (m/m)	11	11	11
Q _{H3PO4} (kg.h ⁻¹)	60	60	59
[H ₃ PO ₄] (%) (m/m)	4,3	4,3	4,3
T° (°C) (consignes)	100/80/50/50	68/68/50/50	100/100/50/50
T° (°C) (mesures)	99/73/54/50	67/67/52/50	106/104/58/51
Intensité (A)	7	8	10
Q _{ext} (kg.h ⁻¹)	89	94	96
NaOH/MS (%)	35	28	24
H ₃ PO ₄ /MS (%)	37	31	27
L/S	7,4	5,9	5,3
pH _{ext}	7,5	6,5	6,5

Extrudeuse bi-vis BC45 ; L/S : Ratio liquide/solide; S_s : Vitesse de vis ; Q_S : Débit entrée matière ; Q_{NaOH} : Débit entrée solution soude ; Q_{H3PO4} : Débit entrée solution acide ; Q_{ext} : Débit extrudat ; Q_S/S_s : Taux de remplissage de la bi-vis ; [NaOH] : Concentration solution soude ; [H₃PO₄] : Concentration solution acide

Le pH en sortie d'extrudeuse peut être ajusté voire même acidifié, en fonction du rapport acide/base, et la température des extrudats peut être ramenée à une valeur compatible avec celle du fonctionnement optimum des enzymes saccharifiantes (50±5°C).

L'installation d'un module de filtration dans la configuration de l'extrudeuse (Figure III-24) va permettre d'obtenir une séparation du liquide et du solide après la zone de neutralisation. Mais la configuration et le profil de vis doivent être adaptés par rapport à ceux mis en œuvre pour l'étude du fractionnement par traitement alcalin et séparation liquide-solide (paragraphe III-1-3, Figure III-9).

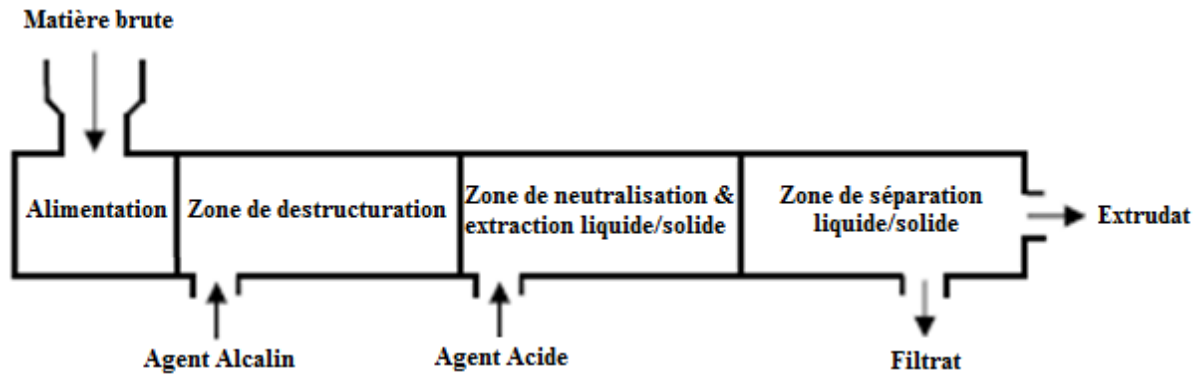


Figure III-24: Schéma de déstructuration thermo-mécano-chimique alcaline suivie d'une neutralisation avec filtration en extrudeuse bi-vis

L'ensemble des opérations de déstructuration alcaline, de neutralisation et de séparation liquide-solide sont réalisées en six modules du fourreau (Figure III-25).

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de déstructuration				Zone de neutralisation		Zone de filtration		Zone de compression		Zone de convoyage	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Chauffage	-	-	-	-	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	BB	C2F	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	10x10	50	50	25	50	5x5	50	25	25	50	50	
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	50	33	33	90°	33	25	-25	33	90°	33	33	25	-25	33	25

Figure III-24: Configuration et profil de vis mis en œuvre pour le fractionnement alcalin et la neutralisation des coproduits de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Le profil de vis installé est le même que précédemment pour les quatre premiers modules, mais l'injection de la solution aqueuse d'acide phosphorique est réalisée en fin de module 4, en aval immédiat des premiers contrefilets ; des malaxeurs bilobes sont installés dans le cinquième module, définissant la zone de neutralisation du mélange alcalin ; et la zone de filtration est définie par le sixième module avec la surface filtrante en amont des contrefilets.

Dans le cas du coproduit de maïs doux, la neutralisation et la séparation liquide-solide sont efficaces dans une large gamme de taux de soude et de ratio liquide/solide, même pour des débits de solide élevés (Tableau III-19). L'énergie mécanique spécifique reste faible (89 à 158 W.h.kg⁻¹) très voisine de celle observée en l'absence de neutralisation.

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Tableau III-19: Conditions opératoires et résultats du fractionnement alcalin, de la neutralisation et de la séparation liquide-solide du coproduit de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Essai	1	2	3
Q_s (kg.h ⁻¹)	7,8	9,4	22,6
S_s (rpm)	110	110	100
Q_s/S_s	0,07	0,09	0,23
Q_{Lb} (kg.h ⁻¹)	20,7	19,9	19,8
[NaOH] (%) (m/m)	11	4	11
Q_{NaOH} (kg.h ⁻¹)	2,3	0,8	2,2
Q_{La} (kg.h ⁻¹)	59,5	51,7	61,5
[H ₃ PO ₄] (%) (m/m)	4,3	1,8	4,3
$Q_{H_3PO_4}$ (kg.h ⁻¹)	2,6	0,9	2,6
L/S	6,4	6,9	3,1
NaOH/MS (%)	32,4	9,4	10,7
H ₃ PO ₄ /MS (%)	36,6	10,6	12,6
T° (°C)	99/61/50	97/99/55/53	103/56/49
Intensité (A)	9	17	23
EMS (W.h.kg ⁻¹)	101	158	89
Q_{ext} (kg.h ⁻¹)	19,1	17,8	90,4
Q_{fil} (kg.h ⁻¹)	70,9	62,2	11,0
$Q_{fil} / Q_{ext+fil}$ (%)	78,7	77,7	12
pH _{fil}	7	5,5	6,5
pH _{ext}	7	6	6,5

Extrudeuse bi-vis BC45 ; Granulométrie coproduit de maïs doux : 2mm ; L/S : Ratio liquide/solide ; S_s : Vitesse de vis ; Q_s : Débit entrée matière ; Q_{Lb} : Débit entrée solution soude ; Q_{NaOH} : Débit soude ; Q_{La} : Débit entrée solution acide ; $Q_{H_3PO_4}$: Débit acide ; Q_{ext} : Débit extrudat ; Q_s/S_s : Taux de remplissage de la bi-vis ; [NaOH] : Concentration solution soude ; [H₃PO₄] : Concentration solution acide

Cependant, dans des conditions de fort ratio liquide/solide et/ou de taux de soude élevé, le fonctionnement de l'extrudeuse comme séparateur liquide-solide peut devenir cyclique : l'accumulation de liquide dans la zone de filtration se traduit par une perte de structure du bouchon dynamique, la séparation liquide-solide est moins efficace et le solide est moins bien pressé. Pour pallier cet inconvénient, une adaptation du profil de vis dans la zone de séparation liquide-solide est réalisée (Figure III-26) : un contrefilet à simple filet (CF1C), qui assure une meilleure contre-poussée de la matière, est installé en aval immédiat de la zone filtrante.

Etude de la déstructuration des matières lignocellulosiques par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeuse bi-vis

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de déstructuration				Zone de neutralisation			Zone de filtration	Zone de compression	Zone de convoyage			
	1		2		3		4		5			6		7			
Température																	
Type de vis	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	BB	C2F	C2F	Oui	C2F	CF1C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	10x10	50	50	25	50	5x5	50	50	50	50	25	50	25
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	50	33	33	90°	33	25	-25	33	90°	33	33	25	-25	33	25	

Figure III-26: Adaptation du profil de vis mis en œuvre pour le fractionnement alcalin et la neutralisation des coproduits de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Dans ces conditions, la filtration est beaucoup plus régulière et la matière est aussi bien neutralisée, voir même acidifiée par augmentation du taux d'acide phosphorique par rapport au taux de soude introduit (Tableau III-20).

Tableau III-20: Fractionnement alcalin, neutralisation et séparation du coproduit de maïs doux en extrudeuse bi-vis

Profil	Avec CF2C			Avec CF1C		
Essai	1	2	3	4	5	6
Q_s (kg.h ⁻¹)	7,8	9,4	22,6	9,3	9,1	8,8
Q_{Lb} (kg.h ⁻¹)	20,7	19,9	19,8	20,4	20,4	20,7
Q_{La} (kg.h ⁻¹)	59,5	51,7	61,5	57,6	53,5	51,6
Q_{Ltotal} (kg.h ⁻¹)	80,2	71,6	81,3	78,0	73,9	72,3
Q_L/Q_s	10,3	7,6	3,6	8,4	8,1	8,2
$Q_{entrée\ total}$ (kg.h ⁻¹)	88,0	81,0	103,9	87,3	83,0	81,1
Q_{ext} (kg.h ⁻¹)	19,1	17,8	90,4	17,1	19,3	16,5
Q_{fil} (kg.h ⁻¹)	70,9	62,2	11,0	70,2	65,7	62,4
$Q_{total\ extrudat+filtrat}$ (kg.h ⁻¹)	90,0	80,0	101,4	87,3	85,0	78,9
Δ (kg.h ⁻¹)	2	-1	-2,5	0	2	-2,2
Q_{NaOH} (kg.h ⁻¹)	2,3	2,2	0,8	1,0	1,5	0,8
Q_{H3PO4} (kg.h ⁻¹)	2,6	2,6	0,9	2,5	2,3	0,9
$Q_{fil}/(Q_{fil}+Q_{ext})$ (%)	78,7	77,7	12,0	80,4	77,3	79,1
NaOH/MS (%)	32,4	9,4	10,7	12,1	18,6	10,5
Q_{fil}/Q_{Ltotal} (%)	88,4	86,9	13,5	90,0	88,9	86,3
pH _{fil}	7	5,5	6,5	4	4,5	5,5
pH _{ext}	7	6	6,5	5	5,5	6

Extrudeuse bi-vis BC45 ; Granulométrie coproduit de maïs doux : 2mm ; Q_s : Débit entrée matière ; Q_{Lb} : Débit entrée solution soude ; Q_{NaOH} : Débit soude ; Q_{La} : Débit entrée solution acide ; Q_{H3PO4} : Débit acide ; Q_{ext} : Débit extrudat ; Q_{fil} : Débit extrudat

Une telle adaptation ne s'avère pas nécessaire dans le cas de coproduits plus fibreux comme le Pinzote ou la bagasse d'agave. (Tableau III-21)

Tableau III-21: Fractionnement alcalin, neutralisation et séparation du Pinzote et de la bagasse d'agave en extrudeuse bi-vis

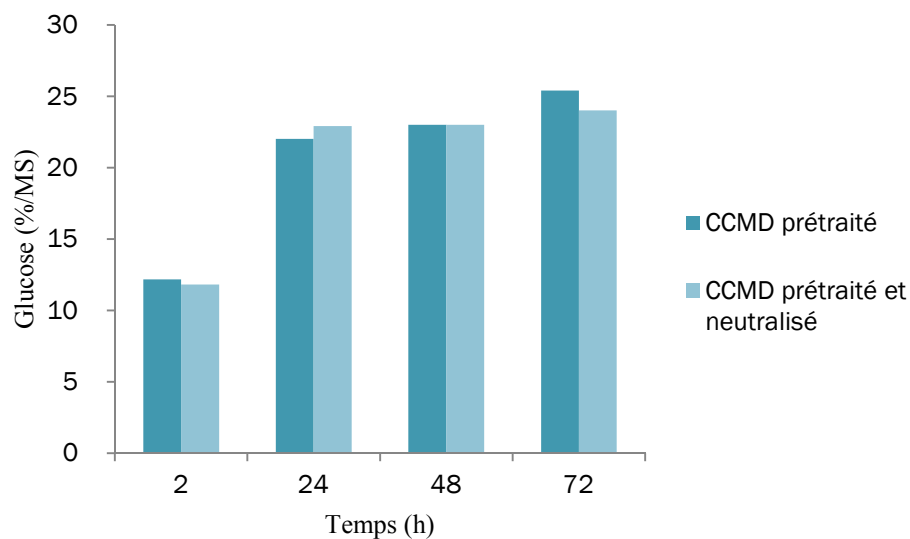
Matière	CPHP		CPT	
Profil	Avec CF2C		Avec CF2C	Avec CF1C
Q_S (kg.h ⁻¹)	7,6	4,4	10,3	16,4
Q_{Lb} (kg.h ⁻¹)	20,0	19,7	22,6	19,4
Q_{La} (kg.h ⁻¹)	58,6	56,4	56,0	54,0
Q_{Ltotal} (kg.h ⁻¹)	78,6	76,1	78,6	73,4
Q_l/Q_S	10,3	17,3	7,6	4,5
NaOH/MS (%)	30,9	19,2	24,1	5,1
H ₃ PO ₄ /MS (%)	35,5	24,8	23,4	5,9
Intensité (A)	25	20-35	10	33
EMS (W.h.kg ⁻¹)	288	397-695	85	176
Q_{ext} (kg.h ⁻¹)	9,2	5,9	17,6	25,2
Q_{fil} (kg.h ⁻¹)	77,0	73,2	71,3	57,6
$Q_{total\ extrudat+filtrat}$ (kg.h ⁻¹)	86,2	79,1	88,9	52,8
$Q_{fil}/(Q_{fil}+Q_{ext})$ (%)	89,3	92,2	80,2	69,5
pH _{fil}	6,5	5,5	7	6
pH _{ext}	7	6,5	7	6

La structure plus fibreuse et dure du Pinzote se traduit comme précédemment par des énergies mécaniques spécifiques plus élevées, la neutralisation s'avérant encore plus consommatrice d'énergie, voire même conduisant à un fonctionnement moins stable. La bagasse d'agave se comporte de façon analogue au coproduit de maïs doux. Dans tous les cas la neutralisation des fibres est parfaitement efficace. Elle se traduit visuellement par un éclaircissement de la matière qui s'est colorée en brun plus sombre sous l'action de la soude (Figure III-20). Et les extrudats obtenus ont un aspect plus clair floconneux et sec (Figure III-27).



Figure III-27: Extrudats neutralisés de coproduit de maïs doux (a) et de Pinzote (b)

En conclusion, l'étape de neutralisation des fibres prétraitées par fractionnement alcalin et de séparation des fibres neutralisées d'un filtrat contenant la matière organique et le sel d'acide phosphorique peut donc être réalisée en continu dans une extrudeuse bi-vis de six modules. L'hydrolysabilité des extrudats des coproduits lignocellulosiques étudiés, dépendante des conditions de taux de soude du prétraitement alcalin, n'est pas perturbée par cette nouvelle opération de neutralisation (Figure III-28).



Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis : Figure III- et Figure III-; Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit de maïs doux : 2mm ; NaOH/MS : 10%

Figure III-28: Comparaison des rendements en glucose libéré par hydrolyse enzymatique de coproduits de maïs doux prétraités en extrudeuse bi-vis et prétraités et neutralisés en extrudeuse bi-vis

La remarquable compacité du procédé de prétraitement ainsi défini nous a conduit à envisager l'étude de l'étape suivante pour la mise en œuvre de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques : l'imprégnation des enzymes de saccharification de la cellulose dans l'extrudeuse bi-vis.

IV Etude de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques prétraités, en extrudeuse bi-vis

A l'issue des étapes de fractionnement alcalin, de neutralisation et de séparation liquide-solide réalisées en continu en extrudeuse bi-vis, les extrudats obtenus sont prêts pour l'étape d'hydrolyse enzymatique. Cette dernière est classiquement réalisée dans un réacteur agité, en conditions diluées (1 à 5 % de matière sèche dans l'eau) sur des durées de 48 à 72h (Reese 1956; Wilke 1983; Tomme, Warren, and Gilkes 1995). Plusieurs auteurs ont étudié la possibilité de réaliser cette hydrolyse enzymatique en milieu plus concentré, avec des consistances de 10 à 30 % (Cristóbal Cara et al. 2007; Hodge et al. 2008; X. Zhang et al. 2009; Caspeta et al. 2014) mais outre l'avancement réduit de la réaction d'hydrolyse enzymatique, l'un des principaux obstacles rencontré est l'imprégnation efficace de la matière par les enzymes et leur mélange dans un milieu à consistance élevée. La mise en œuvre d'une extrudeuse bi-vis pour assurer cette mise en contact des enzymes avec la matière apparaît dès lors cohérente compte tenu de l'efficacité de cette technologie pour le micromélange de phases liquide et solide à haute consistance.

Après avoir sélectionné et caractérisé les cocktails enzymatiques commerciaux adaptés aux différents coproduits lignocellulosiques prétraités en extrudeuse bi-vis, en collaboration avec les partenaires du projet, nous étudierons leur comportement en conditions d'extrusion bi-vis. L'intégration de l'imprégnation enzymatique de la matière en continu dans une extrudeuse bi-vis nous permettra de proposer un nouveau procédé pour la saccharification des coproduits lignocellulosiques combinant le fractionnement thermo-mécano-chimique de prétraitement à une étape de fractionnement enzymatique, dite de « bioextrusion ».

IV.1 Sélection et mise en œuvre des cocktails enzymatiques

Dans la perspective du transfert industriel du procédé et compte tenu de la disponibilité nécessaire aux essais réalisés en conditions d'extrusion pilote, seuls des cocktails enzymatiques commerciaux ont été retenus pour cette phase de l'étude. Ce sont des mélanges de cellulases et d'hémicellulases, optimisés pour dégrader au mieux les matrices lignocellulosiques. Différents types de cellulases et d'hémicellulases y sont présentes mais leurs proportions sont mal connues car les fournisseurs ne communiquent pas sur leur composition. Les cocktails sélectionnés ont cependant été caractérisés par le VTT pour décrire et mieux comprendre leurs actions et les limites des conditions de leur mise en œuvre ont été étudiées.

IV.1.1 Caractérisation et étude de l'efficacité des cocktails enzymatiques

Plusieurs cocktails ont été sélectionnés chez différents fournisseurs : Cellic Ctec2, Cellic Htec, Viscozymes, Celluclast 1.5L et Novozym 188 de Novozymes, et Advanced enzymes de Advanced Enzymes India. Parmi eux Cellic Ctec2 et Advanced enzymes sont des cocktails cellulolytiques et hémicellulolytiques, tandis que Cellic Htec et Viscozymes sont plus à vocation hémicellulolytique. Novozym 188 quant à lui est plutôt un cocktail à activité cellobiasique (Tableau IV-1).

Tableau IV-1: Caractéristiques et activités des cocktails enzymatiques commerciaux mesurés par le VTT

Nom	Fournisseur	[PROT] (mg.ml ⁻¹) ₁	FPU (FPU.ml ⁻¹) ₂	EG (nkat.ml ⁻¹) ₂	XYL (nkat.ml ⁻¹) ₃	β-GLU (nkat.ml ⁻¹) ₄
Cellic Ctec2	Novozymes	183	124.5	35 605	12 672	19 335
Cellic Htec	Novozymes	36	0.1	36	98 580	15
Viscozyme	Novozymes	104.5	-	-	-	-
Advanced enzymes 1%	Advanced Enzymes India	8.5	5.3	1 940	16 900	313
Celluclast 1.5L	Novozymes	116	49	17 500	-	430
Novozym 188	Novozymes	104	0	736	2 970	5 910

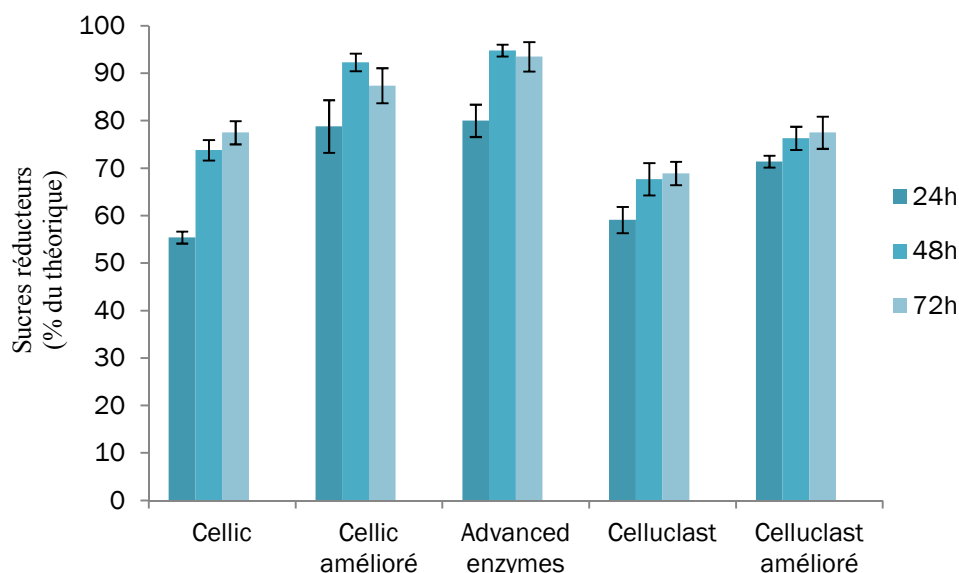
¹: Concentrations protéiques ([PROT]) mesurées par dosage Bradford Bio-Rad DC protein ; ²: Activités cellulase (FPU) et endoglucanase (EG) (Ghose, 1987) ; ³: Activité xylanase (XYL) (Bailey et al., 1992) ; ⁴: Activité β-glucosidase (β-GLU) (Bailey and Nevalainen, 1981)

Observant que certains cocktails sont plus spécialisés dans certaines activités (Tableau IV-) et pour palier leurs faiblesses, certains d'entre eux ont été mélangés avec d'autres dont les qualités principales sont complémentaires dans l'optique d'obtenir des mélanges les plus performants possible. Ainsi le cocktail Cellic Ctec2 s'est donc vu mélangé avec du Cellic Htec pour améliorer son activité hémicellulolytique, et le Celluclast 1.5L avec le Novozym 188 pour palier sa lacune en activité β-glucosidase. Advanced enzyme n'a pas été combiné avec d'autres du fait de son profil d'activité (Tableau IV-2).

Tableau IV-2: Cocktails enzymatiques commerciaux sélectionnés

Nom	Enzymes	Proportions
Cellic amélioré	Cellic Ctec2, Cellic Htec	90% + 10%
Celluclast amélioré	Celluclast 1.5L, Novozym 188	90% + 10%
Advanced enzymes	Advanced enzymes	100%

L'efficacité de ces cocktails, a été comparée par le VTT sur la bagasse d'agave prétraitée en extrusion bi-vis (Extrudeuse BC45, 120rpm, NaOH/MS : 35%, T : 50°C, L/S : 1,2) (Figure IV-1).

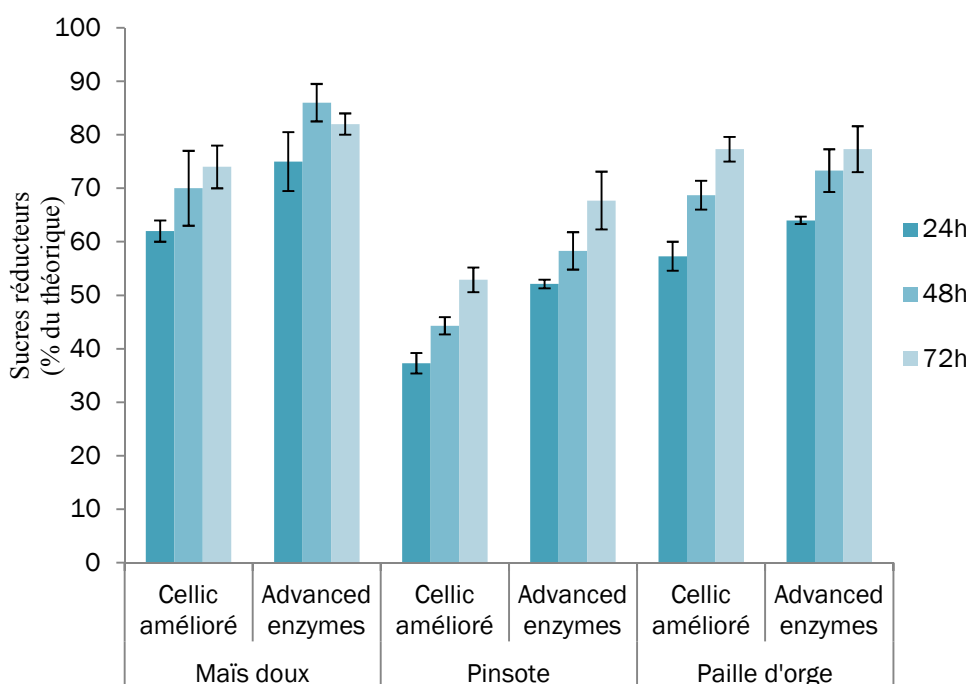


Conditions opératoires : Substrat : bagasse d'agave prétraitée et neutralisée, consistance : 1%, dosage enzymatique : 10mg.g⁻¹, température : 45°C, tampon citrate de sodium 50mM, pH : 5

Figure IV-1: Efficacité hydrolytique des différents cocktails enzymatiques

Ces cocktails enzymatiques, comportant des enzymes à activité hemicellulolytique, les rendements en sucres libérés sont exprimés en pourcentage de sucres réducteurs totaux libérés par rapport au total des sucres réducteurs théoriquement présents avant hydrolyse.

Les rendements en sucres libérés sont supérieurs à 70% pour l'ensemble des cocktails, mais les plus performants sont l'Advanced enzyme et le Cellic amélioré qui permettent d'atteindre les plus hauts rendements en sucres réducteurs dès 48h. Leur efficacité a aussi été confirmée avec le coproduit de maïs doux, le Pinzote et la paille d'orge prétraités (Figure IV-2).



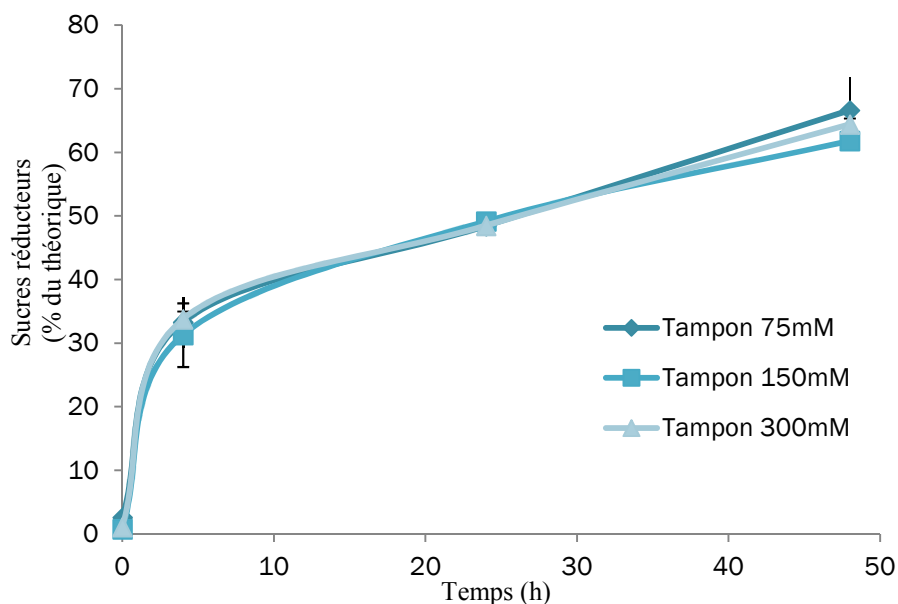
Conditions opératoires : Substrats : maïs doux, Pinsote et paille d'orge prétraités (T° : 50°C; NaOH/MS : 15%, 11% et 5% respectivement), consistance : 1%, dosage enzymatique : 10mg.g⁻¹, température : 45°C, tampon citrate de sodium 50mM (maïs doux et Pinsote), 200mM (paille d'orge), pH : 5

Figure IV-2: Comparaison de l'efficacité hydrolytique des deux cocktails enzymatiques Cellic amélioré et Advanced enzyme sélectionnés sur différents substrats

IV.1.2 Conditions de mise en œuvre des cocktails enzymatiques

Dans la perspective de mise en œuvre des enzymes dans une extrudeuse bi-vis pour l'imprégnation des coproduits lignocellulosiques prétraités, plusieurs contraintes de conditions opératoires doivent être respectées pour la préservation de leurs activités (paragraphe I-5).

a- Le pH du milieu et sa force ionique sont deux facteurs déterminants pour l'activité enzymatique, en particulier par leur effet sur la configuration des protéines. Dans des réacteurs d'hydrolyse enzymatique, le milieu est systématiquement tamponné au pH optimum de fonctionnement des enzymes (5 à 5,5 pour nos cocktails enzymatiques selon les fournisseurs (Novozymes et Advanced Enzymes India)). La comparaison des cinétiques d'hydrolyse enzymatique du coproduit de maïs doux prétraité en extrudeuse bi-vis avec Advanced enzymes pour des concentrations croissantes en tampon citrate de sodium montre le peu d'influence de la force ionique sur l'efficacité de ce cocktail enzymatique (Figure IV-3).

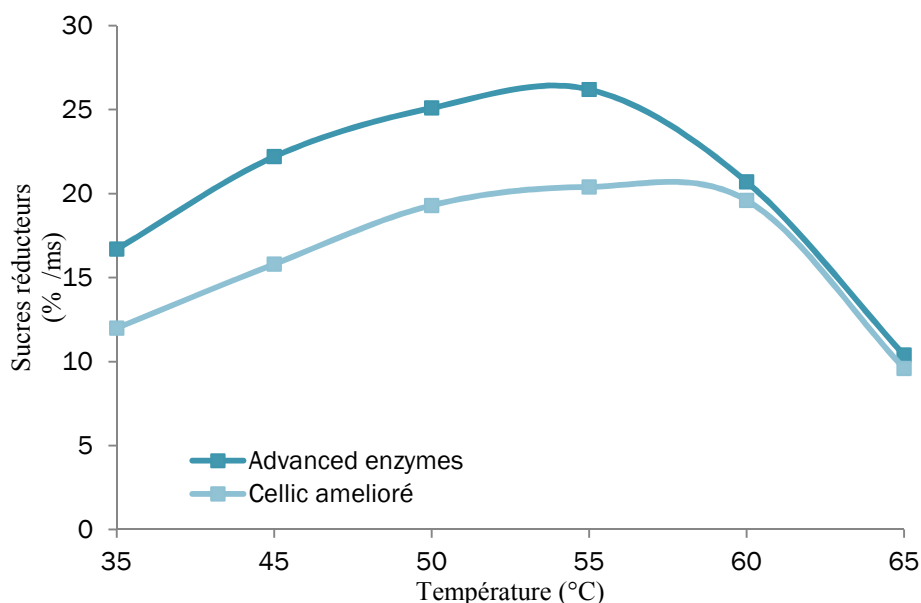


Conditions opératoires : Substrat : résidu maïs doux prétraité et neutralisé (T° : 100°C, NaOH/MS : 9.4%), dosage enzymatique : 10mg.g⁻¹, cocktail : Advanced enzymes, consistance 1%, température : 50°C, tampon citrate de sodium, pH : 5

Figure IV-3: Effet de la force ionique du tampon sur l'efficacité hydrolytique

Lors du prétraitement des coproduits lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis, l'injection de la solution d'acide phosphorique permet d'ajuster le pH du milieu et la séparation liquide/solide élimine une grande part de la charge en sel des extrudats. Les enzymes pourront être introduites après ce prétraitement, en solution dans un milieu tamponné, et la force ionique du tampon peut être adaptée en vue de palier d'éventuelles variations du pH, sans perturber le déroulement de l'hydrolyse enzymatique.

b- La température est aussi un facteur déterminant de l'efficacité des enzymes (paragraphe I-5). La comparaison des rendements en sucres réducteurs obtenus au bout d'une heure de mise en contact de la bagasse d'agave prétraitée avec les cocktails enzymatiques sélectionnés (Figure IV-4) montre que leur température optimale d'activité est située entre 50 et 55°C.



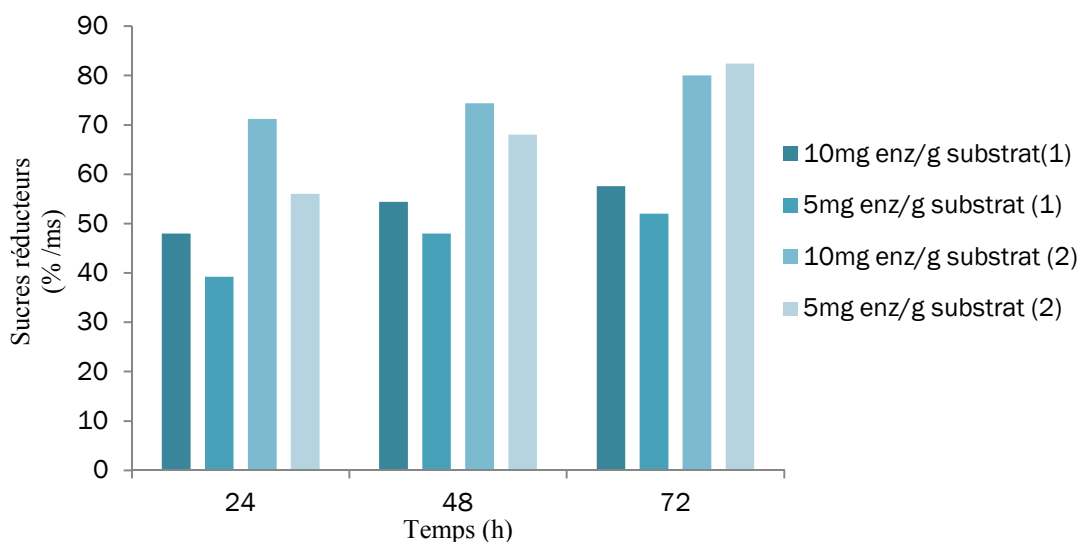
Conditions opératoires : substrat : bagasse d'agave prétraitée et neutralisée, consistance : 1%, dosage enzymatique : 10mg.g⁻¹, tampon citrate de sodium 100mM, pH : 5, durée d'hydrolyse : 1h

Figure IV-4: Efficacité des cocktails enzymatiques en fonction de la température

Lors de l'imprégnation des enzymes dans l'extrudeuse bi-vis, la température devra être contrôlée, en particulier dans le cas d'auto-échauffement de la matière lié aux contraintes mécaniques imposées à la matière dans les éléments restrictifs du profil de vis. Lors du prétraitement en extrudeuse bi-vis, l'injection de la solution de neutralisation du milieu permet de contrôler très rapidement la température du mélange. Les extrudats peuvent être obtenus à des températures proches de 50°C.

Deux autres facteurs doivent être définis pour l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis :

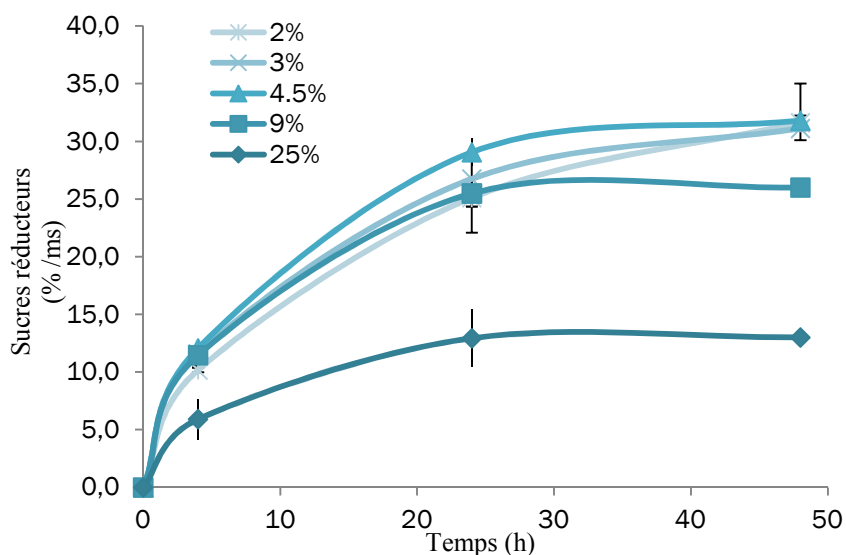
- La quantité d'enzymes par rapport au substrat. La comparaison des rendements en sucres réducteurs obtenus pour le coproduit de maïs doux prétraité avec deux taux de soude (15 et 79%) montre qu'une diminution du taux d'enzymes tend à abaisser les rendements au bout de 24h d'hydrolyse, mais que les écarts sont moins significatifs au bout de 48 et 72h (Figure IV-5).



Conditions opératoires : Substrats : maïs doux prétraités (T° : 50°C, (1) : 15% NaOH/ms, (2) : 79% NaOH/ms), cocktail enzymatique : Cellic amélioré, température : 45°C, consistance : 1%, pH : 5, tampon citrate de sodium 50mM). Résultats obtenus par le VTT

Figure IV-5: Effet d'une diminution du taux d'enzymes sur le rendement en sucres réducteurs

- La consistance du milieu d'hydrolyse (masse de substrat/ masse de solution diluante) : entre 2 et 10%, l'effet d'une augmentation de la concentration sur le rendement d'hydrolyse apparait faible sur les 24 premières heures de réaction (Figure IV-6). Mais à consistance élevée (25%), l'hydrolyse est nettement ralentie et l'hydrolysabilité pénalisée.



Conditions opératoires : Substrat : résidu maïs doux prétraité et neutralisé (T° : 100°C, NaOH/ms : 9.4%), dosage enzymatique : 10mg g⁻¹, cocktail : Advanced enzymes, température : 50°C, tampon citrate de sodium 300mM, pH : 5

Figure IV-6: Effet de la consistance sur le rendement en sucres réducteurs

Le taux d'enzymes par rapport aux extrudats prétraités et le ratio liquide/solide sont donc deux facteurs qu'il sera nécessaire d'étudier pour l'imprégnation des enzymes sur les coproduits prétraités dans l'extrudeuse bi-vis.

IV.2 Etude de l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis

IV.2.1 Description du dispositif expérimental

L'imprégnation des enzymes sur les extrudats de coproduits prétraités en extrudeuse bi-vis est étudiée avec une extrudeuse bi-vis de type CLEXTRAL BC21 (partie expérimentale n°P.E.4) (Figure IV-7) de plus petite capacité (entre axe : 21mm, diamètre de vis : 24mm, longueur du fourreau : 70cm) mais comportant le même nombre de modules de fourreau (7 modules) que l'extrudeuse bi-vis mise en œuvre pour l'étude du prétraitement.



Figure IV-7: Extrudeuse bi-vis CLEXTRAL BC21

La matière première choisie est un extrudat de coproduit de maïs doux, prétraité en extrudeuse bi-vis BC45 (Tableau IV-3).

Etude de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques prétraités, en extrudeuse bi-vis

Tableau IV-3: Conditions opératoires du prétraitement du coproduit de maïs doux en extrudeuse bi-vis pour la production de l'extrudat de l'étude

Q_s (kgMS.h ⁻¹)	Q_L (kg.h ⁻¹)	L/S (kg.h ⁻¹ /kg.h ⁻¹)	NaOH/MS (%)	H ₃ PO ₄ /MS (%)	Qfil (kgMS.h ⁻¹)	kgMO.h ⁻¹	Qext (kgMS.h ⁻¹)	kgMO.h ⁻¹	I (A)	EMS (W.h.kg ⁻¹)
7,9	73,1	7,6	10,5	11,7	3,0	1,8	6,7	6,2	17	169

Conditions opératoires : Extrudeuse bi-vis BC45 ; Configuration et profil de vis (Figure III-9) ; Vitesse de vis : 110rpm ; Granulométrie du coproduit de maïs doux : 2mm ; Température : 100°C

La composition et l'hydrolysabilité de cet extrudat est donnée dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4: Composition et hydrolysabilité enzymatique du coproduit de maïs doux prétraité

CCMD		
MS	(%)	40,7
MM (a)	(%/MS)	7,3
MO (a)	(%/MS)	92,7
Hydrosolubles à chaud (b)	(%/MS)	31,4
Fibres (c)	(%/MS)	80,0
Cellulose (c)	(%/MS)	46,4
Hémicelluloses (c)	(%/MS)	28,8
Lignines (c)	(%/MS)	4,8
Glucose (d)	(%/MS)	54,4
Xylose (d)	(%/MS)	22,3
Arabinose (d)	(%/MS)	3,0
Galactose (d)	(%/MS)	0,7
Mannose (d)	(%/MS)	0,1
	(%/MS)	35
Hydrolysabilité enzymatique (Advanced enzymes 2,5%)	(%/Glucose potentiel)	42
	(%/Xylose potentiel)	49

(a) Norme NF V 03-322 ; (b) Extraction à l'eau chaude 100°C, 1h, L/S=100, granulométrie 2mm, appareillage Fibertec Tecator M1017 ; (c) Méthode Van Soest et Wines (Van Soest and Wine 1967) ; (d) Hydrolyse acide totale

L'extrudat de coproduit de maïs doux prétraité est introduit dans le premier module de l'extrudeuse BC21 par l'intermédiaire d'un doseur volumétrique à vis (KCL-KT20, K-TRON) et la solution aqueuse d'enzymes (Advanced enzymes), tamponnée (citrate de sodium 300mM, pH 4,8), est injectée dans le second module, définissant ainsi la configuration de l'extrudeuse comme celle d'un contacteur liquide-solide pour l'imprégnation des enzymes (Figure IV-8).

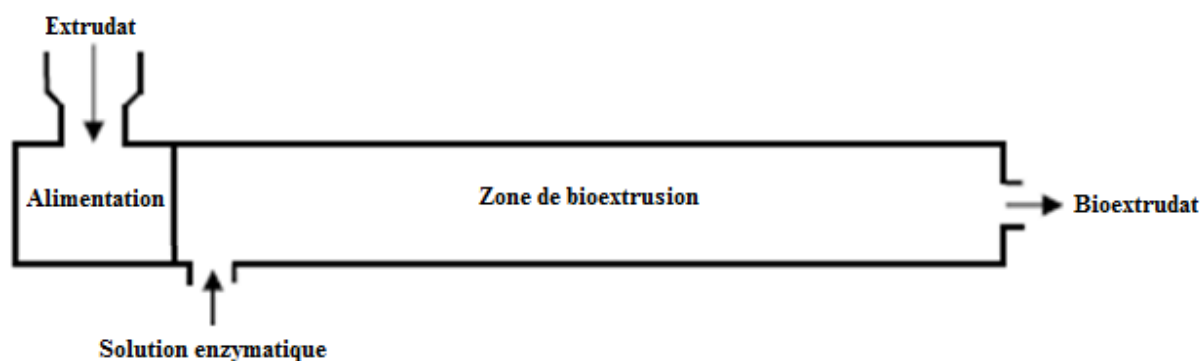


Figure IV-8: Configuration de l'extrudeuse bi-vis BC21 comme contacteur liquide-solide pour l'imprégnation enzymatique des extrudats de coproduits prétraités

Le mélange recueilli en sortie de fourreau est désigné sous le nom de « bioextrudat ». L'activité des enzymes ainsi imprégnées est contrôlée par le suivi de la libération des sucres réducteurs en milieu dilué (consistance : 2,5%) à 50°C (partie expérimentale n°P.E.3.2)

Le profil de vis installé dans l'extrudeuse bi-vis BC21 (Figure IV-9) met en œuvre trois séries de malaxeurs bilobes (BB ou Mal2) dans les modules 3, 5 et 6, respectivement montés avec un angle de 90° (pas d'effet de convoyage) de -45° et de -45° (effet de rétention du mélange), et une série de malaxeurs monolobes (Mal0) montés avec un angle de -45°. Entre ces éléments restrictifs, qui assurent un effet de mélange des phases liquide et solide, les vis de convoyage C2F, à pas décroissant, assurent le transport du mélange.

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion													
	1		2		3		4		5			6			7			
Chauffage			Oui		Oui		Oui		Oui			Oui			Oui			
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	25	25	50	
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	16	-45°	25	33

Figure IV-9: Profil de vis n°1 installé dans l'extrudeuse BC21 pour l'imprégnation des enzymes sur l'extrudat de coproduits prétraités

IV.2.2 Influence du taux d'enzymes et du ratio liquide/solide sur l'imprégnation enzymatique

Les essais préliminaires d'imprégnation de la matière par les enzymes à différents taux par rapport à la matière sèche d'extrudat prétraité introduit (3 à 9g équivalent protéique pour 100g de matière sèche) et des rapports liquide/solide compris entre 3 et 6 (Tableau IV-5) montrent que :

Tableau IV-5: Conditions opératoires de la bioextrusion de coproduits de maïs doux prétraités

Matière	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs
Extrudeuse	BC21	BC21	BC21	BC21	BC21
S _s (rpm)	200	200	200	200	200
Q _m (kg/h)	1,39	1,48	1,48	1,72	1,33
n	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Q _t (kg/h)	2,14	1,19	2,86	2,41	3,77
[ez] (g/kg)	25	25	12,5	6,3	8,3
Q _{ez} (g/h)	53,5	29,8	35,8	15,2	31,3
T° (°C)	19/57/59/55/ 54/54/54	19/54/53/54/5 6/54/55	19/54/53/54/5 6/54/55	19/54/53/54/5 6/54/55	19/54/53/54/5 6/54/55
Q _{ext} (kg/h)	3,57	2,69	4,38	4,15	5,13
ez/ms (%)	9,1	5,1	6,8	2,9	5,7
L/S _{ez}	4	3	4,6	4	5,8
Glu (%/ms)	25,3	25,9	20,1	15,5	22,1
Xyl (%/ms)	11,1	10,5	6,6	4,7	8,2
Hydrolysabilité (%/ms)	36,4	36,5	26,7	20,2	30,3

L/S_{ez}: Liquide/solide bioextrusion ; S_s: Vitesse de vis ; Q_m: Débit entrée matière ; Q_t: Débit entrée solution enzymatique ; Q_{ez}: Débit entrée enzymes ; Q_{ext}: Débit extrudat ; n: Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez]: Concentration solution enzymatique ; ez/ms: Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

1- L'activité des enzymes n'est pas atteinte par le traitement d'extrusion bi-vis, dès lors que la température du fourreau reste contrôlée, inférieure à 60°C et que la contrainte mécanique reste faible (pas d'élévation significative du couple). Par comparaison, le rendement d'hydrolyse enzymatique, atteint pour un extrudat de maïs doux directement introduit dans le réacteur d'hydrolyse à 2,5% de consistance et pour un taux d'enzymes de 5%, est pratiquement le même que celui obtenu pour le bioextrudat imprégné à 5,1% de taux d'enzymes dans l'extrudeuse bi-vis (Figure IV-10).

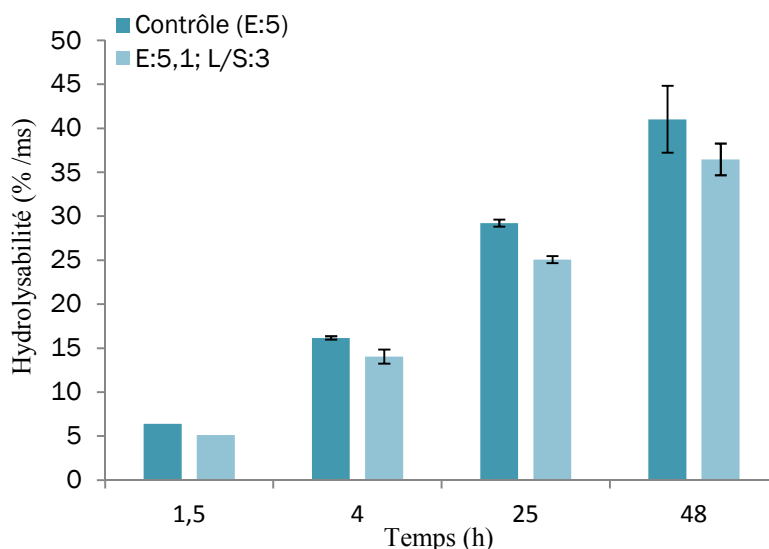


Figure IV-10: Comparaison de l'hydrolysabilité du coproduit de maïs doux prétraité directement hydrolysé et après imprégnation enzymatique en extrudeuse bi-vis pour un taux d'enzyme de 5%

2- Si à ratio liquide/solide équivalent, l'augmentation du taux d'enzymes favorise le rendement en sucres hydrolysés des bioextrudats, le ratio liquide/solide a aussi un effet significatif : le rendement en sucres hydrolysés pour un taux d'enzymes de 5,1% avec un ratio de 3 lors de l'imprégnation en extrudeuse bi-vis est le même que celui obtenu pour un taux d'enzymes de 9,1% et un ratio liquide/solide de 4 (Figure IV-11).

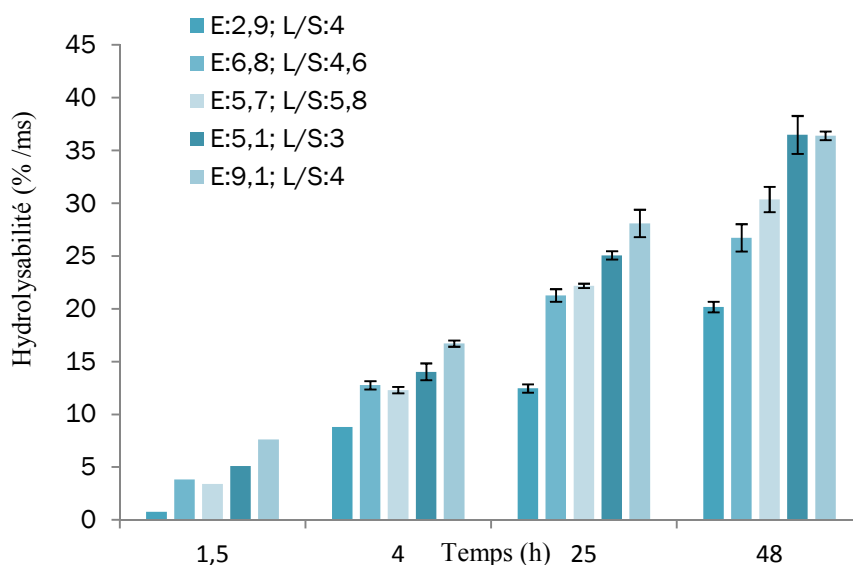


Figure IV-11: Hydrolysabilité des bioextrudats de coproduits de maïs doux prétraités en fonction du taux d'enzymes et du ratio liquide/solide de l'imprégnation

Il apparaît que la diminution de ratio liquide/solide dans l'extrudeuse bi-vis favorise l'imprégnation des enzymes dans l'extrudat prétraité. Ce résultat pourrait être lié à la plus forte concentration en enzymes dans la solution d'imprégnation et à une adsorption plus efficace dans la phase solide : avec un rapport liquide/solide de 3, la consistance du mélange est de 25% et une grande partie du liquide est absorbée par le solide.

A faible ratio liquide/solide, inférieur à 3, l'imprégnation en extrudeuse bi-vis s'avère très efficace, et le rendement de libération des sucres lors de l'hydrolyse enzymatique menée en milieu dilué (consistance de 2,5%) est amélioré (Tableau IV-6).

Tableau IV-6: Conditions opératoires à faible ratio liquide/solide de la bioextrusion de coproduits de maïs doux prétraités

Matière	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs
Extrudeuse	BC21	BC21	BC21	BC21
S _s (rpm)	200	200	200	200
Q _m (kg/h)	3,95	3,66	3,39	3,31
n	0,02	0,02	0,02	0,02
Q _t (kg/h)	1,48	2,58	2,56	2,12
[ez] (g/kg)	50	50	25	12,5
Q _{ez} (g/h)	74,0	129,0	64,0	26,5
T° (°C) (consignes)	22/50/50/50/50/5 0/50	22/50/50/50/50/5 0/50	22/50/50/50/50/5 0/50	22/50/50/50/50/5 0/50
T° (°C) (mesures)	21/54/54/50/50/4 9/49	21/54/54/50/50/4 9/49	20/41/49/48/50/4 9/49	21/38/48/50/50/4 9/49
Q _{ext} (kg/h)	5,5	6,38	6,01	5,46
ez/ms (%)	4,5	9	4,5	2,3
L/S _{ez}	2,2	2,7	2,9	2,7
Glu (%/ms)	26,5	28,8	24,5	19,8
Xyl (%/ms)	11,8	13,2	10,5	7,9
Hydrolysabilité (%/ms)	38,3	42	35	27,7

L/S_{ez}: Liquide/solide bioextrusion ; S_s : Vitesse de vis ; Q_m : Débit entrée matière ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Pour un taux d'imprégnation d'enzymes élevé (9%), le maximum de rendement est atteint en 24h, et près de 20% de sucres par rapport à la matière sèche sont déjà libérés au bout de 4h d'hydrolyse du bioextrudat (Figure IV-12).

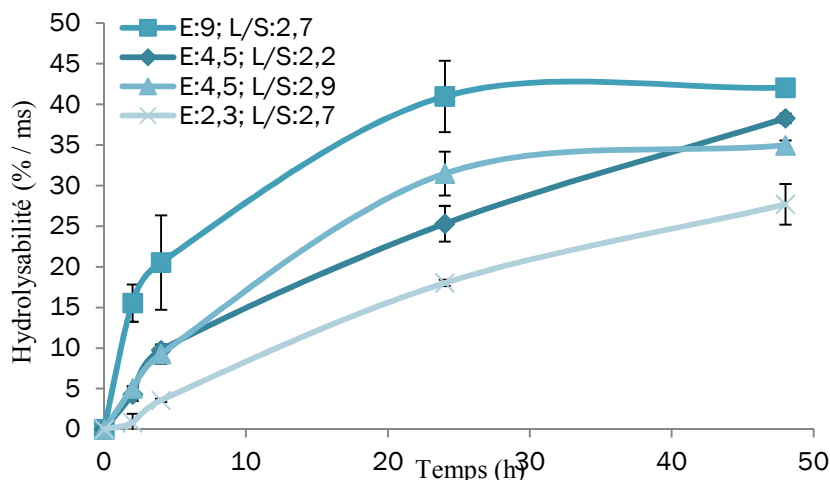


Figure IV-12: Cinétique d'hydrolyse enzymatique de bioextrudats traités à faible ratio liquide/solide

Mais une diminution du ratio liquide/solide (2,2) permet là aussi d'atteindre un rendement en sucres équivalent au bout de 48h avec un taux d'enzymes deux fois plus faible (4,5%). Par contre la cinétique de l'hydrolyse enzymatique est plus lente. L'intensification du mélange à haute consistance dans l'extrudeuse bi-vis pourrait permettre d'améliorer ce résultat.

IV.2.3 Intensification du mélange lors de l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis

L'intensification du mélange peut être obtenue directement par la substitution des éléments restrictifs monolobes dans le 7^{ème} module de l'extrudeuse, par des contrefilets (Figure IV-13).

N° 1

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion												
	1		2		3		4		5			6			7		
Chauffage			Oui		Oui		Oui		Oui			Oui			Oui		
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	Mal0	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	25	25	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	16	-45°	33

N° 2

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion												
	1		2		3		4		5			6			7		
Température			Oui		Oui		Oui		Oui			Oui			Oui		
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	25	25	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	16	-16	33

Etude de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques prétraités, en extrudeuse bi-vis

N° 3

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion												
	1		2		3		4		5			6			7		
Température			Oui		Oui		Oui		Oui			Oui			Oui		
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	25	25	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	16	-33	33

N° 4

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion												
	1		2		3		4		5			6			7		
Température			Oui		Oui		Oui		Oui			Oui			Oui		
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	25	50	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	16	-33	33

Figure IV-13: Profils de vis installés dans l'extrudeuse BC21 pour intensifier l'effet de mélange lors de l'imprégnation enzymatique

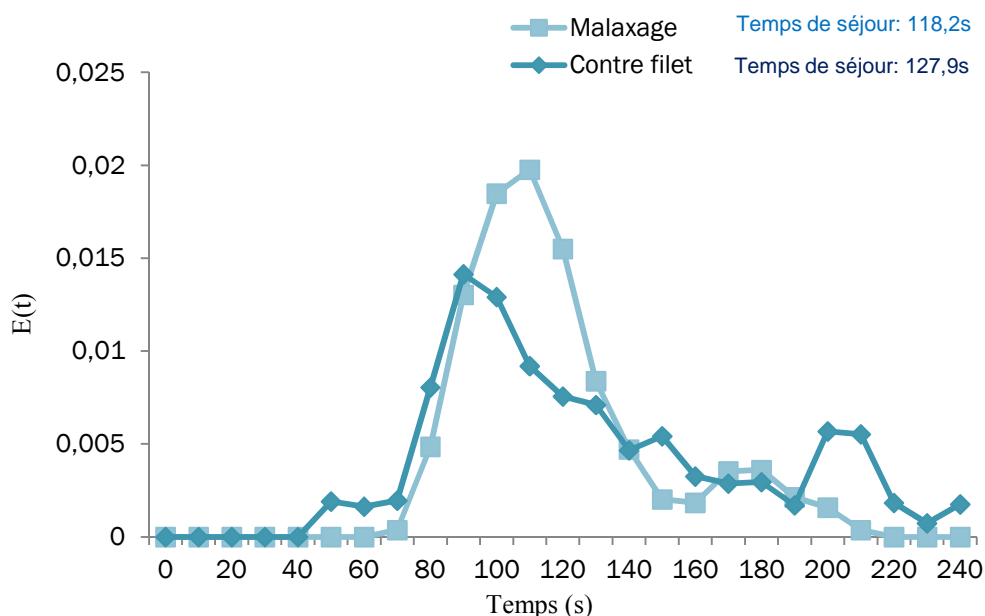
La longueur et le pas de ces contrefilets s'avèrent déterminants pour obtenir un bouchon dynamique stable dans lequel le mélange sous cisaillement sera plus important : la diminution de la longueur de contrefilet CF2C de pas -33 (50mm à 25mm) n'a pas permis d'atteindre ce régime de fonctionnement stable (Tableau IV-7). Par contre, avec un contrefilet de pas plus faible (CF2C -16) et court (25mm), le régime de fonctionnement se stabilise.

Tableau IV-7: Conditions opératoires et effets sur la bioextrusion des profils de vis lors de l'intensification du mélange en extrudeuse bi-vis BC21

Matière	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs
Extrudeuse	BC21	BC21	BC21	BC21
Profil	1	4	3	2
S _s (rpm)	200	280	280	200
Q _m (kg/h)	3,79	3,5	3,5	3,32
n	0,02	0,01	0,01	0,02
Q _t (kg/h)	1,73	1,75	1,75	1,75
[ez] (g/kg)	25	25	25	25
Q _{ez} (g/h)	43,3	43,8	43,8	43,8
T° (°C)	50	50	50	50
Q _{ext} (kg/h)	5,57	-	-	5,12
ez/ms (%)	2,7	3	3	3
L/S _{ez}	2,4	2,5	2,5	2,5
Elément de contrainte	Mal 0 (-45° ; 5x5)	CF2C -33 (50)	CF2C -33 (25)	CF2C -16 (25)
Remarques		Régime instable Rupture bouchon	Régime instable Rupture bouchon	

L/S_{ez}: Liquide/solide bioextrusion ; S_s: Vitesse de vis ; Q_m: Débit entrée matière ; Q_t: Débit entrée solution enzymatique ; Q_{ez}: Débit entrée enzymes ; Q_{ext}: Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

La détermination de la distribution des temps de séjour de la matière dans le fourreau de l'extrudeuse pour ces deux profils de vis (partie expérimentale n°P.E.4.3) montre que la substitution des éléments malaxeurs par les contrefilets provoque une plus forte dispersion axiale avec établissement de la distribution des temps de séjour (Figure IV-14). La matière séjourne plus longtemps sous un plus fort cisaillement dans les contrefilets. Cependant, le temps moyen de séjour dans l'extrudeuse reste très voisin pour les deux profils (118s avec les Mal0 et 128s avec les contrefilets).



Conditions opératoires : voir Tableau IV-7

Figure IV-14: Distribution du temps de séjour de la matière dans l'extrudeuse bi-vis BC21 pour les profils de vis n°1 et n°2

La comparaison des rendements en sucres libérés par hydrolyse enzymatique à faible consistance (2,5%) ne révèle pas de différence significative au bout de 48h (Figure IV-15). Tout au plus, l'hydrolyse est effectivement légèrement accélérée sur les premières heures. Ce résultat montre cependant que la mise en œuvre d'un élément restrictif plus cisailant comme le sont les contrefilets ne provoque pas de désactivation significative des enzymes. Mais l'augmentation du temps de séjour du mélange dans l'extrudeuse bi-vis est sans doute trop faible pour permettre une accélération significative de l'hydrolyse enzymatique à faible consistance.

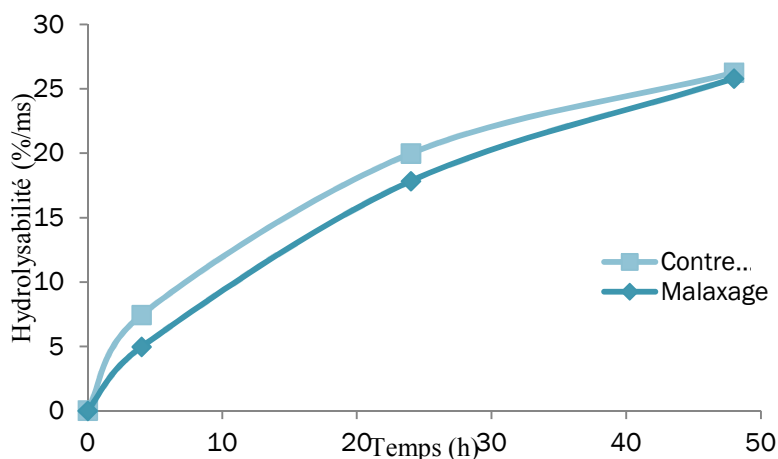


Figure IV-15: Cinétique d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats obtenus pour les profils de vis n°1 et n°2

IV.2.4 Augmentation du temps de séjour dans l'extrudeuse bi-vis pour l'imprégnation des enzymes

Le temps de séjour de la matière dans l'extrudeuse bi-vis BC21 pour l'imprégnation des enzymes est de l'ordre de 2 minutes en moyenne et moins de 4 minutes au maximum, ce qui est très faible au regard des durées nécessaires pour un avancement significatif de l'hydrolyse enzymatique pour la libération des monosaccharides. L'augmentation du temps de contact dans l'extrudeuse peut être simulée par recirculation du bioextrudat dans l'extrudeuse BC21, avec la même configuration et le même profil de vis que pour le premier passage (Figure IV-16), mais sans ajout supplémentaire de solution enzymatique : tout se passe comme si la longueur du contacteur est multipliée par le nombre de passage dans l'extrudeuse.

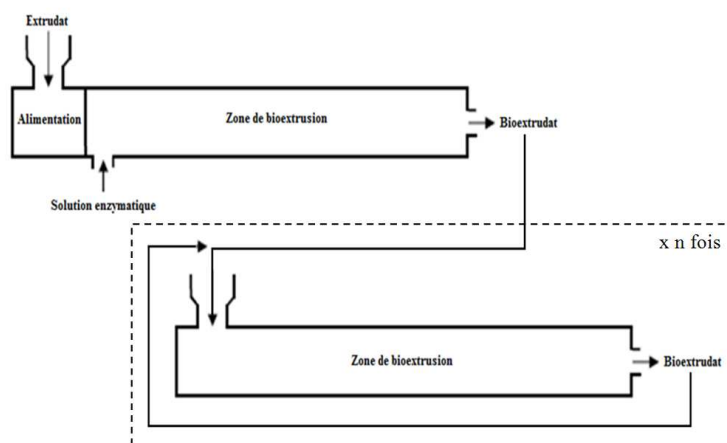


Figure IV-16: Schéma de la recirculation du bioextrudat en extrudeuse bi-vis BC21

Les essais sont menés avec le profil n°1 précédemment mis en œuvre (Figure IV-9), et le bioextrudat produit sur une séquence de 11 minutes est réintroduit dans l'extrudeuse pour une nouvelle séquence de traitement. Le débit de réintroduction est contrôlé manuellement du fait du caractère déstructuré et pâteux des bioextrudats.

A l'issue du premier passage dans l'extrudeuse BC21, avec un taux d'enzymes de 5,2% et un ratio liquide/solide de 2,9 (Tableau IV-8), le bioextrudat est retraité six fois.

Tableau IV-8: Conditions opératoires de la bioextrusion du coproduit de maïs doux prétraité pour l'étude du multipassage en extrudeuse bi-vis

Matière	Maïs
Extrudeuse	BC21
S _s (rpm)	200
Q _m (kg/h)	3,38
n	0,02
Q _t (kg/h)	2,61
[ez] (g/kg)	25
Q _{ez} (g/h)	65,3
T° (°C) (consignes)	22/50/50/50/50/50/50
T° (°C) (mesures)	20/41/49/48/50/49/49
Q _{ext} (kg/h)	6,07
ez/ms (%)	5,2
L/S _{ez}	2,9
Glu (%/ms)	19,1
Xyl (%/ms)	4,9
Hydrolysabilité (%/ms)	24

L/S_{ez}: Liquide/solide bioextrusion ; S_s: Vitesse de vis ; Q_m: Débit entrée matière ; Q_t: Débit entrée solution enzymatique ; Q_{ez}: Débit entrée enzymes ; Q_{ext}: Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Au fur et à mesure des passages successifs dans l'extrudeuse, la matière est de plus en plus travaillée et devient collante (Figure IV-17).

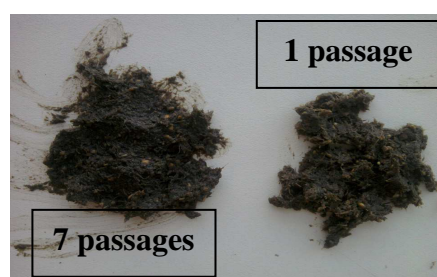
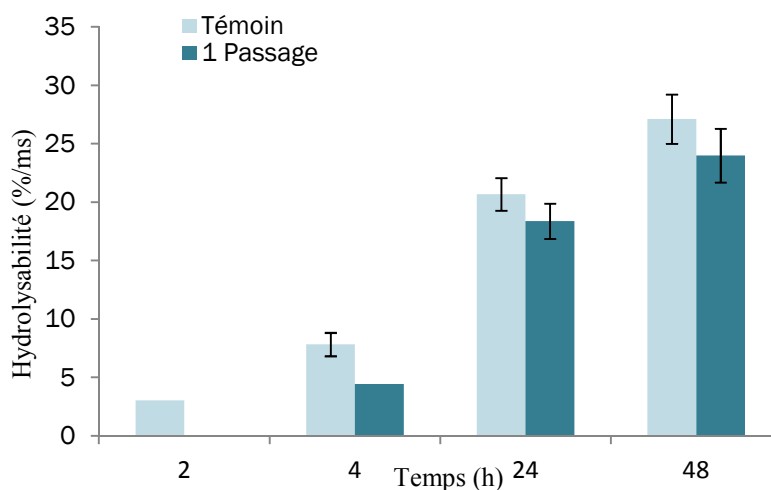


Figure IV-17: Bioextrudats simple et multipassé

Sa consistance pâteuse est de moins en moins texturée, elle se liquéfie progressivement, devenant de plus en plus difficile à introduire dans l'extrudeuse pour un nouveau passage. Cette observation tend à prouver qu'un effet destructurant des fibres est bien en œuvre dans l'extrudeuse d'imprégnation des enzymes.

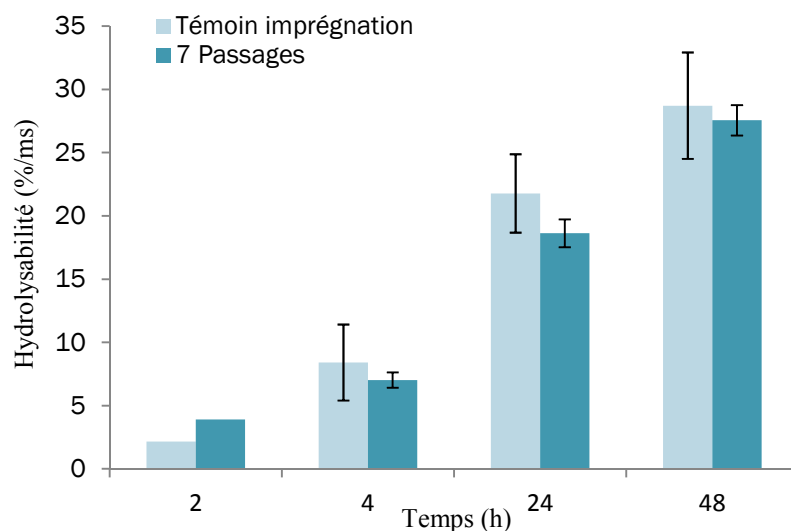
La comparaison des rendements d'hydrolyse enzymatique, obtenus pour le bioextrudat à l'issue du premier passage, après dilution du milieu jusqu'à une consistance de 2,5%, avec ceux obtenus pour l'extrudat prétraité directement placé dans les conditions d'hydrolyse enzymatique à 2,5% de consistance et un même taux d'enzymes (5,2%), confirme que le traitement d'imprégnation en extrudeuse bi-vis avec une consistance de 25% ne désactive pas les enzymes (Figure IV-18). La légère différence de rendement observée apparaît peu significative, et pourrait être liée aux incertitudes sur le taux d'enzymes introduit dans l'extrudeuse bi-vis.



Conditions opératoires : Hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 2,5%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 5,2%/ms

Figure IV-18: Cinétique d'hydrolyse enzymatique de la bioextrusion simple passage

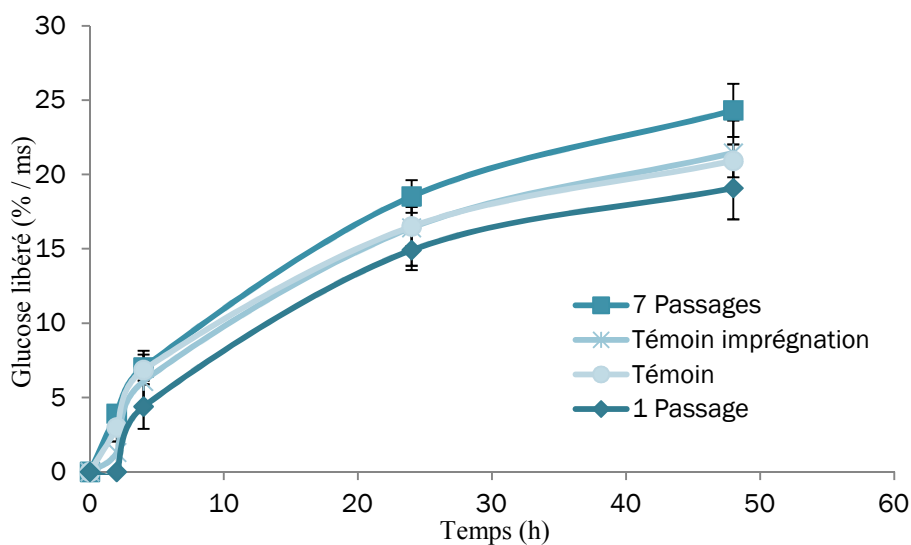
Il en est de même lorsque l'on compare les rendements d'hydrolyse enzymatique obtenus pour le bioextrudat après 7 passages (temps de séjour dans l'extrudeuse bi-vis estimé à 15 minutes) avec ceux obtenus pour l'extrudat prétraité, mis en contact directement sans passage dans l'extrudeuse avec 5,2% d'enzymes à 25% de consistance pendant 70min à 50°C, puis dilué à 2,5% de consistance pour l'hydrolyse enzymatique (Figure IV-19). Le multipassage d'imprégnation dans l'extrudeuse bi-vis ne semble pas désactiver le cocktail enzymatique, tendant même à augmenter légèrement le rendement en sucres totaux libérés au bout de 48h d'hydrolyse, par rapport au premier passage.



Conditions opératoires : Imprégnation : Advanced enzymes, 5,2%/ms, consistance 25%, 70min, T : 50°C; Hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 2,5%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 5,2%/ms

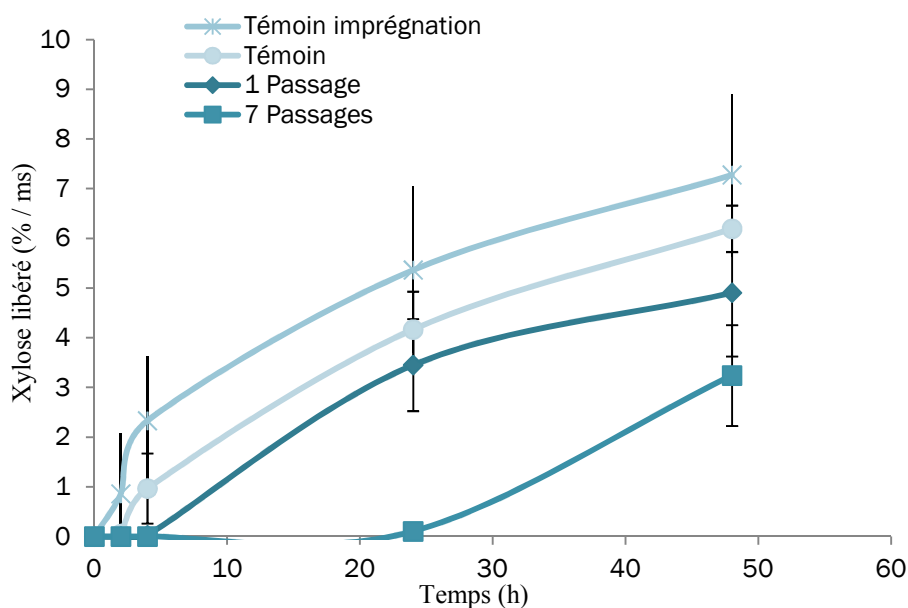
Figure IV-19: Cinétique d'hydrolyse enzymatique de la bioextrusion multipassage (7 passages)

Cette conclusion doit être cependant modulée si l'on compare l'évolution des rendements d'hydrolyse enzymatique en glucose et en xylose libérés, traduisant les activités des enzymes cellulolytiques et hémicellulolytiques (Figure IV-20 et Figure IV-21).



Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 2,5%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 5,2%/ms

Figure IV-20: Cinétique de libération du glucose suite à la bioextrusion et au multipassage correspondant



Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 2,5%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 5,2%/ms

Figure IV-21: Cinétique de libération du xylose suite à la bioextrusion et au multipassage correspondant

Si l'activité des enzymes cellulolytiques (endo et exoglucanases et β -glucosidases), ne semble pas du tout modifiée par les traitements successifs en extrudeuse, voire même conduit à des rendements en glucose plus élevés pour un temps de séjour plus important (7 passages d'imprégnation) dans l'extrudeuse, il n'en est pas de même pour les activités des enzymes hémicellulolytiques. A l'issue du 7^{ème} passage dans l'extrudeuse bi-vis BC21, la libération du xylose est nettement retardée lors de l'hydrolyse, et les rendements sont plus faibles.

En conclusion, l'imprégnation des enzymes sur l'extrudat prétraité de coproduit de maïs doux peut être réalisée à haute consistance du mélange (25%) sans perte significative de l'activité des enzymes cellulolytiques. L'étape d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats menée en conditions diluées avec 5% de taux d'enzymes permet alors d'atteindre des rendements de 25% en glucose par rapport à la matière sèche du bioextrudat, soit 46% par rapport au glucose contenu dans l'extrudat prétraité. L'augmentation du taux d'enzymes imprégnées, et dans une moindre mesure des temps de séjour dans l'extrudeuse, permet d'améliorer ce résultat. Mais, bien que comme dans le cas du prétraitement alcalin des coproduits, les sucres libérés apparaissent plus tôt lors de l'hydrolyse enzymatique en conditions diluées (10% de sucres libérés au bout de 4h et 75% du maximum de glucose libéré au bout de 24h), l'effet destructurant exercé sur les bioextrudats n'est pas réellement observable sur la cinétique de libération des monosaccharides. Par contre l'analyse de l'évolution des bioextrudats va nous permettre de préciser la nature des transformations réalisées lors de l'imprégnation des enzymes dans l'extrudeuse bi-vis.

IV.2.5 Nature des transformations de la matière lignocellulosique en extrudeuse bi-vis lors de l'imprégnation des enzymes

Les bioextrudats analysés sont produits à partir de l'extrudat de coproduit de maïs doux prétraité (Tableau IV-3 et Tableau IV-4), dans les conditions d'imprégnations du cocktail enzymatique Advanced enzymes en extrudeuse bi-vis BC21 équipée du profil de vis n°1 (Figure IV-9), rapportées dans le Tableau IV-9.

Tableau IV-9: Conditions de bioextrusion des coproduits de maïs doux prétraités pour l'étude de l'évolution de la matière

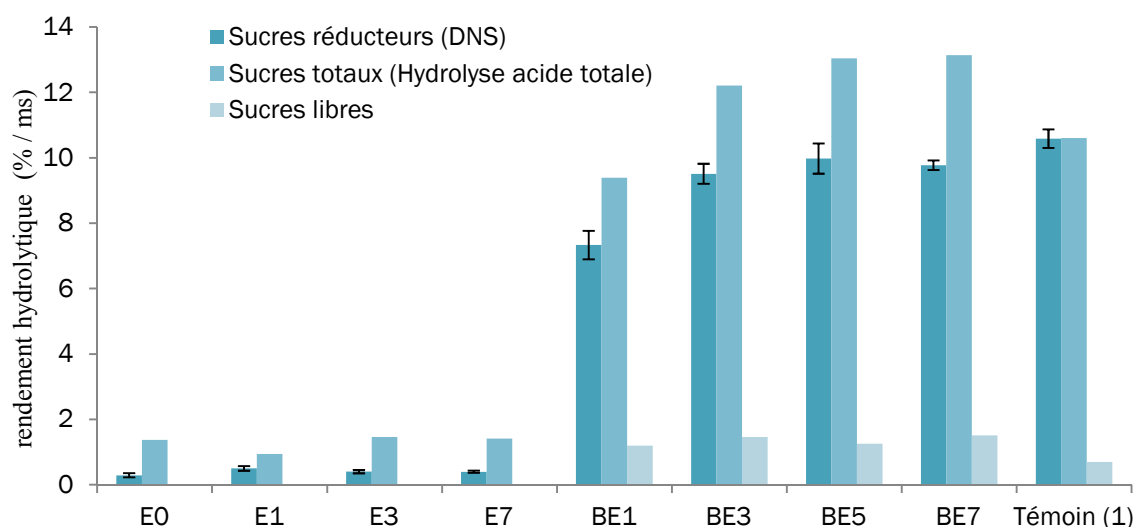
Matière	Maïs
Extrudeuse	BC21
S _s (rpm)	200
Q _m (kg/h)	3,46
n	0,02
Q _t (kg/h)	1,78
[ez] (g/kg)	25
Q _{ez} (g/h)	44,5
T° (°C) (consignes)	22/45/45/45/45/45/45
T° (°C)	22/24/30/34/41/44/44
Q _{ext} (kg/h)	5,29
ez/ms (%)	2,9
L/S _{ez}	2,5

L/S_{ez}: Liquide/solide bioextrusion ; S_s: Vitesse de vis ; Q_m: Débit entrée matière ; Q_t: Débit entrée solution enzymatique ; Q_{ez}: Débit entrée enzymes ; Q_{ext}: Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Le taux d'imprégnation des enzymes est diminué à 2,9%, avec un ratio liquide/solide minimisé à 2,5. Pour limiter les risques liés à un auto-échauffement du mélange à une telle consistance (29%), la température de consigne des modules de l'extrudeuse BC21 est diminuée (< 45°C). Le passage en extrudeuse bi-vis est répété 6 fois. Les bioextrudats obtenus pour chaque passage sont dilués dans l'eau (L/S=20), pressés et filtrés pour en extraire un filtrat qui est analysé (partie expérimentale n°P.E.4.6). Pour comparaison de l'effet thermomécanique exercé dans l'extrudeuse, le coproduit de maïs doux prétraité est traité dans l'extrudeuse BC21 en l'absence d'enzyme ajoutée, mais avec le même ratio liquide/solide d'eau injectée.

IV.2.5.1 Solubilisation et extraction des sucres

Le dosage par HPLIC des sucres libres et des sucres libérés par hydrolyse acide (partie expérimentale n°P.E.2.7) dans les filtrats obtenus (Figure IV-22) met en évidence les points suivants :



Conditions opératoires : Voir Tableau IV-9 ; (1) : Témoin en réacteur agité, Advanced enzymes, 2,9%/ms, consistance 30%, 70min, T : 50°C ; (E) : extrusion sans enzymes ; (BE) : bioextrusion ; 0-7 : nombre de passage

Figure IV-22: Dosage des sucres extraits au cours du multipassage d'extrusion et de bioextrusion du coproduit de maïs doux prétraité

Les témoins issus de l'extrusion sans enzyme ne contiennent que très peu de sucres quel que soit le nombre de passages. L'effet thermomécanique généré par l'extrusion dans ces conditions opératoires n'agit donc pas sur la libération de sucres, que ce soit sous forme libre ou polysaccharidique.

Lors de la bioextrusion, des sucres libres apparaissent, ce qui signifie que les enzymes sont bien actives dans l'extrudeuse et que des monosaccharides sont libérés (1 à 2% de la MS introduite). Le dosage des sucres réducteurs et des sucres totaux dans les filtrats des bioextrudats révèle la présence de sucres sous forme oligo ou polysaccharidiques libérés par les enzymes dans l'extrudeuse bi-vis. Leur proportion augmente avec le nombre de passages dans l'extrudeuse BC21. La différence de proportion entre sucres réducteurs et sucres totaux provient de la différence de méthode de dosage : la méthode au DNS dose uniquement les extrémités réductrices des mono, oligo et polysaccharides, alors que la méthode par hydrolyse acide dose tous les monosaccharides constitutifs de ces sucres. Par comparaison avec un témoin obtenu par lavage et filtration du coproduit de maïs doux prétraité mis en contact avec

les enzymes en réacteur agité dans les mêmes conditions opératoires (T : 50°C, taux d'enzymes : 2,9%, L/S : 2,5, 70 minutes), le taux de sucres réducteurs extraits est équivalent lors de la bioextrusion, mais la proportion de sucres totaux est plus élevée. Elle augmente avec le nombre de passage pour atteindre 12%. Ce qui confirme que l'hydrolyse enzymatique débute bien dans l'extrudeuse bi-vis BC21 d'imprégnation des enzymes et se poursuit par libération de sucres sous forme polymère au cours des passages successifs.

L'analyse par chromatographie ionique sur colonne Dionex CarboPac PA200 confirme la présence de polysaccharides libérés pendant la bioextrusion (Figure IV-23). Par comparaison aux étalons de maltodextrines, il s'agirait en fait d'oligomères de faible degré de polymérisation (DP<10).

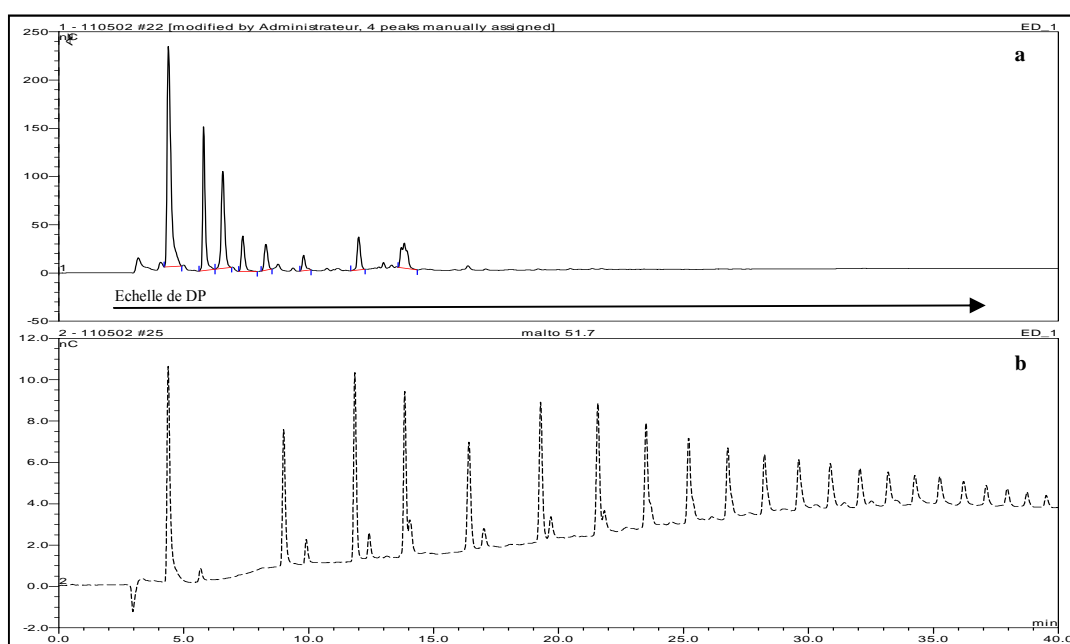


Figure IV-23: Chromatogramme des oligosaccharides libérés pendant la bioextrusion (a) : filtrat de BE7, (b) : Etalon maltodextrines

La présence d'oligosaccharides de DP inférieurs à 10 dans les filtrats de bioextrusion n'est pas le seul indicateur d'une activité enzymatique dans l'extrudeuse bi-vis. L'augmentation du taux de fines particules insolubles entraînées au filtrat lors du lavage des bioextrudats, d'autant plus important que le nombre de passages est élevé, pourrait aussi traduire l'effet de déstructuration par hydrolyse des polysaccharides (Figure IV-24). Sa proportion est pratiquement doublée lorsque l'extrusion est réalisée en présence des enzymes pour 7 passages successifs.

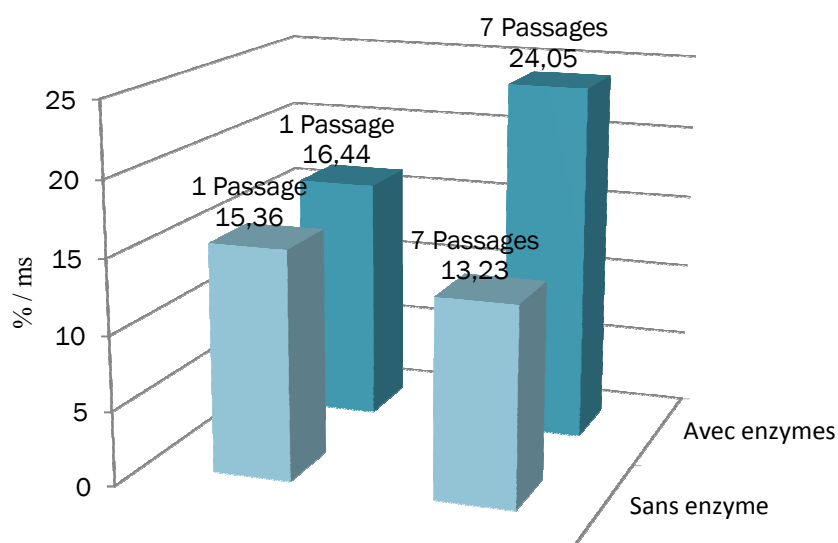


Figure IV-24: Fines particules produites par extrusion et bioextrusion en simple et multipassage du coproduit de maïs doux prétraité

De la même façon, l'augmentation du taux d'hydrosolubles à chaud des bioextrudats, qui double après 7 passages en présence des enzymes, par comparaison avec l'extrusion sans enzyme (Figure IV-25) confirme bien l'effet hydrolytique des enzymes dans l'extrudeuse.

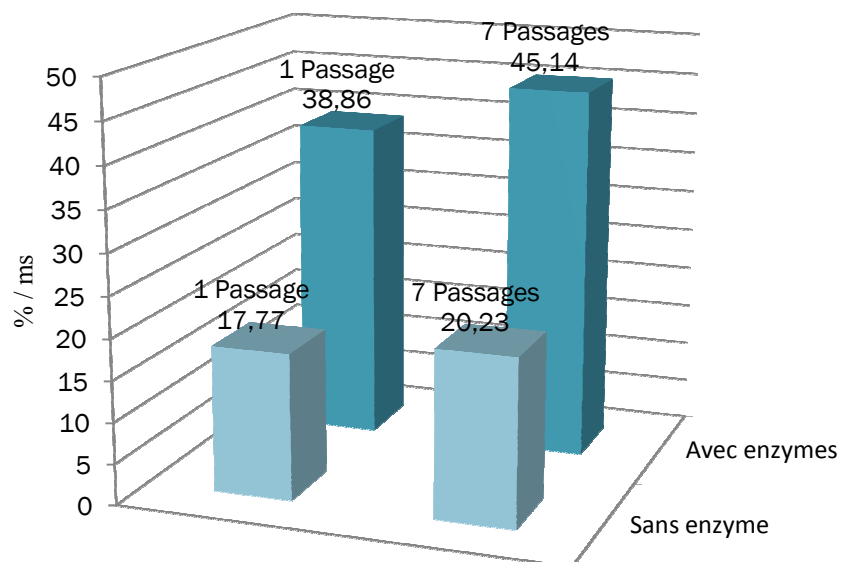


Figure IV-25: Hydrosolubles à chaud libérés par extrusion et bioextrusion en simple et multipassage du coproduit de maïs doux prétraité

Au-delà d'une libération partielle de monosaccharides et d'oligosaccharides, solubilisés dans la phase aqueuse, cet effet des enzymes est aussi observable sur les fibres bioextrudées.

IV.2.5.2 Modification des fibres lignocellulosiques

La modification de l'état des fibres contenues dans le coproduit de maïs doux tout au long des étapes du procédé de prétraitement et de bioextrusion en extrudeuse bi-vis peut être observée directement au microscope électronique à balayage (partie expérimentale n°P.E.2.9).

L'état d'une fibre de coproduit de maïs doux brut (Figure IV-26), montre un aspect intact, non dégradé, en superficie.

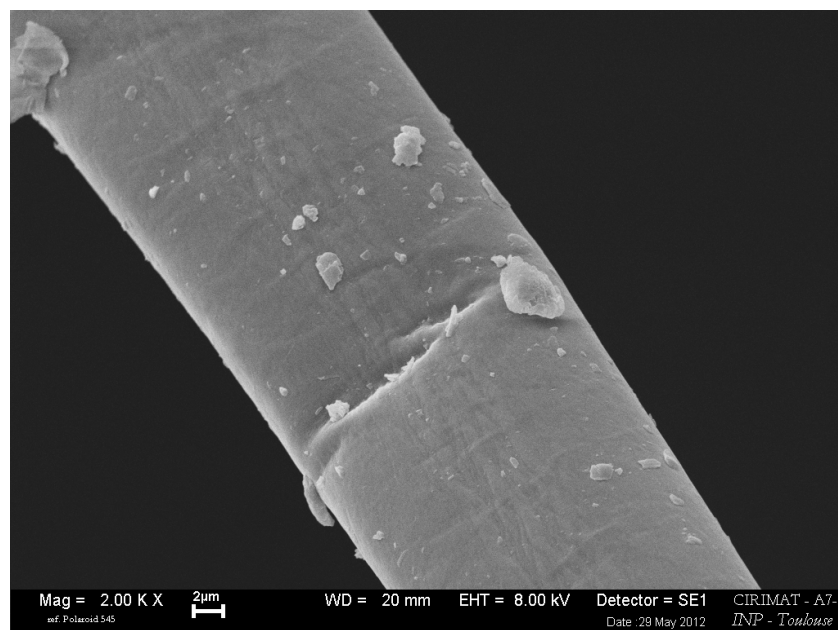


Figure IV-26: Image MEB d'une fibre de coproduit de maïs doux brut

Après le prétraitement en extrudeuse bi-vis, les microfibrilles constitutives des fibres structurelles apparaissent nettement fripées et permettent de voir l'état de fibres débarrassées en surface de leurs composés extractibles, ainsi que d'une partie des lignines et des hémicelluloses. Cette extraction d'hémicelluloses et de lignines met à jour les fibres de cellulose en surface de la fibre (Figure IV-27).

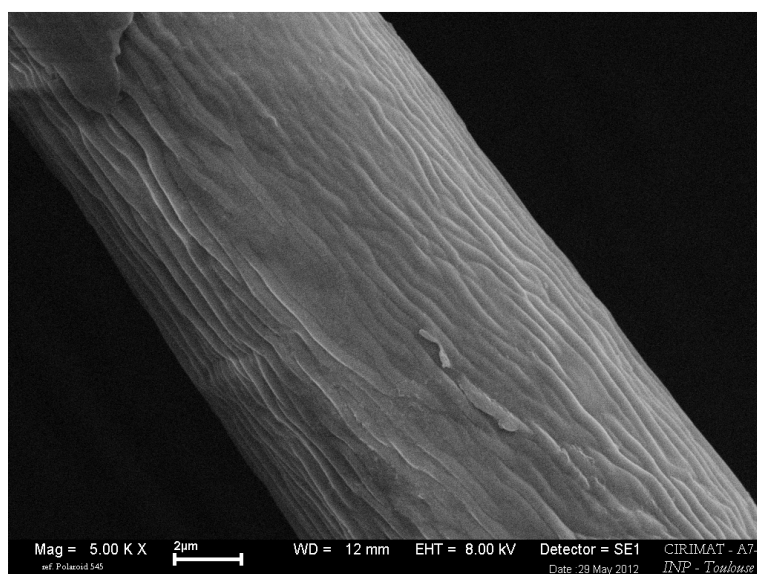


Figure IV-27: Image MEB d'une fibre de coproduit de maïs doux prétraité en extrudeuse bi-vis

Suite à la bioextrusion, les fibres observées apparaissent très dégradées en surface (Figure IV-28). L'action des enzymes en bi-vis sur la surface des fibres est visible. Les enzymes attaquaient la surface de la fibre en ayant un effet de « pelage » provoqué par la dépolymérisation partielle de la cellulose.

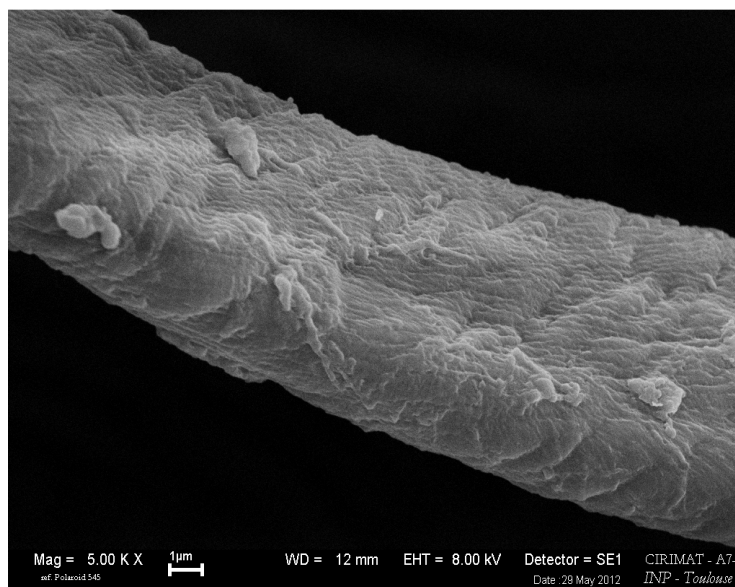


Figure IV-28: Image MEB d'une fibre de coproduit de maïs doux bioextrudé

Dans le monde papetier, le degré de polymérisation de la cellulose est classiquement évalué par une mesure de la viscosité après dissolution dans du cupriéthylène di-amine. Plus le degré de polymérisation est élevé et plus la solution obtenue est visqueuse. Selon la norme TAPPI T 230 om 94, la relation reliant les viscosités (intrinsèque et dynamique) et le DP se calcule selon les équations.

$$DP = (0,75 \times V')^{1,105}$$

$$\text{où } V' = (954 \times \log V) - 325$$

$$\text{et } V = c \times d \times t$$

avec :

c : constante du viscosimètre utilisé ;

d : densité de la solution de travail, donnée par la norme TAPPI (1,052g.ml⁻¹) ;

t : durée de la mesure (s) ;

V' : viscosité intrinsèque (dm³.kg⁻¹) ;

V : viscosité dynamique (mPa.s)

Toutefois, cette méthode, conçue pour des fibres de cellulose pure, n'est pas censée s'appliquer directement à des matières complexes comme c'est le cas des coproduits de maïs doux.

Cependant, l'application du protocole de dissolution dans le cupriéthylène di-amine directement sur les extrudats prétraités et les bioextrudats de maïs doux, et la mesure de viscosité des solutions obtenues (partie expérimentale n°P.E.2.10) montrent bien que la viscosité des solutions diminue progressivement à la suite des différentes étapes du traitement (Figure IV-29).

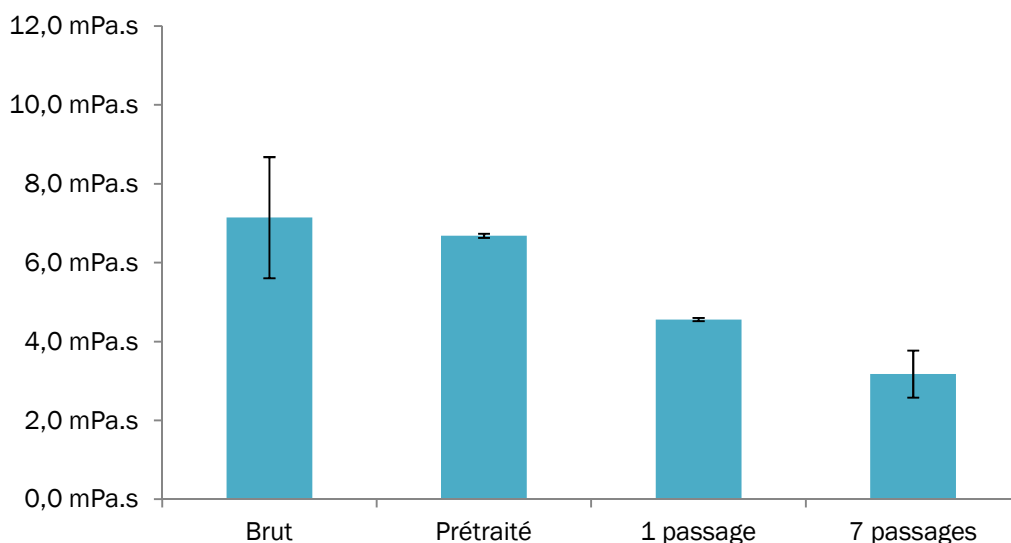


Figure IV-29: Evolution de la viscosité dynamique du coproduit de maïs doux à différentes étapes du traitement

Néanmoins cette diminution peut aussi être liée à la dissolution de composés autres que la cellulose. Pour limiter ces interférences, les matières obtenues à chaque étape ont été purifiées pour isoler leur fraction holocellulosique par extraction des hydrosolubles et solubilisation des lignines (partie expérimentale n°P.E.1.4). Le protocole de mesure de viscosité est alors appliqué à ces fractions holocellulosiques (Figure IV-30).

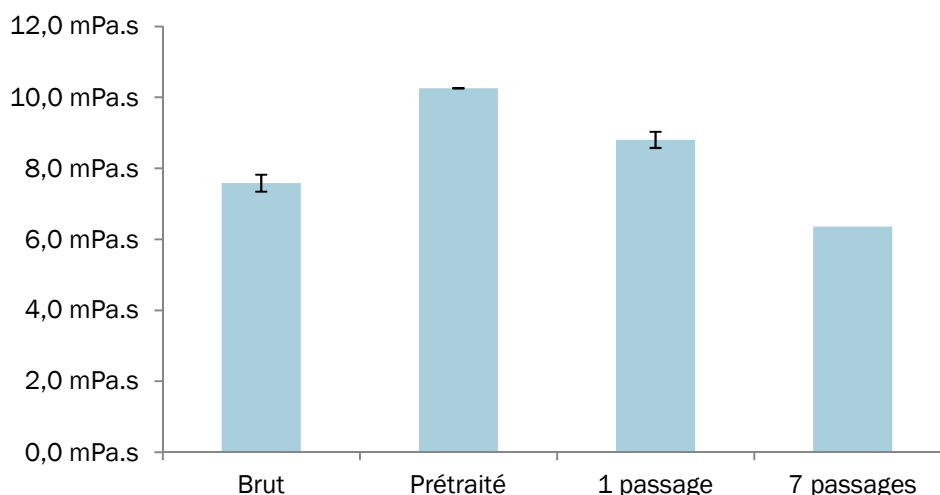


Figure IV-30: Evolution de la viscosité dynamique du coproduit de maïs doux purifié à différentes étapes du traitement

Dans le cas du coproduit de maïs doux natif, les valeurs de viscosité sont très proches, ce qui pourrait indiquer que la méthode de corrélation au DP de la cellulose est applicable, sous condition d'une correction tenant compte de la teneur réelle en cellulose du substrat. Par contre, dans le cas de l'extrudat obtenu à l'issue du prétraitement en extrudeuse bi-vis, la viscosité de la fraction holocellulosique est nettement plus élevée. Ce résultat peut s'expliquer par la solubilisation et l'extraction d'une partie des hémicelluloses lors du prétraitement en extrudeuse bi-vis, mais aussi du traitement de purification de la fraction holocellulosique résiduelle. Les hémicelluloses, en plus faible proportion par rapport à la cellulose (29 et 46%), ayant un DP nettement plus faible que la cellulose (3 à 20 fois plus faible) (Klemm et al. 2005; Girio et al. 2010), il en résulterait une valeur moyenne de DP entre la contribution de la cellulose et des hémicelluloses plus élevée pour cette matière enrichie en cellulose. Bien qu'elle ne puisse être attribuée uniquement à la dépolymérisation de la cellulose, et que les valeurs de DP calculées par application de la relation définie par la norme TAPPI T 230 om 94 pour la cellulose pure soient en réalité des équivalents DP pour un mélange holocellulosique, la diminution de viscosité mesurée pour le bioextrudat issu du premier passage, puis du 7^{ème} passage traduirait alors essentiellement un raccourcissement des chaînes de cellulose (Figure IV-31).

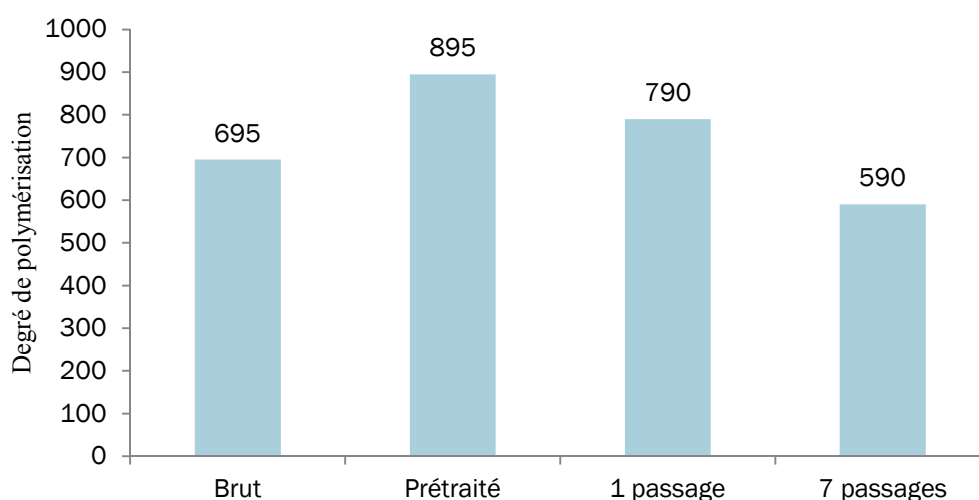
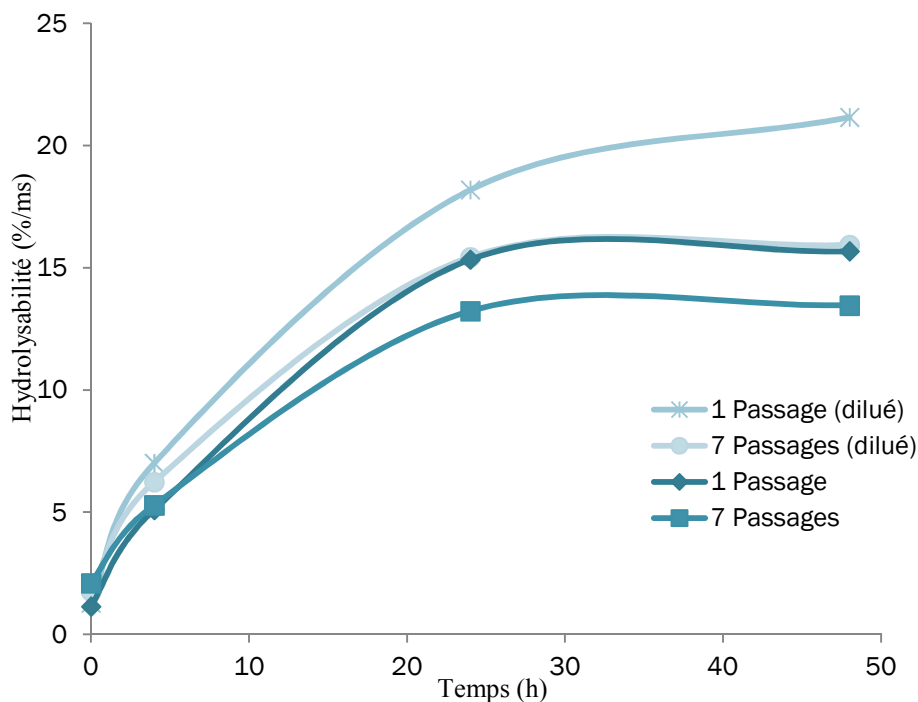


Figure IV-31: Evolution du degré de polymérisation équivalent de la matière transformée en holocellulose durant la bioextrusion

IV.2.6 Conclusions sur le procédé de bioextrusion

L'étape d'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis sur le coproduit de maïs doux conduit bien à une déstructuration supplémentaire des fibres lignocellulosiques. Malgré des temps de contact très réduits, qui peuvent être prolongés par recyclage de la matière dans l'extrudeuse, l'action enzymatique d'hydrolyse démarre, conduisant à une dépolymérisation partielle de la cellulose et des hémicelluloses, se traduisant par la libération d'une petite quantité de monosaccharides, d'oligomères et surtout de polysaccharides. Cette hydrolyse correspondrait à l'action des cellulases (surtout des endo et exo-glucanases), favorisée par une imprégnation efficace de la fibre prétraitée, à consistance élevée. Et si le temps de séjour du mélange est insuffisant dans l'extrudeuse bi-vis, même pour un multipassage (maximum 15 minutes en 7 passages successifs) pour permettre un avancement de la libération du glucose par les cellulases, l'hydrolyse enzymatique peut se poursuivre à consistance élevée dans un simple contacteur faiblement agité (partie expérimentale n°P.E.3.2) (Figure IV-32).

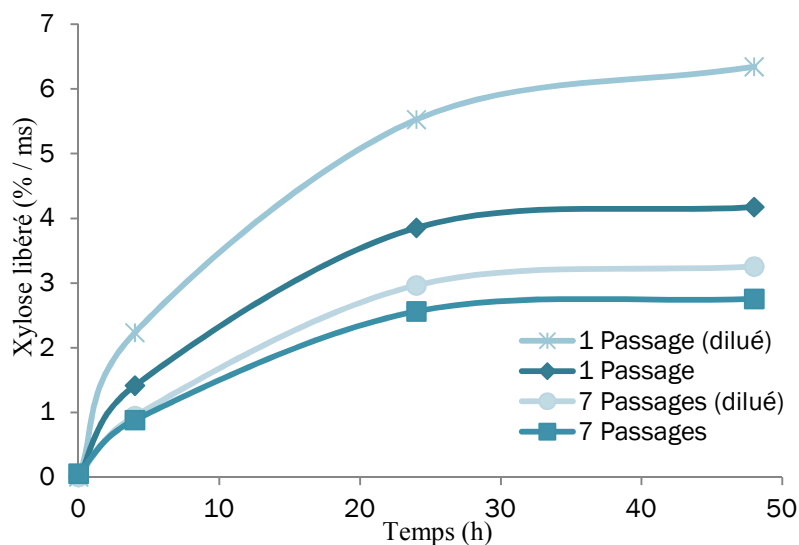


Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 29 et 15%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 2.9%/ms

Figure IV-32: Cinétique d'hydrolyse enzymatique à 15 et 29% de consistance de la bioextrusion et du multipassage correspondant

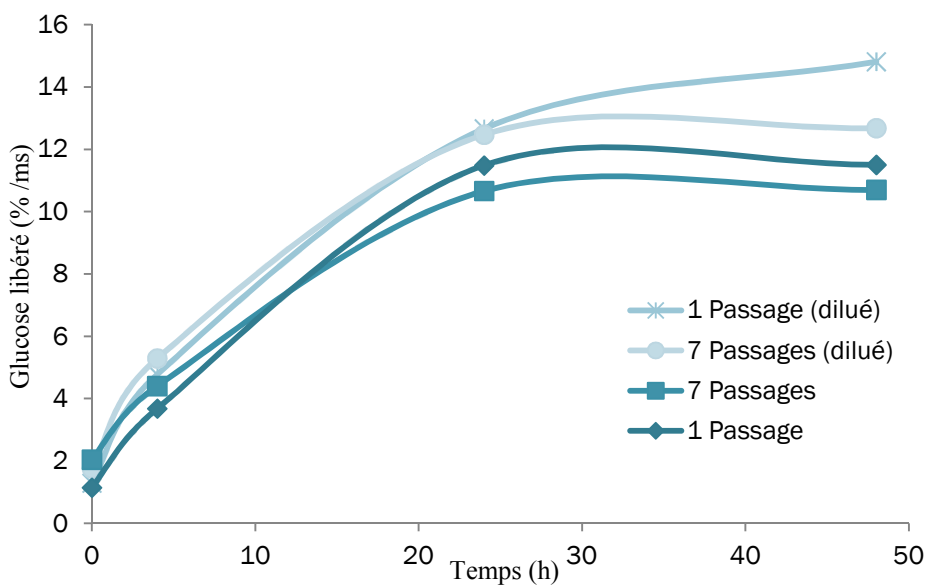
Ainsi, un rendement de 15% en sucres totaux est obtenu en 24h à la consistance de sortie de l'extrudeuse pour un seul passage. La dilution du milieu à 15% de consistance améliore ce résultat (18 et 21% de rendement d'hydrolyse respectivement en 24 et 48h) ; et les rendements atteints sont dans les deux cas supérieurs à ceux obtenus pour une mise en contact directe des enzymes avec l'extrudat prétraité dans un contacteur sous les mêmes conditions d'agitation pendant 48h (12 et 19% respectivement à 15 et 29% de consistance).

Par contre, l'augmentation du nombre de passage dans l'extrudeuse BC21 ne favorise pas pour autant la cinétique de l'hydrolyse enzymatique en contacteur agité, du fait principalement d'une perte d'efficacité des hémicellulases (Figure IV-33), alors que les cellulases sont peu affectées (Figure IV-34).



Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 15 et 29%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 2.9%/ms

Figure IV-33: Cinétique de libération du xylose à 15 et 29% de consistance suite à la bioextrusion et au multipassage correspondant



Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 15 et 29%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 2.9%/ms

Figure IV-34: Cinétique de libération du glucose à 15 et 29% de consistance suite à la bioextrusion et au multipassage correspondant

Il apparait donc qu'un seul passage dans l'extrudeuse bi-vis BC21, configuré avec un profil de vis équipé de malaxeurs, assurant une mise en contact intime des enzymes avec le coproduit de maïs doux prétraité, pendant des durées très faibles (2 minutes) et à haute

consistance du milieu (29%), est suffisante pour démarrer l'hydrolyse enzymatique des polysaccharides. Elle pourra dès lors se poursuivre dans un contacteur adapté aux mélanges à haute consistance pour des durées nettement plus importantes que celles accessibles en extrudeuse bi-vis. Cette voie a été validée par les travaux du CIEMAT, réalisés avec un bioréacteur spécifique du type contacteur rotatif (Figure IV-35), à partir d'extrudats de paille d'orge prétraitée et imprégnée par les enzymes (Cellic Ctec 2 et Cellic Htec) en extrudeuse bi-vis (CLEXTRAL Evolum 25).



Figure IV-35: Bioréacteur (Terrafors, Infors-HT, Suisse) utilisé par le CIEMAT pour les hydrolyses à haute consistance

Les rendements d'hydrolyse enzymatique atteints en 48h pour une consistance de 27% et un taux d'enzymes de 40mg/g d'extrudat sont de 38% en glucose et 16% en xylose soit 54% de sucres totaux par rapport à la matière sèche de l'extrudat, à une concentration en sucres de plus de 100g/l de glucose et plus de 40g/l de xylose. De telles concentrations en sucres sont d'ores et déjà un avantage certain pour la fermentation éthanolique.

Ainsi l'étape d'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis peut être considérée comme une étape de pré-conditionnement des coproduits lignocellulosiques prétraités pour leur introduction dans le bioréacteur d'hydrolyse enzymatique. Nous nous attacherons dans le chapitre suivant (chapitre V) à étudier la mise en œuvre des étapes de prétraitement par fractionnement alcalin et neutralisation des coproduits lignocellulosiques et d'imprégnation enzymatique dans une seule extrudeuse bi-vis, en continu, pour leur saccharification et leur fermentation éthanolique. Mais le couplage d'une opération de séparation liquide-solide avec l'imprégnation des enzymes en extrudeuse bi-vis ouvre aussi la voie pour un nouveau procédé de bioraffinage des coproduits lignocellulosiques.

IV.3 Etude du bioraffinage des coproduits lignocellulosiques en extrudeuse bi-vis

Le prétraitement alcalin couplé à la neutralisation et la séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis est une première étape de fractionnement thermomécano-chimique des coproduits lignocellulosiques. Il conduit à un filtrat contenant les hydrosolubles extractibles, et une fraction des hémicelluloses et des lignines de la fibre, en proportion dépendante des conditions d'alcalinité et de température. Mais aussi à un extrudat déstructuré, plus accessible à l'action des enzymes hydrolytiques. L'introduction de ces enzymes dans l'extrudeuse bi-vis permet de poursuivre cette déstructuration conduisant à la libération et la solubilisation d'une nouvelle fraction des fibres lignocellulosiques prétraitées. L'adaptation de la configuration et du profil de vis de l'extrudeuse bi-vis va permettre leur séparation sous forme d'un filtrat, appelé biofiltrat pour le distinguer du filtrat précédent obtenu lors du prétraitement thermo-mécano-chimique (Figure IV-36).

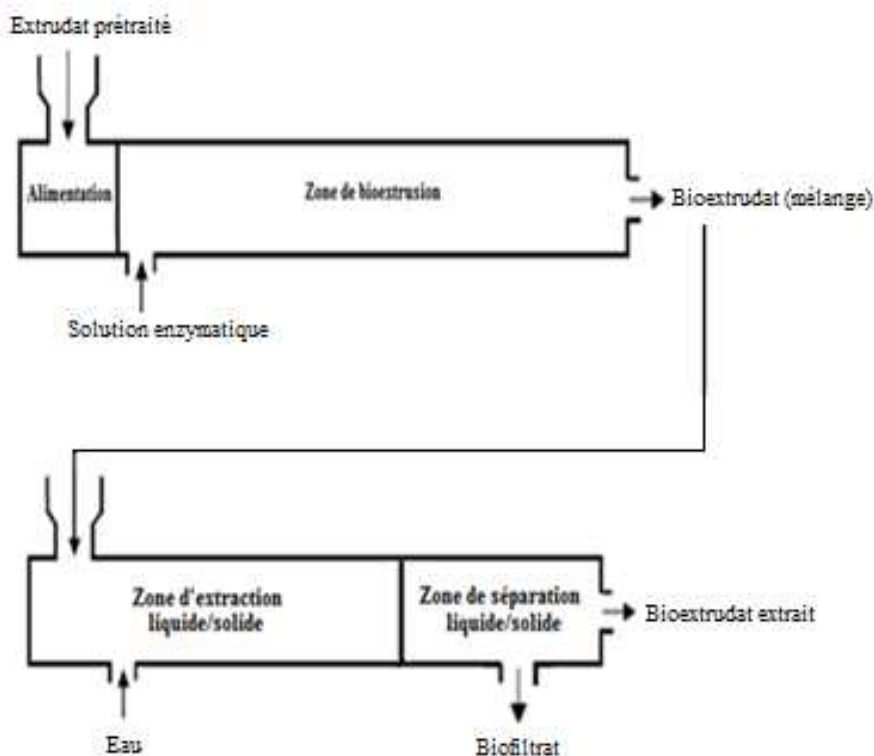


Figure IV-36: Schéma d'une bioextrusion suivie d'une extraction

IV.3.1 Extraction et séparation liquide-solide des bioextrudats en extrudeuse bi-vis

Le mélange coproduit de maïs doux prétraité-enzymes à une consistance de 30% et un taux d'enzymes de 2,8%, issu de l'étape de bioextrusion dans l'extrudeuse BC21 équipé du profil n° 2 (Figure IV-13) est introduit dans l'extrudeuse bi-vis BC1 équipée d'un module de filtration et du profil de vis présenté dans la Figure IV-37.

Module	Zone d'alimentation		Zone de convoyage		Zone de bioextrusion								Zone de filtration	Zone de compression	Zone de convoyage	
	1		2		3		4		5		6				7	
Température			Oui		Oui		Oui		Oui				Oui			
Type de vis	T2F	T2F	C2F	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	BB	C2F	C2F	CF2C	C2F
Longueur de vis ou Nombre d'éléments restrictifs	50	50	50	50	50	10x10	50	50	5x5	50	25	5x5	25	25	50	50
Pas de vis ou Angle entre les éléments restrictifs	66	66	33	33	33	90°	25	16	-45°	25	16	-45°	25	25	-33	33

Figure IV-37: Profil de vis de l'étape d'extraction et de séparation du bioextrudat

L'eau est injectée en fin du module 2 avec un ratio liquide/solide élevé (L/S : 6,9), et les composés solubilisés par l'action des enzymes lors de la bioextrusion sont extraits dans les modules suivants sous l'action de malaxeurs bilobes respectivement montés à 90°, -45° et -45°. La formation d'un bouchon dynamique sous l'action des contrefilets CF2C de pas -33 et de longueur 50mm installés au début du 7^{ème} module assure le pressage du mélange et la séparation d'un filtrat à travers la grille de filtration installée en amont.

Les conditions opératoires de la bioextrusion et de l'extraction-séparation en extrudeuse bi-vis sont rapportées dans le Tableau IV-10.

Pour comparaison de la durée du traitement de bioextrusion, le coproduit de maïs doux prétraité est passé 1 fois et 6 fois (5 fois recyclé) dans l'extrudeuse BC21 avant introduction dans l'extrudeuse d'extraction-séparation.

Tableau IV-10: Conditions opératoires de la bioextrusion et de l'extraction-séparation des coproduits de maïs doux prétraités

Etape	Bioextrusion	Extraction-séparation
Extrudeuse	BC21	BC21
S _s (rpm)	200	200
Q _m (kg/h)	3,42	7,8/5,6
Q _t (kg/h)	1,76	10,6
[ez] (g/kg)	25	0
Q _{ez} (g/h)	44,0	0,0
T° (°C)	22/50/48/49/49/49/49	
Q _{ext} (kg/h)	5,23	1,88/0,79
Q _{fil} (kg/h)	-	13,77/12,51
ez/ms (%)	2,8	0
L/S	2,4	6,9/8,1
Remarques	Multipassage (7)	Filtration sur 2 ^{ème} ou 7 ^{ème} passage

L/S: Liquide/solide ; S_s : Vitesse de vis ; Q_m : Débit entrée matière ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

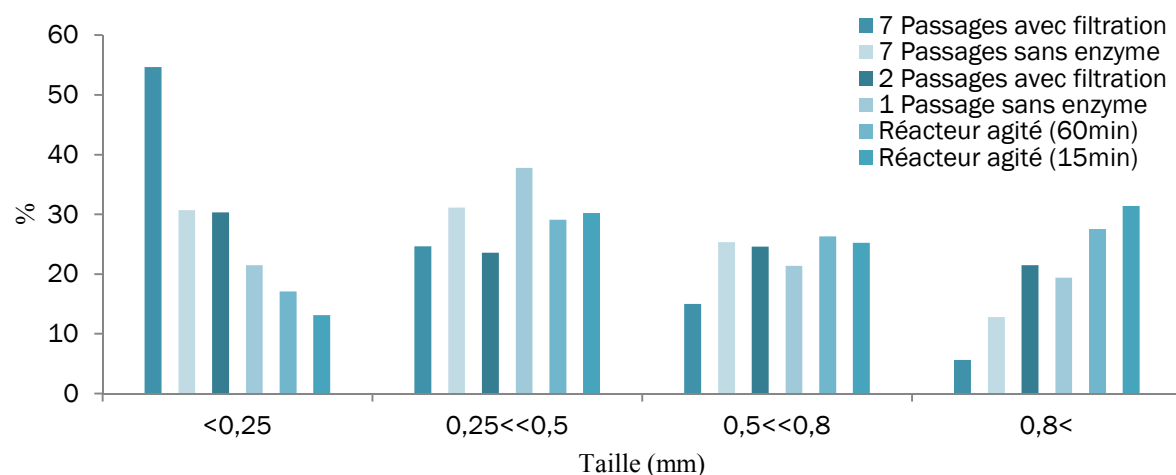
Les rendements d'extraction et de séparation des bioextrudats ainsi traités sont rassemblés dans le Tableau IV-11.

Tableau IV-11: Rendements d'extraction et de séparation des bioextrudats en extrudeuse bi-vis BC21

Bioextrusion	Extrudat		Filtrat		
	Matière sèche %	Rendement kgMSe%kgMSi	Matière sèche %	Rendement kgMSf%kgMSi	Filtrat/(filtrat+extrudat) %
2 passages	56,8	46,1	9,1	53,9	88,0
7 passages	58,9	26,0	10,5	74,0	94,1

Conditions opératoires : voir Tableau IV-10

La bioextrusion génère une proportion importante de fines particules qui sont entraînées au filtrat lors de la séparation liquide-solide dans le module de filtration. Elle représente 29 et 46% de la matière sèche introduite respectivement pour deux et sept passages en bioextrusion. L'analyse de la répartition granulométrique de ces particules insolubles séparées du filtrat liquide et séchées (partie expérimentale n°P.E.4.7) montre que (Figure IV-38) :



Conditions opératoires : extrusion avec ou sans enzymes voir Tableau IV-10 ; contacteur agité : consistance : 29%, T : 50°C, agitation : 200rpm

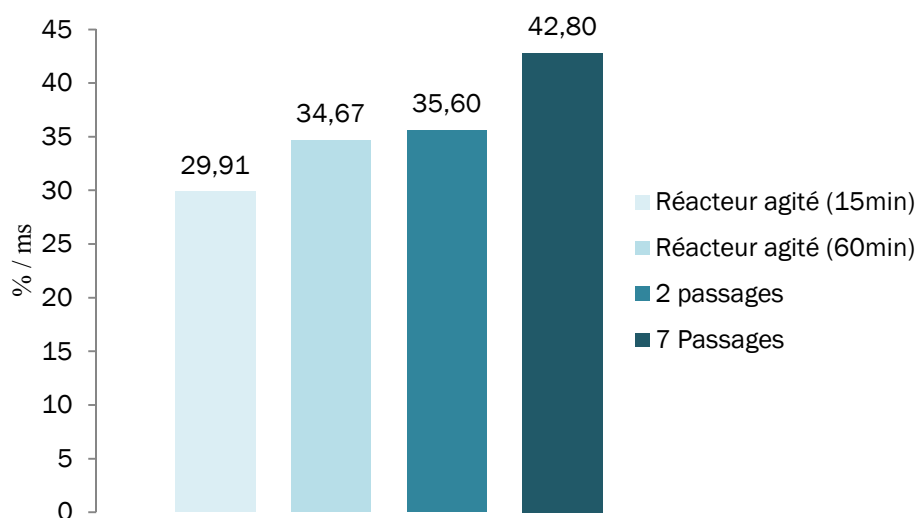
Figure IV-38: Répartition de la taille des particules des extrudats et bioextrudats ayant subi une séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis et comparaison au cas d'un contacteur agité

- La proportion de très fines particules (< 250 μ) est nettement plus importante que celle obtenue dans le cas d'une mise en contact du coproduit prétraité avec les enzymes dans un réacteur agité mécaniquement avec un agitateur à pale (1h à 50°C et 29% de consistance) ; d'autant plus que le bioextrudat est recyclé 5 fois avant extraction et séparation.

- La génération de fines particules n'est pas le seul fait du passage en extrudeuse puisqu'elle est de 30 et 45% inférieure dans le cas d'une extrusion en l'absence d'enzyme par rapport à celle d'une bioextrusion dans les mêmes conditions opératoires.

Ceci confirme bien l'effet de déstructuration physique des fibres lors de la bioextrusion, beaucoup plus efficace que pour une simple mise en contact en contacteur agité.

Avant séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis, les bioextrudats contiennent plus de 35% d'hydrosolubles après deux passages et plus de 42% après sept passages (Figure IV-39) ; ce qui souligne encore une fois l'action des enzymes sur la matière dans l'extrudeuse bi-vis, puisqu'avant ces traitements de bioextrusion, les coproduits de maïs doux prétraités introduits ne contenaient que 16% d'hydrosolubles.

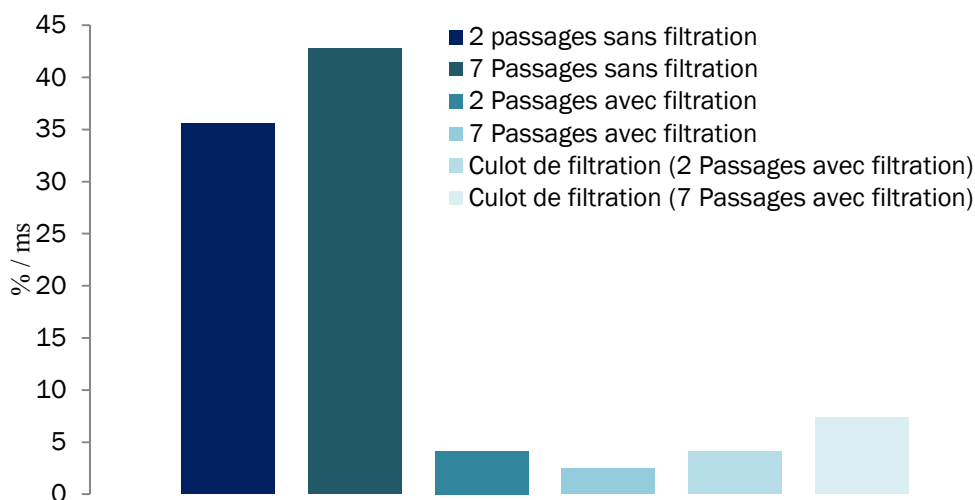


Conditions opératoire : consistance : 30% ; T° :50°C ; concentration enzymatique : 2.8%/ms

Figure IV-39: Hydrosolubles d'une bioextrusion multipassage et d'une hydrolyse en réacteur concentré

Par comparaison avec une mise en contact des enzymes dans un réacteur agité à la même consistance du mélange, le taux d'hydrosolubles obtenu reste inférieur à 30% au bout de 15min et n'atteint 35% qu'au bout d'une heure. La déstructuration des fibres par hydrolyse enzymatique est donc bien plus efficace et rapide dans l'extrudeuse bi-vis.

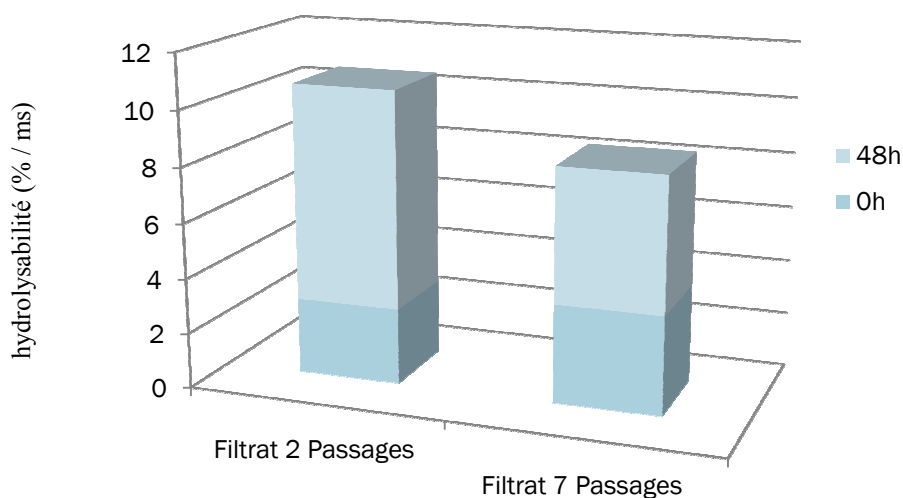
L'extraction et la séparation de cette fraction d'hydrosolubles est aussi très efficace dans l'extrudeuse d'extraction et séparation liquide-solide (Figure IV-40) : l'extrudat séparé ne contient plus que moins de 5% d'hydrosolubles, et les fines particules insolubles entraînées au filtrat en contiennent moins de 10%. La déstructuration du bioextrudat plus importante dans le cas de ces sept passages, qui génère une plus forte proportion de fines particules inférieures à 250 μ peu expliquer la légèrement plus forte proportion d'hydrosolubles résiduels dans les insolubles du filtrat.



Conditions opératoire : voir Tableau IV-10

Figure IV-40: Teneur en hydrosolubles des bioextrudats et bioextrudats extraits et séparés en extrudeuse bi-vis BC21

Au bilan, le traitement de bioextrusion et d'extraction en extrudeuse bi-vis permet de séparer un filtrat contenant 54 à 74% de la matière sèche du coproduit de maïs doux prétraité introduit, dont 29 à 46% sous forme de particules insolubles et 25 à 28% sous forme de composés solubilisés. Le dosage des sucres libres dans ce filtrat directement en sortie de l'extrudeuse et après 48h à 50°C sans agitation montre que 2 à 4% y sont présents sous forme de monosaccharides et 4 à 8% sous forme d'oligo et polysaccharides libérés par l'action des enzymes dans l'extrudeuse de bioextrusion, respectivement en 2 et 7 passages (Figure IV-41).



Conditions opératoires : voir Tableau IV-10

Figure IV-41: Dosage des sucres totaux dans les filtrats obtenus par extraction et séparation des bioextrudats en extrudeuse bi-vis

Le fait que l'hydrolyse de ces oligo et polysaccharides puisse se poursuivre par simple chauffage sous agitation du filtrat prouve que lors de l'extraction, tout ou partie des enzymes sont extraites. Leur activité n'est pas éteinte, bien que celle des hémicellulases soit plus faible pour le traitement en 7 passages de bioextrusion (Figure IV-42).

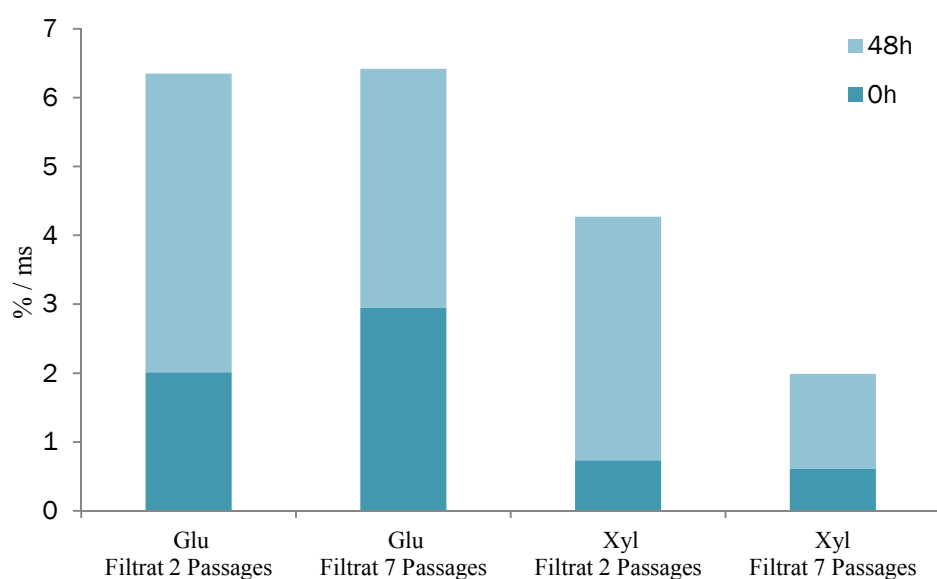
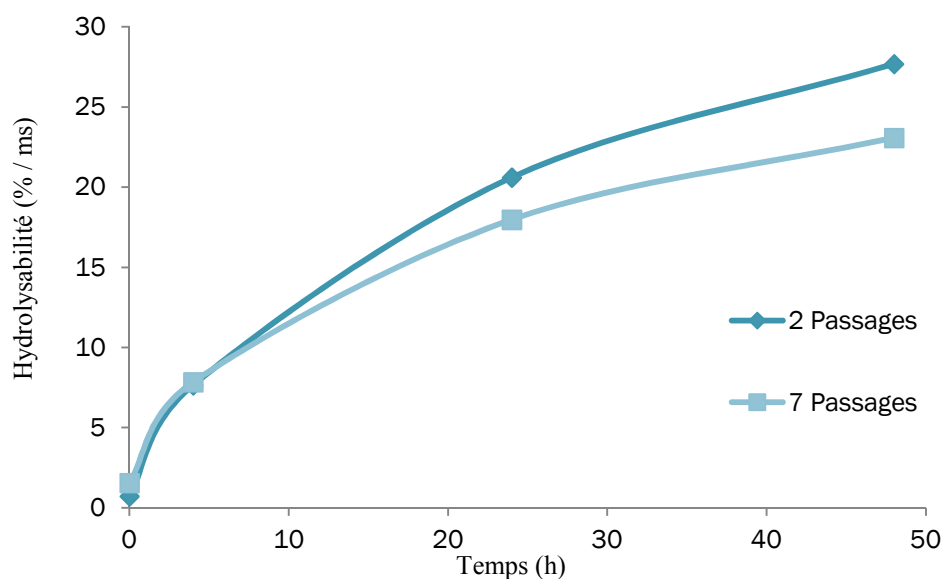


Figure IV-42: Rendement en glucose et xylose libérés dans les filtrats de l'extraction et la séparation des bioextrudats en extrudeuse bi-vis

Au total, 13,6% du glucose et 14,9% du xylose contenus dans le coproduit de maïs doux prétraité sont extraits pour une bioextrusion en 1 passage et la séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis.

Le bioextrudat extrait, qui représente 46% de la matière sèche de coproduit de maïs doux prétraité introduit, est raffiné, avec une teneur en cellulose de 47%. Avant extraction et séparation liquide-solide, les bioextrudats obtenus pour deux et sept passages présentent les mêmes caractéristiques d'hydrolysabilité par le cocktail enzymatique introduit (Advanced enzymes à 2,8%/ms) que précédemment (Figure IV-43), que ce soit pour la libération de glucose ou de xylose (Figure IV-44 et Figure IV-45).



Conditions de bioextrusion : voir Tableau IV-10, Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 3%, pH 5, 50°C, enzymes : Advanced enzymes, 2,8%/ms

Figure IV-43: Cinétique d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats obtenus avant extraction et séparation liquide-solide

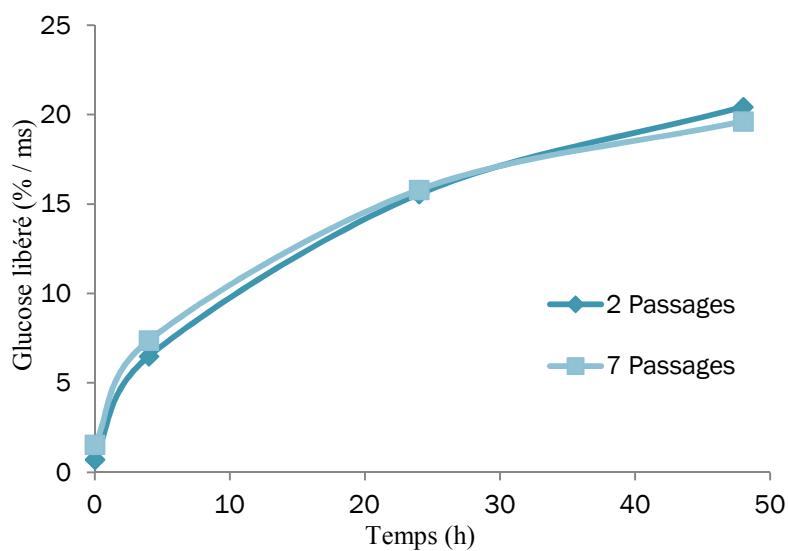


Figure IV-44: Cinétique de libération du glucose des bioextrudats obtenus avant extraction et séparation liquide-solide

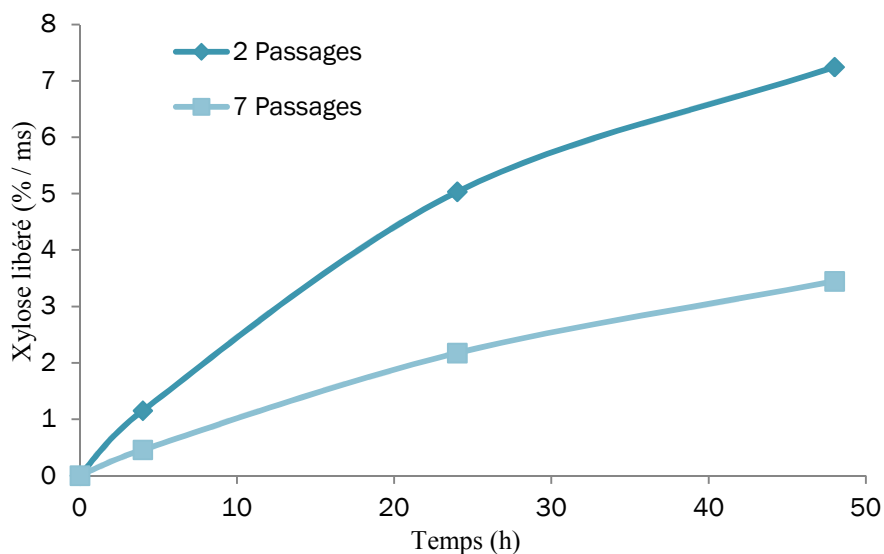
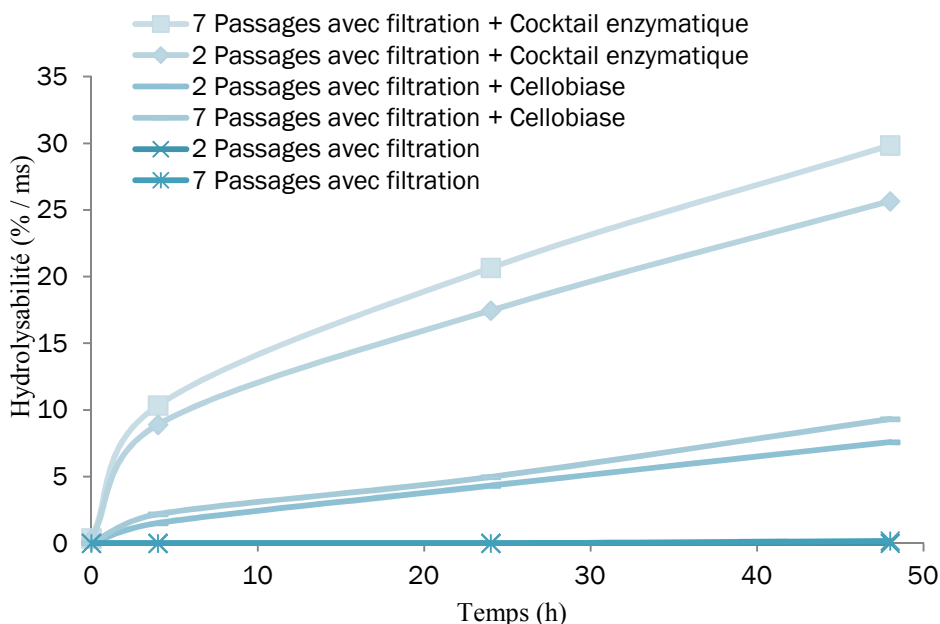


Figure IV-45: Cinétique de libération du xylose des bioextrudats avant extraction et séparation liquide-solide

Par contre, les bioextrudats extraits à l'eau dans l'extrudeuse BC21 ne contiennent plus d'enzymes en proportion significatives, comme le montre l'absence de libération de sucre lorsqu'ils sont placés dans un bioréacteur agité en conditions diluées (48h à 50°C à 6% de consistance) (Figure IV-46).



Conditions de bioextrusion : voir Tableau IV-10, Conditions d'hydrolyse : tampon acétate de sodium 300mM, consistance 6%, pH 5, 50°C, Ajout d'enzymes : cellobiase : en excès (15%/ms) ; Advanced enzymes, 2,8%/ms initial

Figure IV-46: Cinétique d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats extraits et séparés avec et sans ajout d'enzymes

L'ajout de cellobiase (en excès : 15% d'enzymes par rapport à la matière sèche) montre que ces bioextrudats lavés contiennent encore des oligosaccharides de glucose, et l'ajout du cocktail enzymatique Advanced enzymes (2,8%/ms) confirme leur hydrolysabilité.

Les essais comparatifs de profil de vis réalisés pour l'étape de bioextrusion (paragraphe IV-2-3) n'avaient pas mis en évidence d'effet significatif sur l'activité des enzymes en présence d'un contrefilet en substitution des éléments malaxeurs. Bien que l'hypothèse d'une désactivation partielle des enzymes dans les conditions de pressage et séparation liquide-solide ne puisse totalement être écartée, il apparaît plus probable que l'absence d'activité pour les bioextrudats extraits et séparés soit essentiellement due à la désorption des enzymes lors du lavage et leur entraînement au filtrat. Cependant, les bioextrudats extraits, enrichis en cellulose, pourront être hydrolysés par voie enzymatique avec d'excellents rendements, ou bien subir une nouvelle opération de fractionnement.

IV.3.2 Fractionnement des coproduits lignocellulosiques

L'enchaînement des étapes de traitement en extrudeuse bi-vis étudiées jusqu'à présent permet de définir un procédé continu de fractionnement des coproduits lignocellulosiques combinant les effets thermomécanochimiques et enzymatiques pour la déstructuration des fibres, le raffinage de la cellulose qu'elles contiennent et l'amélioration de leur hydrolysabilité enzymatique (Figure IV-47).

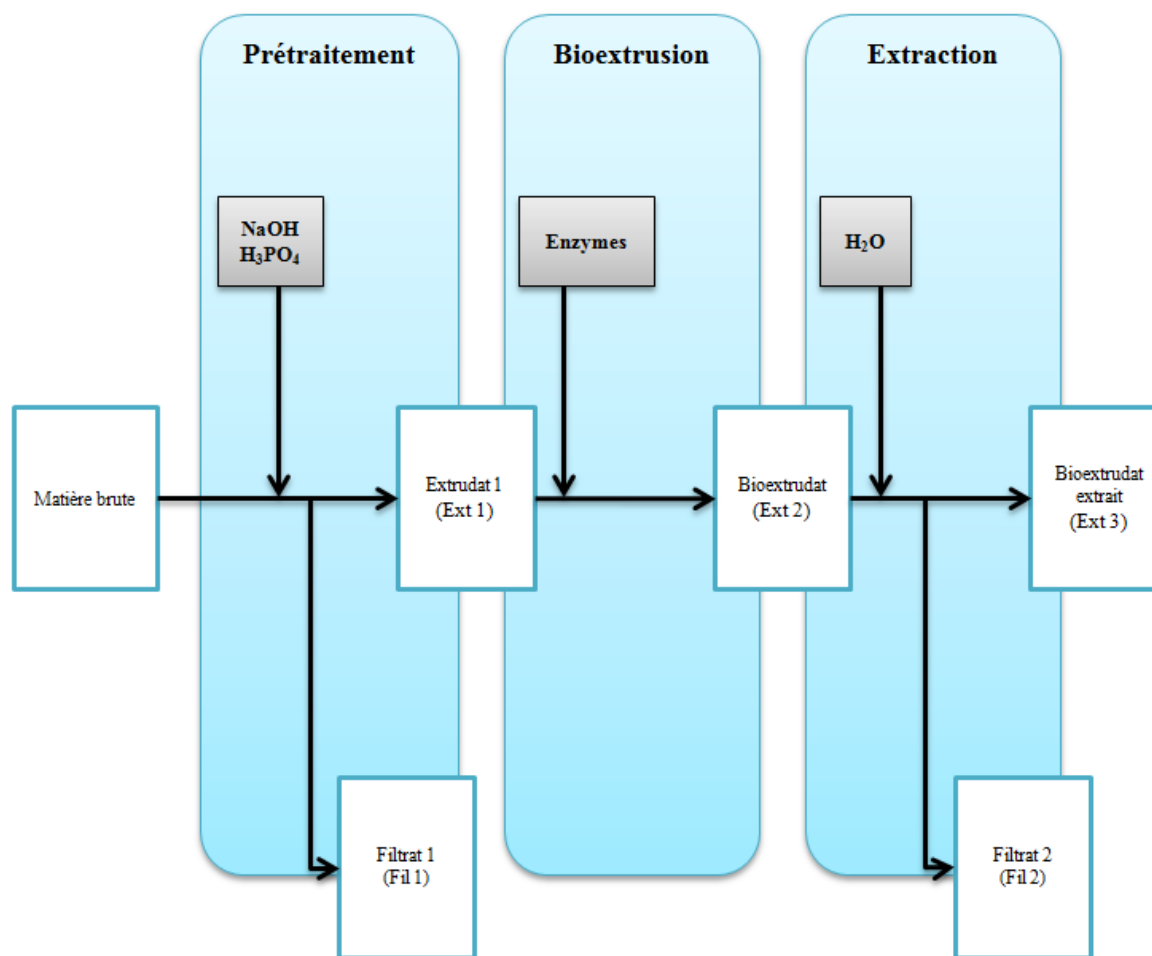


Figure IV-47: Fractionnement thermomécanochimique et enzymatique en extrudeuse bi-vis des coproduits lignocellulosiques

Les trois étapes de prétraitement (extrusion thermomécanochimique) de bioextrusion (extrusion thermomécanoenzymatique) et d'extraction-séparation (extrusion séparative) constituent un étage du fractionnement, qui pourrait être répété en vue d'un raffinage complet de la cellulose. Cependant les essais d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats obtenus par ce procédé ont montré qu'il n'est pas forcément nécessaire de séparer les constituants solubilisés pour atteindre de bons rendements en sucres et en particulier en glucose.

Par ailleurs, la déstructuration de la matière lignocellulosique lors du traitement de bioextrusion entame le processus de liquéfaction et rend l'opération d'extraction-séparation en extrudeuse bi-vis de plus en plus difficile (entraînement d'une proportion de plus en plus élevée de fines particules, difficulté de pressage et instabilité du bouchon dynamique). Bien que les particules solides entraînées au filtrat puissent alors être séparées par centrifugation et réintégrées à l'extrudat pour les traitements suivants, cette opération devient de plus en plus pénalisante pour un procédé industriel continu. C'est pourquoi nous nous sommes limités dans cette étude à la répétition des deux premières étapes de prétraitement et de bioextrusion pour un nouvel étage de fractionnement des coproduits lignocellulosiques (Figure IV-48).

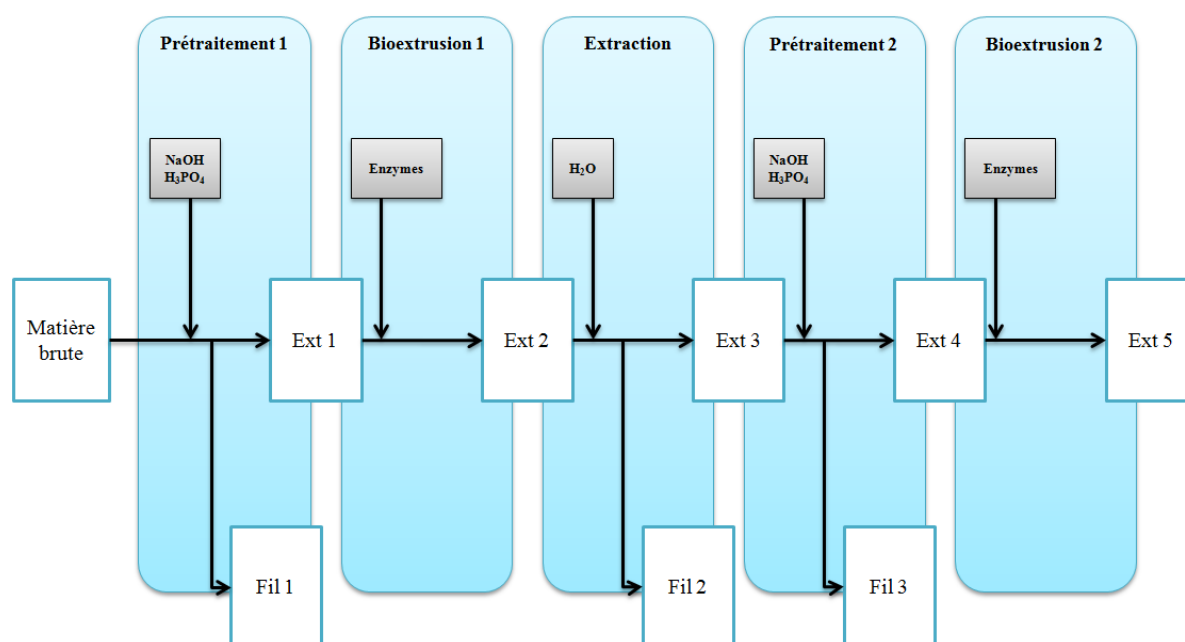


Figure IV-48: Etapes de fractionnement étapé des coproduits lignocellulosiques réalisées pour cette étude

Des deux coproduits lignocellulosiques modèles, le coproduits de conserverie maïs doux et le Pinzote, ont été comparés pour un cycle de fractionnement étapé, en vue d'établir les bilans matières pour chaque étape. Le premier prétraitement des coproduits bruts broyés est réalisé avec l'extrudeuse BC45, et toutes les autres étapes sont réalisées avec l'extrudeuse BC21. La configuration et les profils installés sont les mêmes que ceux définis pour l'étude de chaque étape (Tableau IV-12).

Tableau IV-12: Configurations et profils de vis des extrudeuses mis en œuvre pour l'étude du fractionnement étapé des coproduits lignocellulosiques

Etape	Extrudeuse	Configuration et profil
Prétraitement 1	BC45	Figure III-9
Bioextrusion 1	BC21	Figure IV-9
Extraction-Séparation	BC21	Figure IV-37
Prétraitement 2	BC21	Figure IV-37
Bioextrusion 2	BC21	Figure IV-9

IV.3.2.1 Fractionnement étagé des coproduits de maïs doux

Les conditions opératoires de chaque étape du fractionnement des coproduits de maïs doux sont rassemblées dans le Tableau IV-13.

Tableau IV-13: Conditions opératoires du fractionnement étagé des coproduits de maïs doux

Matière	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs
Etape	Prétraitement 1	Bioextrusion 1	Extraction	Prétraitement 2	Bioextrusion 2
Extrudeuse	BC45	BC21	BC21	BC21	BC21
S_s (rpm)	110	250	250	250	250
Q_s (kg.h ⁻¹)	12,5	3,9	9,6	1,6	2,6
n	0,11	0,02	0,04	0,01	0,01
Q_{NaOH} (kg.h ⁻¹)	24,4	-	-	4,0	-
[NaOH] (%) (m/m)	4	-	-	4	-
$Q_{H_3PO_4}$ (kg.h ⁻¹)	38,6	-	-	10,0	-
[H ₃ PO ₄] (%) (m/m)	2,4	-	-	1,8	-
T° (°C)	102/102/53/62	24/33/40/46/52 /53/53	25/53/55/50/53/- /56	24/47/98/101/49/- /49	23/54/53/50/52/48 /51
Q_{ext} (kg.h ⁻¹)	21,8	5,7	2,6	2,4	4,9
Q_{fil} (kg.h ⁻¹)	51,8	-	12,5	12,5	-
MS _{ext} (%)	38,0	28,1	55,6	34,3	21,9
NaOH/MS (%)	8,5	-	-	18,0	-
L/S	4,7	2,6	5,2	11,7	3,6
Q_t (kg.h ⁻¹)	-	1,8	7,0	-	2,2
[ez] (g.kg ⁻¹)	-	25	0	-	25
Q_{ez} (g.h ⁻¹)	-	45,5	0,0	-	55,5
ez/ms (%)	-	3,4	0,0	-	6,8

NaOH/MS : NaOH/matière sèche ; L/S : Liquide/solide phase ; S_s : Vitesse de vis ; Q_s : Débit entrée matière ; Q_{NaOH} : Débit entrée solution soude ; $Q_{H_3PO_4}$: Débit entrée solution acide ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [NaOH] : Concentration solution soude ; [H₃PO₄] : Concentration solution acide ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Le taux de soude et le taux d'enzymes du second étage de fractionnement (Prétraitement 2 : 18% de soude, Bioextrusion 2 : 6,8% d'enzymes) sont quasiment doublés par rapport à ceux mis en œuvre au premier étage (Prétraitement 1 : 8,5% de soude, Bioextrusion 1 : 3,4% d'enzymes) en vue d'amplifier la déstructuration des fibres et la purification de la cellulose.

La teneur en composés solubles, la composition en cellulose, hémicelluloses et lignines et la composition en monosaccharides (après hydrolyse acide) des extrudats et filtrats sont déterminés à chaque étape du procédé de fractionnement (Tableau IV-14).

Tableau IV-14 : Composition en monosaccharides, en composés pariétaux, en hydrosolubles et en organiques solubles des extrudats et filtrats du fractionnement étagé des coproduits de maïs doux

% (ms)	Arab	Gal	Glu	Xyl	Man	C	H	L	Organiques solubles au NDF	Hydrosolubles	Organiques solubles
Résidus de maïs	6,2	2,4	40,4	32,3	<1	38,6	36,1	3,8	17,26	9,79	5,62
E1	5,3	1,6	39,7	29,1	<1	46,4	28,8	4,8	12,48	15,95	8,35
E2	3,7	1,5	37,0	21,8	<1	38,5	16,7	4,2	30,19	25,73	15,30
E3	3,5	0,0	43,4	27,5	<1	49,8	28,3	5,8	11,16	8,45	3,54
E4	3,5	0,0	46,8	28,7	<1	61,4	24,5	4,1	3,59	14,84	8,34
E5	2,1	0,0	42,8	17,7	<1	52,0	1,7	3,8	32,72	34,18	24,38
F1	2,2	0,9	2,4	6,5	0,2	-	-	-	-	-	-
F2	4,1	1,7	22,6	23,1	0,8	-	-	-	-	-	-
F3	2,8	0,5	0,0	18,2	0,0	-	-	-	-	-	-

Les résultats obtenus confirment le fractionnement progressif des fibres :

1- Les prétraitements alcalins conduisent à des extrudats enrichis en cellulose : 46 et 61g de cellulose pour 100g de matière sèche dans E1 et E4 respectivement, ce qui correspond à 58 et 67% des fibres. L'extraction d'hémicelluloses, solubilisées par l'action de la soude, est confirmée par l'augmentation du rapport glucose/xylose dans les extrudats correspondants (glu/xyl : 1,33 et 1,63 dans E1 et E4 pour 1,25 initialement) et par la présence des pentoses majoritaires dans les filtrats F1 (près de 9g de xylose + arabinose pour 100g de matière sèche du filtrat) et surtout F3 (21g%gMS), du fait de la plus haute concentration en soude mise en œuvre, et du premier cycle de prétraitement. Une fraction importante de composés hydrosolubles autres que les sucres est extraite à chaque étape de prétraitement, mais l'efficacité de la séparation liquide-solide n'est pas totale : près de 8% de composés organiques solubles résiduels dans les extrudats E1 et E4, pour une quantité pratiquement équivalente de matière minérale correspondant essentiellement aux sels de phosphate générés lors de la neutralisation.

2- La première bioextrusion poursuit l'enrichissement en cellulose : 38,5% de cellulose par rapport à la matière sèche de E2 correspond à 65% par rapport à la fibre (alors qu'elle était de 58% dans la fibre de E1). Le taux d'hydrosolubles dans l'extrudat E2 augmente nettement (15,3% de MO soluble) traduisant l'effet hydrolytique des enzymes dans l'extrudeuse, en particulier sur les hémicelluloses : le rapport glucose/xylose dans l'extrudat E2 est de 1,69 pour un rapport cellulose/hémicellulose de 2,3. L'extraction et la séparation menée dans l'étape suivante d'extrusion conduit à l'entraînement d'une grande partie des hydrosolubles (3,5% de MO hydrosolubles résiduelles dans E3). L'efficacité de l'extraction dans cette étape s'explique en grande partie par un ratio liquide-solide plus élevé (L/S : 5,2) que précédemment mis en œuvre pour l'étape de prétraitement (L/S : 4,7). L'extraction des composés solubilisés s'accompagne de l'entraînement d'hémicelluloses (27g de pentoses pour 100g de la matière sèche du filtrat F2) mais aussi d'une petite fraction de cellulose partiellement hydrolysée (22g de glucose pour 100g de matière sèche dans le filtrat F2). Cette perte en cellulose explique pourquoi la teneur en cellulose par rapport à la fibre a légèrement diminué dans l'extrudat E3 (59g de cellulose pour 100g de fibre) par rapport à l'extrudat E2 (65g%).

3- La seconde bioextrusion provoque l'hydrolyse de la quasi-totalité des hémicelluloses résiduelles. Le taux d'hydrosolubles augmente considérablement dans l'extrudat E5 (près de 25% de MO hydrosoluble) ; et le rapport glucose/xylose est de 2,4 dans cet extrudat pour un rapport cellulose/hémicelluloses de 30, ce qui indique bien que les hémicelluloses sont sous forme solubilisées par l'hydrolyse enzymatique. Bien que la teneur en cellulose dans la matière sèche de l'extrudat E5 soit de 52%, du fait de la présence des composés solubilisés, la pureté en cellulose de la fibre insoluble atteint plus de 90%. Le lavage de cet extrudat conduirait donc bien à une fibre cellulosique fortement raffinée.

Les bilans matières en cellulose, hémicelluloses et lignines établis à partir de ces dosages (Figure IV-49) montrent que le rendement en fibre cellulosique purifiée à 90% est de 23% par rapport à la matière sèche du coproduit de maïs doux initial et de 59% par rapport au potentiel en cellulose qu'elle contient ; 15% de la cellulose sont extraits au filtrat du premier prétraitement, et 23% au filtrat d'extraction du premier bioextrudat. Plus de 97% des hémicelluloses sont extraites au cours du procédé, dont 41% au filtrat du premier prétraitement, 25% au filtrat de la séparation d'avec le premier bioextrudat, 8% au filtrat du second prétraitement et 22% sont hydrolysées lors de la seconde bioextrusion. Enfin, bien que la teneur en lignines dans les coproduits de maïs doux soit faible, le rendement de délignification est de 50%. Au total, 61% de la matière organique des coproduits de maïs doux ont été extraits et séparés dans les différents filtrats (28% dans F1, 27% dans F2 et 6% dans F3). Le bioextrudat E5 du coproduit de maïs doux, qui représente légèrement moins de 40% de la matière organique initiale, contient 57,2% de glucose sous forme de cellulose (52% de cellulose) et près de 2% d'autres sucres, dont le xylose majoritaire essentiellement sous forme d'hémicelluloses partiellement ou totalement hydrolysées (moins de 2% d'hémicelluloses insolubles au réactif NDF).

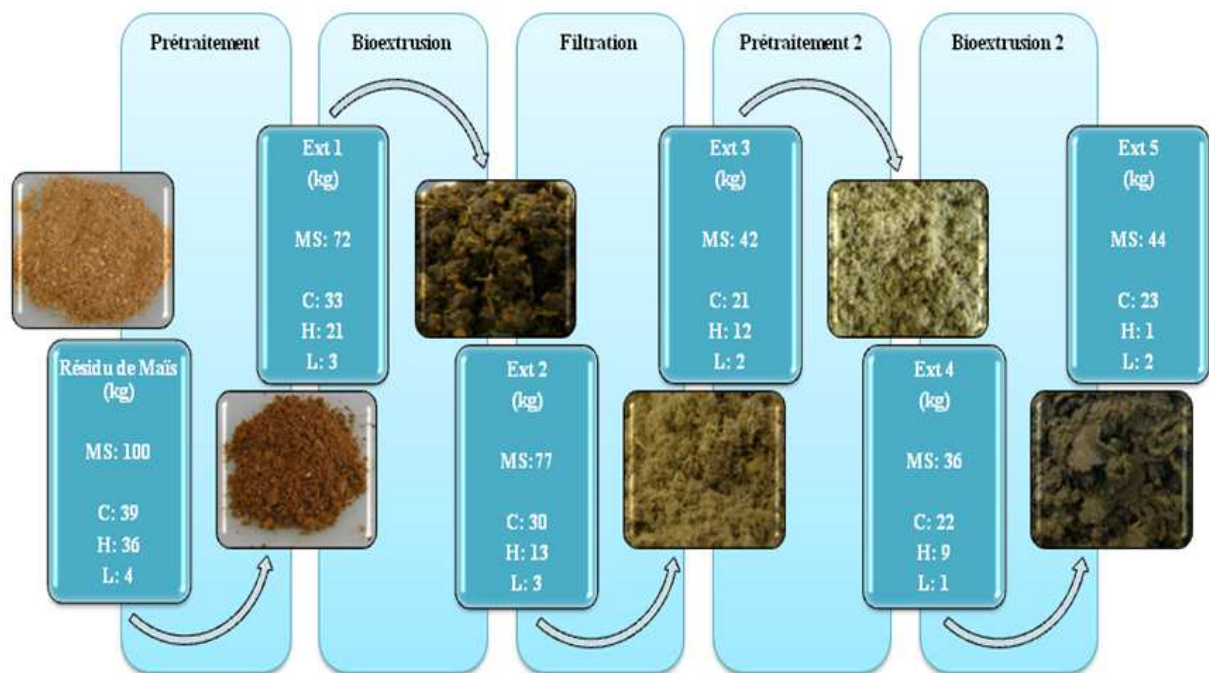


Figure IV-49: Bilan du fractionnement des coproduits de maïs doux rapporté à 100kg de matière sèche entrante

IV.3.2.2 Fractionnement étagé du Pinzote

Les conditions opératoires de chaque étape du fractionnement du Pinzote sont rassemblées dans le Tableau IV-15.

Tableau IV-15: Conditions opératoires du fractionnement étagé du Pinzote

Matière	Pinzote	Pinzote	Pinzote	Pinzote	Pinzote
Etape	Prétraitement 1	Bioextrusion 1	Extraction	Prétraitement 2	Bioextrusion 2
Extrudeuse	BC45	BC21	BC21	BC21	BC21
S _s (rpm)	200	200	250	300	250
Q _S (kg.h ⁻¹)	9,1	2,21	9,75	1,67	2,12
n	0,05	0,01	0,04	0,01	0,01
Q _{NaOH} (kg.h ⁻¹)	26,6	-	-	4	-
[NaOH] (%)(m/m)	4	-	-	4	-
Q _{H3PO4} (kg.h ⁻¹)	62,7	-	-	10	-
[H3PO4] (%) (m/m)	1,8	-	-	1,8	-
T° (°C)	42/96/48/49/98	22/39/40/41/41/3 6/41	27/33/36/36/4 3/-/67	22/52/105/100/50/ -/84	24/46/46/42/56/5 8/58
Q _{ext} (kg.h ⁻¹)	10,5	7,76	2,68	1,48	5,74
Q _{fil} (kg.h ⁻¹)	85,2	-	14,07	13,84	-
MS _{ext} (%)	66,9	24,5	65,2	52,2	24,1
NaOH/MS (%)	12,6	-	-	14,7	-
L/S	8,2	3,1	6,0	10,0	3,1
Q _t (kg.h ⁻¹)	-	5,42	7	-	3,53
[ez] (g.kg ⁻¹)	-	25	0	-	25
Q _{ez} (g.h ⁻¹)	-	135,5	0,0	-	88,3
ez/ms (%)	-	9,4	0	-	8,1

NaOH/MS : NaOH/matière sèche ; L/S : Liquide/solide phase ; S_s : Vitesse de vis ; Q_S : Débit entrée matière ; Q_{NaOH} : Débit entrée solution soude ; Q_{H3PO4} : Débit entrée solution acide ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [NaOH] : Concentration solution soude ; [H₃PO₄] : Concentration solution acide ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Elles ont été adaptées en fonction des résultats précédents (paragraphe III-1-4 et III-2) pour tenir compte du caractère plus fibreux et dur de cette matière, nécessitant plus d'énergie mécanique et des teneurs en soude plus élevées pour atteindre sa déstructuration.

Comme précédemment, le dosage des composés solubles, des hémicelluloses, lignines et de la cellulose, ainsi que de la composition en sucres (Tableau IV-16) permet de suivre l'enrichissement en cellulose des fibres dans l'extrudat et l'entraînement des sucres aux filtrats :

Etude de l'hydrolyse enzymatique des coproduits lignocellulosiques prétraités, en extrudeuse bi-vis

Tableau IV-16: Composition en monosaccharides, en composés pariétaux, en hydrosolubles et en organiques solubles des extrudats et filtrats du fractionnement étagé du Pinzote

% (ms)	Arab	Gal	Glu	Xyl	Man	C	H	L	Organiques solubles au NDF	Hydrosolubles	Organiques solubles
Pinzote	2,0	1,1	40,0	23,8	<1	44,2	24,5	19,2	8,97	6,72	3,51
E1	0,0	0,0	50,5	33,1	<1	53,1	23,0	21,4	0,00	2,47	0,86
E2	0,0	0,0	39,8	21,8	<1	37,9	14,0	15,6	24,43	12,27	4,15
E3	0,0	0,0	45,8	25,5	<1	49,8	21,1	22,4	5,54	4,14	2,99
E4	0,0	0,0	49,0	26,4	<1	55,5	21,4	18,5	2,51	6,82	4,71
E5	0,0	0,0	40,5	15,3	<1	44,2	6,6	17,0	25,67	13,04	6,44
F1	2,6	1,6	2,9	6,1	0,7	-	-	-	-	-	-
F2	1,1	1,1	11,3	11,7	1,7	-	-	-	-	-	-
F3	0,5	0,2	1,8	8,0	0,5	-	-	-	-	-	-

- L'enrichissement en cellulose des fibres insolubles est plus faible que celui observé pour le coproduit de maïs doux (50,3 ; 54,5 ; 56,6 ; 53,3 ; 58,2 et 62,2g de cellulose pour 100g de matière sèche de fibre respectivement pour le Pinzote, E1, E, E3 , E4 et E5) Cette différence de comportement est liée à la plus faible extraction des lignines aux différentes étapes du procédé. Dans le bioextrudat E5, le rapport cellulose/lignines (2,6) est très voisin de celui dans le Pinzote initial (2,3). Les hémicelluloses sont par contre progressivement solubilisées, mais de façon beaucoup plus sensible lors de la seconde bioextrusion (6,6% d'hémicelluloses dans la matière sèche du bioextrudat E5, soit moins de 10% par rapport à la fibre, alors qu'elle était de 28% dans la fibre de Pinzote initiale).

- La structure fibreuse du Pinzote est propice à l'efficacité de la séparation liquide-solide, comme en témoigne les faibles taux d'hydrosolubles des extrudats E1, E et E4 issus d'une filtration en extrudeuse bi-vis. Mais les taux d'hydrosolubles dans les bioextrudats E2 et E5, plus faibles que dans le cas du maïs doux, indiquent que l'hydrolyse enzymatique dans l'extrudeuse bi-vis est moins opérante.

- Les filtrats contiennent tous du xylose et d'autres sucres traduisant la présence d'hémicelluloses partiellement hydrolysées, mais aussi du glucose, en particulier dans le filtrat F2, traduisant l'entraînement d'une fraction de cellulose.

Au bilan matière (Figure IV-50), 61% de la matière organique du Pinzote sont extraites aux différents filtrats (16% dans F1, 21% dans F2, 24% dans F3).

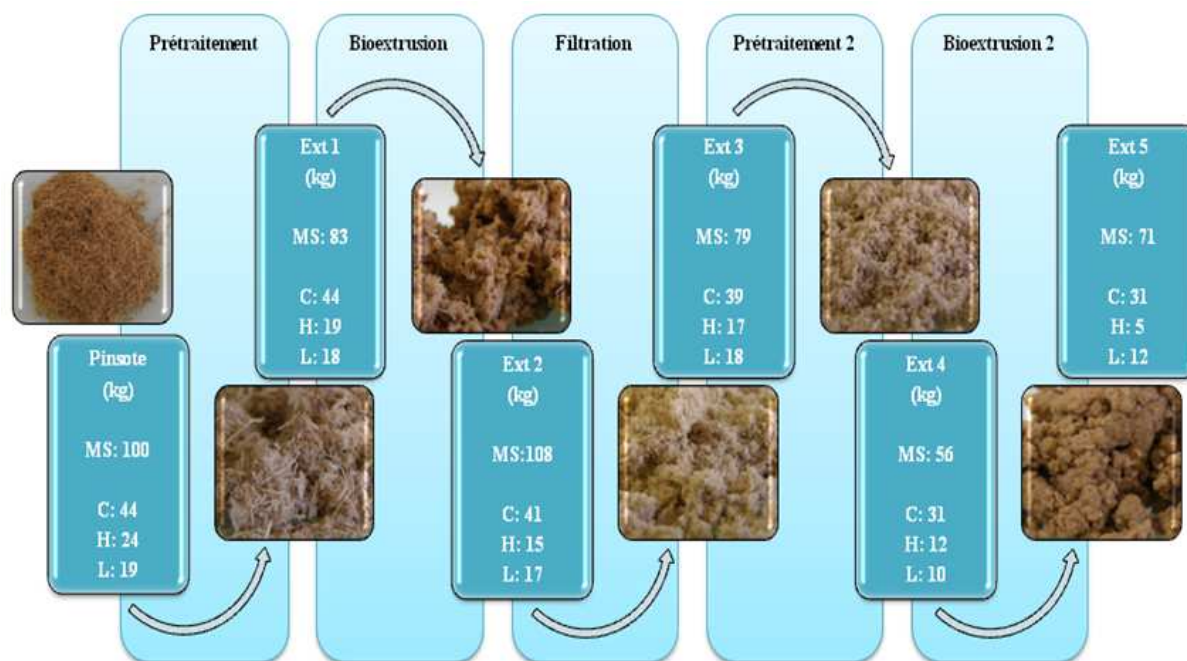


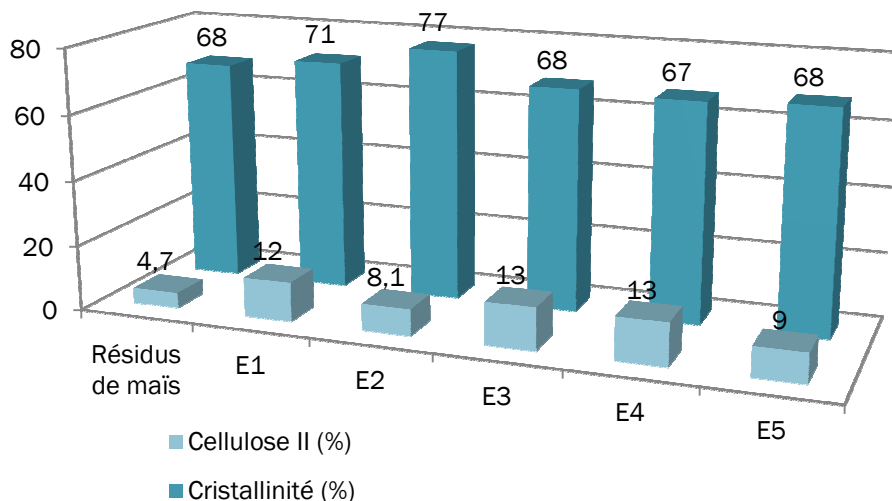
Figure IV-50: Bilan du fractionnement du Pinzote rapporté à 100kg de matière sèche entrante

La fibre partiellement raffinée à plus de 65% de cellulose, représente 55% de la fibre du Pinzote de départ, avec une perte en cellulose de 29% (dont 11% dans le filtrat F2 et 18% au filtrat F3) et la solubilisation de près de 80% des hémicelluloses (20% au filtrat F1, 16% au filtrat F2, 12,5% au filtrat F3 et 29% dans le bioextrudat E5). Le rendement de délignification est de 37%, surtout sensible à la seconde étape de prétraitement (42% extrait au filtrat F3). Le bioextrudat E5 du Pinzote contient 40,5% de glucose sous forme de cellulose (44% de cellulose) et 15% de xylose sous forme d'hémicelluloses solubilisées mais non hydrolysées (6,6% d'hémicelluloses insolubles au réactif NDF).

IV.3.2.3 Conclusion sur le fractionnement étagé des coproduits lignocellulosiques

La combinaison d'un prétraitement chimique avec un traitement enzymatique en extrudeuse bi-vis configurée en contacteur-extracteur-séparateur permet de définir un nouveau procédé de fractionnement thermomécanochimioenzymatique très efficace pour le raffinage de la cellulose des coproduits lignocellulosiques. Continu et très rapide (moins de 5 minutes par étape du fractionnement), il conduit à une fibre cellulosique dont la pureté en cellulose est supérieure à 90% dans le cas du modèle de fibre ligno-hémicellulo-cellulosique faiblement

lignifié que constitue le coproduit de maïs doux. Dans ce cas, l'extraction des hémicelluloses avec un rendement quasi quantitatif n'affecte pas outre mesure la qualité de la cellulose isolée après lavage et séchage, puisque sa cristallinité, mesurée tout au long du process (analyses réalisées à l'UCR) (Figure IV-51), reste équivalente à celle dans le coproduit de maïs doux (68%), exception faite du premier bioextrudat (E2 : 77%) pour lequel l'action enzymatique des cellulases éliminerait en premier lieu les zones amorphes de la cellulose.



Conditions opératoires : voir Tableau IV-13

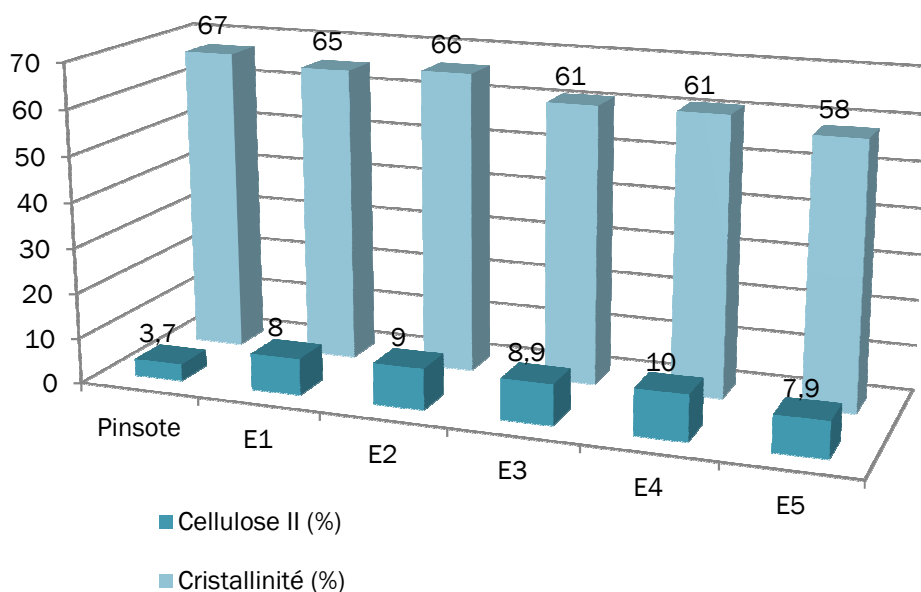
Figure IV-51: Evolution de la cristallinité et du taux de cellulose II des extrudats de coproduit de maïs doux au cours des étapes du procédé de fractionnement étagé

L'évolution du taux de cellulose II, qui augmente significativement dès la première étape de prétraitement alcalin (12% de cellulose II dans E1) peut néanmoins être considérée comme un indice de la déstructuration partielle de l'édifice microfibrillaire au cours du procédé, favorable à l'accessibilité aux enzymes cellulosiques : sa légère diminution dans les bioextrudats E2 et E5 traduirait l'effet d'hydrolyse enzymatique de la cellulose dans les zones amorphes.

Dans le cas du modèle de fibre lignocellulosique plus fortement lignifiée que constitue le Pinzote, le fractionnement étagé par chimio et bioextrusion s'avère moins efficace pour le raffinage de la cellulose, obtenue cependant avec un gain de pureté de 15% par rapport à la fibre de Pinzote. Bien que les hémicelluloses soient extraites avec un rendement de 80%, ce sont les lignines résiduelles qui représentent 50% de lignines initiales, qui pénalisent la pureté en cellulose de la fibre raffinée.

La répétition d'un étage du fractionnement pourrait dans ce cas permettre d'améliorer le résultat. Les conditions opératoires requises pour le fractionnement de cette fibre beaucoup plus résistante que la fibre de coproduit de maïs doux, aux attaques chimiques et enzymatiques et à la déstructuration thermomécanique (Energie Mécanique Spécifique plus

élevée dans l'extrudeuse bi-vis) se traduisent par une dégradation progressive de la structure cristalline des fibres cellulosiques isolées (Figure IV-52) : dans le second bioextrudat, la cristallinité de la cellulose a diminué de 11% par rapport à celle mesurée pour le Pinzote initial.



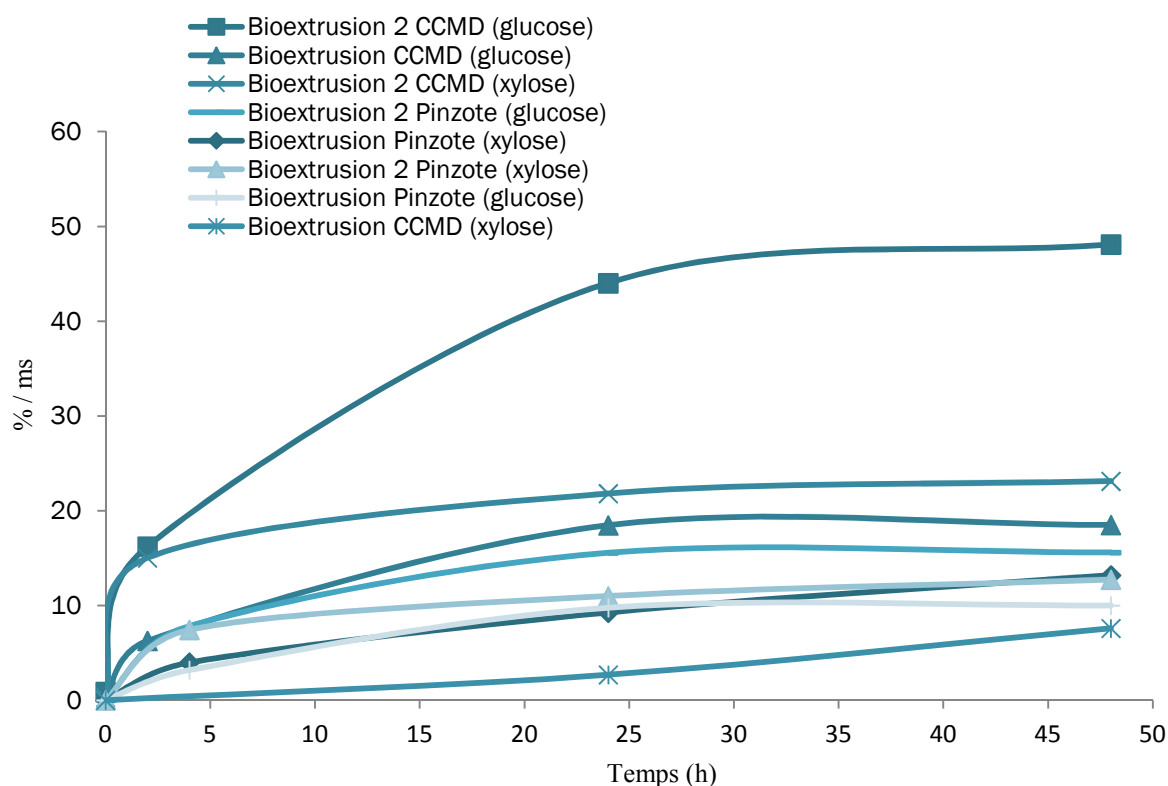
Conditions opératoires : voir Tableau IV-15

Figure IV-52: Evolution de la cristallinité et du taux de cellulose II des extrudats de Pinzote au cours des étapes du procédé de fractionnement étagé (analyses réalisées par l'UCR)

L'évolution du taux de cellulose II reste cependant similaire à celle dans le cas du coproduit de maïs doux, indiquant que la déstructuration des fibres procède des mêmes mécanismes.

La pureté et la cristallinité de la cellulose sont de bons indices de qualité des fibres obtenues par raffinage des coproduits lignocellulosiques pour des applications de ces fibres dans le domaine des matériaux. Mais dans la perspective d'une adaptation du procédé pour la saccharification et la fermentation éthanolique des polysaccharides, il n'en est pas forcément de même : l'hydrolyse enzymatique des polysaccharides peut être mesurée directement sur les bioextrudats, et l'état de déstructuration des fibres est plutôt considéré comme un indice favorable pour l'hydrolysabilité.

Les essais d'hydrolyse enzymatique des bioextrudats E2 et E5 obtenus avec le coproduits de maïs doux et le Pinzote (Figure IV-53) confirment leur hydrolysabilité par les enzymes introduites dans l'extrudeuse bi-vis, en conditions diluées (9% de consistance).



Conditions opératoires : voir Tableau IV-13 et Tableau IV-15

Figure IV-53: Glucose et xylose libérés par hydrolyse enzymatique des bioextrudats E2 et E5 obtenus par fractionnement étagé du maïs doux et du Pinzote

Comme précédemment établi (paragraphe IV-2-4), le traitement de bioextrusion accélère la cinétique de libération des monosaccharides, et en particulier du glucose. Au premier traitement de bioextrusion, 21%/MS et 20%/MS de sucres (glucose + xylose) sont libérés au bout de 24h à partir des bioextrudats E2 de maïs doux et de Pinzote. L'hydrolyse se poursuit pour atteindre 26%/MS et 24%/MS au bout de 48h. Compte tenu de la composition en monosaccharides de ces bioextrudats (Tableau IV-14 et Tableau IV-16) les rendements d'hydrolyse obtenus dans ces conditions opératoires, pour un étage de prétraitement et de bioextrusion, sans séparation liquide-solide, seraient respectivement pour le coproduit de maïs doux et le Pinzote, de 50 et 25% par rapport au glucose potentiel, et de 35 et 60% par rapport au xylose potentiel.

Le second étage de traitement (Prétraitement 2 et Bioextrusion 2), après séparation liquide-solide en extrudeuse du bioextrudat E2, améliore nettement l'hydrolysabilité : au bout de 24h 61%/MS de sucres sont libérés à partir du bioextrudat E5 de maïs doux, et 26 et 28%/MS de sucres sont libérés dans le cas du Pinzote au bout de 24 et 48h. Le second étage de fractionnement apporte donc une accessibilité totale aux enzymes pour l'hydrolyse de la cellulose raffinée, avec un rendement d'hydrolyse de 92% par rapport au glucose et de 100%

par rapport au xylose contenu dans l'extrudat E5. Dans le cas du Pinzote, l'amélioration nette des rendements ne correspond néanmoins pas encore à une hydrolysabilité totale (rendement de 31% en glucose et 100% en xylose par rapport au potentiel présent dans E5 du Pinzote). Ce résultat est conforme au moindre raffinage obtenu dans le cas du Pinzote, qui contient encore 25% de lignine dans la fibre de l'extrudat E5.

Il est intéressant de rapporter ces résultats d'hydrolysabilité et de composition obtenus dans le cas du fractionnement du Pinzote sur le graphique représentant l'effet barrière de la lignine en fonction de l'holocellulose (chapitre II-4) (Figure IV-54).

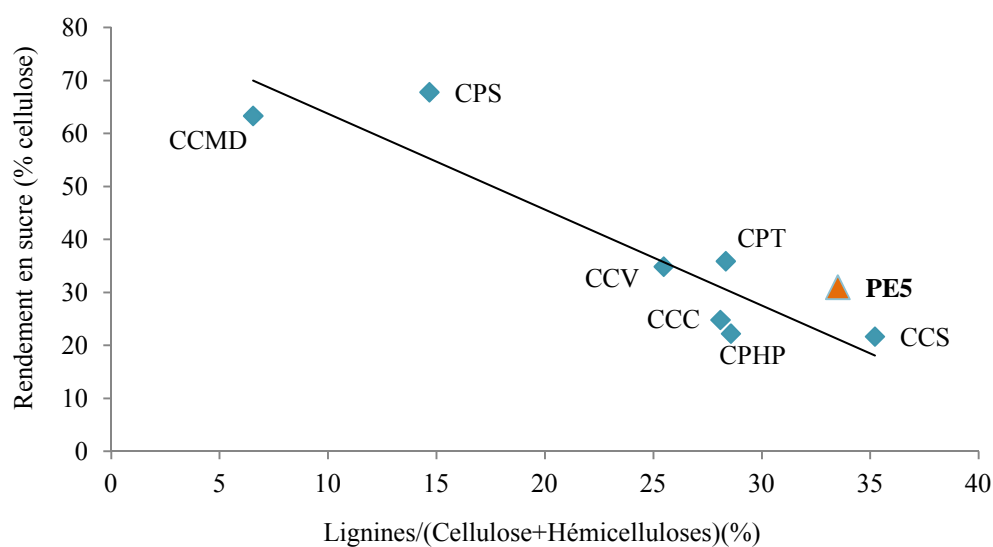


Figure IV-54: Insertion des résultats sur le fractionnement du Pinzote sur l'évolution de l'hydrolysabilité de la cellulose dans les coproduits lignocellulosiques étudiés en fonction du ratio lignines/holocellulose

Les résultats obtenus confirment l'effet barrière de la lignine sur l'hydrolysabilité des coproduits lignocellulosiques. En effet le Pinzote raffiné par le fractionnement étagé est toujours situé dans la tendance instaurée par la composition des matières lignocellulosiques. Notons également que le Pinzote raffiné se trouve décalé par rapport à la régression linéaire du même ordre que les bagasses d'agave et de canne à sucre (les deux seules matières ayant subi un traitement thermomécanique).

Il apparaît donc qu'un nouvel étage du fractionnement pourrait permettre d'améliorer ce résultat. Une alternative serait aussi d'intensifier la délignification du Pinzote par introduction de réactifs susceptibles de dégrader la lignine lors du prétraitement (agent oxydant) ou d'une activité lignolytique (laccase et peroxydase) dans le cocktail enzymatique de la bioextrusion ; Rappelons cependant que le premier étage de fractionnement par prétraitement et bioextrusion dans les conditions des essais réalisés permet d'ores et déjà d'améliorer l'hydrolysabilité du

Pinzote de 25% avec un rendement en glucose de 10% par rapport à la matière sèche du Pinzote et de 13% en xylose libéré.

Dans le cas du coproduit de maïs doux, l'hydrolysabilité totale du bioextrudat E5, et surtout le gain d'hydrolysabilité par rapport à celle du bioextrudat E2 laisse supposer que les conditions opératoires du second étage de prétraitement (18% de NaOH par rapport à la matière sèche et 6,8% de taux d'enzymes) ne sont pas indispensables. Un essai de fractionnement étagé mené pour des taux de soude plus faibles pour le second prétraitement (10%NaOH/MS) et une charge enzymatique diminuée de 24% et 63% pour la première et la seconde bioextrusion (Tableau IV-17) a confirmé cette possibilité (Tableau IV-18).

Tableau IV-17: Conditions opératoires du fractionnement étagé du coproduit de maïs doux pour un taux de soude et taux d'enzymes minimisés

Matière	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs	Maïs
Etape	Prétraitement 1	Bioextrusion 1	Extraction	Prétraitement 2	Bioextrusion 2
Extrudeuse	BC45	BC21	BC21	BC21	BC21
S_s (rpm)	110	250	250	250	250
Q_s (kg.h ⁻¹)	10,1	4,55	7,48	10	8,3
n	0,09	0,02	0,03	0,04	0,03
Q_{NaOH} (kg.h ⁻¹)	9,3	-	-	4	-
[NaOH] (%) (m/m)	10	-	-	8	-
$Q_{H_3PO_4}$ (kg.h ⁻¹)	32,7	-	-	11,7	-
[H ₃ PO ₄] (%) (m/m)	2,8	-	-	2,6	-
T° (°C)	46/95/38/48/36	20/21/25/30/36/39/44	-	20/44/80/98/48/48/48	21/37/34/38/37/38/38
Q_{ext} (kg.h ⁻¹)	27	6,28	5,03	8,29	10,77
Q_{fil} (kg.h ⁻¹)	24,9	-	7,21	16,29	-
NaOH/MS (%)	10,1	-	-	10,9	-
L/S	3,7	2,8	5,3	6,2	3,1
Q_t (kg.h ⁻¹)	-	1,69	5	-	2,41
[ez] (g.kg ⁻¹)	-	25	0	-	25
Q_{ez} (g.h ⁻¹)	-	42,3	0,0	-	60,3
ez/ms (%)	-	2,6	0	-	2,5

b/ms : NaOH/matière sèche ; L/S_b : Liquide/solide phase déstructuration ; L/S_a : Liquide/solide phase neutralisation ; L/S_{ez} : Liquide/solide bioextrusion ; S_s : Vitesse de vis ; Q_m : Débit entrée matière ; Q_b : Débit entrée solution soude ; Q_a : Débit entrée solution acide ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; n : Taux de remplissage de la bi-vis ; [b] : Concentration solution soude ; [a] : Concentration solution acide ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Tableau IV-18: Comparaison des bilans matière entre les anciennes conditions et les conditions minimisées

Etape	Brut	Prétraitement 1	Bioextrusion 1	Extraction	Prétraitement 2	Bioextrusion 2	
Anciennes conditions (kg)	MS	100	87	90	61	53	65
	OM	96	78	80	58	50	59
	C	39	38	34	30	32	34
	H	36	24	15	17	13	1
	L	4	3,5	3,5	3	2	2
	Organiques solubles	13	8	14	14	4	16
Conditions raisonnées (kg)	MS	100	97	106	80	66	71
	OM	96	87	93	73	59	63
	C	39	40	36	36	34	32
	H	36	28	15	13	14	12
	L	4	<1	<1	<1	<1	<1
	Organiques solubles	13	13	39	19	9	18

La première bioextrusion libère 36% d'hémicelluloses, malgré un taux d'enzymes réduit (2,6%) qui sont extraites au filtrat F2 ; avec une perte en cellulose moindre (92% de cellulose récupérée à l'extrudat 3).

Le second prétraitement, réalisé au même taux de soude que le premier (10%) ne modifie pratiquement pas la composition des fibres et la seconde bioextrusion, réalisée avec un taux d'enzymes équivalent à la première, bien qu'elle augmente le taux de matière organique soluble, n'extrait que peu d'hémicelluloses.

Au bilan, les fibres du bioextrudat 5 sont moins raffinées (72% de cellulose dans la fibre) du fait de la présence d'une plus forte proportion d'hémicelluloses résiduelles. Le second étage de fractionnement apparaît alors peu efficace avec ces taux de soude et d'enzymes réduits, puisque la pureté en cellulose dans la fibre du premier bioextrudat (E2) est déjà de 70%, et de 73% après séparation (E3). L'hydrolysabilité du premier bioextrudat (E2) s'élève à 46% de glucose par rapport à la cellulose et à 72% de xylose par rapport aux hémicelluloses tandis que celle du deuxième bioextrudat (E5) atteint respectivement 73 et 78% par rapport à la cellulose et aux hémicelluloses du bioextrudat. Ces rendements sont logiquement plus faibles que ceux obtenus à plus forts taux de soude et d'enzymes, ce qui confirme un effet moins destructurant de la soude et une accessibilité moindre aux enzymes présentes en plus faible quantité.

Bien qu'une optimisation des conditions opératoires du second étage de fractionnement pourrait permettre en fonction du gain d'hydrolysabilité des bioextrudats, de minimiser effectivement le taux de soude et le taux d'enzymes, nous avons retenu uniquement le premier étage de fractionnement pour l'étude de l'intégration des deux étapes de prétraitement et de bioextrusion en une seule extrudeuse bi-vis de taille pilote.

V Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

Suivant une logique d'industrialisation du nouveau procédé de bioextrusion des matières lignocellulosiques en vue de leur saccharification et de leur fermentation éthanolique, avec la volonté d'exploiter au mieux les qualités d'adaptabilité de la technologie d'extrusion bi-vis, ce chapitre sera consacré à l'étude de l'intégration la plus complète possible des opérations définissant ce procédé, en une seule étape d'extrusion bi-vis.

L'étude de la compaction des opérations de prétraitement alcalin, de neutralisation, d'extraction et séparation liquide-solide, et d'imprégnation enzymatique sera développée dans un premier temps pour le coproduit de maïs doux. Elle est effectuée à une échelle pilote industriel sur une extrudeuse de type EVOLUM 53, à partir des résultats acquis pour chaque opération menée séparément sur les installations expérimentales (Extrudeuses BC45 et BC21). Elle permettra de valider l'enchaînement des opérations en continu, depuis l'introduction contrôlée des matières jusqu'au bioextrudat apte à la saccharification et la fermentation, étudiée par l'INSA. Puis, le procédé de bioextrusion continu sera étendu au traitement des autres coproduits lignocellulosiques modèles sélectionnés dans ce travail. Enfin, les données économiques et d'impact environnemental d'une extrapolation du procédé réalisé par la société MAGUIN et la société APYGEC à partir de nos résultats acquis pour le coproduit de maïs doux seront analysées.

V.1 Intégration du procédé en une étape d'extrusion bi-vis à l'échelle pilote industriel

V.1.1 Compaction du procédé en une seule extrudeuse bi-vis

L'objectif de la compaction du procédé est la réalisation d'une unique étape d'extrusion dans laquelle sont enchaînées toutes les opérations préalablement étudiées. Le prétraitement alcalin, la neutralisation, l'extraction-séparation par filtration ainsi que l'imprégnation enzymatique mis au point en extrudeuses BC45 et BC21 doivent être réunis dans une seule extrudeuse bi-vis (Figure V-1).

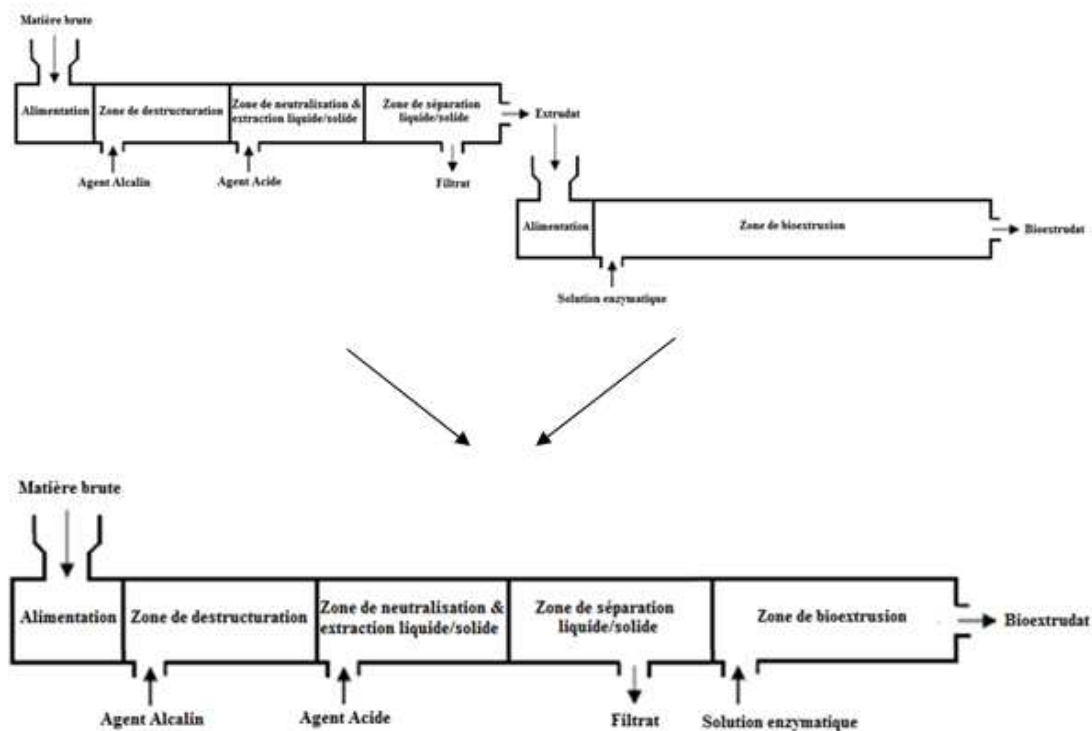


Figure V-1: Compaction du procédé de bioextrusion des matières lignocellulosiques en une seule extrudeuse bi-vis

Cette compaction permet d'obtenir un procédé continu de transformation de la biomasse brute en matière pré-hydrolysée prête à alimenter les différents procédés de saccharification et fermentation des sucres, comme par exemple la saccharification-fermentation simultanée (SSF). Pour cela en un passage dans l'extrudeuse bi-vis, la matière doit être déstructurée par l'action d'un agent alcalin, neutralisée par une solution acide, puis séparée de ses composés extraits par filtration, pour finalement être bioextrudée grâce à l'injection d'une solution enzymatique. La mise en œuvre de toutes ces étapes nécessite plusieurs adaptations dont les conséquences doivent être évaluées :

- Une organisation modifiée de la configuration de l'extrudeuse (emplacement des buses d'injection et du module filtrant, profil de vis) résultant de l'augmentation du nombre d'étapes successives. L'alimentation en solide du fourreau de l'extrudeuse bi-vis nécessite un module d'introduction. Le prétraitement mis au point sur l'extrudeuse bi-vis BC45 s'étalait sur les 6 modules restants, mais le dernier module pourrait être consacré à l'injection de la solution enzymatique. Dans l'extrudeuse bi-vis BC21 mise en œuvre pour étudier l'imprégnation enzymatique et une séparation liquide-solide, les résultats obtenus ont montré que la mise en contact avec la matière prétraitée était suffisamment efficace en 3 modules pour provoquer une déstructuration et l'hydrolyse partielle des polysaccharides. Au total, un fourreau d'extrudeuse comportant 9 modules de fourreau devrait permettre de réaliser toutes ces étapes successives de prétraitement et d'imprégnation des enzymes, sans séparation

liquide-solide finale. L'impact d'une telle réduction du nombre de module (de 14 à 9) sur les temps de séjour dans le fourreau de l'extrudeuse devra être évalué.

- Des adaptations de débits d'entrée de solides et liquides dues à la modification des ratios liquide/solide par l'injection d'une solution supplémentaire dans le fourreau. En effet ces changements de ratios liquide/solide dans les différentes zones du fourreau peuvent être à l'origine de l'instabilité du fonctionnement de l'extrudeuse. L'injection supplémentaire de la solution enzymatique située juste après l'emplacement de formation du bouchon dynamique, peut provoquer une déstabilisation du régime en réhydratant, voire en noyant, le bouchon si les débits d'entrée et les ratios ne sont pas adaptés.

V.1.2 Description de l'extrudeuse bi-vis pilote

L'extrudeuse bi-vis utilisée pour la réalisation de cette compaction est du type CLEXTRAL EVOLUM 53 (Figure V-2) (partie expérimentale n°P.E.4), à vis co-rotatives et co-pénétrantes. C'est une extrudeuse modulaire, dimensionnable pour des applications industrielles d'extrusion de petites et moyennes capacités de production (100 à 700kg.h⁻¹ de matière traitées).

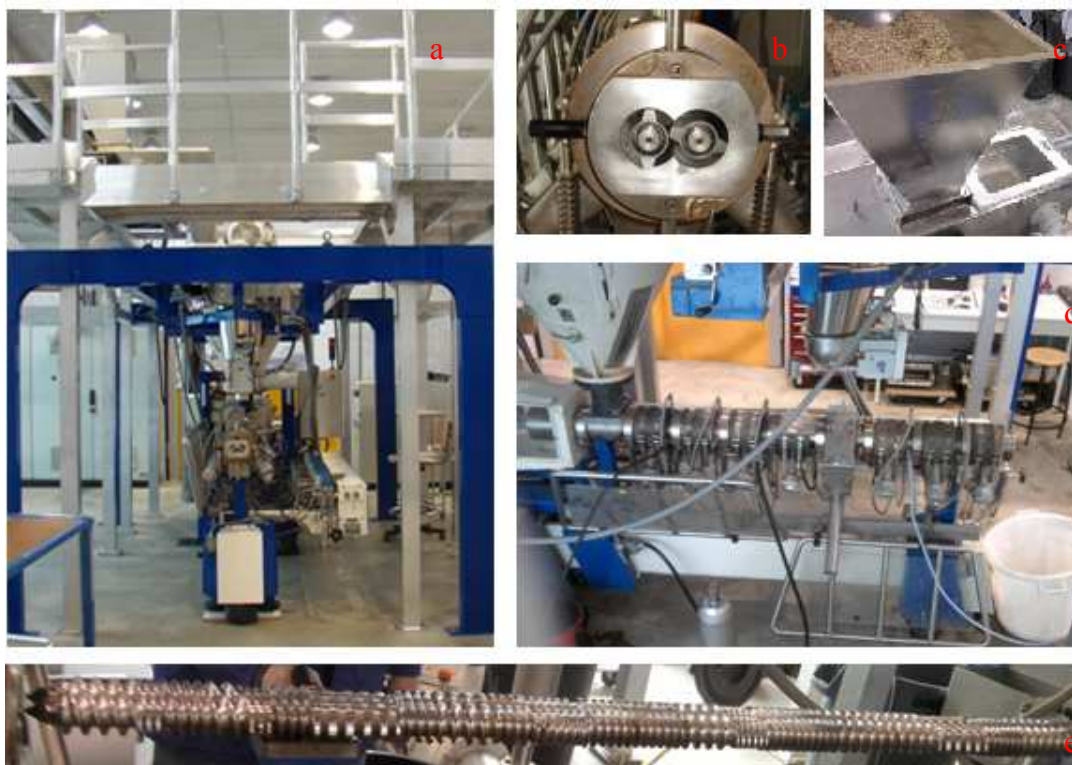


Figure V-2: Extrudeuse bi-vis Clextral Evolum 53
a : Vue de face, b : Sortie de l'extrudeuse, c : Trémie à bande, d : vue de profil, e : profil de vis

L'installation pilote mise en œuvre pour cette étude a la capacité de traiter jusqu'à $150\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$ de biomasse, alimentée par un doseur pondéral à bande de type SWB-300-N (KTron) dont la capacité atteint $200\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$. La matière ainsi dosée est introduite dans un densifieur de type 100 KSW (Kreyenberg) pour permettre son introduction forcée dans le premier module de l'extrudeuse bi-vis.

Le fourreau comporte neuf modules de 212.60mm de long et le diamètre des vis est de 52.45mm. Les modules, exceptés pour l'alimentation et la filtration, sont thermorégulés (chauffage électrique et refroidissement à eau). Le module 6 de filtration est composé de six plaques hémisphériques dont les dimensions des perforations coniques sont de 1mm en entrée et 2mm en sortie. Trois pompes (DKM Super K Camp112/12, DKM Super MD-PP-63, et DKM K202 P32) sont utilisées pour introduire la solution alcaline au module 2, la solution acide au module 4 et la solution enzymatique au module 7 (Figure V-3).

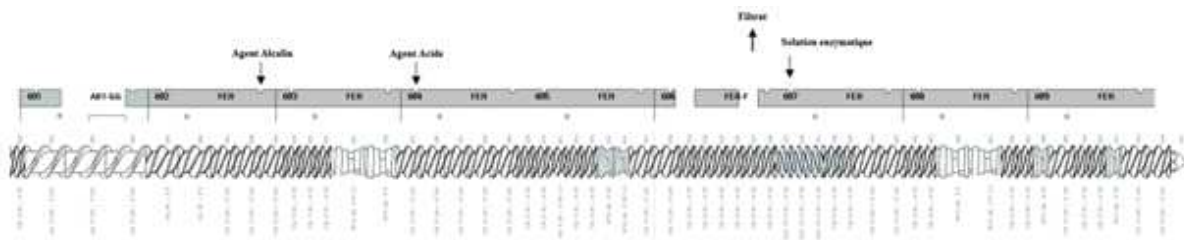


Figure V-3: Configuration de l'extrudeuse Evolum 53 mise en œuvre pour l'étude de la compaction du procédé de bioextrusion des matières lignocellulosiques

La vitesse de vis, l'introduction de matière, les débits de pompe et les températures sont commandés par l'automate à commande tactile FITSYS « PLUS ».

Trois sondes température et pression, placées aux modules 4, 7 et 9 permettent de contrôler les valeurs de température et de pression imposées aux matières dans le fourreau de l'extrudeuse (Figure V-4).

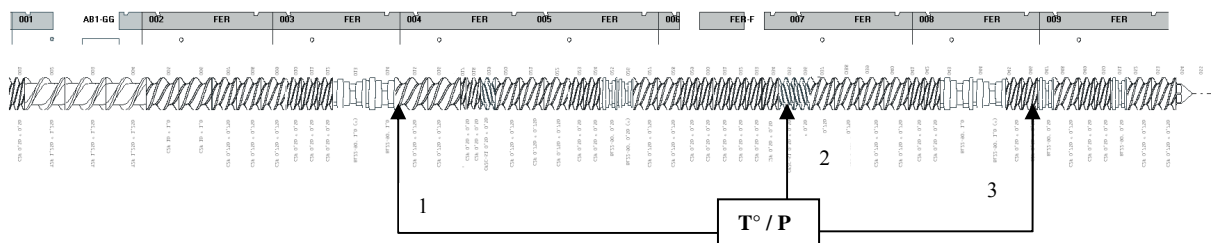


Figure V-4: Emplacement des sondes de température et pression matière dans l'extrudeuse bi-vis EV53 mise en œuvre pour l'étude

La sonde n°1 est située au niveau du prétraitement, après les éléments restrictifs. Elle permet de vérifier la pression appliquée sur la matière avant l'injection de la solution acide. La sonde n°2 est située sur le contrefilet en aval de la filtration et permet le contrôle de la pression et de

la température, corrélables à l'auto-échauffement de la matière. La sonde n°3 au niveau de la bioextrusion permet de contrôler que la pression et la température au niveau des zones de contrainte restent faibles et ne risquent pas de dénaturer les enzymes.

V.1.3 Mise en œuvre du procédé de bioextrusion du coproduit de maïs doux sur l'installation pilote

V.1.3.1 Introduction de la matière dans le fourreau de l'extrudeuse bi-vis

L'introduction de matières lignocellulosiques dans le fourreau d'une extrudeuse bi-vis est limitée par la capacité d'avalement de la machine, liée aux caractéristiques dimensionnelles des éléments de vis installés dans le module d'alimentation (vis trapézoïdales de faible pas : T2F 1,25x1,25 dans notre cas) et aux dimensions et densité de la matière. Par ailleurs l'écoulement de cette matière dans une trémie d'alimentation et son dosage par un système de convoyage vers l'introduction dans l'extrudeuse sont aussi des facteurs limitants pour le contrôle du débit d'alimentation.

A l'échelle laboratoire, la trémie du doseur à vis d'introduction des matières dans l'extrudeuse BC45, équipée d'un arbre mélangeur, provoquait un classement des différentes fractions du coproduit de maïs doux (fibres de spathe et particules de rafle). Il en résultait une variation du débit d'alimentation. La réduction de la granulométrie par broyage à 2mm, minimisant la différence de taille entre particules et fibres, a permis de pallier ce problème. Au stade de pilote, l'utilisation d'un doseur pondéral à bande, qui ne classe pas les matières, couplée au densifieur, autorise le passage de matières plus hétérogènes avec une granulométrie plus élevée. La granulométrie du coproduit de maïs doux a donc été fixée à 6mm pour ces essais en pilote.

V.1.3.2 Adaptation du profil de vis installé dans le fourreau de l'extrudeuse EV53

Le profil de vis installé dans le fourreau de l'extrudeuse EV53 (Figure V-5) dérive directement des profils de vis mis en œuvre lors de l'étude du prétraitement alcalin, de la neutralisation et de la séparation liquide-solide en extrudeuse bi-vis BC45 (Figure III-9) ainsi que de l'imprégnation des enzymes en extrudeuse BC21 (Figure IV-9).

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

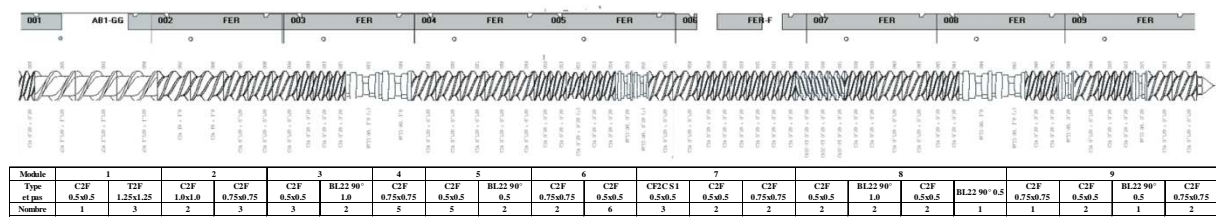


Figure V-5: Profil de vis mis en œuvre pour les essais pilote de bioextrusion du coproduit de maïs doux sur l'installation pilote EVOLUM 53

Il comporte cinq éléments de mélange malaxeurs bilobes BC22 montés avec un angle de 90°, un pour l'attaque alcaline en module 3, un pour la neutralisation en module 5 et trois pour la bioextrusion en module 8 et 9. Il comporte aussi un contrefilet CF2C installé au début du module 7 pour assurer le passage de la matière et la séparation d'un filtrat au module 6. La mise en œuvre d'un contrefilet CF2C supplémentaire dans le module 4, comme élément restrictif assurant un défibrage et un mélange de la matière plus intense s'est traduite par une instabilité de la filtration au module 6 : la matière, trop déstructurée, franchit trop facilement le second contrefilet du module 7 et le bouchon dynamique est instable.

V.1.3.3 Conditions opératoires et résultats de la bioextrusion pilote du coproduit de maïs doux

Les conditions opératoires de fractionnement de l'extrudeuse bi-vis pilote sont rassemblées dans le Tableau V-1.

Le débit d'introduction du coproduit de maïs doux broyé à 6mm est fixé à 33kg.h⁻¹, correspondant à 30kg.h⁻¹ de matière sèche entrante, et la vitesse de rotation des vis est fixée à 200tours.min⁻¹, correspondant à un Q/S traduisant le remplissage global du fourreau de 0,16. Le taux de soude introduite au premier point d'injection (module 2) est de 10%, et celui en acide phosphorique est de 10,5%, avec un ratio liquide/solide total de 3,2 par rapport au coproduit de maïs doux entrant.

Le cocktail enzymatique introduit pour la bioextrusion est l'Advanced enzymes (90%) complété par 10% du Viscozyme, à une concentration de 30g.l⁻¹ dans une solution tampon de citrate de sodium à 300mM. Le taux d'enzymes injectées est de 1,5% et le ratio liquide/solide de 3,5. Ces conditions opératoires, limitant le taux d'enzymes et les ratios liquide/solide sont proches de celles des essais réalisés en extrudeuse BC45 et BC21 (Tableau III-19 et Tableau IV-8).

Tableau V-1: Conditions opératoires de l'extrusion pilote

Matière	Coproduit de maïs doux
Granulométrie (mm)	6
S _s (rpm)	200
Q _s (kg.h ⁻¹)	33
Q/S	0,16
Q _{NaOH} (kg.h ⁻¹)	30,0
[NaOH] (%) (m/m)	10,0
Q _{H3PO4} (kg.h ⁻¹)	90,0
[H ₃ PO ₄] (%) (m/m)	3,5
Q _t (kg.h ⁻¹)	17,0
Q _{ez} (kg.h ⁻¹)	0,42
Q _{ext} (kg.h ⁻¹)	104,0
Q _{fil} (kg.h ⁻¹)	61,0
MS _{ext} (%)	27,2
NaOH/MS (%)	10,0
ez/ms (%)	1,5
L/S _b	0,9
L/S _a	3,2
L/S _{ez}	3,5

NaOH/MS : NaOH/matière sèche ; L/S_b : Liquide/solide phase déstructuration ; L/S_a : Liquide/solide phase neutralisation ; L/S_{ez} : Liquide/solide bioextrusion ; S_s : Vitesse de vis ; Q_s : Débit entrée matière ; Q_{NaOH} : Débit entrée solution soude ; Q_{H3PO4} : Débit entrée solution acide ; Q_t : Débit entrée solution enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; Q/S : Taux de remplissage de la bi-vis ; [b] : Concentration solution soude ; [a] : Concentration solution acide ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Dans ces conditions, le rendement de séparation du filtrat neutralisé est de 1,8kg/kg de coproduit introduit, contenant 11,3% de matière sèche, dont 7,3% de matière organique et 3,9% de matière minérale, correspondant à un rendement d'extraction et de séparation de 15% de matière organique par rapport à la matière sèche du coproduit de maïs doux traité. Le rendement en bioextrudat est lui de 3,15 kg/kg de coproduit introduit, contenant 27,2% de matière sèche, correspondant à un rendement de 76,2% par rapport à la totalité de la matière sèche introduite (coproduit de maïs doux + soude + acide phosphorique + enzymes) et de 84% de matière organique par rapport à la matière sèche de coproduit de maïs doux introduite.

V.1.3.4 Bilan du fonctionnement de l'extrudeuse pilote EV53

Au total, 150kg de bioextrudat de coproduit de maïs doux ont été produits dans des conditions stables de fonctionnement de l'extrudeuse bi-vis EV53 (Tableau V-2).

Tableau V-2: Températures, énergies mécanique et thermique du fonctionnement de l'extrudeuse bi-vis EV53 pour la bioextrusion du coproduit de maïs doux

Matière	Résidu maïs doux
SME (Wh.kg ⁻¹)	88
STE (Wh.kg ⁻¹)	170
Ss (rpm)	200
T° (°C) (consignes)	22/50/100/100/55/55/35/35/35
T° (°C)	20/50/100/100/55/55/41/40/37
Température matière (°C) (sondes 1/2/3)	90/56/42
Pression matière (bar) (sondes 1/2/3)	1,1/1,7/0,1

S_s : Vitesse de vis ; SME : Energie mécanique spécifique ; STE : Energie thermique spécifique

Conditions opératoires : voir Tableau V-1

Le profil de température du fourreau est stable et la température de chaque module est conforme à la consigne, témoignant d'une bonne régulation thermique. Seules les températures des modules 7 et 8 dans la zone de bioextrusion sont légèrement supérieures (40°C) à la consigne, fixée à 35°C pour limiter un effet de dénaturation des enzymes. Les températures des matières relevées à l'intérieur du fourreau confirment cette maîtrise des températures : 90°C pour une consigne de 100°C au niveau de l'attaque alcaline et la neutralisation de la matière, 56°C pour une consigne de 55°C puis 35°C dans la zone de pressage par les contrefilets suivie de l'injection de la solution d'enzymes, et 42°C pour une consigne à 35°C et une température de fourreau mesurée à 40°C dans la zone de bioextrusion. La séparation liquide-solide par pressage dans les contrefilets génère un léger auto-échauffement de la matière mais à une température contrôlée, qui ne provoque pas de dégradation des enzymes. Les pressions imposées à la matière aux différentes zones d'introduction des liquides et dans la zone de pressage restent faibles (< 2bars).

Pour un débit stable de rotation des vis de 200tours.min⁻¹, l'énergie mécanique spécifique transmise à la matière est relativement faible (88Wh.kg⁻¹), du même ordre de grandeur que celle mesurée lors des essais de prétraitement en extrudeuse BC45 avec un taux de soude équivalent (89Wh.kg⁻¹ pour un débit de 22,6kg.h⁻¹ et un taux de soude de 10,7%). C'est l'étape de pressage pour la séparation liquide-solide qui est la plus consommatrice d'énergie, comme en témoigne l'évolution de l'intensité du courant moteur lors de la mise en charge de l'extrudeuse par introduction du coproduit de maïs doux jusqu'à son débit de consigne (Figure V-6).

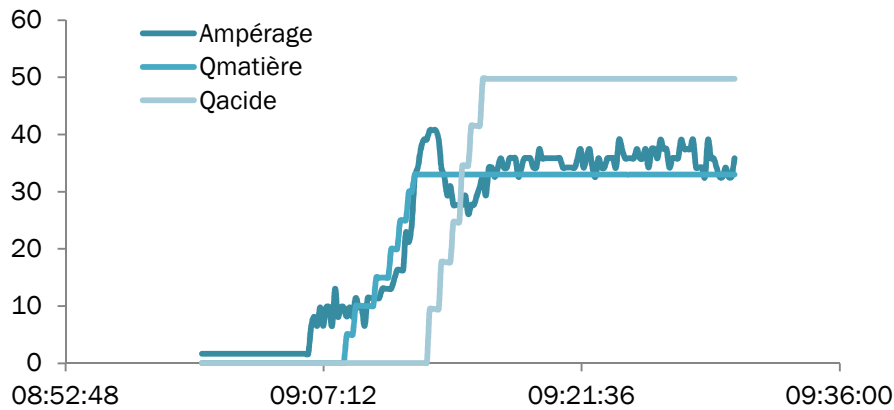
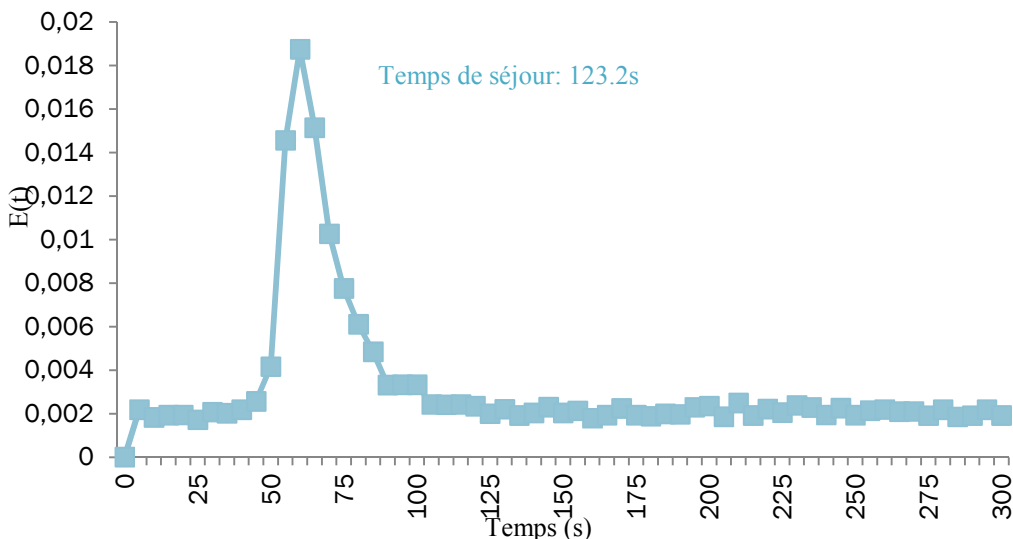


Figure V-6: Evolution de l'intensité du courant moteur lors de la mise en régime de l'extrudeuse bi-vis EV53 pour la bioextrusion du coproduit de maïs doux

L'injection de l'acide phosphorique en solution ne modifie pratiquement pas l'intensité du courant moteur. Mais, à la différence du cas d'autres matières plus fibreuses, l'absence d'auto-échauffement significatif du mélange lors du prétraitement se traduit par une énergie thermique spécifique plus élevée pour porter le mélange à une température de consigne de 100°C dans la zone de déstructuration (STE : 170 Wh.kg⁻¹).

La détermination de la distribution des temps de séjour du solide dans ces conditions stables de fonctionnement de l'extrudeuse EV53 (Figure V-7) montre que la compaction du procédé de bioextrusion en une seule extrudeuse réduit le temps de séjour moyen à pratiquement 2 minutes, alors qu'il était d'au moins le double pour l'enchaînement des opérations en deux extrudeuses.



Conditions opératoires : voir Tableau V-1

Figure V-7: Distribution des temps de séjour du coproduit de maïs doux pour la bioextrusion en extrudeuse EV53

L'analyse de la composition des bioextrudats obtenus va nous permettre de savoir si le traitement du coproduit de maïs doux est aussi efficace pour leur saccharification.

V.1.3.5 Composition et hydrolysabilité des bioextrudats de coproduit de maïs doux obtenus en extrudeuse bi-vis pilote EV53

L'analyse de la composition du bioextrudat de coproduit de maïs doux obtenu en une seule étape dans l'extrudeuse bi-vis pilote EV53, pour un taux de soude de 10%, un taux d'enzymes réduit à 1,5% et des ratios liquide/solide limités à 3,2 et 3,5 (Tableau V-1), montre que l'enrichissement en cellulose de la fibre insoluble est effectif (62% de cellulose) avec solubilisation de 35% de matière organique, équivalent à celle obtenue précédemment en deux étapes (Tableau V-3).

Tableau V-3: Comparaison des conditions de bioextrusion et comparaison de la composition des bioextrudats obtenus pour le traitement du coproduit de maïs doux en 1 et 2 étapes

Conditions opératoires	Bioextrusion en extrudeuse EV53 une étape	Prétraitement en extrudeuse BC45 Bioextrusion en extrudeuse BC21
NaOH/MS (%)	10,0	10,0
L/S _{NaOH}	0,9	0,9
L/S _{H₃PO₄}	3,2	3,7
Enz/ms (%)	1,5	2,6
L/S _{enz}	3,5	2,8
Composition bioextrudat (%/MS)		
Cellulose	31	34
Hémicelluloses	17	14
Lignines	2	1
Matière organique soluble	35	38

Au bilan matière, rapportée à la matière sèche de coproduit de maïs doux entrante (Tableau V-4), la cellulose contenue dans le bioextrudat issu du traitement pilote représente 77% de la cellulose introduite, 55% des hémicelluloses introduites ont été solubilisées, et la moitié des lignines, pour un gain en composés organiques solubilisés de plus de 150%.

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

Tableau V-4: Comparaison des bilans matière (ramenés à 100kg de matière sèche entrante) sur le coproduit de maïs doux entre une bioextrusion effectuée en une étape et une extrusion effectuée en deux étapes

Etape		Brute	Bioextrusion
Prétraitement alcalin et bioextrusion effectués en deux étapes (kg)	MS	100	106
	C	39	36
	H	36	15
	L	4	<1
	Organiques solubles	13	39
Couplage prétraitement alcalin-bioextrusion en une étape (kg)	MS	100	95
	C	39	30
	H	36	16
	L	4	2
	Organiques solubles	13	33

Introduit directement dans un réacteur agité thermostaté à 50°C, à sa consistance de sortie de l'extrudeuse (27%), le bioextrudat conduit au bout de 48h à un rendement en sucres hydrolysés de 14%, équivalent à celui obtenu précédemment en deux étapes d'extrusion (Figure V-8).

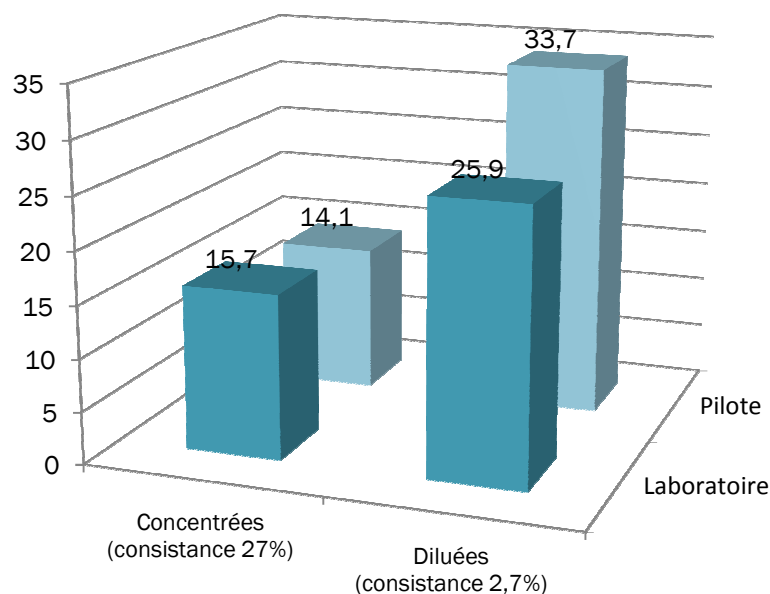


Figure V-8: Comparaison de l'hydrolysabilité des bioextrudats de coproduit de maïs doux obtenus de l'échelle pilote en une seule étape (EV53) et à l'échelle expérimentale en deux étapes (BC45 et BC21)

Ce qui prouve que l'activité des enzymes introduites lors de la bioextrusion pilote en une étape n'est pas modifiée, et montre la faisabilité d'une saccharification à consistance élevée. En milieu dilué, à une consistance de 2,7%, sans ajout d'enzymes, l'hydrolysabilité du bioextrudat atteint près de 34% de sa matière sèche (dont 22,5% de glucose et 11,2% de

xylose libérés par rapport à la matière sèche), ce qui représente un rendement de 73% de glucose par rapport à la cellulose du bioextrudat. Cette hydrolysabilité est supérieure à celle obtenue précédemment pour l'extrudat préparé en deux étapes d'extrusion. Ainsi, la compaction du procédé en une seule extrudeuse adaptée pour enchaîner les opérations de prétraitement alcalin, de neutralisation, de séparation liquide-solide et d'imprégnation enzymatique est remarquablement efficace pour la déstructuration et la pré-hydrolyse du coproduit de maïs doux : pour un temps de séjour limité à 2 minutes, un taux de soude de 10% et un taux d'enzymes faible (1,5%), l'hydrolysabilité du bioextrudat obtenu à une consistance élevée (27%), est supérieure à celle obtenue en deux étapes d'extrusion, avec un taux de soude équivalent pour le prétraitement mais un taux d'enzymes 1,75 fois plus élevé. Réalisée en continu à l'échelle pilote, avec un débit de 30kg.h⁻¹ en matière sèche du coproduit de maïs doux, la bioextrusion produit 28kg.h⁻¹ de matière sèche de bioextrudat, représentant 95% de la matière sèche introduite, et un potentiel en sucres hydrolysables par saccharification de 0,32kg de glucose et 0,17kg de xylose par kg de matière sèche de coproduit introduit. Le filtrat séparé représente 2kg par kg de coproduit sec traité, contenant 0,08kg de matière organique soluble soit un rendement d'extraction et de séparation de 15 et 8% de MO introduite. L'analyse de la composition de ce filtrat (Tableau V-5) montre qu'il contient 24,7% de sucres et 6,9% de protéines par rapport à sa matière sèche, soit 5,6 et 1,6% par rapport à la matière sèche du coproduit de maïs doux et 36,7% de matière minérale constituée essentiellement de sodium et de phosphore provenant de la soude et de l'acide phosphorique introduits pour l'attaque alcaline et la neutralisation. Cette composition en fait un effluent intéressant pour la méthanisation, combinée avec les vinasses de fermentation et de distillation de l'éthanol, ainsi que pour la production de fertilisants dans un procédé complet de production de bioéthanol (Figure V-9).

Tableau V-5: Analyse du filtrat de bioextrusion du coproduit de maïs doux

Coproduit de maïs doux	Filtrat
MS (%)	11.3
MM (%/ms)	36.7
MO (g.l ⁻¹)	65.0
PCI (MJ.kg ⁻¹ ms)	11.8
P (g.l ⁻¹)	8.3
K (g.l ⁻¹)	1.5
Na (g.l ⁻¹)	9.7
DCO (gO ₂ .l ⁻¹)	105.5
DBO (gO ₂ .l ⁻¹)	38.6
Potentiel méthanogène (lCH ₄ .kg ⁻¹ ms)	175.0
pH	6.9
Conductivité (mS.cm ⁻¹)	31.3
Sucres (g.l ⁻¹)	31.7
Protéines (% /ms)	6.9

MS : Matière sèche ; MM : Matière minérale ; MO : Matière organique ; PCI : Pouvoir calorifique inférieur ; DCO : Demande chimique en oxygène ; DBO : Demande biologique en oxygène

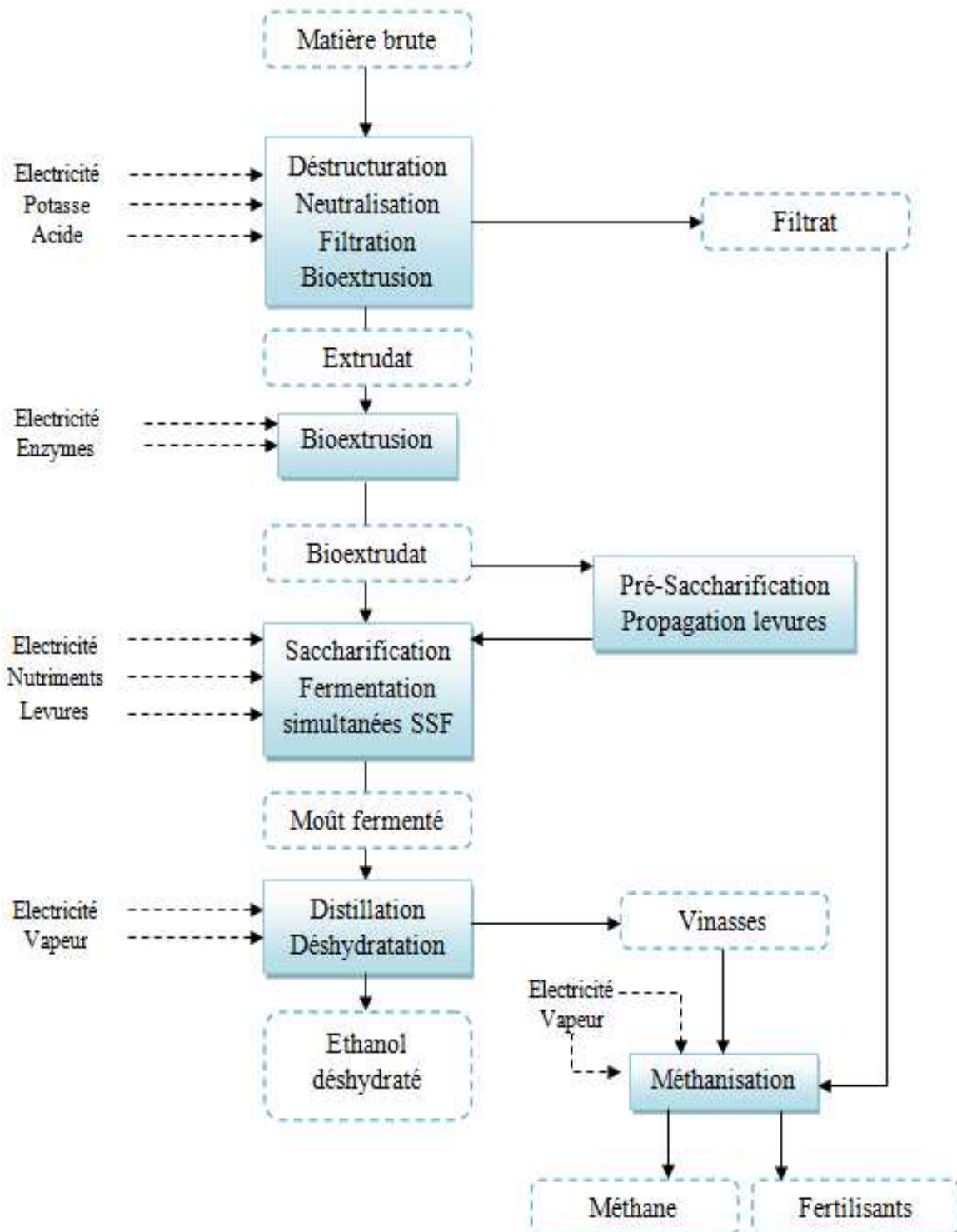


Figure V-9: Procédé de production de bioéthanol à partir de coproduits lignocellulosiques

V.1.4 Adaptation du procédé de bioextrusion aux autres coproduits lignocellulosiques

Trois autres coproduits lignocellulosiques ont jusqu'à présent été choisis pour l'étude des conditions du prétraitement et la bioextrusion en deux étapes d'extrusion bi-vis : le Pinzote, la bagasse d'agave et la paille d'orge. Cette comparaison avec le coproduit de maïs doux va être étendue à trois nouveaux coproduits lignocellulosiques : la bagasse de canne à sucre, les sarments de vigne et les coproduits d'Eucalyptus. Les caractéristiques et compositions chimiques de l'ensemble de ces coproduits ont été présentées dans le chapitre II. Leur caractère plus fibreux que le coproduit de maïs doux, ainsi que leur plus forte teneur en lignines des fibres insolubles ont nécessité plusieurs adaptations des conditions de bioextrusion sur l'installation pilote.

V.1.4.1 Adaptation des conditions de bioextrusion en extrudeuse bi-vis pilote EVOLUM 53

L'extrudeuse bi-vis pilote EVOLUM 53 mis en œuvre pour cette comparaison des coproduits lignocellulosiques est le même que précédemment pour traiter le coproduit de maïs doux, dans la même configuration (paragraphe V-1-2).

Les matières introduites ont été broyées à une granulométrie adaptée pour le contrôle des débits d'alimentation (2mm pour la bagasse d'agave et le Pinzote, en raison de la formation d'un réseau de fibres pour un broyage à 6mm, pénalisant la régularité d'introduction dans le densifieur) et 6mm pour toutes les autres matières lignocellulosiques.

En raison du caractère plus fibreux et lignifié des coproduits, l'effet de déstructuration thermomécanique dans la zone de prétraitement alcalin a été renforcé par l'installation d'un contrefilet CF2C dans le module 4 du fourreau de l'extrudeuse (Figure V-10), tout le reste du profil de vis étant identique au profil de bioextrusion du coproduit de maïs doux, à l'exception de la longueur du contrefilet installé au module 7 pour le passage de la matière, qui a été légèrement diminuée (2 éléments CF2C au lieu de 3 dans les cas du maïs doux et de la paille d'orge).

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

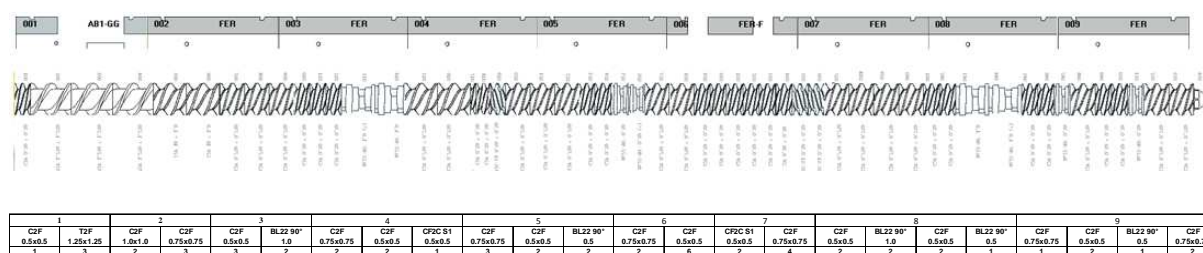


Figure V-10: Profil de vis utilisé de l'extrudeuse EV53 pour la bioextrusion des coproduits lignocellulosiques sélectionnés

Les conditions opératoires des essais de bioextrusion en EVOLUM 53 sont rassemblées dans le Tableau V-6.

Tableau V-6: Conditions opératoires des bioextrusions en extrudeuse EV53 des coproduits lignocellulosiques sélectionnés

Matière	Bagasse canne à sucre	Résidu Eucalyptus	Sarments vigne	Paille d'orge	Bagasse d'agave	Pinzote
Granulométrie (mm)		6		6	2	2
S _s (rpm)		200		150	100	175
Q _S (kg/h)		20,0		11,0	20,0	20,0
Q/S		0,1		0,07	0,20	0,11
Q _{NaOH} (kg/h)		22,0		8,0	23,0	40,0
[NaOH] (°)(m/m)		7,2		10,0	7,0	10,0
Q _{H3PO4} (kg/h)		53,0		40,0	57,0	100,0
[H ₃ PO ₄] (°)(m/m)		3,0		3,5	3,0	4,0
Q _t (kg/h)		10,0		14,6	10,2	33,3
Q _{ez} (kg/h)		0,48		0,29	0,48	1,00
Q _{ext} (kg/h)	49,6	45,1	49,0	50	61	61
Q _{fil} (kg/h)	58,8	62,8	60,6	20	43	130
MS _{ext} (%)	38,0	40,1	34,1	26,0	32,7	27,2
NaOH/MS (%)	8,1			7,2	9,0	21,3
ez/ms (%)	2,5			2,5	2,6	5,3
L/S _b	1,0			0,7	1,1	1,6
L/S _a	3,2			3,5	3,6	5,0
L/S _{ez}	3,4			4,3	3,8	5,5

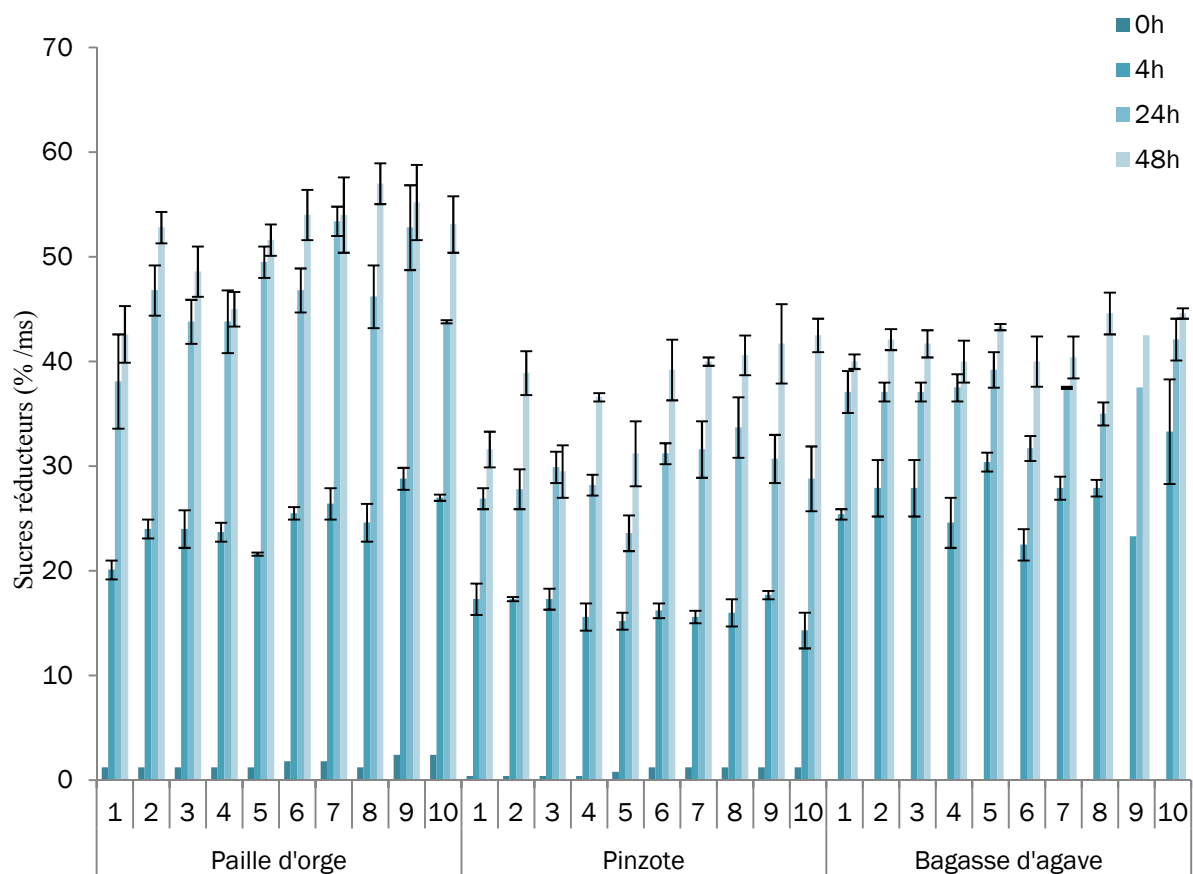
NaOH/MS : NaOH/matière sèche ; L/S_b : Liquide/solide phase déstructuration ; L/S_a : Liquide/solide phase neutralisation ; L/S_{ez} : Liquide/solide bioextrusion ; S_s : Vitesse de vis ; Q_S : Débit entrée matière ; Q_{NaOH} : Débit entrée solution soude ; Q_{H3PO4} : Débit entrée solution acide ; Q : Débit entrée enzymatique ou eau ; Q_{ez} : Débit entrée enzymes ; Q_{ext} : Débit extrudat ; Q/S : Taux de remplissage de la bi-vis ; [NaOH] : Concentration solution soude ; [H₃PO₄] : Concentration solution acide ; [ez] : Concentration solution enzymatique ; ez/ms : Concentration protéique par rapport matière sèche entrante

Les débits d'introduction des coproduits lignocellulosiques sont fixés à 20kg.h⁻¹, exception faite de la paille d'orge dont le caractère très foisonnant pénalise l'introduction contrôlée et dont le débit a été limité à 11kg.h⁻¹.

Les vitesses de rotation des vis sont fixées à une valeur assurant un régime de fonctionnement stable et une bonne séparation liquide-solide avec un débit de filtration régulier.

Les taux de soude sont compris entre 7 et 9%, exception faite pour le Pinzote pour lequel il est plus que doublé (21,3%) en raison de la consommation de réactif alcalin générée par la présence d'une forte teneur en lipides, et des résultats des essais précédemment menés en extrudeuses BC45 et BC21 (paragraphe III-1-4 et IV-3-2-2).

Le cocktail enzymatique injecté est le mélange Cellic Ctec2 90% - Viscozyme 10% (excepté pour le cas de la paille d'orge : Cellic Ctec2 90% - Cellic Htec 10%) qui a conduit aux meilleurs résultats sur les bioextrudats précédemment obtenus (Figure V-11).



Conditions opératoires : consistance : 2,5% ; volume de réaction : 3ml ; T : 50°C ; pH : 5 ; tampon citrate de sodium 200mM ; dosage enzymatique : 1%

1 : Advanced enzymes 100% ; 2 : Advanced enzymes 90% - Cellic Htec 10% ; 3 : Advanced enzymes 80% - Cellic Htec 20% ; 4 : Advanced enzymes 90% - Viscozyme 10% ; 5 : Advanced enzymes 80% - Viscozyme 20% ; 6 : Cellic Ctec2 100% ; 7 : Cellic Ctec2 90% - Cellic Htec 10% ; 8 : Cellic Ctec2 80% - Cellic Htec 20% ; 9 : Cellic Ctec2 90% - Viscozyme 10% ; 10 : Cellic Ctec2 80% - Viscozyme 20%

Figure V-11: Comparaison de l'efficacité hydrolytique des différents cocktails d'enzymes testés sur les extrudats prétraités en extrudeuse bi-vis BC45

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

Le taux d'enzymes injectées est fixé à 2,5%, exception faite du cas du Pinzote pour lequel il est du double (5,3%) en raison des résultats précédemment obtenus lors du traitement en deux étapes.

Pour tous les coproduits lignocellulosiques, la bioextrusion se déroule dans des conditions stables, avec une régulation satisfaisante de la température des modules du fourreau compte tenu des profils de températures de consignes (Tableau V-7).

Tableau V-7: Températures, énergies mécanique et thermique du fonctionnement de l'extrudeuse bi-vis EV53 pour les bioextrusions des coproduits lignocellulosiques

Matière	Bagasse canne à sucre	Résidu Eucalyptus	Sarments vigne	Paille d'orge	Bagasse d'agave	Pinzote
SME (Wh.kg ⁻¹)	408	445	207	351	288	243
STE (Wh.kg ⁻¹)	25	32	131	261	102	54
Ss (rpm)	200	200	200	175	100	175
T° (°C) (consignes)	25/50/75/75/5 0/-/25/25/25	25/50/75/75/5 0/-/25/25/25	25/50/75/75/50/ - /25/25/25	22/50/68/68/5 5/55/45/45/45	22/50/75/75/5 0/50/35/35/35	22/50/100/100/ 55/55/35/35/35
T° (°C)	25/50/81/78/5 1/69/34/39/26	25/50/83/83/5 5/75/49/36/27	25/48/70/75/58/ 60/25/25/24	20/50/73/75/5 4/7055/48/47	20/50/80/82/5 5/55/41/40/37	22/49/99/99/58/ 78/35/35/35
Température matière (°C) (sondes 1/2/3)	84/85/40	85/89/45	69/62/33	73/68/52	80/68/43	97/104/47
Pression matière (bar) (sondes 1/2/3)	-	-	-	0.4/2.8/0.6	0.3/7.1/0.4	0.1/18.5/0.5

S_s : Vitesse de vis ; SME : Energie mécanique spécifique ; STE : Energie thermique spécifique

Remarquons cependant que l'auto-échauffement de la matière dans la zone de prétraitement et surtout de séparation liquide-solide est plus important pour ces coproduits fibreux que pour le coproduit de maïs doux, en particulier pour le Pinzote, le coproduit d'Eucalyptus, et la bagasse de canne à sucre, pour lesquels la température matière mesurée au contrefilet de pressage dans le module 7 atteint respectivement 104°C, 89°C et 85°C pour des consignes beaucoup plus faibles (25°C). Cet auto-échauffement est plus faible pour les autres matières (température limitée à moins de 70°C). Mais dans tous les cas, la température matière dans la zone de bioextrusion après injection de la solution d'enzymes reste inférieure à 50°C. Cet auto-échauffement de la matière, qui peut être corrélé à la structure fibreuse dense et dure du coproduit de départ, se traduit aussi par des énergies mécaniques spécifiques transmises plus élevées que pour le maïs doux, pour des énergies thermiques spécifiques plus faibles : 445 et 408Wh.kg⁻¹ de coproduit d'Eucalyptus et de bagasse de canne à sucre en EMS et 25 et 32Wh.kg⁻¹ en ETS alors qu'elles sont de 288 et 207Wh.kg⁻¹ en EMS et 102 et 131Wh.kg⁻¹ en ETS pour la bagasse d'agave et le sarment de vigne, traités avec le même débit d'introduction et un taux de soude voisin. Dans le cas du Pinzote, pour lequel l'auto-échauffement est plus important, l'énergie thermique spécifique est effectivement faible (54Wh.kg⁻¹), mais l'injection d'un taux de soude deux fois plus élevé minimise l'énergie mécanique spécifique requise en favorisant l'effet chimique de déstructuration. Enfin le cas de la paille d'orge ne peut être directement comparé en raison du plus faible débit d'introduction de cette matière (11kg.h⁻¹) qui se répercute sur l'énergie spécifique.

V.1.4.2 Rendement, composition et hydrolysabilité des bioextrudats des coproduits lignocellulosiques sélectionnés

Les rendements en bioextrudats et en filtrats de la bioextrusion en extrudeuse bi-vis pilote EVOLUM 53 des différents coproduits lignocellulosiques sélectionnés sont rassemblés dans le Tableau V-8.

Tableau V-8: Rendements de la bioextrusion des coproduits lignocellulosiques étudiés en extrudeuse bi-vis pilote EV53

Matière	Bagasse de canne à sucre	Eucalyptus	Sarments de vigne	Bagasse d'agave	Paille d'orge	Pinzote
Débit de bioextrudat (kg.h ⁻¹)	49,6	45,1	49,0	60,7	39,8	61,4
MS extrudat prétraité sans ajout d'enzyme (%)	53,3	56,3	50,7	45,6	30,9	53,5
MS bioextrudat (%)	38,0	40,1	34,1	32,7	27,4	27,6
Rendement en bioextrudat (%MS/MScoproduit)	96,6	92,9	85,6	106,8	117,0	90,4
Débit de filtrat (kg.h ⁻¹)	58,8	62,8	60,6	42,5	17,4	130,0
MS filtrat (%)	7,8	5,7	9,4	10,5	11,7	11,5
MO filtrat (%/MS)	56,6	50,2	63,1	65,3	52,8	53,7
Rendement filtration (%MS/MScoproduit)	23,4	18,5	29,3	23,9	18,3	79,9
Rendement extraction (%MO/MOcoproduit)	13,5	9,3	19,5	17,3	10,2	44,4

Conditions opératoires : voir Tableau V-6

La qualité de filtration, traduite par le taux de matière sèche des extrudats sans ajout d'enzyme, peut servir d'indicateur du pressage des matières lignocellulosiques au cours de la bioextrusion en extrudeuse bi-vis EV53. Elle est excellente pour toutes les matières, excepté pour le cas de la paille d'orge, avec des taux de matière sèche situés entre 45 et 57%. Pour des taux de soude inférieur à 10%, les rendements de filtration et d'extraction en matière organique sont situés respectivement entre 20 et 30% par rapport à la matière sèche de coproduit introduite entre 9 et 20% par rapport à la matière organique du coproduit introduite (sauf pour le Pinzote pour lequel le taux de soude est à 21,3% et le rendement d'extraction s'élève à 44,4%).

La comparaison des compositions des coproduits lignocellulosiques, des extrudats obtenus par prétraitement sans ajout d'enzymes et des bioextrudats (Tableau V-9) montre, comme dans le cas du coproduit de maïs doux, l'augmentation très significative de leur teneur en matière organique hydrosoluble : elle est deux à trois fois plus élevée dans les bioextrudats de bagasse d'agave, de Pinzote, de paille d'orge et de sarment de vigne, quintuplée dans le cas de

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

la bagasse de canne à sucre et spectaculairement multipliée par un facteur 13 dans le bioextrudat d'Eucalyptus.

Tableau V-9: Compositions des bioextrudats et extrudats prétraités en extrudeuse bi-vis EV53

Matière	Cellulose		Hémicelluloses		Lignines		Total fibre insoluble (%)	Matière organique soluble (%/MS)
	(%/MS)	(%/MS fibre)	(%/MS)	(%/MS fibre)	(%/MS)	(%/MS fibre)		
Bagasse de canne à sucre								
Native	47	50	35	37	12	13	94	5
Prétraînée	55	60	25	27	12	13	92	3
Bioextrudée	40	66	10	17	10	17	60	26
Eucalyptus								
Native	60	62	11	12	25	26	96	2
Prétraînée	61	64	11	12	23	24	95	4
Bioextrudée	39	57	9	13	20	29	68	26
Sarment de vigne								
Native	43	50	26	30	17	20	86	10
Prétraînée	47	57	26	20	19	23	82	11
Bioextrudée	37	57	12	19	16	24	65	30
Pinzote								
Native	44	50	27	31	17	19	88	9
Prétraînée	50	58	22	26	14	16	86	8
Bioextrudée	42	62	16	24	10	14	68	23
Bagasse d'agave								
Native	41	54	24	31	11	15	76	10
Prétraînée	47	55	21	24	18	21	86	7
Bioextrudée	42	55	17	23	17	22	76	19
Paille d'orge								
Native	38	49	32	41	8	10	78	12
Prétraînée	39	56	22	32	8	12	69	19
Bioextrudée	32	65	10	21	7	14	49	36

Conditions opératoires : -prétraîné en extrudeuse bi-vis EV53 en l'absence d'enzyme ; -bioextrudé : voir Tableau V-6

Le prétraitement, par attaque alcaline, neutralisation et séparation liquide-solide, sans ajout d'enzyme dans l'extrudeuse pilote EV53 modifie peu la teneur en composés hydrosolubles des extrudats puisque ces composés sont extraits au filtrat, exception faite du cas de la paille d'orge pour laquelle la séparation liquide-solide est moins efficace dans les conditions choisies pour le traitement (débit de solide 11kg.h⁻¹, faible coefficient de remplissage). Ceci confirme bien l'efficacité des enzymes lors de la bioextrusion pour la solubilisation de ces composés organiques issus des fibres lignocellulosiques de tous ces coproduits. Mais cette solubilisation ne porte pas de la même façon sur les constituants des fibres, se traduisant par un net enrichissement en cellulose dans les fibres insolubles des bagasses de canne à sucre (50 à 66%), du Pinzote (50 à 62%) et des pailles d'orge (49 à 65%), plus faible dans le cas du sarment de vigne (50 à 57%) et des bagasses d'agave (54 à 55%), voire par un appauvrissement dans le cas des coproduits d'Eucalyptus (62 à 57%). Ces différences sont liées aux taux de solubilisation des hémicelluloses et des lignines mais aussi à une dépolymérisation partielle de la cellulose et/ou son entraînement au filtrat.

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

Les bilans matières dressés à partir de ces analyses (Tableau V-10) confirment les différences de comportement des coproduits vis-à-vis de la bioextrusion.

Tableau V-10: Bilan matière en cellulose hémicelluloses et lignines pour les coproduits lignocellulosiques bioextrudés en extrudeuse bi-vis EV53

Matière	Introduit	Prétraitement		Bioextrusion	
	Masse (kg)	Masse (kg)	Rendement (%)	Masse (kg)	Rendement (%)
Bagasse de canne à sucre					
Matière sèche	100	89	-	97	-
Cellulose	47	49	100	39	83
Hémicelluloses	35	22	63	10	28
Lignines	12	11	91	10	83
Total fibre insoluble	94	82	87	59	63
Matière organique soluble	5	4	-	25	-
Eucalyptus					
Matière sèche	100	85	-	93	-
Cellulose	60	52	86,5	36	60
Hémicelluloses	11	9	82	8	73
Lignines	25	20	80	19	76
Total fibre insoluble	96	81	84	63	65
Matière organique soluble	2	3	-	24	-
Sarment de vigne					
Matière sèche	100	78	-	86	-
Cellulose	43	37	86	32	74
Hémicelluloses	26	12	46	10	38
Lignines	17	15	88	9	53
Total fibre insoluble	86	64	74	51	59
Matière organique soluble	10	9	-	26	-
Pinzote					
Matière sèche	100	74	-	90	-
Cellulose	44	38	86	38	86
Hémicelluloses	27	16	59	14	52
Lignines	17	10	59	9	53
Total fibre insoluble	88	64	72	61	69
Matière organique soluble	9	6	-	21	-
Bagasse d'agave					
Matière sèche	100	94	-	101	-
Cellulose	41	44	107	32	78
Hémicelluloses	24	12	50	10	41,5
Lignines	11	8	73	7	63,6
Total fibre insoluble	76	64	84	49	64
Matière organique soluble	10	11	-	36	-
Paille d'orge					
Matière sèche	100	102	-	106	-
Cellulose	38	39	100	34	89
Hémicelluloses	32	22	68	10	31
Lignines	8	8	100	7	87,5
Total fibre insoluble	78	69	88	51	65
Matière organique soluble	12	19	-	38	-

- La séparation liquide-solide après prétraitement alcalin et neutralisation entraîne au filtrat entre 12 et 24% de matière organique. La solubilisation ou l'entraînement de cellulose est alors négligeable pour les bagasses de canne à sucre et d'agave et la paille d'orge et limitée à moins de 15% pour les coproduits d'Eucalyptus. Par contre l'effet du traitement alcalin sur l'extraction d'hémicelluloses et de lignine est très différent : entre 30 et 50% des hémicelluloses des bagasses d'agave et de canne à sucre, des pailles d'orge et des sarments de vigne sont extraites au prétraitement, pour une extraction des lignines négligeable ou limitée à près de 10% (sauf pour la bagasse d'agave dont l'extraction est de 27%) ; alors que dans le cas du Pinzote et des coproduits d'Eucalyptus l'extraction des hémicelluloses est équivalente à celle des lignines, plus importante pour le premier (41% et 41%) que pour le second (18% et 20%) respectivement. Ces différences peuvent s'expliquer par les caractéristiques physiques des coproduits, la structure chimique de leurs fibres et les conditions du fractionnement thermo-mécano-chimique. Dans les bagasses de canne à sucre et d'agave et la paille d'orge, les fibres, moins résistantes au traitement thermomécanique de défibrage, sont moins ligneuses et l'action alcaline solubilisante des hémicelluloses y est privilégiée aux faibles taux de soude mis en œuvre (8 à 10%). Il en est de même dans les sarments de vigne, bien que leur fibres soient un peu plus lignifiées, mais facilement défibrées. Dans le cas du Pinzote, très résistant au défibrage, mais de composition très voisine de celle des sarments de vigne, l'augmentation du taux de soude mis en œuvre (20%) a permis d'augmenter l'extraction des lignines, au même taux que celle des hémicelluloses. Pour les coproduits d'Eucalyptus, les fibres, très lignifiées et à faible teneur en hémicelluloses, sont aussi plus résistantes au défibrage, et les lignines sont faiblement extraites, avec le même rendement pour un taux de soude de 10%.

- L'efficacité du traitement enzymatique de la bioextrusion est aussi différente pour chacune des matières ainsi prétraitées. Les rendements en cellulose récupérée au bioextrudat restent élevés pour tous les coproduits (74 à 89%) exception faite des coproduits d'eucalyptus (60%). Mais dans le cas de la paille d'orge, des bagasses de canne à sucre et d'agave, c'est l'action enzymatique qui est responsable de la disparition de cellulose (respectivement 11, 17 et 22%), alors qu'elle est répartie entre le prétraitement et l'action enzymatique dans les sarments de vigne (respectivement 14 et 12%) et les coproduits d'Eucalyptus (respectivement 13,5 et 26,5%), et absente pour le cas du Pinzote pour lequel la perte est de 14% à l'étape de prétraitement. La perte en cellulose, lors de l'étape de prétraitement, peut être attribuée essentiellement à l'entraînement de fines particules au filtrat, alors que celle liée à l'étape de bioextrusion résulterait d'une hydrolyse enzymatique partielle. Simultanément, la solubilisation d'hémicelluloses et de lignines se poursuit lors de l'étape de bioextrusion très significativement pour les hémicelluloses dans la bagasse de canne à sucre (35%) et la paille d'orge (37,5%), et de façon moins importante pour la bagasse d'agave (8,5%), les sarments de vigne (8%) le Pinzote (7%) et les coproduits d'Eucalyptus (9%). L'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses est nettement plus importante dans les coproduits pour lesquels la déstructuration alcaline par solubilisation des hémicelluloses a été plus importante (30 à 40% d'hémicelluloses solubilisées à cette étape et 34 à 40% solubilisées par l'action enzymatique).

Bien qu'un peu de lignines soit aussi solubilisé lors de l'action enzymatique (35% dans le cas du sarment de vigne) le rendement d'extraction reste faible (10 à 12,5%). Cette fraction de lignines solubilisées pourrait correspondre à celle associée aux hémicelluloses qui sont hydrolysées et solubilisées par l'action des enzymes.

Au bilan, la bioextrusion des bagasses de canne à sucre et d'agave, de paille d'orge et de sarment de vigne en une seule étape dans l'extrudeuse bi-vis EV53, s'avère aussi adaptée et efficace pour la déstructuration et le raffinage des fibres lignocellulosiques que pour le maïs doux : pour un temps de séjour de quelques minutes, des taux de soude limités à moins de 10%, et un taux d'enzymes de 2,5%, entre 60 et 70% des hémicelluloses peuvent être extraites. Le rendement de solubilisation des lignines atteint 40 à 50% pour les coproduits plus lignifiés (bagasse d'agave et sarments de vigne) et près de 20% pour ceux qui le sont moins (bagasse de canne à sucre et paille d'orge). Dans le cas du Pinzote, les rendements en hémicelluloses et lignines solubilisées sont aussi élevés (voisins de 50%), mais au pris d'un doublement du taux de soude et du taux d'enzymes mis en œuvre pour intensifier les actions chimiques et enzymatiques de déstructuration. Dans le cas des coproduits d'Eucalyptus, très ligneux et contenant peu d'hémicelluloses, les rendements du fractionnement restent faibles (moins de 30% d'hémicelluloses et de 25% de lignines solubilisées) et nécessiteraient pour être améliorés un taux de soude et/ou d'enzymes plus élevés, ou une seconde étape de fractionnement.

Dans tous les cas, l'hydrolysabilité des bioextrudats est améliorée par rapport à celle des coproduits (paragraphe II-4), en relation avec leur taux de fractionnement atteint dans l'extrudeuse bi-vis (Tableau V-11) et comme précédemment constaté, l'hydrolyse enzymatique peut être menée directement sans ajout d'enzymes au bioextrudat, à consistance élevée (20%) et pour des durées limitées à 24h.

Tableau V-11: Comparaison des rendements de pré-hydrolyse (avant SSF) obtenus pour les matières bioextrudées en extrudeuse EV53

Matières	Coproduit de maïs doux	Paille d'orge	Bagasse d'agave	Pinzote	Bagasse de canne à sucre	Coproduit d'Eucalyptus	Sarments de vigne
Consistance (%)	20	23	20	20	20	20	20
Temps de réaction (h)	20	24	24	16	24	24	24
Dosage enzymatique (mg/gMS)	52	40	20	53	20	20	20
Rendement saccharification (%/MSbioextrudat)	26	24	33	18	25	15	20
Rendement saccharification (%/C6théorique)	84	74	79	44	63	39	53
Rendement saccharification (%/MScoproduit)	25	27	35	17	24	14	18

V.2 Conclusion et perspectives d'industrialisation du nouveau procédé de bioextrusion pour la production de bioéthanol

Bien qu'il ouvre de nombreuses autres perspectives de valorisations comme étape de la bioraffinerie des matières lignocellulosiques, le procédé de bioextrusion associant le prétraitement alcalin, la neutralisation et l'extraction-séparation au traitement enzymatique par les cellulases, en une seule opération d'extrusion bi-vis, est principalement adapté pour la saccharification de la cellulose et la fermentation du glucose en éthanol. C'est dans ce sens que se sont développés les travaux des partenaires du projet (INSA Toulouse, CIEMAT (Espagne), VTT (Finlande), UNAM (Mexique)) en particulier pour un couplage saccharification-fermentation des bioextrudats (Tableau V-12).

Tableau V-12 : Comparaison des rendements en éthanol obtenus par SSF après bioextrusion et pré-saccharification des matières lignocellulosiques étudiées

Matières	Coproduit de maïs doux	Paille d'orge	Bagasse d'agave	Pinzote	Bagasse de canne à sucre	Coproduit d'Eucalyptus	Sarments de vigne
Consistance (%)	20	23	20	20	20	20	20
Temps de réaction (h)	30	48	72	48	48	48	48
Levures	Thermosacc	Thermosacc	Thermosacc	Thermosacc	Thermosacc	Thermosacc	Thermosacc
Dosage levures (g/kg extrudat sec)	1	1	1	1	1	1	1
Rendement SSF (%/C6 _{théoriques})	80	70	75	31	48	28	61
(%/C5+C6 _{théoriques})	37	43	52	-	33	24	46
[EtOH] (g/100gMS)	15,1	15,0	13,6	6,1	11,9	7,1	13,5

La Figure V-12 illustre toutes les étapes d'une installation industrielle de production de bioéthanol selon le schéma proposé par la société MAGUIN, partenaire du projet.

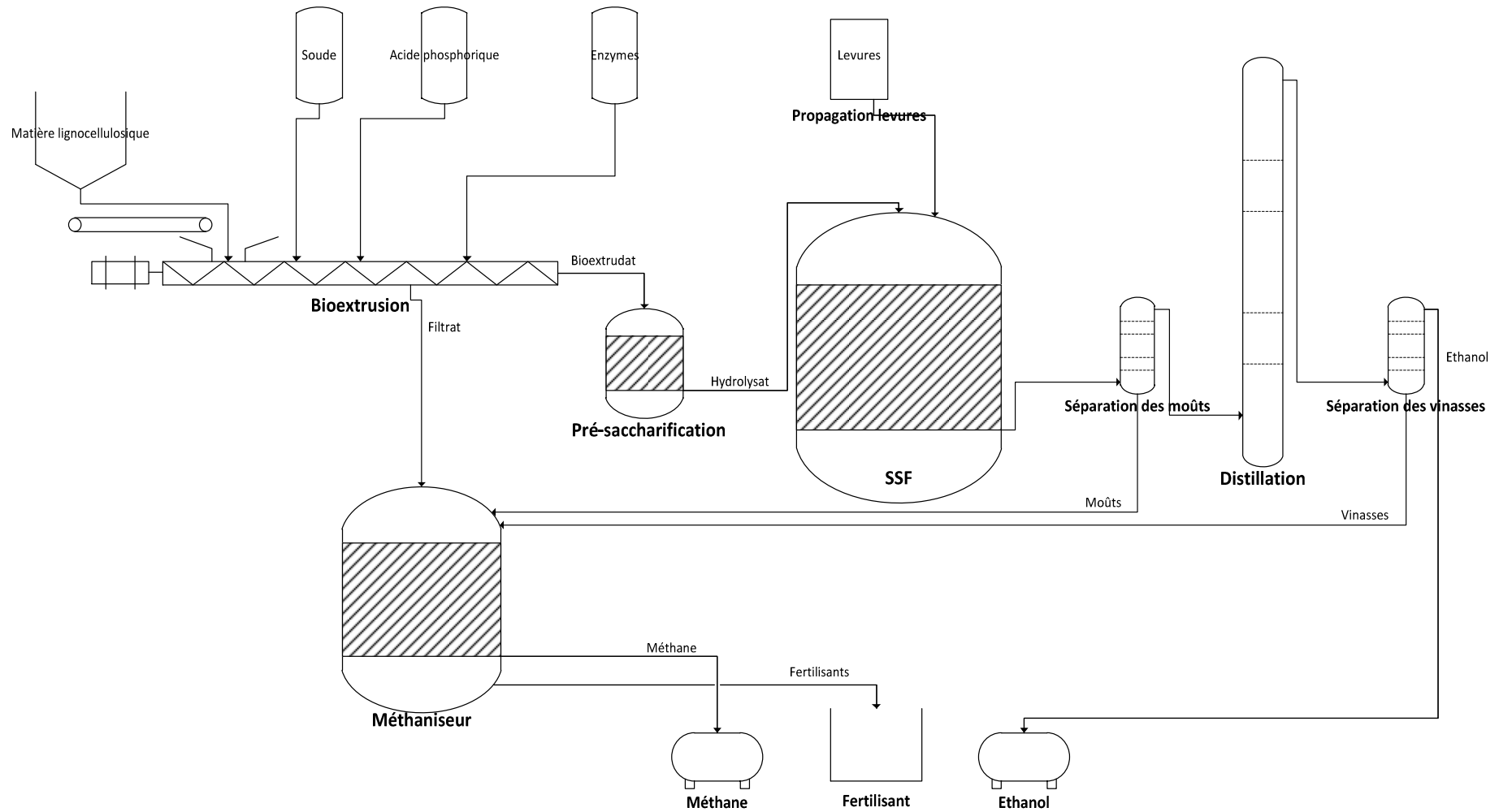


Figure V-12: Diagramme de l'installation industriel du procédé de production de bioéthanol par bioextrusion de matières lignocellulosiques et saccharification et fermentation simultanées

La souplesse, la compacité et l'efficacité du procédé de bioextrusion autorise de nombreuses adaptations des conditions opératoires en fonction des coproduits lignocellulosiques. Des ajustements des conditions opératoires pourront également être menés pour optimiser l'efficacité de l'étape saccharification/fermentation, le rendement et la concentration de l'éthanol produit, mais aussi minimiser les coûts en réactifs et en enzymes, les coûts en énergie et ceux liés au retraitement et à la valorisation des effluents et coproduits. A partir des résultats obtenus lors des essais pilotes, les orientations de l'adaptation des conditions opératoires pour une industrialisation du procédé seront guidées par l'évaluation des coûts de production d'une part, et de celle de l'impact environnemental du procédé d'autre part. Pour illustrer cette approche, le cas d'une installation de traitement de 30000t.an⁻¹ de matière sèche de coproduits de maïs doux a été étudié à partir des données acquises sur l'installation pilote EV53 de bioextrusion et des résultats obtenus en saccharification-fermentation des bioextrudats par l'INSA (Tableau V-13).

Tableau V-13: Conditions opératoires et résultats du procédé de bioextrusion du coproduit de maïs doux et de saccharification-fermentation des bioextrudats

Matière première	
Matière première	Résidu de maïs doux
MS (%)	25
C (% /MS)	39
H (% /MS)	36
L (% /MS)	4
Autres (% /MS)	21
Bioextrusion	
NaOH (m/m _{MS})	0,1
H3PO4 (m/m _{MS})	0,1
T°C (°C)	100 (prétraitement) – 40 (bioextrusion)
Cocktail enzymatique	Advanced Enzyme + Viscozyme (90:10)
Dosage enzymatique (mg _{protéines} .g ⁻¹ _{MS})	26
Pré-saccharification	
Consistance (%MS)	20
Temps de réaction (h)	20
Dosage additionnel enzyme (mg _{protéines} .g ⁻¹ _{MS d'extrudat})	26
Rendement Saccharification (%)	84 (théorique C6) - 62 (théorique C6+C5)
Concentration sucres (g.l ⁻¹)	Glucose: 63 - Xylose: 30
SSF	
Consistance (%MS)	20
Temps de réaction (h)	30
Type de levures	Thermosacc
Dosage levures (g.kg ⁻¹ _{ms d'extrudat})	1
Rendement SSF (%)	80 (théorique C6) - 37 (théorique C6+C5)
Concentration EtOH (g.l ⁻¹)	32

V.2.1 Evaluation des coûts de production

L'évaluation des coûts de production d'une unité de production de bioéthanol à partir des coproduits de maïs doux a été réalisée avec les hypothèses suivantes :

1- La capacité de traitement des coproduits est de 30000t.an⁻¹, à leur humidité de sortie de l'usine de conserverie (25%). Cette capacité correspond à la capacité moyenne d'une usine de mise en conserve des grains de maïs doux (50 à 60 000t d'épis traitées en 3mois de campagne de production produisant 30 à 36 000t de coproduits). La question du stockage et du conditionnement de cette matière première pour alimenter en continu l'unité de production de bioéthanol produisant toute l'année devra faire l'objet d'une étude spécifique. Dans un procédé intégré de production d'éthanol, la teneur élevée en glucose, fructose, saccharose et amidon des coproduits frais de maïs doux, qui peut représenter jusqu'à 30% de leur matière sèche, constituera un appoint permettant de compenser les coûts de conditionnement du coproduit pour sa bioextrusion. En sortie d'usine, le prix de commercialisation de la tonne de maïs doux pour l'alimentation du bétail est d'environ 50. Pour cette évaluation, le prix d'achat du coproduit est fixé à 70€/t en tablant sur une économie d'échelle pour une éventuelle déshydratation. La capacité de transformation pour la bioextrusion serait alors de l'ordre de 4,2t de matière sèche par heure, ce qui est dans l'ordre de grandeur des capacités de transformation d'extrudeuses industrielles (par exemple 5t.h⁻¹ de bois pour la filière papetière (KRO200 de chez CLEXTRAL), 25t.h⁻¹ pour la filière aliments pour poissons (BC160 de chez CLEXTRAL)).

Pour une installation d'une telle capacité, la production d'éthanol s'élèverait à 0,6t/h d'éthanol pour 17t/h de coproduit frais traité (Tableau V-14).

Tableau V-14: Bilan massique du procédé industriel de production de bioéthanol par bioextrusion et saccharification/fermentation des coproduits de maïs doux

Paramètres	Matière brute	Matière prétraitée	Filtrat	Bioextrudat	Hydrolysat	Moût fermenté
Q (kg.h ⁻¹)	16 667	15 667	7 570	21 299	21 409	20 851
MS (%)	25,0	26,5	11,0	20,0	21,4	16,1
C (kg.h ⁻¹)	1 625	1 433	192	1 433	229	229
H (kg.h ⁻¹)	1 500	1 367	133	1 367	856	856
C5 (kg.h ⁻¹)	-	-	-	-	570	570
C6 (kg.h ⁻¹)	-	-	-	-	1 348	64
EtOH (kg.h ⁻¹)	-	-	-	-	-	603
EtOH (%v/v)	-	-	-	-	-	3,62

2- La valorisation des filtrats de la bioextrusion et des vinasses de fermentation éthanolique est évidemment un point clef du bilan économique du procédé et de son impact environnemental. Pour cette évaluation, deux options ont été prises :

La substitution de la soude par la potasse pour le prétraitement alcalin lors de la bioextrusion en extrudeuse bi-vis. Les essais réalisés dans ce sens pour plusieurs coproduits lignocellulosiques n'ont pas mis en évidence de différence significative pour le fractionnement des coproduits ni l'hydrolysabilité des bioextrudats. Bien qu'elle soit plus chère sur certains marchés, l'avantage de la potasse est d'apporter des ions potassium dans les filtrats et les vinasses, qui pourront être mieux valorisés comme fertilisant, à la différence de l'ion sodium qui n'a pas de valeur.

La fermentation méthanogène des effluents, dans notre cas les filtrats et les vinasses, est une solution de valorisation largement développée aujourd'hui. Elle est déjà mise en œuvre dans les distilleries d'éthanol de bouche ou de première génération, comme traitement des matières organiques avant traitement des eaux. Le potentiel méthanogène des filtrats de bioextrusion pilote du maïs doux, ainsi que d'autres coproduits (Tableau V-15) a été déterminé.

Sous ces hypothèses, les données de consommation de réactifs et d'énergie d'une part, et de production d'éthanol et des coproduits d'autre part, ont été calculées par la société MAGUIN (Tableau V-15).

Tableau V-15: Production et consommation du procédé industriel de production de bioéthanol par bioextrusion et saccharification/fermentation des coproduits de maïs doux

Paramètres	Coproduit de maïs doux
EtOH (g /100g extrudat sec)	14,16
Moût fermenté	3,62% v/v (2,89% m/m)
Ethanol produit (hl.j ⁻¹)	182.1
Vapeur (kg.h ⁻¹)	7 941
Eau (kg.h ⁻¹)	11 188
Electricité MW.h.h ⁻¹	1.79
Potasse (kg.h ⁻¹)	583
Acide Phosphorique (kg.h ⁻¹)	417
Enzymes (kg.h ⁻¹)	219
Sels (Urée) (kg.h ⁻¹)	3,85
Fertilisant P (kg.h ⁻¹)	131.8
Fertilisant K (kg.h ⁻¹)	406.6
CH ₄ produit (m ³ .h ⁻¹)	1 161
PCI du CH ₄ produit (GJ.h ⁻¹)	41.8

Rapportés à la production d'éthanol (Tableau V-16), les résultats font apparaître la consommation importante d'eau et de vapeur d'eau, des réactifs alcalins et acides et d'enzymes, mais aussi les productions, simultanées à celle de l'éthanol, de fertilisants et de méthane.

Tableau V-16: Consommations et productions par hectolitre d'éthanol produit

Paramètres	Coproduit de maïs doux
Matière brute sèche (kg _{ms} .hl ⁻¹)	549
Vapeur (kg.hl ⁻¹)	1 047
Eau (kg.hl ⁻¹)	1 474
Electricité (MW.h.hl ⁻¹)	0.24
Potasse (kg.hl ⁻¹)	76.9
Acide Phosphorique (kg.hl ⁻¹)	54.9
Enzymes (kg.hl ⁻¹)	28.8
Sels (Urée) (kg.hl ⁻¹)	0.5
Fertilisant P (kg.hl ⁻¹)	17.4
Fertilisant K (kg.hl ⁻¹)	53.6
PCI du CH ₄ produit GJ.hl ⁻¹	5.6

Tout ou partie de ce méthane produit peut être exploité pour générer la vapeur nécessaire au procédé. Les fertilisants obtenus viendront compenser pour partie le coût des réactifs alcalins et acides. Pour évaluer la portée de ces compensations, il est nécessaire de faire le bilan d'exploitation économique. Les données des prix des intrants et produits du procédé sont rassemblées dans le Tableau V-17 avec les hypothèses suivantes : l'électricité vient du réseau et l'eau provient d'une station de pompage proche ; les prix de la potasse et de l'acide phosphorique ont été estimés selon une moyenne des prix pratiqués débuts 2013 ; le prix de l'éthanol est basé sur le « free on board » à Rotterdam, et celui du méthane selon l'arrêté du 23 novembre 2011 fixant les conditions d'achat du biométhane injecté dans les réseaux de gaz naturel ; le prix des fertilisants K et P sont tirés de la world bank (worldbank.org) ; l'évaluation du prix des enzymes provient de données fournisseurs mais doit être considérée avec précaution car les fabricants d'enzymes communiquent peu sur leur tarification en fonction de l'échelle.

Tableau V-17: Prix des intrants et produits retenus pour l'évaluation économique du procédé de production de bioéthanol par bioextrusion et saccharification-fermentation des coproduits de maïs doux

Intrants	Prix
Matière brute	70 €/t
Vapeur (basse pression)	20 €/t
Eau	0.20 €/m ³
Electricité	0.05 €/kW
Potasse	490 €/t
Acide Phosphorique	780 €/t
Enzymes	0.28 €/l _{EtOH}
Sels (Urée)	300 €/t
Produits	Prix
Ethanol (FOB Rotterdam)	62 €/hl
Fertilisant P	1 703 €/t _{P 100%}
Fertilisant K	1 272 €/t _{K 100%}
Méthane	23.23 €/GJ _{PCI}

Intégration du procédé de bioextrusion à l'échelle pilote pour le fractionnement des coproduits lignocellulosiques

Tableau V-18: Bilan économique du procédé de production de bioéthanol par bioextrusion et saccharification-fermentation des coproduits de maïs doux

Revenus		
Catégorie	€/année	%
Ethanol	3 392 708	22,4
Fertilisant P	1 616 112	35,3
Fertilisant K	3 723 491	
Méthane	6 384 874	42,2
Sous total	15 117 185	
Coûts opérationnels		
Matière brute	2 100 000	12,9
Vapeur (basse pression)*	1 143 527	7,0
Eau*	16 111	0,1
Electricité*	645 179	4,0
Potasse	4 116 000	44,5
Acide Phosphorique	3 120 000	
Enzymes	1 532 191	9,4
Sels (Urée)*	8 310	0,05
Main d'œuvre*	805 000	4,9
Sous total	13 486 317	
Investissement		
Total*	2 781 120	17,1
EBITDA		
Total	1 630 868	
Bilan		
Total	-1 150 251	

*: Données MAGUIN

Le bilan économique dressé à partir de ces données (Tableau V-18) a le mérite de faire apparaître ces points :

1- L'excédent brut d'exploitation (EBITDA) qui correspond à la différence entre les revenus du procédé et les coûts opérationnels, laisse un solde positif qui représenterait 10,8% du chiffre d'affaire de vente des produits au cours fixé par le marché connu. Ce solde positif n'est cependant pas suffisant pour compenser l'amortissement des investissements nécessaires pour réaliser l'installation, estimés par la société MAGUIN. Ce dernier point justifie la nécessité d'étudier encore les améliorations technologiques du procédé de bioextrusion et de saccharification/fermentation permettant d'optimiser leur dimensionnement et les coûts d'investissements.

2- L'analyse de la répartition des coûts opérationnels fait apparaître, comme on pouvait s'y attendre, le poids très important des réactifs alcalins et acides. La réduction à 8,5% du taux de soude mis en œuvre pour le prétraitement se traduirait par une économie de 15% des coûts de potasse et d'acide phosphorique, du même ordre de grandeur que le déficit au bilan. Mais cette orientation, raisonnable pour l'efficacité du procédé de bioextrusion dans le cas des coproduits de maïs doux, des bagasses de canne à sucre ou d'agave et de la paille

d'orge, ne sera pas exploitable pour les autres coproduits comme le Pinzote ou l'Eucalyptus car elle a un impact trop important sur l'hydrolysabilité des bioextrudats. Par ailleurs, la diminution de la potasse et de l'acide phosphorique se traduira aussi par une perte de revenus en sel fertilisant, qui représente une part importante des revenus du procédé (35% des revenus), ce qui au total ne diminuera que de 25% le déficit du bilan. L'effet d'une diminution de 5% du prix d'achat des réactifs chimiques aurait déjà un impact supérieur (31% du déficit). Diminuer la quantité de base pour l'étape du prétraitement alcalin reste évidemment un objectif intéressant, en particulier du point de vue de l'économie de réactifs chimiques pour la production d'éthanol de seconde génération, mais son impact sur le bilan économique du procédé complet de fractionnement des matières lignocellulosiques en éthanol, méthane et fertilisant ne sera pas aussi important qu'attendu, car le revenu généré par la production d'éthanol ne représenterait que 22% du total des revenus, dans le cas du maïs doux. Diminuer les coûts des enzymes aurait un impact direct sur le bilan, mais qui restera plus faible que celle générée par les réactifs : une économie de 15% sur le coût opérationnel en enzymes, que ce soit par la diminution du taux d'enzymes, sous l'hypothèse qu'elle ne modifierait pas le rendement d'hydrolyse, ou par diminution du prix d'achat des enzymes, ne représentera que 20% du déficit du bilan du procédé.

Augmenter la production d'éthanol à partir du coproduit lignocellulosique reste l'objectif prioritaire du procédé. Dans le cas du maïs doux, compte tenu de sa teneur en cellulose et sur la base d'une conversion optimale de tout le glucose qu'elle représente, le gain de production d'éthanol théorique serait de 39%, ce qui représenterait un revenu supplémentaire de 9% par an, couvrant 115% du déficit du bilan à coûts opérationnels identiques. La conversion des C5 en éthanol permettrait alors de rendre ce bilan positif : le gain de production en éthanol théorique serait de 129% à partir de la conversion de la totalité des pentoses des hémicelluloses que contiennent les coproduits de maïs doux, ce qui représenterait un revenu supplémentaire de 29% par an, couvrant 380% du déficit du bilan, à coûts opérationnels identiques, sans tenir compte du surcoût éventuel en enzymes xylannases ni en ferments éthanolique, ni de la perte de méthane produit à partir des filtrats et des vinasses dans lesquels la teneur en sucre méthanogène serait diminuée d'autant que la quantité en sucres convertis en éthanol. Ces « espérances » de gain théorique de production d'éthanol doivent cependant être pondérés par le fait que dans le procédé de bioextrusion, un peu de cellulose est entraînée au filtrat de prétraitement alcalin, et surtout que 9% des hémicelluloses y sont extraites. Ces fractions sont valorisées par la méthanisation. La conversion totale des C5 et des C6 du bioextrudat de coproduit de maïs doux apporterait un gain de production d'éthanol de 142% par an, soit un revenu supplémentaire de 32% par an, représentant 419% du déficit du bilan calculé sans cette conversion et sans tenir compte de la perte en méthane produit.

En conclusion, réalisée pour un cas particulier de modèle de coproduits de maïs doux, à partir de résultats validés sur une installation pilote de bioextrusion, la projection de bilan économique d'une installation de bioraffinage produisant de l'éthanol, du méthane et des fertilisants a le mérite de souligner les orientations qui permettent d'atteindre une viabilité

industrielle du procédé. Elles sont de plusieurs ordres, contribuant chacune pour une part importante à l'équilibre économique de la production de bioéthanol de seconde génération :

- Augmenter l'efficacité du prétraitement de bioextrusion par la minimisation du coût en réactifs par rapport à l'éthanol. Cette orientation doit cependant tenir compte des contraintes qu'elle engendre sur le traitement thermo-mécano-chimique en extrudeuse (augmentation de l'énergie mécanique spécifique) et surtout des limites rencontrées dans le cas des matières lignocellulosiques très résistantes (cas du Pinzote) et fortement lignifiées (cas du bois d'Eucalyptus). De plus elle doit tenir compte de l'équilibre économique apporté par les revenus que représentent la production de fertilisants et de méthane.

- Augmenter l'efficacité de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose pour en minimiser le coût en enzymes. Au-delà de l'équation rendement en sucres maximum/taux d'enzymes, une perspective de recherche pourrait s'ouvrir autour d'une spécialisation des enzymes pour la dépolymérisation de la cellulose, voire des hémicelluloses, plus efficace pour la déstructuration lors de la bioextrusion, et pour l'hydrolyse des oligomères et surtout des dimères lors de la post saccharification après bioextrusion, pour l'étape de saccharification-fermentation simultanée.

- Augmenter le rendement en éthanol par l'augmentation du rendement en cellulose transformée bien sûr (choix de la matière lignocellulosique, comme la bagasse de canne à sucre par exemple), mais surtout par la conversion des C5 en éthanol. Cette voie privilégiée par de nombreuses recherches (Kötter and Ciriacy 1993; Kuyper et al. 2005; Hou 2012), offre bien sûr la plus large perspective d'amélioration des rendements de production d'éthanol à partir de la plupart des matières lignocellulosiques (20 à 35% d'hémicelluloses par rapport à la matière sèche représenteraient 30 à 100% d'éthanol en plus).

Cependant, l'intégration de la production d'éthanol de seconde génération dans une bioraffinerie produisant des fertilisants et du méthane nécessite aussi d'analyser l'impact environnemental de ce procédé et de ces produits pour privilégier l'une ou l'autre de ces orientations.

Une analyse de cycle de vie d'une projection industrielle locale (usine sur site de conserverie) du procédé étudié sur le coproduit de maïs doux, de la réception de la matière lignocellulosique jusqu'à la production d'éthanol, de méthane et de fertilisants, a été faite par la société APYGEC (un résumé de cette étude se situe en annexes). Les résultats de cette étude montrent que le procédé pourrait produire plus de 400 000 GJ par an dont un quart par l'éthanol et trois quarts par le méthane, pour une consommation énergétique d'environ 200 000GJ par an. L'efficacité énergétique, traduite par le quotient $MJ_{\text{consommées}}/MJ_{\text{produites}}$, se situerait à 0,48 sans allocation. Comparée à l'efficacité énergétique avec allocations économiques des concentrés protéiques de la production de bioéthanol de première génération à partir de maïs (0,88), le procédé étudié serait presque deux fois plus efficace dans la production d'énergie. Ce résultat s'explique par la grande quantité d'énergie résultante du méthane produit. Ces résultats devront être réétudiés si des améliorations sur le procédé

portent sur l'augmentation de la quantité de sucres hydrolysés qui partent actuellement en méthanisation, ce qui changerait le ratio éthanol/méthane produits.

L'empreinte carbone du procédé a aussi été évaluée et comparée à celle de bioéthanol de première génération à partir de maïs dont le Potentiel de Réchauffement Global (qui évalue la capacité du procédé à participer au réchauffement planétaire et s'exprime en kg de CO₂ équivalents) s'élève à 0,044kgCO₂eq par MJ produite (avec allocation économique des concentrés protéiques). L'empreinte carbone du procédé étudié se situerait à 0,382kgCO₂eq par MJ produite sans allocation, ce qui est presque 9 fois supérieure à celle d'éthanol première génération. En considérant les allocations économiques sur le méthane et l'éthanol, l'empreinte diminuerait jusqu'à 0,059kgCO₂eq par MJ, ce qui est toujours supérieur à la première génération mais dans un ordre de valeur plus acceptable.

Le procédé développé serait donc pour conclure très efficace énergétiquement, en grande partie grâce au méthane produit, dans l'attente d'améliorations technologiques pour l'augmentation des rendements hydrolytiques des sucres et la fermentation des pentoses. L'empreinte carbone estimée serait proche de celle des procédés de première génération à partir de maïs avec allocations. Cette empreinte pourrait également être réduite par l'amélioration des rendements biologiques dans un futur où elle deviendra de toute évidence un facteur incontournable du développement des procédés.

Conclusion générale

Avec des ressources en énergies fossiles s'amenuisant et des demandes énergétiques croissantes, ainsi qu'une prise de conscience grandissante sur la nécessité de préserver notre environnement, le grand défi scientifique des prochaines décennies sera de développer des énergies de substitution capables de répondre aux besoins de la population mondiale tout en impactant le moins possible l'environnement. C'est dans ce contexte que les recherches, actuellement très nombreuses, sur les biocarburants de seconde génération sont nées. Ces biocarburants, dont le bioéthanol fait partie, et contrairement à ceux de première génération, n'instaurent pas de compétition avec l'alimentation humaine. De plus, contrairement aux énergies fossiles, ils n'augmentent pas l'effet de serre par relargage dans l'atmosphère de stocks souterrains de gaz. Cependant le processus d'obtention de ces énergies en devenir est complexe et fait l'objet d'une recherche mondiale active pour lever les verrous scientifiques et technologiques encore existants. Parmi ces verrous, le prétraitement des matières lignocellulosiques, ainsi que l'hydrolyse enzymatique des sucres pariétaux qui les composent sont les clefs de voute de la récalcitrance à l'accès à des énergies rentables. Le développement du procédé de bioextrusion étudié a prouvé son adaptabilité aux différentes matières lignocellulosiques modèles sélectionnées, l'efficacité et la rapidité du prétraitement de ces matières lignocellulosiques, la facilité de mise en œuvre et la compaction des différentes opérations jusqu'à la pré-hydrolyse enzymatique en une étape unique continue. Le fractionnement des matières lignocellulosiques ainsi obtenu permet de définir ce procédé comme une unité de bioraffinage.

Un procédé adaptable à une grande variété de matières lignocellulosiques

Le procédé de bioextrusion a été développé et validé sur sept matières premières lignocellulosiques différentes : Le coproduit de maïs doux (coproduit de culture tempérée destinée à l'alimentation humaine), le coproduit de production d'huile de palme (Pinzote) (coproduit industriel de culture oléagineuse tropicale), les bagasses d'agave (coproduit industriel de production de Tequila) et de canne à sucre (coproduit industriel de culture sucrière tropicale), le coproduit d'Eucalyptus (coproduits forestiers et industriels de culture sylvicole), les sarments de vigne (coproduit de culture viticole) et la paille d'orge (coproduit de culture céréalières). Chacune de ces matières représentent un modèle de par leurs origines agricoles ou industrielles et leurs disponibilités géographiques, ainsi que de par leurs caractéristiques et compositions physico-chimiques. Elles ont pu être classées selon cinq critères :

- Leur composition en cellulose, composé pariétal principal qui conditionne le potentiel en sucres fermentescibles et donc en éthanol, est primordiale pour obtenir de bons rendements de transformation en bioéthanol. Tous les coproduits étudiés détiennent une teneur en cellulose comprise entre 35 et 45% par rapport à leur matière sèche, voire même près de 60% pour les coproduits d'Eucalyptus.

- Leur composition en hémicelluloses, composé pariétal hydrolysable en sucres également fermentescibles (pentoses) mais qui nécessitent une adaptation de la fermentation. Ces compositions sont variables : inférieures à 20%/MS pour la bagasse d'agave et les coproduits d'Eucalyptus, comprises entre 20 et 30%/MS pour les sarments de vigne, le Pinzote et les pailles d'orge, et supérieures à 30%/MS pour la bagasse de canne à sucre et le coproduit de maïs doux. Cette teneur en hémicelluloses est à la fois un obstacle à l'accessibilité de la cellulose aux enzymes, de par son effet barrière et son effet diluant dans la fibre, mais peut être également un potentiel en éthanol grâce à leurs compositions en pentoses théoriquement fermentescibles.

- Leur composition en lignines, composé pariétal phénolique, interagissant directement par un effet barrière sur l'accessibilité de la cellulose et la faible hydrolysabilité enzymatique des matières premières lignocellulosiques. Les matières très lignifiées (coproduits d'Eucalyptus : près de 25%/MS de lignines), lignifiées (Pinzote, bagasse d'agave, paille d'orge, sarments de vigne et bagasse de canne à sucre : <20%/MS) et peu lignifiées (coproduit de maïs doux : <5%/MS) ont pu être traitées et partiellement délignifiées pour améliorer leur hydrolysabilité.

- Leur composition en composés non pariétaux, pouvant interférer dans le processus de prétraitement (lipides, protéines) et d'hydrolyse enzymatique (composés phénoliques, minéraux). Les teneurs en composés extractibles à l'eau chaude de ces coproduits sont proches des 10%/MS exceptés pour les coproduits d'Eucalyptus (< 3%) et la bagasse de canne à sucre (< 7%).

- Leur hydrolysabilité à l'état brute qui peut être inversement corrélée à la teneur en lignines dans la fibre insoluble. Les rendements en sucres après hydrolyse enzymatique obtenus sur les coproduits bruts sont très variables : moins de 10%/MS pour le Pinzote et les pailles d'orge à plus de 20%/MS pour le coproduit de maïs doux et la bagasse de canne à sucre.

Selon des modifications des conditions de fonctionnement (profil de vis, vitesse de rotation, débits) de l'extrudeuse bi-vis, intrinsèques à l'état des matières lignocellulosiques (granulométrie de la matière, dureté des fibres), le procédé de bioextrusion a pu être adapté à chaque matière du panel sélectionné.

Un prétraitement thermo-mécano-chimique efficace et rapide des matières lignocellulosiques

Le fractionnement thermo-mécano-chimique alcalin en extrudeuse bi-vis des matières lignocellulosiques étudiées est très rapide (temps de séjour de la matière dans l'extrudeuse bi-vis de l'ordre de 2 minutes). La déstructuration thermo-mécano-chimique alcaline permet l'extraction de matière organique, composée en partie d'hémicelluloses et de lignines. Plus de

50% de la matière organique du coproduit de maïs doux peut être extraite pour des taux de soude très élevés (>50%/MS). Dans le cas de matières plus lignifiées, l'extraction de la matière organique est aussi fonction du taux de soude et s'élève à près de 20% de matière extraite pour le Pinzote (NaOH/MS > 30%) et 30% pour la bagasse d'agave (NaOH/MS = 26%). Près de la moitié de hémicelluloses pour des taux de soude compris entre 20 et 35%/MS ont pu être extraites dans le cas du coproduit de maïs doux. La perte en glucose reste inférieure à 5% lorsque le taux de soude est limité à 25%/MS. Un plan d'expérience a été réalisé pour démontrer l'effet prépondérant de la soude sur l'extraction de la matière organique (principalement des hémicelluloses), effet renforcé par l'augmentation de la température.

L'hydrolysabilité des matières prétraitées est nettement améliorée par rapport à l'état brut. Dans le cas du coproduit de maïs doux, l'hydrolysabilité de la cellulose atteint près de 80% pour des taux de soude compris entre 10 et 20%/MS, alors qu'elle est totale pour des taux supérieurs à 35%/MS. Le Pinzote voit l'hydrolysabilité de sa cellulose atteindre 50% du potentiel pour des taux de soude de 16%/MS et être quasiment totale pour des taux de soude proche de 40%/MS. L'hydrolysabilité de la paille d'orge est quintuplée avec seulement 10%/MS de soude et celle de la bagasse d'agave presque doublée.

L'adaptation de la matière prétraitée en milieu alcalin, aux conditions optimums de fonctionnement des enzymes pour l'hydrolyse enzymatique des extrudats (température : 50°C et pH : 5) est assuré par l'étape de neutralisation effectuée en continu dans l'extrudeuse bi-vis. L'ajout d'acide phosphorique en solution froide dans la bi-vis permet de neutraliser la matière, voire d'ajuster son pH à la valeur souhaitée, tout en la refroidissant à une température proche de 50°C pour la préparer à la saccharification enzymatique. La neutralisation en extrudeuse bi-vis est très rapide, compacte (seulement 2 modules d'extrudeuse sont nécessaires), et n'impacte pas l'amélioration d'hydrolysabilité des matières obtenue par prétraitement alcalin.

Une imprégnation enzymatique en continu des matières prétraitées en extrudeuse bi-vis

Le procédé de bioextrusion comporte une opération d'imprégnation enzymatique de la matière en extrudeuse bi-vis pour permettre à l'hydrolyse enzymatique de démarrer dans des conditions de température, de pH et de micro-mélange optimums. Aucun effet significatif de dénaturation ni de désactivation des cocktails enzymatiques utilisés au cours de la bioextrusion de matières lignocellulosiques prétraitées en conditions alcalines, neutralisées et fractionnées, n'a été révélé.

La bioextrusion à faible ratio liquide/solide (< 3) permet d'utiliser de faibles taux d'enzymes (1 à 5%/MS) et de réaliser l'hydrolyse enzymatique post bioextrusion à haute consistante (>

20%). En conditions diluées (< 5%), l'hydrolyse enzymatique des matières bioextrudées est accélérée.

Une intensification du mélange dans l'extrudeuse bi-vis par l'utilisation d'éléments restrictifs plus contraignants (CF2C et MalO), ne met pas en évidence de dénaturation des enzymes et permet une légère augmentation (8%) du temps de séjour de la matière dans l'extrudeuse par rapport à des éléments malaxeurs bilobés (BB), sans impact sur l'hydrolysabilité des bioextrudats.

L'augmentation du temps de séjour dans l'extrudeuse bi-vis, par recyclage de la matière bioextrudée, affecte physiquement la matière qui devient très collante et visqueuse à mesure que le nombre de recyclage augmente. Jusqu'à près de 14%/MS de sucres sous forme de mono, d'oligo et de polysaccharides sont libérés pour une matière recyclée 6 fois. L'effet combiné thermomécanique de l'extrudeuse bi-vis et de l'hydrolyse enzymatique en extrudeuse permet d'atteindre des taux de particules fines proches de 24% en 7 passages et des taux d'hydrosolubles à chaud dépassant les 45%, traduisant l'action des enzymes dans l'extrudeuse. L'observation microscopique des fibres de coproduits de maïs doux prétraités et bioextrudés met en évidence une dégradation en surface des fibres. De plus, les mesures de viscosité des solutions de fibres dissoutes ont révélé un degré de polymérisation moyen des fibres holocellulosique décroissant en fonction du temps de séjour de la matière synonyme de dépolymérisation de la cellulose et des hémicelluloses. Cependant l'augmentation du temps de séjour en extrudeuse bi-vis aurait tendance à ralentir l'activité des hémicellulases du cocktail enzymatique utilisé (Advanced enzymes).

Un bioraffinage de la cellulose contenue dans les matières lignocellulosiques

Un procédé de bioraffinage de la cellulose a été mis au point comprenant un cycle de prétraitement alcalin avec neutralisation et extraction de matière organique, suivi d'une bioextrusion et d'une extraction à l'eau des fractions solubilisées. Ce procédé de fractionnement peut être réalisé sur plusieurs étages en répétant le cycle de fractionnement (prétraitement+bioextrusion+extraction) plusieurs fois.

L'extraction des fractions solubilisées durant la bioextrusion par lavage et séparation en extrudeuse bi-vis, permet d'extraire près de 75% de matière sèche dans le cas du maïs doux. La fraction extraite est composée en grande partie de fines particules (< 250µm), des hydrosolubles, et des enzymes de l'opération de bioextrusion qui sont désorbées par le pressage dans le contrefilet servant à la filtration de l'étape d'extraction.

Le fractionnement étagé du coproduit de maïs doux, a permis d'atteindre une extraction de près de 97% des hémicelluloses afin d'obtenir un rendement en fibre cellulosique purifiée à 90%. Le bioraffinage du Pinzote obtenu est moindre puisqu'il est de 65% de cellulose par rapport à la fibre pour une extraction de 80% des hémicelluloses.

Une intégration à l'échelle pilote du procédé de bioextrusion compacté en une étape

La mise au point du procédé compacté à l'échelle pilote, comprenant le prétraitement alcalin, la neutralisation et la séparation des composés extractibles, ainsi que la bioextrusion a été réalisée en une seule opération dans une extrudeuse bi-vis pilote industrielle. Cette compaction implique un temps de séjour dans l'extrudeuse réduit de moitié, ce qui n'impacte cependant pas les résultats obtenus pour le cas du coproduit de maïs doux. Ils s'avèrent comparables (compositions des matières traitées et teneurs en hydrosolubles équivalentes), voire supérieurs (hydrolysabilités équivalentes en conditions concentrées et meilleures en conditions diluées) à ceux obtenus en plusieurs étapes d'extrusions.

Le procédé de bioextrusion a été appliqué aux sept matières lignocellulosiques de l'étude, ce qui prouve sa grande adaptabilité à différents types de matières premières. Les bioextrudats obtenus ont pu être hydrolysés en conditions concentrées, et fermentés pour produire du bioéthanol.

Une projection industrielle du procédé complet de production de bioéthanol, intégrant la valorisation des effluents pour la production de méthane et de fertilisants, a été étudié dans le cas du coproduit de maïs doux. L'efficacité énergétique s'avère excellente comparée aux procédés de production de bioéthanol première génération à partir de maïs. Les coûts de production sont néanmoins élevés et nécessitent l'étude des améliorations technologiques possibles, ainsi que des progrès sur l'augmentation de l'efficacité des cocktails enzymatiques utilisés et des rendements fermentaires des pentoses en éthanol.

Le procédé de dégradation des parois végétales de matières lignocellulosiques variées, par voie thermo-mécano-chimio-enzymatique en extrudeuse bi-vis (dit de bioextrusion) permet donc de prétraiter ces matières en conditions alcalines, de les neutraliser, de les séparer de leurs composés extractibles, et de les pré-hydrolyser en continu, en une seule opération rapide d'environ 2minutes. Ce procédé est adaptable sur différents types de matières lignocellulosiques et produit une matière déstructurée, imprégnée enzymatiquement, servant de précurseur à la saccharification-fermentation pour produire du bioéthanol.

Dans un souci d'amélioration du procédé, plusieurs voies d'études seraient intéressantes à parcourir :

- L'utilisation de souches fermentaires capables de co-fermenter les hexoses et pentoses est bien sûr la voie d'amélioration la plus évidente, car elle permettrait d'obtenir des rendements en éthanol presque doublés dans le cas de matières lignocellulosiques riches en hémicelluloses.

- L'étude des mécanismes, mis en jeu au niveau moléculaire, dans l'extrudeuse bi-vis serait intéressante pour comprendre plus finement l'apport de l'extrusion bi-vis dans l'amélioration des activités enzymatiques.

- L'action cellulasique pourrait également être renforcée par le développement et l'introduction de cocktails plus actifs pour dépolymériser la cellulose plus rapidement et obtenir des jus extraits contenant plus de glucose directement en sortie d'extrudeuse bi-vis. Cela nécessitera néanmoins un travail d'ingénierie enzymatique très important.

- L'utilisation de cocktails enzymatiques à activités hémicellulasiques et lignasiques pourrait orienter le procédé de prétraitement vers un procédé de fractionnement biologique sans utilisation de produits chimiques.

- Le procédé pourrait aussi être orienté vers l'extraction de jus de pentoses sans utilisation d'acide, par l'action de cocktails enzymatiques spécialisés dans l'activité hémicellulasiques.

Toutes ces perspectives permettraient ainsi de diversifier le procédé pour le rendre plus efficace et rentable, et encore plus adaptable en fonction du produit ciblé.

Partie expérimentale

P.E.1 Conditionnement des matières lignocellulosiques

P.E.1.1 Broyage des matières lignocellulosiques

Les matières lignocellulosiques sèches ou déshydratées ont été broyées sur un broyeur à marteau VS 1 (Electra), ou un broyeur à marteaux Goulu N (Electra) de plus grande capacité. Une grille d'exclusion du broyat de 6mm puis si besoin une grille de 2mm ont été utilisées.

Un broyage plus fin des matières brutes et traitées pour certaines analyses est nécessaires et a été effectué sur un broyeur de laboratoire Pulverisette (Fritsch) avec une grille d'exclusion de de 0,5mm puis de 0.12mm.

Les matières lignocellulosiques broyées ont été conservées dans des sacs en plastique à température ambiante.

P.E.1.2 Neutralisation des extrudats alcalins hors extrudeuse

Les extrudats alcalins sont collectés à la sortie de l'extrudeuse dans une poubelle plastique tarée de volume supérieur à 100l. De l'eau est ajoutée en quantité cinq fois plus importante (L/S : 5). Une solution de H₂SO₄ à 72% est ajoutée progressivement. Le pH est suivi par l'intermédiaire d'un pH-mètre HI 991001 (HANNA Instrument) tout au long de la neutralisation après agitation du mélange. L'ajout d'acide sulfurique se fait petit à petit jusqu'à l'obtention d'un pH neutre (7). Le mélange neutralisé est ensuite filtré et pressé à la main dans une toile de jute pour séparer l'extrudat du filtrat.

P.E.1.3 Séparation des filtrats clairs de leurs particules fines insolubles

Les filtrats chargés de particules fines insolubles sont récoltés à la sortie de l'extrudeuse. Ils sont déversés dans des tubes à centrifugation et centrifugés entre 5000 et 9000rpm (centrifugeuse Sigma 6-16K) pendant 5 à 10min à 20°C selon la qualité de séparation de la partie insoluble (culot) du filtrat clair.

La partie insoluble est séparée du filtrat clair et les teneurs en humidité et en matière minérale des deux sont analysées.

P.E.1.4 Transformation à froid des matières lignocellulosiques en holocellulose

Préparation de la solution acide :

5g de chlorite de sodium pur à 80% sont dissous dans 99ml d'eau distillée, puis 1ml d'acide acétique concentré est ajouté. La solution est homogénéisée et gardée à l'obscurité.

Protocole :

Environ 200mg (équivalent matière sèche) de matière lignocellulosique sont introduit dans un flacon à bouchon étanche et 10ml de la solution acide sont ajoutés.

Le flacon est fermé hermétiquement et placé à l'obscurité pour 16h.

La matière traitée est ensuite lavée et filtrée sous hotte avec une large quantité d'eau (>2l) puis mise à sécher à l'étuve à 103°C pendant 24h.

P.E.2 Caractérisation des matières lignocellulosiques

P.E.2.1 Teneur en humidité

La teneur en humidité des échantillons est mesurée selon la norme française NF V 03-903. Elle correspond à la perte en masse de l'échantillon jusqu'à sa stabilisation après chauffage à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ dans une étuve. L'humidité (H) est exprimée en pourcentage de masse selon l'équation :

$$H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 : tare du creuset (g)

m_1 : masse totale de l'échantillon et creuset avant étuve (g)

m_2 : masse totale de l'échantillon et creuset après étuve (g)

Le taux en matière sèche (MS) de chaque matière est ensuite calculé grâce à ce taux d'humidité (H) qui est soustrait à la masse de matière humide totale de l'échantillon :

$$MS = 100 - H = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

P.E.2.2 Teneur en matières minérale et organique

Le taux de matière minérale des échantillons est mesuré en accord avec la norme française NF V 03-322. Les échantillons sont calcinés dans un four à 550°C pendant 5h. Les résidus calcinés doivent se présenter comme une poudre de couleur gris clair. Si ce n'est pas le cas ajouter de l'H₂O₂, chauffer pour évaporer et calciner de nouveau. La matière minérale (MM) est exprimée en pourcentage de la matière sèche :

$$MM = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 : tare du creuset (g)

m_1 : masse totale de l'échantillon et creuset avant calcination (g)

m_2 : masse totale de l'échantillon et creuset après calcination (g)

La différence entre la matière sèche et la matière minérale correspond à la matière organique (MO). Elle s'exprime en pourcentage par rapport à la matière sèche :

$$MO = MS - MM$$

P.E.2.3 Teneur en lipides

La teneur en lipides est réalisée selon la norme française NF V 03-908. Les échantillons sont préalablement broyés et pesés (10 à 15g). Les lipides sont extraits au cyclohexane dans un dispositif d'extraction continue (Soxhlet 125mL). Après 5h d'extraction (siphonage toutes les 10min), le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les dernières traces de cyclohexane sont éliminées à l'étuve à 103 ± 2°C jusqu'à stabilisation de la masse.

La teneur en lipides (L) est exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche :

$$L = \frac{m_2 - m_0}{m_1} \times 100$$

m_0 : tare du ballon (g)

m_1 : masse sèche de l'échantillon (g)

m_2 : masse totale de l'échantillon et ballon après extraction et étuve (g)

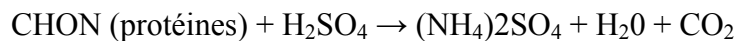
Il est possible d'opérer une extraction accélérée au cyclohexane à l'aide d'un dispositif de type Dionex ESA 200 Accelerated Solvent Extractor (ASE) selon les conditions opératoires : 105°C et 70bars, 4 cycles de 10min d'extraction et réintroduction automatique de solvant propre avant chaque cycle. Il est néanmoins recommandé d'utiliser l'extraction en Soxhlet lorsque la quantité de matière disponible le permet.

P.E.2.4 Teneur en protéines

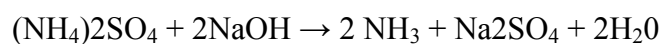
La teneur en protéines est déterminée par la méthode au Kjeldhal en accord avec la norme française NF V 18-100. Elle consiste en la minéralisation de l'azote organique contenue dans l'échantillon en azote minéral (ammoniaque). Cette ammoniaque est ensuite titrée par réaction acido-basique.

La minéralisation de l'échantillon (0.5 à 1.5g de protéines estimées dans l'échantillon) est effectuée à l'aide d'acide sulfurique concentré (12.5mL à 95%) en présence de deux pastilles de catalyseur (CuSO₄). Chauffée à 400°C utilisant un dispositif de type Tecator Digester 2020 durant 2h. Le produit obtenu est ensuite neutralisé avec de la soude à 40%.

Minéralisation à l'acide sulfurique



Neutralisation à la soude



Après refroidissement l'ammoniaque produite est préparée en distillation automatique avec vapeur dans un appareil de type Tecator Kjelttec 2200. Pour déterminer de l'azote total contenu dans la matière organique, l'ammoniaque est titrée avec de l'acide hydrochlorique à 0.1N en présence d'indicateurs colorés (le vert de bromocresol et le rouge de méthyl en solution d'acide borique à 4%).

La teneur en protéines de l'échantillon est obtenue en multipliant l'azote total par un coefficient de conversion empirique. Ce coefficient prend en compte la masse molaire moyenne des acides aminés composant les protéines. Il est fixé à 5.7 dans le cas de la paille de maïs.

La teneur en protéines (P) est exprimée en pourcentage par rapport à la matière sèche :

$$P = 5.7 \times \frac{M_N \times c \times (V_1 - V_0)}{m} \times 100$$

M_N : 14.007 g/mol

c: concentration de la solution d'acide hydrochlorique (mol/L)

V_0 : volume de solution d'acide hydrochlorique utilisé pour le blanc (ml)

V_1 : volume de solution d'acide hydrochlorique utilisé (ml)

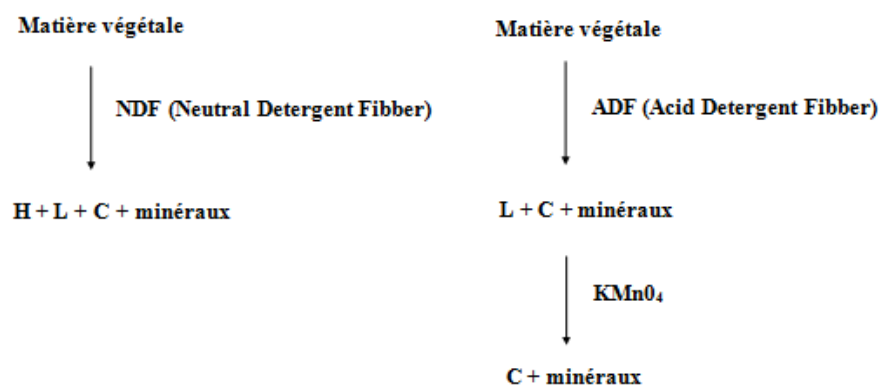
m: masse de l'échantillon (mg)

P.E.2.5 Composition en cellulose, hémicelluloses et lignines

La méthode Van Soest and Wine's (Van Soest and Wine 1967) a été utilisée pour déterminer la composition des matières végétales dans les trois composés pariétaux principaux : cellulose (C), hémicelluloses (H), lignines (L). Cette méthode permet d'estimer la proportion de chaque composé par solubilisation et séparation gravitationnelles fractionnées.

Principe :

$$\text{Matière végétale} = L + C + H + MM + \text{autres}$$



Avant chaque traitement la matière doit être :

- Sèche (MS \geq 85%)
- Broyée pour une homogénéisation du traitement

Réactifs :

Solution NDF / 1L H₂Od:

- 30g Sodium Lauryl Sulfate
- 18.61g Sodium tetra acetate ethylene diamine
- 4.56 g Disodium phosphate
- 6.81g Sodium borate, 10H₂O
- 10ml Ethylene glycol monoethyl ether

Solution ADF / 1L H₂Od:

- 20g Cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB).
- 26.8ml H₂SO₄ concentrée

Solutions pour attaque des lignines :

- Permanganate de potassium saturé: dissoudre 50g de KMnO_4 dans 1L H_2O
- Solution tampon: dissoudre 6g de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ + 0.15g of AgNO_3 dans 100ml H_2O , ajouter 500ml d'acide acétique pur + 5g d'acétate de potassium, ajouter 400ml de *tert*-butanol.
- Solution Mix: ajouter 2 volumes KMnO_4 saturée et 1 volume de solution tampon
- Solution déminéralisante: dissoudre 50g d'acide oxalique déshydraté dans 700ml d'éthanol 95%, ajouter 50ml de HCl (35% ou 12N) + 250ml de H_2O
- Ethanol 80%: mélanger 200ml de H_2O à 800 ml d'éthanol 95%
- Acétone

Procédure :

Le système d'appareillage Fibertec system M - Hot extractor est utilisé.

ADF ou NDF (1^{er} traitement) :

- Peser entre 0.8 et 1g de matière sèche et broyée
- Déposer dans un fritté
- Ajouter 100mL du réactif correspondant (ADF ou NDF).
- Mettre le système de refroidissement des vapeurs en place et mettre à bouillir pendant 1h
- Arrêter le chauffage après 1h
- Filtrer la solution à travers le fritté
- Laver le résidu solide à l'eau distillée plusieurs fois jusqu'à disparition de la mousse
- Sécher à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 12h
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser le taux de matière sèche
- Mettre à minéraliser le solide à 550°C pendant 3h et peser le taux de matière minérale

ADF (2^{ème} traitement: attaque des lignines):

- Mettre le solide plus 25ml de solution mix dans le fritté
- Laisser à température ambiante pendant 1h30 en mélangeant de temps en temps (La solution doit rester violette, si la solution vire au brun, elle est saturée et il faut filtrer et la renouveler)
- Filtrer après 1h30
- Laver plusieurs fois à la solution déminéralisante pour obtenir des fibres blanches
- Laver 2 fois à l'éthanol 80%
- Laver 2 fois à l'acétone
- Sécher à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 12h
- Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser le taux de matière sèche
- Mettre à minéraliser le solide à 550°C pendant 3h et peser le taux de matière minérale

P.E.2.6 Teneur en composés hydrosolubles et organiques solubles

Les hydrosolubles contenant la matière organique et minérale soluble ont pu être évalués grâce à leur extraction dans de l'eau portée à ébullition pendant 1h et suivie d'une filtration. Ils sont rapportés à la matière sèche. Les organiques solubles représentent la matière organique soluble dans l'eau, elle se traduit par les hydrosolubles auxquels les minéraux solubles dans l'eau ont été soustraits.

La teneur en composés hydrosolubles est obtenue grâce à une méthode gravimétrique. Environ 1g de l'échantillon est introduit dans un fritté en verre (porosité 2), qui est placé dans un dispositif de type Fibertec Tecator M1017. 100mL d'eau déminéralisée sont ajoutés et l'ensemble est porté à ébullition pendant 1h. Par la suite l'eau est éliminée par aspiration et le résidu séché à l'étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 12h jusqu'à stabilisation de sa masse. L'échantillon est ensuite pesé et la teneur en composés hydrosolubles (WS) est exprimée par rapport à la matière sèche :

$$WS = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 : tare du fritté en verre (g)

m_1 : masse de l'échantillon sec et du fritté (g)

m_2 : masse du résidu sec et fritté après traitement et étuve (g)

La teneur en organiques solubles (OS), est calculée après calcination au four à 550°C pendant 5h du résidu sec d'hydrosolubles. Elle est exprimée par rapport à la matière sèche :

$$OS = WS - (MM_1 - MM_2)$$

MM_1 : matière minérale de l'échantillon (%)

MM_2 : matière minérale du résidu d'hydrosolubles (%)

P.E.2.7 Composition en monosaccharides par hydrolyse acide totale

La composition en monosaccharides est déterminée par HPIC (high performance ionic chromatography) après hydrolyse acide totale.

Les échantillons sont broyés ($< 120\mu\text{m}$). Environ 100mg d'échantillon sont introduits dans un tube à essai et imprégnés avec 1.25mL d'une solution de H_2SO_4 à 72% pendant 30min à 25°C . Le tout est ensuite dilué avec 13.5mL d'eau déminéralisée. (Lorsqu'il s'agit de filtrat, 10ml du filtrat auxquels 1,25ml d'une solution de H_2SO_4 à 72% est ajouté directement dans les tubes sans ajout d'eau supplémentaire ni temps d'imprégnation).

Pour chaque sucre, une compétition entre la libération de monosaccharides et leur dégradation impose un suivi cinétique. Trois tubes sont à préparer pour chaque échantillon (60 min, 90 min et 120 min).

Les tubes sont ensuite placés dans un bain d'huile porté à 100°C. Le temps de réaction est fixé par la cinétique pour chaque échantillon. Après refroidissement chaque hydrolysats est neutralisé avec 3.6mL de solution de soude à 32% (m/v). Les hydrolysats neutralisés sont ensuite filtrés (0.45µm) et leur volume ajusté à 25mL avec de l'eau déminéralisée. Les monosaccharides sont déterminés sur chromatographie Dionex avec détecteur ampérométrique pulsé.

Conditions de l'HPIC (High performance ionic chromatography):

Le dispositif utilisé est de type DIONEX ICS-3000 couplé à un système de génération automatique d'éluent (système RFIC), pré-colonne: Carbopac PA1 guard, colonne: Carbopac PA1, détecteur ampérométrique pulsé, de 0 à 40 min: 1mM KOH, de 40 à 45 min: 1mM KOH à 100mM KOH.

Débit: 1 ml/min.

Solution de post-colonne: NaOH 300 mM.

Conditions de detection: 0 s: 0.1V; 0.4 s: 0.1V; 0.41 s: -2.0V; 0.42 s: -2.0; 0.43 s: 0.6V; 0.44 s: -0.1V; 0.5s: -0.1V.

P.E.2.8 Composition en composés pariétaux et en monosaccharides par le protocole NERL

La méthode NERL s'appuie sur le protocole « Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass» du Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Sluiter et al. 2008).

P.E.2.9 Microscopie électronique à balayage des fibres

L'observation des fibres se fait à l'aide du microscope électronique à balayage JSM 6400. Avant toute observation, les échantillons sont préalablement séchés (24h à l'étuve à 103°C). Puis, ils sont métallisés à l'argent, sous plasma d'argon (métallisation sputtering).

P.E.2.10 Mesure de viscosité

Les fibres sont dissoutes dans une solution de cupriéthylène di-amine et la viscosité des solutions est mesurée pour être reliée au DP de la cellulose dans le monde papetier.

Protocole de préparation des solutions :

- Faire barboter à l'azote, la solution de cupriéthylène di-amine.
- Peser 250mg équivalent matière sèche de l'échantillon
- Dans un flacon hermétique, déposer les 250mg de matière sèche
- Ajouter 25ml d'eau distillée et quelques billes de verre.
- Fermer le flacon hermétiquement et agiter.
- Ajouter 25ml de solution de cupriéthylène di-amine puis des billes de verre jusqu'à ce que le ménisque soit à la surface de l'ouverture du flacon, pour ne pas laisser d'air dans le flacon lors de sa fermeture.
- Fermer le flacon hermétiquement et agiter.
- Mettre sous agitation pendant la nuit.

Protocole de mesure de viscosité :

- Régler le bain thermostaté à 25°C
- Installer le viscosimètre capillaire (Ubbelohde, SCHOTT-GERÄT) dans le bain thermostaté.
- Introduire 10ml de la solution dans le viscosimètre et attendre 30mn pour la stabilisation thermique.
- Aspirer à l'aide d'une pompe à vide, la solution pour que la surface du liquide passe en dessous du 1^{er} trait de jauge.
- Retirer l'aspiration.
- Déclencher le chronomètre lorsque la surface du liquide franchi le premier trait de jauge.
- Noter les temps de franchissement de la surface du liquide pour le 2^{ème} et 3^{ème} trait de jauge.
- L'opération est répétée 2 à 3 fois et un temps moyen pour chaque trait de jauge est calculé.



Viscosimètre capillaire

Le DP et les viscosités se calculent selon :

$$DP = (0,75 \times V')^{1,105}$$

$$\text{où } V' = (954 \times \log V) - 325$$

$$\text{et } V = c \times d \times t$$

avec :

c : constante du viscosimètre utilisé ;

d : densité de la solution de travail, donnée par la norme TAPPI (1,052g.ml⁻¹) ;

t : durée de la mesure (s) ;

V' : viscosité intrinsèque (dm³.kg⁻¹) ;

V : viscosité dynamique (mPa.s)

P.E.2.11 Mesure de la cristallinité de la cellulose

La cristallinité de la cellulose est mesurée par diffractométrie aux rayons X (D8 Advance, Bruker).

Le pic de diffraction caractéristique de la cellulose se situe à $2\theta \approx 21^\circ$.

Le taux de cristallinité est donné par l'intégrale $\int_{crist} I(\theta) \times d(2\theta)$ dans la plage $8^\circ - 32^\circ$.

Les aires sous les courbes sont calculées par le logiciel Maple

P.E.3 Analyses enzymatiques

P.E.3.1 Protocole DNS

- Prélever 0,5ml de chaque échantillon dilué dans 1ml d'eau distillée.
- Ajouter 1ml de réactif 3,5 DNS.
- Mélanger et fermer hermétiquement.
- Porter au bain marie à 100°C pendant 5mn.
- Refroidir et ajouter 10ml qsp d'eau distillée (7,5ml) et laisser reposer 15mn.
- Lire l'absorbance 540nm

P.E.3.2 Hydrolyse enzymatique en milieu faiblement agité

- Prévoir un duplicat/triplicat de tubes par prélèvement
- La matière est mise dans un tube Pyrex 25.
- Si elle n'est pas imprégnée enzymatiquement, ajouter les enzymes au dosage voulu.
- Ajouter de la solution tampon pour obtenir la consistance souhaitée en prenant en compte le taux de matière sèche de la matière.
- Fermer le tube hermétiquement et agiter
- Placer au bain agité (Polytest 30, Fischer Scientific) à 50°C à une agitation de 240.
- Prélever les tubes correspondant à l'heure du prélèvement et ajouter 10ml d'eau déminéralisée si l'hydrolyse enzymatique n'a pas assez liquéfié le milieu.
- Mettre les tubes dans de l'eau à ébullition pendant 5mn.
- Laisser refroidir les tubes
- Prélever le liquide de chaque tube et le filtrer à $0,45\mu\text{m}$.
- Diluer si besoin et analyser les sucres en HPIC.

P.E.3.3 Concentration protéique d'un cocktail enzymatique

Utilisation de Kit BIORAD : DC Protein Assay

Précipitation à l'acétone :

- Diluer en cascade des échantillons enzymatiques avec du Tris-HCl pH : 8 10mM et dans un volume final de 500 μ L ;
- Ajouter 1.5mL d'acétone
- Vortexer et mettre 30min à 4°C
- Centrifuger 10min à 5000rpm et enlever le surnageant
- Dissoudre le culot avec 500 μ L de Biorad DC Protein Assay A et ajouter 500 μ L A à la gamme
- Ajouter 4mL de Biorad DC Protein Assay B (échantillons et gamme)
- Vortexer et incuber 15 à TA à l'abri de la lumière
- Transférer 1mL dans des cuves et lire la DO à 750nm contre de l'eau

Gamme BSA [0 ; 1mg/mL]

[BSA] mg/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Volume BSA à 10mg/mL	0	2	4	6	8	10
Volume Tris-HCl pH :8 10mM	100	98	96	94	92	90

P.E.3.4 Détermination du pH d'une solution

Le pH d'une solution a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre HI 991001 (HANNA Instrument). Le pH-mètre a été étalonné avec une solution tampon de pH 7 contenant du phosphate de potassium et du phosphate de sodium et une solution tampon de pH 4 contenant du potassium, de l'hydrogène et des phtalates.

P.E.4 Fractionnement et bioextrusion en extrudeuse bi-vis

P.E.4.1 Protocole opératoire

- Fixer les températures de consignes et attendre que les températures soient stabilisées aux consignes
- Faire tourner très lentement les vis
- Injecter la solution de prétraitement (alcalin) et attendre que le liquide sorte par le filtre
- Alimenter en solide doucement
- Augmenter l'alimentation solide et la vitesse de vis progressivement et parallèlement jusqu'aux valeurs voulues
- Injecter progressivement la solution de lavage (ou de neutralisation) jusqu'à la valeur souhaitée
- Laisser stabiliser au minimum 30min
- Prélever les débits liquide et solide pour échantillonnage
- Dans le cas de bioextrusion, injecter la solution enzymatique jusqu'à la valeur voulue
- Prélever les débits liquide et solide pour échantillonnage

Développement d'un procédé innovant de dégradation enzymatique des parois végétales pour la production de bioéthanol seconde génération

P.E.4.2 Caractéristiques des extrudeuses

		BC45	BC21	EVOLUM HT53
Extrudeuse	Longueur utile du fourreau	1400mm	700mm	1908mm
	Course maximum de la glissière	1800mm	1370mm	2100mm
	Poids total de l'extrudeuse	2800kg	1000kg	4800kg
	Pression spécifique au sol sur pieds les plus chargés	4,2kg.cm ⁻²	3 daN.mm ⁻²	-
Moteur vis	Type	GS 1607	AC	ABB DMI225
	Puissance	44kW	8,5kW	152kW
	Vitesse	2000tr.min ⁻¹	2000tr.min ⁻¹	1600 tr.min ⁻¹
Groupe d'entraînement des vis	Rapport	3,26	2,9	2,0
	Vitesse maximum des vis	600tr.min ⁻¹	682tr.min ⁻¹	800tr.min ⁻¹
	Volume d'huile (ISO VG 320)	20l	10l	50l
	Débit eau brute	7,5l.min ⁻¹		0,4m ³ .h ⁻¹
	Température eau brute	20°C	20°C	20°C
Refroidissement des fourreaux	Type	Electrovannes	Electrovannes	Electrovannes
	Nombre de zones	7	7	9
	Débit eau brute	500 à 1000l.h ⁻¹	2 m ³ .h ⁻¹	6 m ³ .h ⁻¹
	Pression requise	4 à 6bars	1,8bars	5 à 6bars
Trémie d'alimentation solide	Fabricant	CLEXTRAL	KTRON	KTRON
	Type	40	K2 ML D5 S60	SWB-300-N
	Volume trémie	40l	50l	150l
	Vitesse maximum	227tr.min ⁻¹	87Hz	200kg.h ⁻¹
Armoire électrique	Puissance	0,75kW	0,55kW	0,45kW
	Dimensions	2440 mm x 650 mm x 2200 mm	2400mm x 670mm x 2350mm	2300mm x 1320mm x 1900mm
	Poids	400 kg	500 kg	-
	Tension d'alimentation	380 V – 50 Hz	400V – 50Hz	-
	Intensité installée par phase	190 A	80 A	-
	Intensité à prévoir par phase	190 A	100 A	-
Pompe d'alimentation liquide 1	Fabricant	DKM	DKM	DKM
	Type	K20 2 PP 16	K20 2 KAMP 112/16	Super MD-PP-63
	Débit maximum	24l.h ⁻¹	24l.h ⁻¹	1200l.h ⁻¹
	Pression maximum	10bars	10bars	25bars
	Réservoir	4,5l	4,5l	-
Pompe d'alimentation liquide 2	Puissance	0,37kW	0,37kW	3kW
	Fabricant	DKM	DKM	DKM
	Type	K20 2 P32	K20 2 P32	Super K Camp112/12
	Débit maximum	87l.h ⁻¹	87l.h ⁻¹	14l.h ⁻¹
Pompe d'alimentation liquide 3	Pression maximum	40bars	40bars	25bars
	Puissance	0,37-0,45kW	0,37-0,45kW	0,55kW
	Fabricant	-	-	DKM
	Type	-	-	K20 2 P32
	Débit maximum	-	-	87l.h ⁻¹
Pompe d'alimentation liquide 3	Pression maximum	-	-	40bars
	Puissance	-	-	0,37-0,45kW

P.E.4.3 Distribution du temps de séjour

Le traceur choisi pour la détermination de la distribution du temps de séjour est l'érythrosine (colorant E127, sel disodique de la tétraiodofluorescine), qui permet une bonne coloration de nombreuses matières végétales.

Environ 15g de matière lignocellulosique sont imprégnés d'une solution d'érythrosine à 1 % (m/v) dans l'eau puis est séchés en étuve à 103°C pendant 24h. La matière colorée est introduite manuellement au niveau de l'entrée solide de l'extrudeuse bi-vis. L'extrudat est prélevé à la sortie toutes les 5 s sur une durée de 5 min. Les échantillons sont ensuite séchés à l'étuve à 103°C pendant 24h puis broyés à l'aide d'un moulin à café.

La détermination de la distribution du temps de séjour de la matière dans l'extracteur bi-vis est déduite de la concentration de l'extrudat déterminée par colorimétrie. L'appareil utilisé est un spectrophotocolorimètre Série CM-500i (Minolta). L'illuminant est de type D65, qui correspond à la lumière du jour avec UV et l'observateur mis en œuvre est l'observateur 2°. La matière est soumise à une lumière qu'elle réfléchit et les nuances de rouge émises par la matière colorée, qui correspondent au rapport a^* du référentiel L^*a^*b normalisé par la Commission Internationale à l'Eclairage, seront mesurées par l'appareil. Chaque mesure est répétée cinq fois.

Les valeurs sont reportées graphiquement et la distribution de temps de séjour est déterminée par calcul de la ligne de base, correction des valeurs de concentration du traceur par soustraction de la valeur de la ligne de base et intégration numérique de la fonction de concentration par la méthode des trapèzes. La fonction de distribution du temps de séjour $E(t)$ (s) est déterminée comme suit :

$$E(t) = \frac{C(t)}{\sum C(t) \cdot \Delta t}$$

$$\text{Avec } \sum C(t) \cdot \Delta t = C(t_0) \cdot \frac{t_1 - t_0}{2} + \sum_{i=1}^{n-1} C(t_i) \cdot \frac{t_{i+1} - t_{i-1}}{2} + C(t_n) \cdot \frac{t_n - t_{n-1}}{2}$$

Où $C(t_i)$ est la concentration en traceur dans l'échantillon à l'instant t_i
 Δt est la période d'échantillonnage

P.E.4.4 Calcul de l'Energie Mécanique Spécifique (EMS) et de l'Energie Thermique Spécifique (ETS) pour l'extrusion bi-vis

L'Energie Mécanique Spécifique ($W.h.kg^{-1}$) (EMS) se calcule comme suit :

$$EMS = \frac{\text{Couple} \times \text{Vitesse}}{\text{Débit}} = \frac{P}{Q_s} = \frac{U \times I \times \cos \varphi \times \frac{W}{N_{max}}}{Q_s}$$

Où I : intensité mesurée (A)

U : tension de la bi-vis (BC45 : 460V et EV53 : 454V)

N : vitesse de vis (rpm)

Q_s : débit d'entrée du solide ($kg.h^{-1}$)

N_{max} : vitesse de vis maximale (BC45 : 600rpm et EV53 : 800rpm)

$\cos \varphi$: le rendement théorique du moteur de l'extrudeuse (BC45 : 0,95 et EV53 : 0,9)

L'Energie Thermique Spécifique ($W.h.kg^{-1}$) (ETS) se calcule comme suit :

$$ETS = \frac{d \times C_{eau} \times \Delta T}{S \times 3600}$$

Où d : débit de refroidissement ($kg.h^{-1}$)

C_{eau} : capacité calorifique de l'eau, soit $4180 J.kg^{-1}.K^{-1}$

ΔT est la valeur absolue différence de température (K) de l'eau en entrée et en sortie

S : débit d'entrée solide ($kg.h^{-1}$)

P.E.4.5 Détermination du pH de l'extrudat et du filtrat à la sortie de l'extrudeuse

Le pH du filtrat et de l'extrudat est obtenu à l'aide de papier pH. Pour l'extrudat la matière sortant de l'extrudeuse est collectée à la main puis pressée sur le papier pH pour une lecture directe.

P.E.4.6 Extraction des jus sucrés contenus dans les extrudats

1g d'extrudat est mis dans un tube à essai auquel 10ml d'eau est ajouté. Le contenu du tube est mélangé au vortex puis centrifugé 5mn à 1000rpm. Le liquide est prélevé puis filtré à 0,45 μ m pour être ensuite analysé en HPIC.

P.E.4.7 Analyse de la répartition granulométrique des particules

Les filtrats sont séchés à l'étuve à 50°C et les particules sèches obtenues sont démottées.

Les particules sont ensuite passées aux tamis de différentes tailles. Chaque fraction est ensuite pesée.

Annexes

Analyse de l'impact environnemental

L'analyse de l'impact environnemental a été faite en prenant le procédé comme boîte noire et en considérant seulement les intrants et sortants. Parmi les sortants, de l'éthanol est produit, ainsi que du méthane et des fertilisant selon notre scénario. Il est nécessaire de connaître le potentiel énergétique et économique de l'éthanol et du méthane ainsi que le potentiel économique des fertilisants.

Pour évaluer le potentiel méthanogène de nos effluents, des analyses ont été faites (Tableau A-1). Les résultats estiment un potentiel d'environ 200m³ de méthane produit par tonne sèche de filtrat et 300m³ par tonne sèche de vinasses produites. La production d'effluent étant proche de 30 000 tonnes sèches par an, le potentiel méthanogène de l'unité industriel serait d'environ 9 000 000 m³ par an (Tableau A-2).

Tableau A-1: Analyses filtrat et vinasses

Vinasses brutes	
Matière organique	
MS (%)	25.6
Potentiel méthanogène (l _{CH4} .kg ⁻¹ matière brute)	80.8
Potentiel méthanogène (l _{CH4} .kg ⁻¹ matière sèche)	316
Matière minérale	
Phosphore total (g _P .kg ⁻¹ matière brute)	8.6
Potassium total (g _K .kg ⁻¹ matière brute)	1.4
Sodium total (g _{Na} .kg ⁻¹ matière brute)	12.9
Filtrat brut	
Matière organique	
MS (%)	11.3
Potentiel méthanogène (l _{CH4} .kg ⁻¹ matière brute)	19.8
Potentiel méthanogène (l _{CH4} .kg ⁻¹ matière sèche)	175
Matière minérale	
Phosphore total (g _P .kg ⁻¹ matière brute)	8.3
Potassium total (g _K .kg ⁻¹ matière brute)	1.5
Sodium total (g _{Na} .kg ⁻¹ matière brute)	9.7

Tableau A-2: Production de méthane à partir des effluents

Paramètres	Filtrat	Vinasses	Total
Effluent (m ³ .an ⁻¹)	54 504	134 306	188 810
MS (t.an ⁻¹)	5 995	23 874	29 869
Méthane (m ³ .an ⁻¹)	1 199 089	7 162 056	9 361 144

Les analyses sur vinasses et filtrat ont été faites sur des effluents obtenus après un prétraitement à la soude. Il faut donc transposer les teneurs en sodium celles en potassium

dans le cas d'un prétraitement à la potasse. Les productions en fertilisants s'élèveraient ainsi à presque 4 000 tonnes par an (Tableau A-3).

Tableau A-3: Production et part des fertilisants dans les effluents

Minéraux	kg.m ⁻³ _{effluent}	t.an ⁻¹
P	5	949
K	16	2 927

Selon les prix de vente estimés en éthanol, méthane et fertilisants, il est possible de définir des allocations économiques en fonction des valeurs de vente et des volumes des produits du procédé. Dans ce cas, l'éthanol représenterait 35% des revenus, alors que le méthane s'élèverait à 9% et les fertilisants à presque 56% (Tableau A-4).

Tableau A-4: Allocations économiques des produits

Allocation économique	%
Ethanol	35.2
Methane	9.2
Fertilisants	55.7

Dans la suite de l'étude, les allocations économiques seront allouées aux fertilisants et représenteront donc 44% de la totalité de l'empreinte énergétique.

L'efficacité énergétique se calcule selon un rapport entre la consommation et la production d'énergie (Tableau A-5). Pour notre procédé, la consommation d'énergie fossile (électricité et vapeur) permettent de produire de l'énergie renouvelable (éthanol et méthane).

Tableau A-5: Efficacité énergétique

Production/Consommation	Energie fossile	Energie renouvelable
Energie produite sur site (GJ.an⁻¹)		417 575
Ethanol		116 574
Methane		301 001
Energie consommée sur site (GJ.an⁻¹)	199 876	
Electricité – Réseau électrique	46 453	
Vapeur – Réseau extérieur	153 424	
Efficacité énergétique (MJ_{consommée}· MJ⁻¹_{produite}) sans allocation		0,48
Efficacité énergétique (MJ_{consommée}· MJ⁻¹_{produite}) avec allocation économique		0.21
Efficacité énergétique 1^{ère} génération à partir de maïs (MJ_{consommée}· MJ⁻¹_{produite}) avec allocation économique pour les concentrés protéiques		0.88 (1)

(1) ADEME data base

Sans allocation l'énergie produite serait deux fois plus importante que l'énergie consommée ce qui amènerait l'efficacité énergétique à une valeur de 0.48 MJ consommée par MJ produite. En appliquant les allocations économiques cette valeur passe à 0.21. Ces chiffres peuvent être comparés à l'efficacité énergétique d'une production de bioéthanol 1^{ère} génération à partir de grains de maïs, avec allocation économique pour les concentrés protéiques produits et revendus. L'efficacité énergétique de cette 1^{ère} génération s'élève à 0.88 MJ consommée par MJ produite selon l'ADEME. Ainsi notre procédé est largement compétitif sur le plan de l'efficacité énergétique avec ou sans allocation.

L'aspect environnemental de l'empreinte carbone du procédé doit aussi être considéré. Pour cela les données d'empreinte carbone des énergies utilisées sont nécessaires (Tableau A-6). La valeur pour la production de vapeur utilisée pour les sites industriels est obtenue par une moyenne de 11 sites industriels chimique en Europe spécialisés dans l'énergie. La valeur pour l'électricité se base sur le réseau national selon une grille de moyenne tension.

Tableau A-6: Empreinte carbone des sources d'énergie

Energie	Production	Empreinte carbone (g _{CO2eq} .MJ ⁻¹)
Chaleur/Vapeur	Site industriel	88
Electricité	Réseau national	26

La difficulté majeure réside dans l'estimation des émissions de CO₂ pour la production d'enzymes. Les chiffres de la littérature sont très variables (entre 0.5 à 30kg_{CO2eq}/ kg_{protéines}). Pour cette évaluation le choix s'est porté sur l'utilisation d'une émission de 10kg_{CO2eq}/ kg_{protéines}, valeur moyenne décrit dans la littérature.

L'empreinte carbone de notre procédé diffère selon les scénarios choisis (Tableau A-7). L'empreinte des enzymes font augmenter la valeur de l'empreinte totale de près de 50% ce qui est très important. Dans le pire scénario, considérant les enzymes et sans allocation, l'empreinte s'élève à 0.382 kg_{CO2eq} par MJ produite. En prenant en compte les allocations aux fertilisants ce chiffre tombe à 0.059. Par comparaison avec la 1^{ère} génération de biocarburant, l'empreinte carbone de l'éthanol produit à partir de grain de maïs avec allocation pour les concentrés protéiniques se trouve à 0.044 kg_{CO2eq} par MJ produite. Ainsi notre procédé n'est pas encore compétitif sur ce point. Cependant beaucoup d'incertitudes sont présentes sur les valeurs d'empreinte carbone des procédés de production d'enzymes. Une analyse de cycle de vie complète sur la production d'enzymes nécessaire la production de bioéthanol seconde génération in situ et ex situ serait intéressant pour statuer sur le sujet.

Développement d'un procédé innovant de dégradation enzymatique des parois végétales pour la production de bioéthanol seconde génération

Tableau A-7: Empreinte carbone du procédé avec et sans allocation

Scénarios	PRG (t _{CO2eq})	Energie produite (GJ.an ⁻¹)	PRG (kg _{CO2eq} .MJ ⁻¹)
Sans allocation Ethanol	40 150	116 574	0,344
Avec allocation économique Ethanol	14 113	116 574	0,121
Avec allocation économique Ethanol et méthane	17 797	417 575	0,043
Enzyme impact seul	15 750		0,038
Sans allocation avec enzymes	55900		0,382
Avec allocation et enzyme	24 778		0,059
1 ^{ère} génération à partir de maïs avec allocation économique pour les concentrés protéiques			0,044 (1)

PRG: Potentiel Réchauffement Global; (1) BIOGRACE data base

Références bibliographiques

- 2009/28/CE. 2013. Directive 2009/28/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 avril 2009. *Journal officiel n° L 140 du 05/06/2009 p. 0016 - 0062*;
- Adapa, Phani, Lope Tabil, and Greg Schoenau. 2009. Compaction characteristics of barley, canola, oat and wheat straw. *Biosystems Engineering* 104: 335–344. doi:10.1016/j.biosystemseng.2009.06.022.
- Adney, B., and J. Baker. 1996. Measurement of cellulase activities. *Laboratory Analytical Procedure* 6.
- Agarwal, Umesh P., J. Y. Zhu, and Sally A. Ralph. 2011. Enzymatic hydrolysis of biomass: effects of crystallinity, particle size, and lignin removal.
- Alfani, F., A. Gallifuoco, A. Saporosi, A. Spera, and M. Cantarella. 2000. Comparison of SHF and SSF processes for the bioconversion of steam-exploded wheat straw. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 25: 184–192.
- Alonso Gutierrez, Maria de la Soledad. 2005. Valorisation de la bagasse de l'agave tequilana W. cv azul : caractérisation, étude de la digestibilité et de la fermentation des sucres. September 6.
- Alonso, M. S., and L. Rigal. 1997. Caracterización y valorización del bagazo de Agave tequilana Weber de la industria del tequila. *Revista de Chapingo, serie Horticultura* 3: 31–39.
- Amalia Kartika, I., P. Y. Pontalier, and L. Rigal. 2006. Extraction of sunflower oil by twin screw extruder: screw configuration and operating condition effects. *Bioresource technology* 97: 2302–2310.
- Amalia Kartika, I., P. Y. Pontalier, and L. Rigal. 2010. Twin-screw extruder for oil processing of sunflower seeds: Thermo-mechanical pressing and solvent extraction in a single step. *Industrial Crops and Products* 32: 297–304.
- Amalia Kartika, Ika, Muhammad Yani, Danu Ariono, Ph Evon, and Luc Rigal. 2013. Biodiesel production from jatropha seeds: Solvent extraction and in situ transesterification in a single step. *Fuel*.
- Andreas, J., H. Azevedo, and A. Cavaco-Paulo. 1999. Effects of temperature on the cellulose binding ability of cellulase enzymes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 7: 233–239.
- Andren, ROBERT K., RICHARD J. Erickson, and JOHN E. Medeiros. 1976. Cellulosic substrates for enzymatic saccharification. In *Biotechnol. Bioeng. Symp.* Vol. 6.
- Antonoplis, R. A., H. W. Blanch, R. P. Freitas, A. F. Sciamanna, and C. R. Wilke. 1983. Production of sugars from wood using high-pressure hydrogen chloride. *Biotechnology and Bioengineering* 25: 2757–2773. doi:10.1002/bit.260251117.
- Armoogum. 2010. *La_mobilite_des_Francais_ENTD_2008_revue_cle7b7471.pdf*.
- Atkins, Peter William, and Loretta Lucek Jones. 1998. *Chimie: molécules, matière, métamorphoses*. De Boeck Supérieur.
- Avellar, Brecc K., and Wolfgang G. Glasser. 1998. Steam-assisted biomass fractionation. I. Process considerations and economic evaluation. *Biomass and Bioenergy* 14: 205–218.
- Avgerinos, G. C., and D_I C. Wang. 1983. Selective solvent delignification for fermentation enhancement. *Biotechnology and bioengineering* 25: 67–83.
- Ballerini. 2006. *Les biocarburants: état des lieux, perspectives et enjeux du développement*. Editions TECHNIP.
- Ballesteros, Ignacio, Ma José Negro, José Miguel Oliva, Araceli Cabañas, Paloma Manzanares, and Mercedes Ballesteros. 2006. Ethanol production from steam-

- explosion pretreated wheat straw. In *Twenty-Seventh Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, 496–508.
- Bals, Bryan, Hannah Murnen, Michael Allen, and Bruce Dale. 2010. Ammonia fiber expansion (AFEX) treatment of eleven different forages: Improvements to fiber digestibility in vitro. *Animal Feed Science and Technology* 155: 147–155.
- Barbosa, M. F., M. J. Beck, J. E. Fein, D. Potts, and L. O. Ingram. 1992. Efficient fermentation of Pinus sp. acid hydrolysates by an ethanologenic strain of *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology* 58: 1382–1384.
- Bauer, Wolfgang D., Kenneth W. Talmadge, Kenneth Keegstra, and Peter Albersheim. 1973. The structure of plant cell walls II. The hemicellulose of the walls of suspension-cultured sycamore cells. *Plant physiology* 51: 174–187.
- Bayer, Edward A., Linda JW Shimon, Yuval Shoham, and Raphael Lamed. 1998. Cellulosomes—structure and ultrastructure. *Journal of structural biology* 124: 221–234.
- Bergius, Friedrich. 1937. Conversion of Wood To Carbohydrates. *Industrial & Engineering Chemistry* 29: 247–253. doi:10.1021/ie50327a002.
- Berlin, Alex, Mikhail Balakshin, Neil Gilkes, John Kadla, Vera Maximenko, Satoshi Kubo, and Jack Saddler. 2006. Inhibition of cellulase, xylanase and β -glucosidase activities by softwood lignin preparations. *Journal of Biotechnology* 125: 198–209.
- Berlin, Alex, Vera Maximenko, Neil Gilkes, and Jack Saddler. 2007. Optimization of enzyme complexes for lignocellulose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering* 97: 287–296.
- Bidlack, Jim, Mike Malone, and Russell Benson. 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. In *Proc. Okla. Acad. Sci.*, 72:51–56.
- Bjerre, Anne Belinda, Anne Bjerring Olesen, Tomas Fernqvist, Annette Plöger, and Anette Skammelsen Schmidt. 1996. Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biotechnology and bioengineering* 49: 568–577.
- Bobleter, O., and R. Concin. 1979. Degradation of poplar lignin by hydrothermal treatment. *Cell. Chem. Technol* 13: 583–593.
- Bobleter, Ortwin. 1994. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Progress in Polymer Science* 19: 797–841.
- Bourat, Guy. 1992. Fermentations : I. Propriétés et utilisations des microorganismes. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés* 6J6002: J6002.1–J6002.12.
- Bower, Shane, Ranil Wickramasinghe, Nicholas J. Nagle, and Daniel J. Schell. 2008. Modeling sucrose hydrolysis in dilute sulfuric acid solutions at pretreatment conditions for lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 99: 7354–7362. doi:10.1016/j.biortech.2007.05.045.
- Bowski, L., R. Saini, D. Y. Ryu, and W. R. Vieth. 1971. Kinetic modeling of the hydrolysis of sucrose by invertase. *Biotechnology and Bioengineering* 13: 641–656. doi:10.1002/bit.260130505.
- Brett, and Waldron. 1996. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls*. Springer.
- Brownell, H. H., E. K. C. Yu, and J. N. Saddler. 1986. Steam-explosion pretreatment of wood: Effect of chip size, acid, moisture content and pressure drop. *Biotechnology and bioengineering* 28: 792–801.
- Cadoche, Laura, and Gerardo D. López. 1989. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biological Wastes* 30: 153–157. doi:10.1016/0269-7483(89)90069-4.

- Campbell, Neil A. 2004. *Biologie*. De Boeck.
- Cara, Cristóbal, Manuel Moya, Ignacio Ballesteros, Ma José Negro, Alberto González, and Encarnación Ruiz. 2007. Influence of solid loading on enzymatic hydrolysis of steam exploded or liquid hot water pretreated olive tree biomass. *Process Biochemistry* 42: 1003–1009.
- Cara, Cristobal, Encarnación Ruiz, Ignacio Ballesteros, María J. Negro, and Eulogio Castro. 2006. Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. *Process Biochemistry* 41: 423–429.
- Cara, Cristobal, Encarnación Ruiz, Mercedes Ballesteros, Paloma Manzanares, Ma José Negro, and Eulogio Castro. 2008. Production of fuel ethanol from steam-explosion pretreated olive tree pruning. *Fuel* 87: 692–700.
- Cara, Cristóbal, Encarnación Ruiz, José Miguel Oliva, Felicia Sáez, and Eulogio Castro. 2008. Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification. *Bioresource Technology* 99: 1869–1876.
- Carpita, Nicholas C., and David M. Gibeaut. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal* 3: 1–30. doi:10.1111/j.1365-313X.1993.tb00007.x.
- Carvalho, Florbela, Luís C. Duarte, and Francisco M. Gírio. 2008. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments.
- Caspeta, Luis, Mario A. Caro-Bermúdez, Teresa Ponce-Noyola, and Alfredo Martinez. 2014. Enzymatic hydrolysis at high-solids loadings for the conversion of agave bagasse to fuel ethanol. *Applied Energy* 113: 277–286. doi:10.1016/j.apenergy.2013.07.036.
- Cavaco-Paulo, Artur. 1998. Mechanism of cellulase action in textile processes. *Carbohydrate Polymers* 37: 273–277. doi:10.1016/S0144-8617(98)00070-8.
- Celhay, Clément. 2013. Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. March 24.
- Chahal, D. S. 1985. Solid-state fermentation with *Trichoderma reesei* for cellulase production. *Applied and Environmental Microbiology* 49: 205–210.
- Chandra, R., R. Bura, W. Mabee, A. Berlin, X. Pan, and J. Saddler. 2007. Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics? *Biofuels*: 67–93.
- Chang, Vincent S., and Mark T. Holtzapple. 2000. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84: 5–37.
- Chang, Vincent S., Murlidhar Nagwani, Chul-Ho Kim, and Mark T. Holtzapple. 2001. Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 94: 1–28.
- Chartier, P., and S. Meriaux. 1980. Energy from biomass. *Recherche*: 766–776.
- Chen, Wen-Hua, Yong-Yan Xu, Wen-Song Hwang, and Jia-Baau Wang. 2011. Pretreatment of rice straw using an extrusion/extraction process at bench-scale for producing cellulosic ethanol. *Bioresource technology*.
- Cherubini, Francesco, Neil D. Bird, Annette Cowie, Gerfried Jungmeier, Bernhard Schlamadinger, and Susanne Woess-Gallasch. 2009. Energy-and greenhouse gas-based LCA of biofuel and bioenergy systems: Key issues, ranges and recommendations. *Resources, Conservation and Recycling* 53: 434–447.

- Choi, C.H., and A.P. Mathews. 1996. Two-step acid hydrolysis process kinetics in the saccharification of low-grade biomass: 1. Experimental studies on the formation and degradation of sugars. *Bioresource Technology* 58: 101–106. doi:10.1016/S0960-8524(96)00089-2.
- Choi, Chang Ho, and Kyeong Keun Oh. 2012. Application of a continuous twin screw-driven process for dilute acid pretreatment of rape straw. *Bioresource Technology*.
- Claudet, Alleau. 2001. La production d'hydrogène par transformation thermochimique de la biomasse Thermochemical conversion of biomass for clean hydrogen production. *L'Actualité chimique (Paris. 1973)*: 29–33.
- Colas, D., C. Doumeng, P. Y. Pontalier, and L. Rigal. 2013. Green crop fractionation by twin-screw extrusion: influence of the screw profile on alfalfa (*Medicago sativa*) dehydration and protein extraction. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*.
- Colas, Dorothée. 2012. *Etude de la bioraffinerie des plantes vertes : Application au fractionnement des protéines de luzerne par extrusion bi-vis et chromatographie hydrophobe*.
- Collins, Tony, Charles Gerday, and Georges Feller. 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 3–23. doi:10.1016/j.femsre.2004.06.005.
- Converse, A. O., H. Ooshima, and D. S. Burns. 1990. Kinetics of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials based on surface area of cellulose accessible to enzyme and enzyme adsorption on lignin and cellulose. *Applied Biochemistry and biotechnology* 24: 67–73.
- Converse, Alvin O., Ryuichi Matsuno, Mitsuo Tanaka, and Masayuki Taniguchi. 1988. A model of enzyme adsorption and hydrolysis of microcrystalline cellulose with slow deactivation of the adsorbed enzyme. *Biotechnology and bioengineering* 32: 38–45.
- Cook, Paul F., and William Wallace Cleland. 2007. *Enzyme kinetics and mechanism*. Garland Science New York.
- Corbett, W. M. 1960. The Alkaline Degradation of Chemically Modified Cellulose. *Journal of the Society of Dyers and Colourists* 76: 265–271. doi:10.1111/j.1478-4408.1960.tb02376.x.
- Cordova, J, M Nemmaoui, M Ismaïli-Alaoui, A Morin, S Roussos, M Raimbault, and B Benjlali. 1998. Lipase production by solid state fermentation of olive cake and sugar cane bagasse. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 5: 75–78. doi:10.1016/S1381-1177(98)00067-8.
- Coughlan, M. P., and L. G. Ljungdahl. 1988. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In *FEMS symposium-Federation of European Microbiological Societies.*, 11.
- Crawford. 1981. *Lignin biodegradation and transformation*. Wiley New York.
- Crawford, and Crawford. 1980. Microbial degradation of lignin. *Enzyme and Microbial Technology* 2: 11–22.
- Dasari, Rajesh K., and R. Eric Berson. 2007. The effect of particle size on hydrolysis reaction rates and rheological properties in cellulosic slurries. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 137: 289–299.
- Deguchi, Shigeru, Kaoru Tsujii, and Koki Horikoshi. 2006. Cooking cellulose in hot and compressed water. *Chemical Communications*: 3293–3295.
- Desmons. 1986. Optimisation de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose en fonction de la composition du complexe cellulolytique et des caractéristiques du substrat.

- Dessus, and Dubut. 1994. *Atlas des énergies pour un monde vivable*. Syros.
- Desvaux. 2005. The cellulosome of *Clostridium cellulolyticum*. *Enzyme and Microbial Technology* 37: 373–385. doi:10.1016/j.enzmictec.2004.04.025.
- Dey, P. M., and J. B. Harborne. 1997. *Plant Biochemistry*. Academic Press.
- Dimarogona, Maria, Evangelos Topakas, and Paul Christakopoulos. 2012. Cellulose degradation by oxidative enzymes. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 2. doi:10.5936/csbj.201209015.
- Dinand, Elizabeth, Michel Vignon, Henri Chanzy, and Laurent Heux. 2002. Mercerization of primary wall cellulose and its implication for the conversion of cellulose I→cellulose II. *Cellulose* 9: 7–18. doi:10.1023/A:1015877021688.
- Dixon, M. 1953. The effect of pH on the affinities of enzymes for substrates and inhibitors. *Biochemical Journal* 55: 161–170.
- Dufaure, Corinne, Juliette Leyris, Luc Rigal, and Zéphirin Mouloungui. 1999. A twin-screw extruder for oil extraction: I. Direct expression of oleic sunflower seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76: 1073–1079.
- Duff, Sheldon JB, and William D. Murray. 1996. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Bioresource Technology* 55: 1–33.
- Ebringerová, Anna, Zdenka Hromádková, and Thomas Heinze. 2005. Hemicellulose. In *Polysaccharides I*, ed. Thomas Heinze, 1–67. Advances in Polymer Science 186. Springer Berlin Heidelberg.
- Eggeman, Tim, and Richard T. Elander. 2005. Process and economic analysis of pretreatment technologies. *Bioresource technology* 96: 2019–2025.
- Evon, Ph, I. Amalia Kartika, Muriel Cerny, and Luc Rigal. 2013. Extraction of oil from jatropha seeds using a twin-screw extruder: Feasibility study. *Industrial Crops and Products* 47: 33–42.
- Evon, Ph, Virginie Vandenbossche, Pierre-Yves Pontalier, and Luc Rigal. 2007. Direct extraction of oil from sunflower seeds by twin-screw extruder according to an aqueous extraction process: feasibility study and influence of operating conditions. *Industrial crops and products* 26: 351–359.
- Evon, Ph, Virginie Vandenbossche, Pierre-Yves Pontalier, and Luc Rigal. 2009. Aqueous extraction of residual oil from sunflower press cake using a twin-screw extruder: Feasibility study. *Industrial Crops and Products* 29: 455–465.
- Evon, Philippe. 2008. Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis: étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage.
- Faith, W. L. 1945. Development of the Scholler Process in the United States. *Industrial & Engineering Chemistry* 37: 9–11. doi:10.1021/ie50421a004.
- Faye, Mamadou. 2010. Nouveau procédé de fractionnement de la graine de Neem (*Azadirachta Indica A. Jussi*) sénégalais : production d'un bio-pesticide d'huile et de tourteau.
- Fengel, and Wegener. 1984. Chemistry, Ultrastructure. *Reactions. Walter de Gruyter, Berlin*: 32–34.
- Field, Behrenfeld, Randerson, and Falkowski. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science (New York, N.Y.)* 281: 237–240.

- Foret, Sylvain. 2011. *Etude d'un nouveau procédé de fractionnement des co-produits de fabrication de jambon sec et des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des extraits et raffinats*.
- Galbe, Mats, and Guido Zacchi. 2007. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. *Biofuels*: 41–65.
- Gan, Q, S.J Allen, and G Taylor. 2003. Kinetic dynamics in heterogeneous enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview, an experimental study and mathematical modelling. *Process Biochemistry* 38: 1003–1018. doi:10.1016/S0032-9592(02)00220-0.
- Gao, Dahai, Nirmal Uppugundla, Shishir PS Chundawat, Xiurong Yu, Spencer Hermanson, Krishne Gowda, Phillip Brumm, David Mead, Venkatesh Balan, and Bruce E. Dale. 2011. Hemicellulases and auxiliary enzymes for improved conversion of lignocellulosic biomass to monosaccharides. *Biotechnol Biofuels* 4.
- García-Aparicio, María P., Mercedes Ballesteros, Paloma Manzanares, Ignacio Ballesteros, Alberto González, and M. José Negro. 2007. Xylanase contribution to the efficiency of cellulose enzymatic hydrolysis of barley straw. *Applied biochemistry and biotechnology* 137: 353–365.
- García-Cubero, Ma Teresa, Gerardo González-Benito, Irune Indacochea, Mónica Coca, and Silvia Bolado. 2009. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology* 100: 1608–1613.
- Garrote, G., H. Dominguez, and J. C. Parajo. 1999. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. *European Journal of Wood and Wood Products* 57: 191–202.
- Garrote, Gil, Herminia Dominguez, and Juan Carlos Parajó. 1999. Mild autohydrolysis: an environmentally friendly technology for xylooligosaccharide production from wood. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 74: 1101–1109.
- Gaset, Antoine, Pierre Mailhol, Luc Rigal, and Philippe Sanchez. 1991. *Process and plant for preparing pentose and/or hexose concentrated juice from hemicellulose-rich plant substances*.
- Gharpuray, M. M., Yong-Hyun Lee, and L. T. Fan. 1983a. Structural modification of lignocellulosics by pretreatments to enhance enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and bioengineering* 25: 157–172.
- Gharpuray, M. M., Yong-Hyun Lee, and L. T. Fan. 1983b. Structural modification of lignocellulosics by pretreatments to enhance enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and bioengineering* 25: 157–172.
- Gierer, J. 1985. Chemistry of delignification. *Wood Science and Technology* 19: 289–312. doi:10.1007/BF00350807.
- Gierer, J. 1986. Chemistry of delignification. *Wood Science and Technology* 20: 1–33. doi:10.1007/BF00350692.
- Gilbert, Harry J., and Geoffrey P. Hazlewood. 1993. Bacterial cellulases and xylanases. *Journal of General Microbiology* 139: 187–194.
- Girio, F. M., C. Fonseca, F. Carvalheiro, L. C. Duarte, S. Marques, and R. Bogel-Lukasik. 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology* 101: 4775–4800.
- Gnansounou, Edgard, and Arnaud Dauriat. 2005. Ethanol fuel from biomass: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research* 64: 809.
- Gnansounou, Edgard, and Arnaud Dauriat. 2010. Techno-economic analysis of lignocellulosic ethanol: A review. *Bioresource technology* 101: 4980–4991.

- Godin, Bruno, François Ghysel, Richard Agneessens, Thomas Schmit, Sébastien Gofflot, Stéphane Lamaudière, Georges Sinnaeve, Jean-Pierre Goffart, Patrick A. Gerin, and Didier Stilmant. 2010. Détermination de la cellulose, des hémicelluloses, de la lignine et des cendres dans diverses cultures lignocellulosiques dédiées à la production de bioéthanol de deuxième génération. *Biotechnol., Agron., Soc. Environ* 14: 549–560.
- Gottschalk, Leda Maria Fortes, Raul Alves Oliveira, and Elba Pinto da Silva Bon. 2010. Cellulases, xylanases, β -glucosidase and ferulic acid esterase produced by *Trichoderma* and *Aspergillus* act synergistically in the hydrolysis of sugarcane bagasse. *Biochemical Engineering Journal* 51: 72–78. doi:10.1016/j.bej.2010.05.003.
- Gould, J. Michael, and S. N. Freer. 1984. High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H₂O₂. *Biotechnology and Bioengineering* 26: 628–631. doi:10.1002/bit.260260613.
- Grabber, John H, John Ralph, Catherine Lapierre, and Yves Barrière. 2004. Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability. I. Lignin–cell wall matrix interactions. *Comptes Rendus Biologies* 327: 455–465. doi:10.1016/j.crv.2004.02.009.
- Grabber, John H. 2005. How Do Lignin Composition, Structure, and Cross-Linking Affect Degradability? A Review of Cell Wall Model Studies. *Crop Science* 45: 820–831. doi:10.2135/cropsci2004.0191.
- Grohmann, K., M. Himmel, C. Rivard, M. Tucker, J. Baker, R. Torget, and M. Graboski. 1984. Chemical-mechanical methods for the enhanced utilization of straw. In , 137–157. John Wiley.
- Guimarães, J.L., E. Frollini, C.G. da Silva, F. Wypych, and K.G. Satyanarayana. 2009. Characterization of banana, sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil. *Industrial Crops and Products* 30: 407–415. doi:10.1016/j.indcrop.2009.07.013.
- Gupta, Rajesh, and Y.Y. Lee. 2009. Mechanism of cellulase reaction on pure cellulosic substrates. *Biotechnology and Bioengineering* 102: 1570–1581. doi:10.1002/bit.22195.
- Guyomard, P. 1994. Study of the use of a twin-screw extruder in pressing-extrusion of oleaginous seeds.
- Hahn-Hägerdal, Bärbel, Kaisa Karhumaa, César Fonseca, Isabel Spencer-Martins, and Marie F. Gorwa-Grauslund. 2007. Towards industrial pentose-fermenting yeast strains. *Applied microbiology and biotechnology* 74: 937–953.
- Hall, Mélanie, Prabuddha Bansal, Jay H. Lee, Matthew J. Realff, and Andreas S. Bommarius. 2010. Cellulose crystallinity—a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. *Febs Journal* 277: 1571–1582.
- Hamelinck, Carlo N., Geertje van Hooijdonk, and Andre PC Faaij. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and bioenergy* 28: 384–410.
- Harris, Elwin E., and Edward Beglinger. 1946. Madison Wood Sugar Process. *Industrial & Engineering Chemistry* 38: 890–895.
- Harris, John F., A. J. Baker, A. Conner, T. Jeffries, J. Minor, R. Pettersen, R. Scott, E. Springer, T. Wegner, and J. Zerbe. 1985. Two-Stage Dilute Sulfuric Acid Hydrolysis of Wood. *General technical report FPL* 45.
- Hendriks, A. T., and G. Zeeman. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* 100: 10.
- Hideno, Akihiro, Hiroyuki Inoue, Kenichiro Tsukahara, Shinji Fujimoto, Tomoaki Minowa, Seiichi Inoue, Takashi Endo, and Shigeki Sawayama. 2009. Wet disk milling

- pretreatment without sulfuric acid for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Bioresource technology* 100: 2706–2711.
- Himmel, Michael E., Shi-You Ding, David K. Johnson, William S. Adney, Mark R. Nimlos, John W. Brady, and Thomas D. Foust. 2007. Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production. *Science* 315: 804–807. doi:10.1126/science.1137016.
- Hoareau, William, Wanderson G. Trindade, Bernard Siegmund, Alain Castellan, and Elisabete Frollini. 2004. Sugar cane bagasse and curaua lignins oxidized by chlorine dioxide and reacted with furfuryl alcohol: characterization and stability. *Polymer Degradation and Stability* 86: 567–576.
- Hodge, David B., M. Nazmul Karim, Daniel J. Schell, and James D. McMillan. 2008. Soluble and insoluble solids contributions to high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Bioresource Technology* 99: 8940–8948. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.015.
- Hon, David N.-S. 1994. Cellulose: a random walk along its historical path. *Cellulose* 1: 1–25. doi:10.1007/BF00818796.
- Hoogwijk. 2004. *On the global and regional potential of renewable energy sources*. Universiteit Utrecht, Faculteit Scheikunde.
- Hoogwijk, André Faaij, Richard van den Broek, Göran Berndes, Dolf Gielen, and Wim Turkenburg. 2003. Exploration of the ranges of the global potential of biomass for energy. *Biomass and Bioenergy* 25: 119–133. doi:10.1016/S0961-9534(02)00191-5.
- Hou, Xiaoru. 2012. Anaerobic xylose fermentation by *Spathaspora passalidarum*. *Applied microbiology and biotechnology* 94: 205–214.
- Hu, Jinguang, Valdeir Arantes, and Jack N. Saddler. 2011. The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: is it an additive or synergistic effect? *Biotechnology for biofuels* 4: 1–14.
- Iiyama, K., TBT. Lam, and B. A. Stone. 1994. Covalent Cross-Links in the Cell Wall. *Plant Physiology* 104: 315–320.
- Ikan, Raphael. 1996. *The Maillard reaction: consequences for the chemical and life sciences*. John Wiley & Sons West Sussex, UK.
- Ince, Ahmet, Gulay Bayramoglu, Bunyamin Karagoz, Begum Altintas, Niyazi Bicak, and Mehmet Yakup Arica. 2012. A method for fabrication of polyaniline coated polymer microspheres and its application for cellulase immobilization. *Chemical Engineering Journal* 189–190: 404–412. doi:10.1016/j.cej.2012.02.048.
- Ingram, David S Beall, Gerhard FH Burchhardt, Walter V Guimaraes, Kazuyoshi Ohta, Brent E Wood, and Keelnatham T Shanmugam. 1995. Ethanol production by recombinant hosts.
- Inoue, Hiroyuki, Shinichi Yano, Takashi Endo, Tsuyoshi Sakaki, and Shigeki Sawayama. 2008. Combining hot-compressed water and ball milling pretreatments to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus. *Biotechnology for biofuels* 1: 2.
- Isobe, S., F. Zuber, K. Uemura, and A. Noguchi. 1992. A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seeds. *Journal of the American Oil Chemists Society* 69: 884–889.
- Itoh, Hiromichi, Masanori Wada, Yoichi Honda, Masaaki Kuwahara, and Takashi Watanabe. 2003. Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi. *Journal of Biotechnology* 103: 273–280.

- J.h, Lora, and Wayman M. 1978. Delignification of hardwoods by autohydrolysis and extraction. *Tappi [Technical Association of the Pulp and Paper Industry]* 61.
- Jacquemin. 2012. Production d'hémicelluloses de pailles et de sons de blé à une échelle pilote. Etude des performances techniques et évaluation environnementale d'un agro-procédé.
- Jäger, Gernot, Zhuojun Wu, Kerstin Garschhammer, Philip Engel, Tobias Klement, Roberto Rinaldi, Antje C. Spiess, and Jochen Büchs. 2010. Practical screening of purified cellobiohydrolases and endoglucanases with α -cellulose and specification of hydrodynamics. *Biotechnology for Biofuels* 3: 18. doi:10.1186/1754-6834-3-18.
- Jarvis, Mike. 2003. Chemistry: Cellulose stacks up. *Nature* 426: 611–612. doi:10.1038/426611a.
- Jiménez, L., V. Angulo, E. Ramos, M.J. De la Torre, and J.L. Ferrer. 2006. Comparison of various pulping processes for producing pulp from vine shoots. *Industrial Crops and Products* 23: 122–130. doi:10.1016/j.indcrop.2005.05.001.
- Jorda, Jérémy. 2003. *Étude du procédé d'extraction alcaline et de purification des pectines de pulpe de betterave: étude des propriétés chimiques et physico-chimiques.*
- Kadam, Kiran L., Chim Y. Chin, and Lawrence W. Brown. 2009a. Continuous biomass fractionation process for producing ethanol and low-molecular-weight lignin. *Environmental progress & sustainable energy* 28: 89–99.
- Kadam, Kiran L., Chim Y. Chin, and Lawrence W. Brown. 2009b. Continuous biomass fractionation process for producing ethanol and low-molecular-weight lignin. *Environmental Progress & Sustainable Energy* 28: 89–99. doi:10.1002/ep.10348.
- Karimi, Keikhosro, Shauker Kheradmandinia, and Mohammad J. Taherzadeh. 2006. Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass and Bioenergy* 30: 247–253. doi:10.1016/j.biombioe.2005.11.015.
- Kartika, I. Amalia, P. Y. Pontalier, and L. Rigal. 2005. Oil extraction of oleic sunflower seeds by twin screw extruder: influence of screw configuration and operating conditions. *Industrial Crops and Products* 22: 207–222.
- Kartika, Ika Amalia. 2005. Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol : expression et extraction en extrudeur bi-vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol. PhD Thesis. May 19.
- Kartika, Ika Amalia. 2012. Methyl ester extraction of sunflower oil in a twin screw extruder. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 18.
- Karunanithy, C., and K. Muthukumarappan. 2011. Optimization of alkali soaking and extrusion pretreatment of prairie cord grass for maximum sugar recovery by enzymatic hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*. doi:10.1016/j.bej.2011.02.001.
- Karunanithy, Chinnadurai, and Kasiviswanathan Muthukumarappan. 2009. Influence of Extruder Temperature and Screw Speed on Pretreatment of Corn Stover while Varying Enzymes and Their Ratios. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162: 264–279. doi:10.1007/s12010-009-8757-y.
- Karunanithy, Chinnadurai, and Kasiviswanathan Muthukumarappan. 2010. Effect of Extruder Parameters and Moisture Content of Switchgrass, Prairie Cord Grass on Sugar Recovery from Enzymatic Hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162: 1785–1803. doi:10.1007/s12010-010-8959-3.
- Karunanithy, Chinnadurai, and Kasiviswanathan Muthukumarappan. 2011. A Comparative Study on Torque Requirement During Extrusion Pretreatment of Different Feedstocks. *BioEnergy Research*. doi:10.1007/s12155-011-9117-7.

- Karunanithy, Chinnadurai, Kasiviswanathan Muthukumarappan, and William R. Gibbons. 2012. Effect of extruder screw speed, temperature, and enzyme levels on sugar recovery from different biomasses. *ISRN Biotechnology* 2013.
- Kawakubo, Takeshi, Shuichi Karita, Yuko Araki, Shota Watanabe, Masafumi Oyadomari, Rie Takada, Fumio Tanaka, Kentaro Abe, Takahito Watanabe, and Yoichi Honda. 2010. Analysis of exposed cellulose surfaces in pretreated wood biomass using carbohydrate-binding module (CBM)–cyan fluorescent protein (CFP). *Biotechnology and bioengineering* 105: 499–508.
- Kazuhiro, Iida. 2009. Procédé de prétraitement de biomasse végétale.
- Kerley, M. S., G. C. Fahey Jr, J. M. Gould, and E. L. Iannotti. 1988. Effect of lignification, cellulose crystallinity and enzyme accessible space on the digestibility of plant cell wall carbohydrates by the ruminant.
- Keshwani, Deepak R., and Jay J. Cheng. 2009. Modeling changes in biomass composition during microwave-based alkali pretreatment of switchgrass. *Biotechnology and bioengineering* 105: 88–97.
- Kim, and Holtzapfle. 2005. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* 96: 1994–2006.
- Kim, Kyoung Heon, and Juan Hong. 2001. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis. *Bioresource Technology* 77: 139–144.
- Kim, Youngmi, Rick Hendrickson, Nathan S. Mosier, Michael R. Ladisch, Bryan Bals, Venkatesh Balan, and Bruce E. Dale. 2008. Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of liquid hot water and AFEX pretreated distillers' grains at high-solids loadings. *Bioresource technology* 99: 5206–5215.
- Klemm, Dieter, Brigitte Heublein, Hans-Peter Fink, and Andreas Bohn. 2005. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition* 44: 3358–3393. doi:10.1002/anie.200460587.
- Klinke, H. B., A. B. Thomsen, and B. K. Ahring. 2004. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology* 66: 10–26. doi:10.1007/s00253-004-1642-2.
- Klinke, Helene B., Birgitte K. Ahring, Anette S. Schmidt, and Anne Belinda Thomsen. 2002. Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw. *Bioresource Technology* 82: 15–26.
- Knauf, Michael, and Mohammed Moniruzzaman. 2004. Lignocellulosic biomass processing: a perspective. *International Sugar Journal* 106: 147–150.
- Knill, Charles J, and John F Kennedy. 2003. Degradation of cellulose under alkaline conditions. *Carbohydrate Polymers* 51: 281–300. doi:10.1016/S0144-8617(02)00183-2.
- Kootstra, Hendrik H. Beftink, Elinor L. Scott, and Johan PM Sanders. 2009a. Comparison of dilute mineral and organic acid pretreatment for enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Biochemical Engineering Journal* 46: 126–131.
- Kootstra, Hendrik H. Beftink, Elinor L. Scott, and Johan PM Sanders. 2009b. Optimization of the dilute maleic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnol Biofuels* 2: 31.
- Kootstra, Nathan S. Mosier, Elinor L. Scott, Hendrik H. Beftink, and Johan PM Sanders. 2009. Differential effects of mineral and organic acids on the kinetics of arabinose degradation under lignocellulose pretreatment conditions. *Biochemical Engineering Journal* 43: 92–97.
- Kotilainen, R. 2000. Chemical changes in wood during heating at 150–260 C. *Department of Chemistry, University of Jyväskylä, Finland*: 51.

- Kötter, Peter, and Michael Ciriacy. 1993. Xylose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 38: 776–783. doi:10.1007/BF00167144.
- Kumar, Parveen, Diane M. Barrett, Michael J. Delwiche, and Pieter Stroeve. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48: 3713–3729.
- Kumar, Rajeev, and Charles E. Wyman. 2009. Effect of xylanase supplementation of cellulase on digestion of corn stover solids prepared by leading pretreatment technologies. *Bioresource technology* 100: 4203–4213.
- Kumar, Sachin, Surendra P. Singh, Indra M. Mishra, and Dilip K. Adhikari. 2009. Recent advances in production of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Chemical engineering & technology* 32: 517–526.
- Kusama, J. 1960. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Technical Panel on Wood Chemistry*. report No. FAD/WC/60/WH-1, Tokyo, Japan.
- Kuyper, Marko, Miranda MP Hartog, Maurice J. Toirkens, Marinka JH Almering, Aaron A. Winkler, Johannes P. Dijken, and Jack T. Pronk. 2005. Metabolic engineering of a xylose-isomerase-expressing *Saccharomyces cerevisiae* strain for rapid anaerobic xylose fermentation. *FEMS yeast research* 5: 399–409.
- Lacaze-Dufaure, Corinne. 1998. *Fractionnement du tournesol oléique : expression et transformations chimiques des triglycérides de graines en esters lubrifiants et adjuvants en réacteur conventionnel et réacteur bi-vis*.
- Lamsal, B., J. Yoo, K. Brijwani, and S. Alavi. 2010. Extrusion as a thermo-mechanical pretreatment for lignocellulosic ethanol. *Biomass and Bioenergy* 34: 1703–1710. doi:10.1016/j.biombioe.2010.06.009.
- Laser, Mark, Deborah Schulman, Stephen G. Allen, Joseph Lichwa, Michael J. Antal Jr, and Lee R. Lynd. 2002. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresource technology* 81: 33–44.
- Laureano-Perez, Lizbeth, Farzaneh Teymouri, Hasan Alizadeh, and Bruce E. Dale. 2005. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. In *Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, 1081–1099.
- Lavarack, B.P., G.J. Griffin, and D. Rodman. 2002. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. *Biomass and Bioenergy* 23: 367–380. doi:10.1016/S0961-9534(02)00066-1.
- Law, Kwei-Nam, Wan Rosli Wan Daud, and Arniza Ghazali. 2007. MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL NATURE OF FIBER STRANDS OF OIL PALM EMPTY-FRUIT-BUNCH (OPEFB). *BioResources* 2: 351–362.
- Lee, Jeewon. 1997. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology* 56: 1–24.
- Lee, Sang Hyun, Thomas V. Doherty, Robert J. Linhardt, and Jonathan S. Dordick. 2008. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnology and bioengineering* 102: 1368–1376.
- Lee, Seung-Hwan, Seiichi Inoue, Yoshikuni Teramoto, and Takashi Endo. 2010. Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process II: Effect of hot-compressed water treatment. *Bioresource Technology* 101: 9645–9649. doi:10.1016/j.biortech.2010.07.068.
- Lee, Seung-Hwan, Yoshikuni Teramoto, and Takashi Endo. 2009. Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process I - Effect of additives with cellulose affinity. *Bioresource Technology* 100: 275–279. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.051.

- Lee, Sun Bok, H. S. Shin, Dewey DY Ryu, and M. Mandels. 2004. Adsorption of cellulase on cellulose: Effect of physicochemical properties of cellulose on adsorption and rate of hydrolysis. *Biotechnology and bioengineering* 24: 2137–2153.
- Lewicki, Piotr P. 1998. Effect of pre-drying treatment, drying and rehydration on plant tissue properties: A review. *International Journal of Food Properties* 1: 1–22. doi:10.1080/10942919809524561.
- Li, Changzhi, Zehui Zhang, and Zongbao K. Zhao. 2009. Direct conversion of glucose and cellulose to 5-hydroxymethylfurfural in ionic liquid under microwave irradiation. *Tetrahedron Letters* 50: 5403–5405.
- Li, Chenlin, Bernhard Knierim, Chithra Manisseri, Rohit Arora, Henrik V. Scheller, Manfred Auer, Kenneth P. Vogel, Blake A. Simmons, and Seema Singh. 2010. Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification. *Bioresource technology* 101: 4900–4906.
- Li, Qiang, Yu-Cai He, Mo Xian, Gao Jun, Xin Xu, Jian-Ming Yang, and Liang-Zhi Li. 2009. Improving enzymatic hydrolysis of wheat straw using ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium diethyl phosphate pretreatment. *Bioresource Technology* 100: 3570–3575.
- Liu, Chaogang, and Charles E. Wyman. 2005. Partial flow of compressed-hot water through corn stover to enhance hemicellulose sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. *Bioresource Technology* 96: 1978–1985.
- Lloyd, Todd A., and Charles E. Wyman. 2005. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids. *Bioresource Technology* 96: 1967–1977. doi:10.1016/j.biortech.2005.01.011.
- Lu, Yanpin, Bin Yang, David Gregg, John N. Saddler, and Shawn D. Mansfield. 2002. Cellulase adsorption and an evaluation of enzyme recycle during hydrolysis of steam-exploded softwood residues. *Applied biochemistry and biotechnology* 98: 641–654.
- Magro, Christian. 1995. *Valorisation des pailles de blé par fractionnement thermo-mécano-chimique dans un réacteur bivis*.
- Makoumbou, Urbain. 1988. Raffinage des agroressources: la valorisation séquencée des sous-produits de conserverie de maïs doux. Toulouse, France.
- Mandels, Mary, and Elwyn T. Reese. 1965. Inhibition of cellulases. *Annual review of Phytopathology* 3: 85–102.
- Manolas, Christos. 1993. Fractionnement du sorgho à fibre. Extraction et caractérisation des hémicelluloses de la moëlle. Etude des matériaux composites.
- Marechal, Philippe. 2001. *Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis : obtention d'agro-matériaux*.
- Martin, Carlos, Helene B. Klinke, and Anne Belinda Thomsen. 2007. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 426–432.
- Martinez, Diego, Jean Challacombe, Ingo Morgenstern, David Hibbett, Monika Schmoll, Christian P. Kubicek, Patricia Ferreira, et al. 2009. Genome, transcriptome, and secretome analysis of wood decay fungus *Postia placenta* supports unique mechanisms of lignocellulose conversion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 1954–1959. doi:10.1073/pnas.0809575106.
- McKendry, Peter. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource technology* 83: 37–46.

- Medve, József, Johan Karlsson, Dora Lee, and Folke Tjerneld. 2000. Hydrolysis of microcrystalline cellulose by cellobiohydrolase I and endoglucanase II from *Trichoderma reesei*: adsorption, sugar production pattern, and synergism of the enzymes. *Biotechnology and bioengineering* 59: 621–634.
- Merino, Sandra, and Joel Cherry. 2007. Progress and challenges in enzyme development for biomass utilization. *Biofuels*: 95–120.
- Millett, M. A., A. J. Baker, and L. D. Satter. 1976. Physical and Chemical Pretreatments for Enhancing Cellulose Saccharification. *Biotechnol. Bioeng. Symp.; (United States)* 6.
- Millett, MERRILL A., MARILYN J. Effland, and DANIEL F. Caulfield. 1979. Influence of fine grinding on the hydrolysis of cellulosic materials-acid vs. enzymatic. *Adv Chem Ser* 181: 71–89.
- Moilanen, Ulla, Miriam Kellock, Sari Galkin, and Liisa Viikari. 2011. The laccase-catalyzed modification of lignin for enzymatic hydrolysis. *Enzyme and Microbial Technology* 49: 492–498. doi:10.1016/j.enzmictec.2011.09.012.
- Mooney, Shawn D. Mansfield, Maria G. Touhy, and John N. Saddler. 1998. The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwoods. *Bioresource Technology* 64: 113–119.
- Moore, Wayne E., Marilyn J. Effland, and Merrill A. Millett. 1972. Hydrolysis of wood and cellulose with cellulytic enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20: 1173–1175.
- Mosier, Nathan, Richard Hendrickson, Nancy Ho, Miroslav Sedlak, and Michael R. Ladisch. 2005. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover. *Bioresource Technology* 96: 1986–1993. doi:10.1016/j.biortech.2005.01.013.
- Mosier, Nathan, Charles Wyman, Bruce Dale, Richard Elander, Y. Y. Lee, Mark Holtzapple, and Michael Ladisch. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology* 96: 673–686.
- Moulin, G., Helene Boze, and P. Galzy. 1984. Inhibition of alcoholic fermentation. *Biotechnology & genetic engineering reviews* 2: 365–382.
- N'Diaye, S., and L. Rigal. 2000. Factors influencing the alkaline extraction of poplar hemicelluloses in a twin-screw reactor: correlation with specific mechanical energy and residence time distribution of the liquid phase. *Bioresource technology* 75: 13–18.
- N'Diaye, S., L. Rigal, P. Larocque, and P. F. Vidal. 1996. Extraction of hemicelluloses from poplar, *Populus tremuloides*, using an extruder-type twin-screw reactor: A feasibility study. *Bioresource technology* 57: 61–67.
- N'Diaye, Senghane, and Luc Rigal. 2009. Pulping of fibre sorghum in a twin screw extruder (extrudeur bi-vis). *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*: 55–65.
- Nidetzky, Bernd, and Walter Steiner. 2004. A new approach for modeling cellulase–cellulose adsorption and the kinetics of the enzymatic hydrolysis of microcrystalline cellulose. *Biotechnology and bioengineering* 42: 469–479.
- O'donohue, Michael J. 2008. La production de carburants à partir de biomasse lignocellulosique par voie biologique: état de l'art et perspectives. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 15: 172–177.
- O'sullivan, Antoinette C. 1997. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose* 4: 173–207. doi:10.1023/A:1018431705579.
- Ogier, J. C., J. P. Leygue, D. Ballerini, J. Pourquie, and L. Rigal. 1999. Production d'éthanol a partir de biomasse lignocellulosique. *Oil & Gas Science and Technology* 54: 67–94.

- Öhgren, Karin, Renata Bura, Jack Saddler, and Guido Zacchi. 2007. Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. *Bioresource Technology* 98: 2503–2510.
- Ojumu, Tunde Victor, Bamidele Ogbe Solomon, Eriola Betiku, Stephen Kolawole Layokun, and Bamikole Amigun. 2004. Cellulase Production by *Aspergillus flavus* Linn Isolate NSPR 101 fermented in sawdust, bagasse and corncob. *African Journal of Biotechnology* 2: 150–152.
- Oliva, Jose Miguel, Felicia Saez, Ignacio Ballesteros, Alberto Gonzalez, Maria José Negro, Paloma Manzanares, and Mercedes Ballesteros. 2003. Effect of lignocellulosic degradation compounds from steam explosion pretreatment on ethanol fermentation by thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Applied biochemistry and biotechnology* 105: 141–153.
- Omar, Rozita, A. Idris, R. Yunus, K. Khalid, and M.I. Aida Isma. 2011. Characterization of empty fruit bunch for microwave-assisted pyrolysis. *Fuel* 90: 1536–1544. doi:10.1016/j.fuel.2011.01.023.
- Ooshima, Hiroshi, Douglas S. Burns, and Alvin O. Converse. 1990. Adsorption of cellulase from *Trichoderma reesei* on cellulose and lignocellulosic residue in wood pretreated by dilute sulfuric acid with explosive decompression. *Biotechnology and bioengineering* 36: 446–452.
- Ooshima, Hiroshi, Masaru Sakata, and Yoshio Harano. 2004. Adsorption of cellulase from *Trichoderma viride* on cellulose. *Biotechnology and bioengineering* 25: 3103–3114.
- Palmqvist, Eva, and Bärbel Hahn-Hägerdal. 2000a. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology* 74: 17–24.
- Palmqvist, Eva, and Bärbel Hahn-Hägerdal. 2000b. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource technology* 74: 25–33.
- Palonen, Hetti, Anne Belinda Thomsen, Maija Tenkanen, Anette S. Schmidt, and Liisa Viikari. 2004. Evaluation of wet oxidation pretreatment for enzymatic hydrolysis of softwood. *Applied biochemistry and biotechnology* 117: 1–17.
- Palonen, Hetti, and Liisa Viikari. 2004. Role of oxidative enzymatic treatments on enzymatic hydrolysis of softwood. *Biotechnology and bioengineering* 86: 550–557.
- Pan, Xuejun. 2008. Role of functional groups in lignin inhibition of enzymatic hydrolysis of cellulose to glucose. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 2: 25–32.
- Pan, Xuejun, Dan Xie, Neil Gilkes, David J. Gregg, and Jack N. Saddler. 2005. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content. *Applied biochemistry and biotechnology* 124: 1069–1079.
- Papatheofanous, M. G., E. Billa, D. P. Koullas, B. Monties, and E. G. Koukios. 1995. Two-stage acid-catalyzed fractionation of lignocellulosic biomass in aqueous ethanol systems at low temperatures. *Bioresource technology* 54: 305–310.
- Paquot, Michel, Philippe Thonart, P. Jacquemin, and A. Rassel. 1981. Evolution de la Rétention d'Eau et de la Morphologie de la Fibre au Cours de l'Hydrolyse Enzymatique de la Cellulose. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood* 35: 87–94.
- Park, Nahyun, Hye-Yun Kim, Bon-Wook Koo, Hwanmyeong Yeo, and In-Gyu Choi. 2010. Organosolv pretreatment with various catalysts for enhancing enzymatic hydrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource technology* 101: 7046–7053.

- Park, Sunkyu, John O. Baker, Michael E. Himmel, Philip A. Parilla, and David K. Johnson. 2010. Research Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance.
- Peitersen, Nicolai, John Medeiros, and Mary Mandels. 1977. Adsorption of *Trichoderma* cellulase on cellulose. *Biotechnology and bioengineering* 19: 1091–1094.
- Percival Zhang, Y.-H., Michael E. Himmel, and Jonathan R. Mielenz. 2006. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. *Biotechnology Advances* 24: 452–481. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.03.003.
- Pereira, Helena. 1988. Variability in The Chemical Composition of Plantation Eucalypts (*Eucalyptus Globulus* Labill.). *Wood and Fiber Science* 20: 82–90.
- Pérez, J. A., I. Ballesteros, M. Ballesteros, F. Sáez, M. J. Negro, and P. Manzanares. 2008. Optimizing liquid hot water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production. *Fuel* 87: 3640–3647.
- Perez, S., and W. Mackie. 2001. Structure and morphology of cellulose. A virtual review article. In .
- Purich, Daniel L. 2009. *Contemporary Enzyme Kinetics and Mechanism: Reliable Lab Solutions*. Academic Press.
- Qiabi, Abdelmalek, and L. Rigal. 2013. Valorisation de la rafle de maïs: Hydrolyse acide et extraction alcaline des hémicelluloses = Valorization of corncobs: Acid hydrolysis and alkaline extraction of hemicelluloses. Text.
- Qian, Xianghong, Mark R. Nimlos, David K. Johnson, and Michael E. Himmel. 2005. Acidic Sugar Degradation Pathways. In *Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, ed. Brian H. Davison, Barbara R. Evans, Mark Finkelstein, and James D. McMillan, 989–997. ABAB Symposium. Humana Press.
- Ramiah, M. V. 1970. Thermogravimetric and differential thermal analysis of cellulose, hemicellulose, and lignin. *Journal of Applied Polymer Science* 14: 1323–1337. doi:10.1002/app.1970.070140518.
- Ramos, Luiz Pereira. 2003. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova* 26: 863–871. doi:10.1590/S0100-40422003000600015.
- Reese, Elwyn T. 1956. Enzymatic hydrolysis of cellulose. *Applied Microbiology* 4: 39.
- Rigal, L. 1996. Technologie d'extrusion bi-vis et fractionnement de la matière végétale, 40 ans d'extrusion bi-vis chez CLEXTRAL. *Recueil de conférences, Firminy (France)* 8.
- Rinaldi, Roberto, and Ferdi Schüth. 2009. Acid Hydrolysis of Cellulose as the Entry Point into Biorefinery Schemes. *ChemSusChem* 2: 1096–1107. doi:10.1002/cssc.200900188.
- Rocha, J.R., R. Catana, B.S. Ferreira, J.M.S. Cabral, and P. Fernandes. 2006. Design and characterisation of an enzyme system for inulin hydrolysis. *Food Chemistry* 95: 77–82. doi:10.1016/j.foodchem.2004.12.020.
- Rocha, Maria Valderez Ponte, Tigressa Helena Soares Rodrigues, Gorete Ribeiro de Macedo, and Luciana RB Goncalves. 2009. Enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated cashew apple bagasse with alkali and diluted sulfuric acid for bioethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology* 155: 104–114.
- Roncero, M. Blanca, Antonio L. Torres, José F. Colom, and Teresa Vidal. 2005. The effect of xylanase on lignocellulosic components during the bleaching of wood pulps. *Bioresource Technology* 96: 21–30.
- Rouilly, Antoine. 2002. *Nouveaux agro-matériaux composites à matrice protéique ou polysaccharidique : étude du fractionnement, de la transformation et de la mise en*

forme par extrusion et par injection-moulage de la pulpe de betterave et du tourteau de tournesol.

- Rouilly, Antoine, Jérémy Jorda, and Luc Rigal. 2006. Thermo-mechanical processing of sugar beet pulp. I. Twin-screw extrusion process. *Carbohydrate polymers* 66: 81–87.
- Rowell, Roger M., and Raymond Allen Young. 1997. *Paper and composites from agro-based resources*. CRC press.
- Rudolf, Andreas, Henrique Baudel, Guido Zacchi, Bärbel Hahn-Hägerdal, and Gunnar Lidén. 2008. Simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated bagasse using *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400 and *Pichia stipitis* CBS6054. *Biotechnology and bioengineering* 99: 783–790.
- Ryu, Dewey DY, and Mary Mandels. 1980. Cellulases: biosynthesis and applications. *Enzyme and Microbial Technology* 2: 91–102.
- Saha, Badal C. 2003. Hemicellulose bioconversion. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 30: 279–291.
- Saha, Badal C., and Michael A. Cotta. 2007a. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol. *Enzyme and microbial technology* 41: 528–532.
- Saha, Badal C., and Michael A. Cotta. 2007b. Enzymatic hydrolysis and fermentation of lime pretreated wheat straw to ethanol. *Journal of chemical technology and biotechnology* 82: 913–919.
- Saha, Badal C., and Michael A. Cotta. 2008a. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. *Biotechnology progress* 22: 449–453.
- Saha, Badal C., and Michael A. Cotta. 2008b. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol. *Biomass and Bioenergy* 32: 971–977.
- Saha, Badal C., Loren B. Iten, Michael A. Cotta, and Y. Victor Wu. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry* 40: 3693–3700.
- Sánchez, Carmen. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology advances* 27: 185–194.
- Schacht, Christian, Carsten Zetzl, and Gerd Brunner. 2008. From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology. *The Journal of Supercritical Fluids* 46: 299–321.
- Shi, Jian, Ratna R. Sharma-Shivappa, Mari Chinn, and Noura Howell. 2009. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production. *Biomass and bioenergy* 33: 88–96.
- Sidiras, D., and E. Koukios. 2004. Simulation of acid-catalysed organosolv fractionation of wheat straw. *Bioresource technology* 94: 91–98.
- Da Silva, Ayla Sant'Ana, Hiroyuki Inoue, Takashi Endo, Shinichi Yano, and Elba PS Bon. 2010. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource technology* 101: 7402–7409.
- Sizer, Irwin W. 2006. Effects of Temperature on Enzyme Kinetics. In *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, ed. F. F. Nord and C. H. Werkman, 35–62. John Wiley & Sons, Inc.
- Sluiter, A., B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. Crocker. 2008. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *Laboratory Analytical Procedure*.

- Söderström, Johanna, Linda Pilcher, Mats Galbe, and Guido Zacchi. 2002. Two-step steam pretreatment of softwood with SO₂ impregnation for ethanol production. *Applied biochemistry and biotechnology* 98: 5–21.
- Söderström, Johanna, Linda Pilcher, Mats Galbe, and Guido Zacchi. 2003. Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production. *Biomass and Bioenergy* 24: 475–486.
- Van Soest, P. J., and R. H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* 50: 50–55.
- Solomon, Barry D., Justin R. Barnes, and Kathleen E. Halvorsen. 2007. Grain and cellulosic ethanol: History, economics, and energy policy. *Biomass and Bioenergy* 31: 416–425. doi:10.1016/j.biombioe.2007.01.023.
- Sriti, Jazia, Kamel Msaada, Thierry Talou, Mamadou Faye, Ika Amalia Kartika, and Brahim Marzouk. 2012. Extraction of coriander oil by twin-screw extruder: Screw configuration and operating conditions effect. *Industrial Crops and Products* 40: 355–360.
- Stahlberg, Jerry, Gunnar Johansson, and Göran Pettersson. 1991. A new model for enzymatic hydrolysis of cellulose based on the two-domain structure of cellobiohydrolase I. *Nature Biotechnology* 9: 286–290.
- Stenberg, Kerstin, Mónika Bollók, Kati Réczey, Mats Galbe, and Guido Zacchi. 2000. Effect of substrate and cellulase concentration on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated softwood for ethanol production. *Biotechnology and bioengineering* 68: 204–210.
- Strehaiano, Pierre. 1984. Phénomènes d'inhibition et fermentation alcoolique.
- Sugiyama, Junji, Jan Persson, and Henri Chanzy. 1991. Combined infrared and electron diffraction study of the polymorphism of native celluloses. *Macromolecules* 24: 2461–2466.
- Sun, and Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology* 83: 1–11.
- Sun, R. C., and X. F. Sun. 2002. Fractional and structural characterization of hemicelluloses isolated by alkali and alkaline peroxide from barley straw. *Carbohydrate polymers* 49: 415–423.
- Sun, R. C., J. Tomkinson, Y. X. Wang, and B. Xiao. 2000. Physico-chemical and structural characterization of hemicelluloses from wheat straw by alkaline peroxide extraction. *Polymer* 41: 2647–2656.
- Sun, Runcang, J. Mark Lawther, and W. B. Banks. 1996. Fractional and structural characterization of wheat straw hemicelluloses. *Carbohydrate polymers* 29: 325–331.
- Sun, RunCang, and Jeremy Tomkinson. 2002. Comparative study of lignins isolated by alkali and ultrasound-assisted alkali extractions from wheat straw. *Ultrasonics Sonochemistry* 9: 85–93.
- Sun, Ye, and Jay J. Cheng. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Bioresource technology* 96: 1599–1606.
- Szengyel, Zsolt, Guido Zacchi, Amaranta Varga, and Kati Réczey. 2000. Cellulase production of *Trichoderma reesei* rut C 30 using steam-pretreated spruce. *Applied biochemistry and biotechnology* 84: 679–691.
- Taherzadeh, Mohammad J., and Keikhosro Karimi. 2007. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review.

- Taherzadeh, Mohammad J., and Keikhosro Karimi. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Sciences* 9: 1621–1651.
- Tengborg, Charlotte, Mats Galbe, and Guido Zacchi. 2001. Reduced inhibition of enzymatic hydrolysis of steam-pretreated softwood. *Enzyme and Microbial Technology* 28: 835–844.
- Tengborg, Charlotte, Kerstin Stenberg, Mats Galbe, Guido Zacchi, Simona Larsson, Eva Palmqvist, and Bärbel Hahn-Hägerdal. 1998. Comparison of SO₂ and H₂SO₄ impregnation of softwood prior to steam pretreatment on ethanol production. *Applied Biochemistry and biotechnology* 70: 3–15.
- Teymouri, Farzaneh, Lizbeth Laureano-Perez, Hasan Alizadeh, and Bruce E. Dale. 2005. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* 96: 2014–2018.
- Thompson, David R., and Hans E. Grethlein. 1979. Design and Evaluation of a Plug Flow Reactor for Acid Hydrolysis of Cellulose. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development* 18: 166–169. doi:10.1021/i360071a003.
- Thonart, Philippe, Michel Paquot, M. Foucart, and A. Mottet. 1981. Hydrolyse enzymatique de la cellulose de paille, traitement mécanique et chimique [dégradation de la paille de blé, production de glucose].
- Thuesombat, Pakvirun, Pornthap Thanonkeo, Lakkana Laopaiboon, Pattana Laopaiboon, Sirinda Yunchalard, Pakawadee Kaewkannetra, and Sadarat Thanonkeo. 2007. The batch ethanol fermentation of jerusalem artichoke using *Saccharomyces cerevisiae*. *KMITL Sci. Tech. J* 7: 93–96.
- Toivola, Ansa, David Yarrow, Eduard van den Bosch, Johannes P. van Dijken, and W. Alexander Scheffers. 1984. Alcoholic Fermentation of d-Xylose by Yeasts. *Applied and Environmental Microbiology* 47: 1221–1223.
- Tomme, P., R.A.J. Warren, and N.R. Gilkes. 1995. Cellulose Hydrolysis by Bacteria and Fungi. In , Volume 37:1–81. Academic Press.
- Triboulot, Marie-Christine TROUY-TRIBOULOT, Pascal. 1983. *Le Matériau bois: propriétés, technologie, mise en oeuvre*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Umikalsom, M. S., A. B. Ariff, H. S. Zulkifli, C. C. Tong, M. A. Hassan, and M. I. A. Karim. 1997. The treatment of oil palm empty fruit bunch fibre for subsequent use as substrate for cellulase production by *Chaetomium globosum* Kunze. *Bioresource technology* 62: 1–9.
- Updegraff. 1969. Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry* 32: 420–424. doi:10.1016/S0003-2697(69)80009-6.
- Vandenbossche, Virginie Vandenbossche. 1998. *Fractionnement des tiges et capitules de tournesol: hydrodistillation d'une huile essentielle odorante, extraction et modification chimique de pectines, et mise en forme d'agromatériaux biodégradables*.
- Varga, Enikő, Kati Réczey, and Guido Zacchi. 2004. Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility. *Applied biochemistry and biotechnology* 114: 509–523.
- Vidal, Bernardo C., Bruce S. Dien, K. C. Ting, and Vijay Singh. 2011. Influence of Feedstock Particle Size on Lignocellulose Conversion—A Review. *Applied biochemistry and biotechnology* 164: 1405–1421.
- De Vrije, T. D., G. G. De Haas, G. B. Tan, E. R. P. Keijsers, and P. A. M. Claassen. 2002. Pretreatment of *Miscanthus* for hydrogen production by *Thermotoga elfii*. *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1381–1390.

- Walker, L. P., and D. B. Wilson. 1991. Enzymatic hydrolysis of cellulose: an overview. *Bioresource Technology* 36: 3–14.
- Wang, Ying, Mark Radosevich, Douglas Hayes, and Nicole Labbé. 2011. Compatible Ionic liquid-cellulases system for hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Biotechnology and Bioengineering* 108: 1042–1048.
- Wilke, Charles R. 1983. Enzymatic hydrolysis of cellulose.
- Wilson, David B. 2009a. Aerobic Microbial Cellulase Systems. In *Biomass Recalcitrance*, ed. Michael E. Himmel Principal Scientist, 374–392. Blackwell Publishing Ltd.
- Wilson, David B. 2009b. Evidence for a novel mechanism of microbial cellulose degradation. *Cellulose* 16: 723–727. doi:10.1007/s10570-009-9326-9.
- Wolfenden, Richard, and Mark J. Snider. 2001. The Depth of Chemical Time and the Power of Enzymes as Catalysts. *Accounts of Chemical Research* 34: 938–945. doi:10.1021/ar000058i.
- Wong, K. K., L. U. Tan, and John N. Saddler. 1988. Multiplicity of beta-1, 4-xylanase in microorganisms: functions and applications. *Microbiological Reviews* 52: 305.
- Wong, Ken KY, Kay F. Deverell, Keith L. Mackie, Tom A. Clark, and Lloyd A. Donaldson. 2004. The relationship between fiber-porosity and cellulose digestibility in steam-exploded *Pinus radiata*. *Biotechnology and bioengineering* 31: 447–456.
- Wyman, Charles. 1996. *Handbook on bioethanol: production and utilization*. CRC.
- Wyman, Charles E., Bruce E. Dale, Richard T. Elander, Mark Holtzapple, Michael R. Ladisch, and Y. Y. Lee. 2005. Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. *Bioresource technology* 96: 2026–2032.
- Xiao, Zhizhuang, Xiao Zhang, David J. Gregg, and John N. Saddler. 2004. Effects of sugar inhibition on cellulases and β -glucosidase during enzymatic hydrolysis of softwood substrates. In *Proceedings of the Twenty-Fifth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals Held May 4–7, 2003, in Breckenridge, CO*, 1115–1126.
- Yachmenev, Val, Brian Condon, Thomas Klasson, and Allan Lambert. 2009. Acceleration of the enzymatic hydrolysis of corn stover and sugar cane bagasse celluloses by low intensity uniform ultrasound. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 3: 25–31.
- Yang, Haiping, Rong Yan, Terence Chin, David Tee Liang, Hanping Chen, and Chuguang Zheng. 2004. Thermogravimetric Analysis–Fourier Transform Infrared Analysis of Palm Oil Waste Pyrolysis. *Energy & Fuels* 18: 1814–1821. doi:10.1021/ef030193m.
- Yang, and Wyman. 2007. Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 2: 26–40.
- Yang, and Wyman. 2008. Characterization of the degree of polymerization of xylooligomers produced by flowthrough hydrolysis of pure xylan and corn stover with water. *Bioresource technology* 99: 5756–5762.
- Yinghuai, Zhu, Karen Tang, and Narayan S. 2013. Applications of Ionic Liquids in Lignin Chemistry. In *Ionic Liquids - New Aspects for the Future*, ed. Jun-ichi Kadokawa. InTech.
- Yoo, Juhyun, Sajid Alavi, Praveen Vadlani, and Vincent Amanor-Boadu. 2011. Thermo-mechanical extrusion pretreatment for conversion of soybean hulls to fermentable sugars. *Bioresource Technology* 102: 7583–7590. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.092.
- Yoshida, Makoto, Yuan Liu, Satoshi Uchida, Kensuke Kawarada, Yusuke Ukagami, Hitomi Ichinose, Satoshi Kaneko, and Kiyoharu Fukuda. 2008. Effects of cellulose crystallinity, hemicellulose, and lignin on the enzymatic hydrolysis of *Miscanthus*

- sinensis to monosaccharides. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 72: 805–810.
- Zeitoun, Rawan. 2011. *Procédés de fractionnement de la matière végétale : application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé*.
- Zeitoun, Rawan, Pierre Yves Pontalier, Philippe Marechal, and Luc Rigal. 2010. Twin-screw extrusion for hemicellulose recovery: Influence on extract purity and purification performance. *Bioresource technology* 101: 9348–9354.
- Zhang, Mingjia, Rongxin Su, Wei Qi, and Zhimin He. 2010. Enhanced enzymatic hydrolysis of lignocellulose by optimizing enzyme complexes. *Applied biochemistry and biotechnology* 160: 1407–1414.
- Zhang, Shujing, Deepak R. Keshwani, Yixiang Xu, and Milford A. Hanna. 2012. Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification. *Industrial Crops and Products* 37: 352–357.
- Zhang, Shujing, Yixiang Xu, and Milford A. Hanna. 2012. Pretreatment of Corn Stover with Twin-Screw Extrusion Followed by Enzymatic Saccharification. *Applied biochemistry and biotechnology*: 1–12.
- Zhang, Xiao, Wenjuan Qin, Michael G. Paice, and John N. Saddler. 2009. High consistency enzymatic hydrolysis of hardwood substrates. *Bioresource Technology* 100: 5890–5897. doi:10.1016/j.biortech.2009.06.082.
- Zhang, Yi-Heng Percival, and Lee R. Lynd. 2004. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and bioengineering* 88: 797–824.
- Zhao, Hua, Cecil L. Jones, Gary A. Baker, Shuqian Xia, Olarongbe Olubajo, and Vernecia N. Person. 2009. Regenerating cellulose from ionic liquids for an accelerated enzymatic hydrolysis. *Journal of Biotechnology* 139: 47–54. doi:10.1016/j.jbiotec.2008.08.009.
- Zhao, Xuebing, Keke Cheng, and Dehua Liu. 2009. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Applied microbiology and biotechnology* 82: 815–827.
- Zhao, Yulin, Ying Wang, J. Y. Zhu, Art Ragauskas, and Yulin Deng. 2008. Enhanced enzymatic hydrolysis of spruce by alkaline pretreatment at low temperature. *Biotechnology and bioengineering* 99: 1320–1328.
- Zheng, Yizhou, H.-M. Lin, and George T. Tsao. 2008. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnology progress* 14: 890–896.
- Zhou, Youping, Hilary Stuart-Williams, Graham D. Farquhar, and Charles H. Hocart. 2010. The use of natural abundance stable isotopic ratios to indicate the presence of oxygen-containing chemical linkages between cellulose and lignin in plant cell walls. *Phytochemistry* 71: 982–993. doi:10.1016/j.phytochem.2010.03.001.
- Zhu, Shengdong, Yuanxin Wu, Ziniu Yu, Cunwen Wang, Faquan Yu, Siwei Jin, Yigang Ding, Ru'an Chi, Jintao Liao, and Yan Zhang. 2006. Comparison of three microwave/chemical pretreatment processes for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Biosystems engineering* 93: 279–283.
- Zhu, Zhiguang, Noppadon Sathitsuksanoh, Todd Vinzant, Daniel J. Schell, James D. McMillan, and Y.-H. Percival Zhang. 2009. Comparative study of corn stover pretreated by dilute acid and cellulose solvent-based lignocellulose fractionation: Enzymatic hydrolysis, supramolecular structure, and substrate accessibility. *Biotechnology and bioengineering* 103: 715–724.
- Zoebelein, Hans. 1997. *Dictionary of renewable resources*. VCH.

Zugenmaier, Peter. 2001. Conformation and packing of various crystalline cellulose fibers.
Progress in Polymer Science 26: 1341–1417. doi:10.1016/S0079-6700(01)00019-3.

Résumé

Les procédés de transformation de biomasse lignocellulosique en bioéthanol de seconde génération sont actuellement des sujets de recherche très répandus mais ne sont toujours pas compétitifs avec ceux de la première génération. Les facteurs clés limitants sont : l'efficacité et les coûts du prétraitement, les rendements de l'hydrolyse enzymatique, et la co-fermentation C5-C6. Un procédé continu de déconstruction de la matière végétale, compactant un prétraitement thermo-mécano-chimique utilisant un agent alcalin avec une introduction d'enzymes en extrusion bi-vis, appelé bioextrusion, est développé dans cette étude. Il permet de préparer la matière cellulosique à un haut taux de matière sèche (>20%), à une saccharification et une fermentation pouvant être simultanées (SSF). Le traitement continu peut extraire une grande part des hémicelluloses (jusqu'à 97%) et des lignines (>50%) et améliorer l'accessibilité de la cellulose tout en initiant sa dépolymérisation par des cocktails enzymatiques pendant la bioextrusion. Plusieurs matières premières (Résidu de maïs doux, Bagasse d'agave bleue, Résidu d'huilerie de palme, Paille d'orge, Résidu d'Eucalyptus, Sarments de vigne et Bagasse de canne à sucre) ont été caractérisées et leurs comportements vis-à-vis du procédé ont été comparés. L'évolution de la composition de ces matières à travers le procédé et leur hydrolysabilité ont été étudiées. Suite au traitement, une augmentation du rendement de saccharification dans un réacteur (24h de temps de réaction à 20% de consistance) a été obtenue pour ces matières (jusqu'à 85% des C6 théoriques et 70% des C5-C6 théoriques). Les rendements de fermentation non optimisés atteignent un maximum de 85% théorique des sucres C6 convertis, 65% théorique des C5-C6 convertis, et une concentration d'éthanol de 15g/100g extrudat sec. Le procédé de production d'éthanol dans son ensemble (avec addition de l'énergie de la valorisation des coproduits) atteint un ratio « énergie consommée/produite » de 0.5-0.6. Le nouveau procédé présente ainsi les avantages de minimiser la consommation d'énergie par l'application de faibles températures, de minimiser la consommation d'eau par l'utilisation de faibles ratios liquide/solide, de ne pas produire d'inhibiteurs de fermentation et d'être rapide, compact, continu et adaptable sur différentes biomasses.

Summary

Lignocellulosic biomass transformation processes in order to produce second generation bioethanol are actually widely studied all around the world but still not yet competitive compare to the first generation. The limiting key factors of the different processes are: the pre-treatment efficiency and costs, the enzymatic hydrolysis yields, and the co-fermentation C5-C6. A continuous plant matter deconstruction process, compacting a thermo-mechano-chemical pre-treatment using alkali solution with an enzymes injection in twin-screw extruder, called bioextrusion, is developed in this study. It allows preparing the cellulosic material at a high dry matter content (>20%), to a possible simultaneous saccharification and fermentation (SSF). This continuous treatment may extract a big part of hemicelluloses (until 97%) and lignin (>50%) and configures cellulose to a better accessibility and a start of its depolymerisation by enzymes cocktail during the bioextrusion. Several raw matters (Sweet Corn Cob and Spathe, Blue Agave Bagass, Oil Palm Empty Fruit Bunch, Barley Straw, Eucalyptus Residue, Grape Pruning Residue and Sugarcane Bagass) have been characterized and theirs behaviours toward to the process were compared. Evolutions of these matters compositions throughout the process and their hydrolysability have been studied. Further to the treatment, an improvement of the saccharification yields in reactor (24h reaction time at 20% consistency) has been obtained on these matters (until 85% of theoretical C6 and 70% of theoretical C5-C6). The not optimized fermentation yields reach a maximum of 85% of theoretical converted C6 sugars, 65% of theoretical converted C5-C6 sugars, and an ethanol concentration of 15g/100g dry matter extrudate. The whole ethanol production process (with addition of energy from the recovery of the by-products) is achieved with a “consumed/produced energy” ratio of 0.5-0.6. The new process presents the advantages to minimize the energy consumption by operating low temperatures, to minimize water consumption by working at low liquid/solid ratio, to not produce fermentation 's inhibitors and to be quick, compact, continuous and adaptable to different biomasses.