



HAL
open science

Production de biomolécules vecteurs énergétiques par bioconversion des tiges de sorgho sucré (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Bakari Hamadou

► To cite this version:

Bakari Hamadou. Production de biomolécules vecteurs énergétiques par bioconversion des tiges de sorgho sucré (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Biotechnologies. Université Clermont Auvergne; Université de Maroua, 2024. Français. NNT : 2024UCFA0160 . tel-04956427

HAL Id: tel-04956427

<https://theses.hal.science/tel-04956427v1>

Submitted on 19 Feb 2025

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.

**UNIVERSITE DE
MAROUA**



**UNIVERSITE CLERMONT
AUVERGNE**



Thèse en cotutelle entre l'UMa et l'UCA

Présentée par

HAMADOU BAKARI

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialités : Génie Biologie & Energétique et Environnement

**Production de biomolécules vecteurs énergétiques par
bioconversion des tiges de sorgho sucré (*Sorghum bicolor*
(L.) Moench)**

Soutenue publiquement le 11 décembre 2024 devant le jury composé de :

M. MICHAUD Philippe	Professeur, Université Clermont Auvergne	Président
M. BARAKAT Abdellatif	Professeur, Docteur, INRAE à IATE, Montpellier	Rapporteur
Mme. NGO BUM Elisabeth	Professeur, Université de Maroua	Rapporteuse
Mme. JOUVE Carole	Professeur, INSA Toulouse	Examinatrice
M. DJOMDI	Maître de Conférences, Université de Maroua	Examineur
Mme. MAIWORE Justine	Maître de Conférences, Université de Maroua	Examinatrice
M. DJOULDE DARMAN Roger	Professeur, Université de Garoua	Directeur
Mme. CHRISTOPHE Gwendoline	Maître de Conférences, HDR, Université Clermont Auvergne	Directrice

Année : 2024

Dédicace

A mes très chers parents,
Mon père M. **Bakari NDJEM**,
Ma défunte mère Mme **Aïe DJINGUI**,
Ma défunte grande sœur Mme **Adda HAOUA**.

Je sais que je vous dois à jamais.

Remerciements

Ce projet de recherche réalisé dans le cadre d'une cotutelle de thèse internationale entre l'Université de Maroua au Cameroun et l'Université Clermont Auvergne en France, est le fruit de la coopération entre ces deux institutions universitaires. Je voudrais remercier les Chefs de ces institutions, les Professeurs **IDRISSOU ALIOUM** et **BERNARD Mathias** pour cette convention de collaboration constructive et fructueuse. Je voudrais également exprimer ma profonde gratitude à **MOHAMADOU ALIDOU** Directeur de l'ENSPM, **DANWE RAÏDANDI** responsable de l'UFD SI, **GIL Evelyne** Directrice de l'Institut Pascal, **VERNET Patrick**, Directeur de l'ED SVSAE, **ALRIC Monique**, ancienne Directrice de l'ED SVSAE et **MOULIN Mélanie**, pour l'accueil, l'accompagnement, l'encadrement, l'organisation et la qualité de formation dispensée aux doctorants. Mes remerciements vont également à **LAROCHE Céline** et **DUSSAP Claude-Gilles**, respectivement nouveau et ex-responsable de l'Axe GePEB, ainsi qu'à **LOISEAU Béatrice** pour l'accueil chaleureux au sein de l'axe GePEB et de m'avoir permis d'effectuer cette étude dans les meilleures conditions.

Ensuite je tiens à remercier l'équipe d'encadrement **CHRISTOPHE Gwendoline**, **DJOULDE DARMAN Roger**, Co-Directeurs de thèse, **MICHAUD Philippe** et **DJOMDI**, Co-Encadrants, pour cette immense opportunité que j'ai eue à bénéficier de leurs expertises et expériences scientifiques, leurs qualités d'encadrement, leurs soutiens de diverses natures, leurs qualités humaines, leur disponibilité pour des échanges fructueux, etc., que chacun se sente chaleureusement et infiniment remercié.

Je voudrais également remercier les partenaires académiques de l'UCA pour leur collaboration efficace. Je pense notamment à **BLAVIGNAC Christelle** du Centre Imagerie Cellulaire Santé (CICS) pour la microscopie électronique des échantillons ; **JOUFFRET Laurent** et **THIROUARD Rodolphe**, responsables plateau DRX de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF) pour l'analyse des échantillons par diffraction au rayon X ; **BUSSIÈRE William**, **COITOUT Hubert**, **JOUVE Lionel** de l'UIT Clermont-Ferrand et **AUDONNET Fabrice** de l'Axe GePEB, pour leur collaboration pour la détermination du pouvoir calorifique des échantillons.

Je remercie également **FONTANILLE Pierre**, responsable de BIO-VALO, partenaire industrielle de l'UCA, pour sa collaboration pour la détermination du potentiel méthanogène des échantillons, pour sa participation efficace aux différents comités de suivi de thèse, et sa disponibilité pour les échanges.

Je remercie aussi les autres membres externes du comité de suivi de thèse notamment **TRABLY Éric** du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) de l'INRAE Narbonne, **KOFA Guillaume** du Département de génie des procédés de l'ENSAI, Ngaoundéré, pour leurs orientations et suggestions constructives, ainsi que **ZIEBA FALAMA Ruben** pour ses diverses contributions à la réalisation de ce travail.

J'aimerais également remercier tous les personnels de l'Axe GePEB, je pense particulièrement aux techniciens du laboratoire **GARDARIN Christine, DUCHEZ David, Mariem, BRUN Frederic**, à l'informaticien de l'Axe GePEB **TOURET Olivier**, pour leurs multiples interventions rapides sur les différents appareillages et pour l'obtention des réactifs ; et à **DE BAYNAST Hélène, BOURGNE Nicolas, DUBESSAY Pascal, GROS Fabrice, CORNET Jean-François, PIERRE Guillaume, DELATTRE Cédric, VIAL Christophe**, sans oublier tout le reste des permanents et non permanents du laboratoire que je n'ai pas cité nommément, pour leur bonne humeur et leur participation directe ou indirecte au bon déroulement de cette thèse.

Je remercie également tous les doctorants et stagiaires de l'Axe GePEB pour ces moments d'échange convivial et pour l'esprit d'équipe et d'entraide au sein du laboratoire.

Je remercie chaleureusement ma famille et mes proches pour leurs multiples soutiens et encouragements.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette thèse de doctorat.

Table des matières

Liste des abréviations.....	vii
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xi
Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Etude Bibliographique	5
1. Introduction	5
2. Ressource sorgho.....	5
2.1. Morphologie	5
2.2. Origine et diffusion.....	7
2.3. Taxonomie	8
2.4. Production et exigences de culture	10
3. Procédés d'exploitation et sous-produits associés.....	12
4. Composition biochimique des sous-produits et leurs intérêts alimentaires, technologiques et fonctionnels : valorisation dans l'alimentation humaine	14
4.1. Composition biochimique des tiges	14
4.2. Techniques et technologies d'extraction des jus des tiges	15
4.3. Valorisation dans l'alimentation humaine	19
5. Valorisation dans l'alimentation animale	20
5.1. Composition chimique et valeur nutritionnelle des résidus d'exploitation des grains de sorgho	20
5.2. Valeur nutritive des fourrages et ensilages de sorgho	23
5.3. Valorisation des sous-produits dans l'alimentation animale.....	23
6. Valorisation énergétique des tiges de sorgho.....	24
6.1. Valorisation énergétique des tiges par voie thermochimique	24
6.2. Valorisation énergétique des tiges par voie biologique	28
6.2.1. Procédés de prétraitement de la BLC	28
6.2.2. Valorisation en bioéthanol 2G.....	30
6.2.3. Valorisation en biométhane	34
6.2.4. Valorisation en biohydrogène par voie fermentaire sombre.....	37
7. Perspectives innovantes sur la valorisation du sorgho et ses sous-produits.....	40
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	42

1. Collecte, prétraitement et schéma du procédé de bioconversion énergétique des tiges de sorgho	42
2. Caractérisation physico-chimique de la biomasse	45
2.1. Détermination des teneurs en eau et en matière sèche	45
2.2. Détermination de la teneur en cendres.....	45
2.3. Détermination de la composition biochimique de la biomasse	46
2.4. Détermination du pouvoir calorifique	48
2.5. Analyse par diffraction au rayons X	48
2.6. Analyse au microscope électronique à balayage à émission de champ (FESEM)	49
3. Extraction des sucres et composés phénoliques	49
4. Dosages colorimétriques	50
4.1. Dosage des sucres totaux	50
4.2. Dosage des sucres réducteurs	51
4.3. Dosage des composés phénoliques totaux.....	52
4.4. Dosage enzymatique des sucres	52
5. Méthodes chromatographiques	54
5.1. Chromatographie Echangeuse d'Anions Haute Performance (CEAHP).....	54
5.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP).....	55
6. Hydrolyse enzymatique de la biomasse	56
7. Détermination de potentiel méthanogène des différentes fractions de la biomasse.....	57
8. Production du bioéthanol 2G.....	58
8.1. Souche de levure utilisée	58
8.2. Composition du milieu et préculture	58
8.3. Culture en Erlenmeyer.....	60
8.3.1. Essai de fermentation des différentes fractions de biomasse	60
8.3.2. Saccharification et fermentation de la biomasse prétraitée.....	61
8.4. Culture en bioréacteur	61
8.5. Suivi de culture	63
9. Production de biohydrogène par fermentation sombre	64
9.1. Consortium bactérien	64
9.2. Composition du milieu et préculture	64
9.3. Mise en culture	66

9.4.	Suivi de culture	69
9.5.	Suivi de dégradation de la fraction lignocellulosique de tiges	69
Chapitre 3 : Résultats et discussion		70
1.	Amélioration des performances du procédé de production de bioéthanol 2G à partir des tiges de sorgho sucré	70
1.1.	Introduction.....	70
1.2.	Article publié dans Waste and Biomass Valorization	71
1.3.	Discussion.....	87
2.	Optimisation de l'efficacité de bioconversion énergétique de tiges sorgho sucré par couplage de procédés fermentation alcoolique – méthanisation.....	90
2.1.	Introduction.....	90
2.2.	Article publié dans Bioengineered.....	91
2.3.	Discussion.....	109
3.	Optimisation de performance et rentabilité de bioconversion énergétique de tiges de sorgho sucré par couplage de procédés fermentation sombre – méthanisation	111
3.1.	Introduction.....	111
3.2.	Article publié dans BioEnergy Research	112
3.3.	Discussion.....	131
Conclusion générale et perspectives		134
Références bibliographiques		138
Annexes		169
	Annexe 1 : Liste des publications	169
	Annexe 2 : Liste des communications scientifiques	170
	Annexe 3 : Publication revue de synthèse bibliographique	171
Résumé		193
Abstract		193

Liste des abréviations

1G : Première génération

2G : Seconde génération

ADEME : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie

ADF : Fibres solubles au détergent acide

ADP : Adénosine diphosphate

ADS : Solution de détergent acide

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AGV : Acides gras volatils

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

ATP : Adénosine triphosphate

BCU : Bioreactor Control Unit

BLC : Biomasse lignocellulosique

CEAHP : Chromatographie échangeuse d'anions haute performance

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

COT/NT : Analyseur carbone total / azote total

DAP : Détection par ampérométrie pulsée

DCU : Digital Control Unit

DIVMS : Digestibilité *in vitro* de la matière sèche

DO : Densité optique

FBGU : Fungal Beta-Glucanase Units

FESEM : Field Emission Scanning Electron Microscopy

GES : Gaz à effet de serre

HFS : Hydrolyse et fermentation séparées

HK : Hexokinase

MFC : Pile à combustible microbienne

Micro-GC : Micro-gaz chromatographie

MS : Matière sèche

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NDF : Fibres insolubles au détergent neutre

NDS : Solution de détergent neutre

PCR : Polymerase Chain Reaction

PCS : Pouvoir calorifique supérieur

PGI : Phosphoglucose isomérase

PSN : Polysaccharides non amylacés

SFS : Saccharification et fermentation simultanées

STV : Sels traces vitamines

TCD : Détecteur de conductivité thermique

Liste des figures

Figure 1.1 : Schéma d'un plant de sorgho à une seule tige principale	6
Figure 1.2 : Répartition spatiale de l'aire de culture de sorgho.....	7
Figure 1.3 : Photographies de la diversité génotypique et phénotypique des panicules et des grains des sorghos à maturité	8
Figure 1.4 : Illustration de la structure moléculaire des fibres de sucres structuraux englobées par le polymère de lignine.....	14
Figure 1.5 : Processus d'extraction du jus à partir du sorgho sucré	17
Figure 1.6 : Jus et sirop de sorgho à tige sucrée	20
Figure 1.7 : Schéma métabolique de la glycolyse couplée au cycle de Krebs et à la fermentation alcoolique	33
Figure 1.8 : Principales voies métaboliques et natures des populations microbiennes de la méthanisation	35
Figure 1.9 : Description des voies productrices d'hydrogène et concurrentes.....	39
Figure 2.1 : Schéma du procédé de mise en œuvre global	44
Figure 2.2 : Protocole d'estimation de la composition biochimique de la biomasse.....	46
Figure 2.3 : Equation de la réaction des oses avec le phénol en milieu acide et à chaud	51
Figure 2.4 : Chaîne de chromatographie ionique ICS 3000 (Dionex)	55
Figure 2.5 : Chaîne de Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance CLHP.....	56
Figure 2.6 : Dispositif expérimental d'hydrolyse enzymatique de la biomasse (Radleys reactor)	57
Figure 2.7 : Prétraitement de la biomasse : tige découpée (A), moelle (B), tige entière effeuillée découpée et séchée (C), broyat de la tige (D) et jus de tige (E).....	60
Figure 2.8 : Unité de fermentation (Global Process Concept, GPC-Bio)	62
Figure 2.9 : Préparation du milieu de préculture avant (A) et après (B) incubation	66
Figure 2.10 : Unité de fermentation sombre (Bionet F1-Twin BCU, ROSITA Bioprocess SW)	67
Figure 2.11 : Système de suivi de production et d'analyse quantitative et qualitative du biogaz : Inficom Fusion micro-GC (A) débitmètre Bioprocess µFlow (B)	68
Figure 3.1 : Procédé de production du bioéthanol 2G par co-fermentation des sucres libres et sucres structuraux des tiges de sorgho sucré	71

Figure 3.2 : Procédé de couplage fermentation alcoolique – méthanisation des tiges de sorgho sucré	91
Figure 3.3 : Procédé de couplage fermentation sombre – méthanisation des tiges de sorgho sucré	112

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Principaux caractères identitaires des variétés de sorgho.....	9
Tableau 1.2 : Production, superficies de culture et rendement de production du sorgho dans le monde	11
Tableau 1.3 : Composition chimique de la tige de sorgho sucré (sans feuilles), de la moelle et de l'écorce	15
Tableau 1.4 : Concentration en sucres du jus de tige du sorgho sucré	19
Tableau 1.5 : Composition chimique du grain du sorgho.....	22
Tableau 2.1 : Composition du milieu de culture de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	59
Tableau 2.2 : Composition des solutions minérales	65
Tableau 2.3 : Composition du milieu de culture du consortium bactérien.....	65

Introduction générale

Introduction générale

Les développements technologiques et socioéconomiques mondiaux, la croissance industrielle et démographique accrue, ont entraîné une augmentation exponentielle de la demande énergétique mondiale. Alors que parallèlement, les ressources naturelles et énergétiques s'amenuisent drastiquement d'années en années, accentuant davantage les préoccupations en matière de sécurité énergétique et environnementale. La consommation énergétique mondiale est essentiellement basée à plus de 90% sur des ressources fossiles (Zhao *et al.*, 2024). L'utilisation excessive d'énergies fossiles est responsable de près de trois quarts des émissions des gaz à effet de serre (GES), entraînant l'augmentation de température moyenne mondiale de 1,1°C, la fonte de calotte glaciaire et l'élévation du niveau des océans (IEA, 2021 ; Al-Salihi *et al.*, 2024). Le dérèglement climatique, l'avancement du désert (zone soudano-sahélienne), l'assèchement et le tarissement de certains lacs (Lac Namak, Lac Tchad, etc.) sont également des conséquences de ce phénomène et constituent une préoccupation majeure (Sheikh *et al.*, 2024). Par ailleurs, environ 2,3 milliards de personnes à travers le monde dépendent du bois pour leur besoin en énergie domestique (Totouom, 2024). La situation est encore plus préoccupante en Afrique, où 58% de la population en dépend (Zieba Falama *et al.*, 2024) dont 76% de la population en Afrique subsaharienne (Tidze *et al.*, 2016). Au Cameroun, ces pourcentages atteignent 70% de l'ensemble de la population (Zieba Falama *et al.*, 2024) et 90% de la population en zones rurales (Totouom, 2024). Ce recours au bois non durable pose un problème écologique et accentue davantage les phénomènes de déforestation, désertification, sécheresse ainsi que le changement climatique. Ce contexte a suscité un intérêt accru pour le développement des solutions alternatives afin d'atteindre les objectifs de neutralité carbone et développement durable. L'adoption de la politique de transition énergétique mondiale prônée par la communauté internationale est l'une des mesures d'atténuation (Chen *et al.*, 2023) visant à réduire l'émission des GES et de limiter le réchauffement climatique à 1,5°C d'ici 2050 (IEA, 2022). L'utilisation des sources d'énergies renouvelables est devenue une nécessité afin de relever ces défis. La biomasse lignocellulosique (BLC), notamment issue des résidus agricoles, compte parmi les meilleures sources de matières premières pour les énergies alternatives. Elle est abondante, durable, peu coûteuse et en constante augmentation (Agrawal *et al.*, 2021 ; Liu *et al.*, 2022). Sa productivité est estimée à environ 10 tonnes métriques par hectare et par an (Basak *et al.*, 2023). La biomasse représente environ 14% des énergies renouvelables à travers le monde (Kevser *et al.*, 2022). Elle suscite un intérêt croissant pour la production des divers vecteurs énergétiques et d'autres produits, molécules et matériaux biosourcés en raison de sa

viabilité, sa diversité et les faibles émissions de GES associés à son utilisation (Gaballah *et al.*, 2020). Les résidus agricoles lignocellulosiques (LC) (paille et balle de riz, tiges de maïs, tiges de sorgho, paille de blé, bagasse de canne à sucre, etc.) sont peu coûteux et abondamment disponibles à travers le monde. Leur valorisation énergétique permettrait de réduire la dépendance vis-à-vis des ressources fossiles, de relever les défis environnementaux, et d'améliorer la rentabilité économique et la durabilité de la chaîne de valeur agricole à travers l'économie circulaire (Awogbemi and Kallon, 2022). Parmi ces sous-produits, les tiges de sorgho sucré (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) ont été identifiées à haut potentiel. En effet, le sorgho sucré est une ressource polyvalente permettant de combiner une production de grains amylacés à celle des tiges à haute teneur en sucres fermentescibles avec un rendement élevé (Wang *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2018). Cette multifonctionnalité permet de répondre à la fois à des besoins alimentaires et énergétiques avec la même surface agricole, évitant ainsi le conflit entre l'alimentation et la production énergétique. Les rendements en biomasse verte varient entre 20 et 120 tonnes/ha, selon les conditions de culture et les caractéristiques botaniques de la variété (Saballos, 2008) avec 25 à 40 tonnes de matière sèche (MS) biomasse/ha pour des variétés à tiges sucrées. En termes de volumes, le sorgho est la cinquième céréale cultivée dans le monde après le blé, le maïs, le riz et l'orge (Kamara *et al.*, 2011). Sa production mondiale varie entre 58 et 64 millions de tonnes par an (Mwithiga and Sifuna, 2006 ; FAOSTAT, 2024) sur une superficie moyenne de 43,2 millions d'hectares (période 1998-2022). En Afrique subsaharienne, cette culture se positionne au deuxième rang (après le maïs), avec une production de 29,57 millions de tonnes en 2022 (FAOSTAT, 2024) sur une superficie de 29,06 millions d'hectares, soit 67,27% de la superficie moyenne mondiale cultivée avec cette plante. Cette popularité du sorgho est due à sa grande capacité d'adaptation à des conditions agronomiques extrêmes, sa résilience, sa résistance à la sécheresse, sa faible exigence en intrants, sa rusticité (Nxele *et al.*, 2017 ; Guo *et al.*, 2018 ; Badigannavar *et al.*, 2018), son rendement élevé en biomasse (Thomas *et al.*, 2019 ; Clarke *et al.*, 2019) et ses diverses applications. Sa culture et son système de production sont également bien maîtrisés y compris dans des zones marginales ou semi-arides avec des climats tempérés et tropicaux, ou des sols salins et alcalins etc. Cette plante unique, résiliente et polyvalente, offre une large gamme d'applications destinées aux alimentations humaine et animale (Trappey *et al.*, 2015 ; Althwab *et al.*, 2015 ; Anunciação *et al.*, 2017), qu'elles soient industrielles ou artisanales (Dahlberg *et al.*, 2011 ; Nghiem *et al.*, 2016). D'autres applications concernent le secteur de l'énergie (Regassa and Wortmann, 2014 ; Szambelan *et al.*, 2018) et des matériaux biosourcés. La valorisation primaire de cette biomasse présente un important potentiel comme source de sous-

produits (tiges en particulier), encore valorisables sous diverses formes. La valorisation énergétique des tiges de sorgho sucré comme toute autre BLC, peut être réalisée selon plusieurs techniques parmi lesquelles on peut citer la conversion thermochimique (combustion directe, pyrolyse, gazéification, liquéfaction, etc...) ou la bioconversion (fermentation éthanolique, méthanisation, fermentation sombre pour la production de biohydrogène, etc...). La conversion thermochimique présente de faibles rendements de conversion énergétique et émettent d'importantes quantités de polluants. De nombreux défis opérationnels et environnementaux doivent être résolus pour cette technologie qui ne présente pas encore un niveau de maturité suffisant (Caputo *et al.*, 2005 ; Manikandan *et al.*, 2023). La bioconversion présente des avantages économiques et environnementaux par rapport à d'autres technologies (Antonopoulou *et al.*, 2008). Le bioéthanol et le biométhane comptent parmi les vecteurs énergétiques les plus connus produits à partir de la bioconversion de tige de sorgho sucré (Christakopoulos *et al.*, 1993 ; Lezinou *et al.*, 1994 ; Mamma *et al.*, 1995). Actuellement la technologie de méthanisation est décrite comme la méthode la plus efficace de bioconversion énergétique de la BLC lorsqu'elle est comparée à la fermentation éthanolique ou à la fermentation sombre (Głąb *et al.*, 2019). Toutefois, pris séparément, un seul procédé de bioconversion ne permet d'aboutir qu'à une conversion partielle de la BLC (Trably *et al.*, 2018). Ce faible rendement est essentiellement dû à sa complexité macromoléculaire (cellulose, hémicellulose et lignine), récalcitrante à la bioconversion microbienne. Les étapes de fractionnement et de prétraitement sont souvent nécessaires afin d'améliorer l'accessibilité des micro-organismes aux polysaccharides constitutifs de la BLC. Plusieurs techniques de prétraitement (physique, chimique, biologique, ou hybride) ont été déployées dans ce sens avec plus ou moins de succès (Venturin *et al.*, 2018). Cependant elles présentent des limites telles que des coûts opérationnels élevés, la formation des composés corrosifs, toxiques, polluants ou inhibiteurs des métabolismes microbien, des faibles efficacités et la perte du substrat (Gaballah *et al.*, 2020). Ainsi, les procédés mis en œuvre pour la production d'éthanol à partir des tiges du sorgho sucré implique d'en extraire les sucres fermentescibles contenus dans la fraction hydrosoluble. Les technologies de pressage utilisées s'avèrent économiquement peu rentables car consommatrices d'eau et d'énergie et des alternatives se doivent d'être proposées afin d'aller vers la production de vecteurs énergétiques rentables et compétitifs à partir de cette biomasse.

Ce travail de thèse a pour vocation de répondre à ce questionnement scientifique portant sur l'opportunité de co-fermenter des sucres libres fermentescibles et des sucres structuraux des

tiges de sorgho sucré selon différents schémas de procédés. L'étude vise à expérimenter la production de vecteurs énergétiques (bioéthanol, biohydrogène et biométhane) par bioconversion de cette biomasse. De façon plus spécifique, il s'agit de : (i) Evaluer le potentiel énergétique des tiges ; (ii) Optimiser le rendement de bioconversion énergétique (hydrolyse enzymatique, couplage des procédés fermentaires) ; (iii) optimiser la rentabilité et l'efficacité de procédé de bioconversion énergétique en biohydrogène.

Pour cela, deux voies de bioconversion ont été développées en association, ou non, avec la méthanisation.

Dans la première, la fermentation alcoolique (*Saccharomyces cerevisiae*) directe du broyat de tiges entières a été expérimentée avec pour objectif de s'affranchir de l'étape d'extraction du jus. Cette fermentation a été couplée à la méthanisation mésophile des résidus solides afin d'optimiser l'efficacité de bioconversion énergétique. Une hydrolyse enzymatique (cocktails cellulolytiques) du broyat de tiges a également été expérimentée avant l'étape de fermentation.

Dans la seconde voie, la fermentation sombre (production H₂) a été expérimentée selon ce même schéma de procédé (fermentation directe de broyat de tiges entières suivie de la méthanisation des résidus fibreux) en utilisant un consortium bactérien majoritairement constitué de *Clostridium sp.*. Cette approche visait à capitaliser la capacité hydrolytique du consortium bactérien pour une production optimale d'hydrogène à partir des sucres libres, couplée à un prétraitement efficace de la fraction lignocellulosique. L'étape de fermentation sombre se positionne ici, comme stratégie de prétraitement pour l'optimisation de bioconversion énergétique de la fraction fibreuse par biométhanisation, et donc une coproduction efficace, rentable et écologique de H₂ et CH₄.

Enfin, et à titre de comparaison, la méthanisation directe du broyat de tiges entières a été réalisée en vue d'établir des bilans comparatifs des procédés de bioconversion en différents vecteurs énergétiques (bioéthanol 2G, biohydrogène et biométhane).

Chapitre 1 : Etude Bibliographique

1. Introduction

Le sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) est une plante graminée céréalière caractérisée par une grande diversité génotypique et phénotypique, faisant d'elle, une espèce d'intérêt majeur largement cultivée. Classée cinquième céréale la plus cultivée au monde et occupant le deuxième rang en Afrique, cette espèce est majoritaire en zone sahélienne, avec une production estimée entre 57,6 et 29,6 millions de tonnes en 2022 sur une superficie de 40,8 et 29 millions d'hectares, respectivement dans le monde et en Afrique (FAOSTAT, 2024). Les grains de sorgho constituent un aliment de base pour des millions de personnes à travers le monde (Dehaynin, 2007 ; Thomas *et al.*, 2024) même si cette plante est également cultivée afin de fournir des fibres, des sucres fermentescibles et de l'énergie. Les procédés d'exploitation des différents composants (grains amylacés, BLC et jus sucré extrait de la tige) de cette plante, génèrent d'importante quantité de sous-produits encore assez peu ou mal valorisés. L'augmentation de la population mondiale conjuguée à la diminution des ressources, due aux effets de changement climatique, ont imposé une reconsidération du potentiel de l'ensemble de la chaîne de valeur de cette culture, faisant ainsi émerger une diversification de domaines de valorisation des sous-produits (Oo *et al.*, 2016 ; Sjöblom *et al.*, 2017 ; Chupin *et al.*, 2017). Ce chapitre constitue une revue de synthèse sur le sorgho et le potentiel de valorisation des différents sous-produits résultant de son exploitation. Les différents procédés de valorisation énergétique, les perspectives innovantes sur la valorisation du sorgho et ses sous-produits ainsi que les progrès et développements récents des procédés de prétraitement de la BLC pour la valorisation énergétique sont présentés dans ce chapitre.

2. Ressource sorgho

2.1. Morphologie

Le sorgho est une plante annuelle qui se caractérise par une tige cylindrique, droite, robuste, pleine qui se termine par une grande inflorescence rameuse ou compacte appelée panicule. La morphologie générale d'un plant de sorgho cultivé et arrivé à maturité est illustrée par la **figure 1.1**. Le plant comporte une tige principale qui peut présenter un certain nombre de tiges secondaires partant de sa base, appelées talles basales. Chaque tige est constituée d'un empilement d'unités morphologiques identiques appelées phytomère (Chantereau *et al.*, 2013). Le phytomère est constitué d'une feuille, d'un nœud portant un bourgeon axillaire et d'un entrenœud développé en dessous du nœud. Pour une tige donnée, les phytomères sont émis successivement par le méristème apical, zone de division et de différenciation cellulaire située à la pointe de la tige.

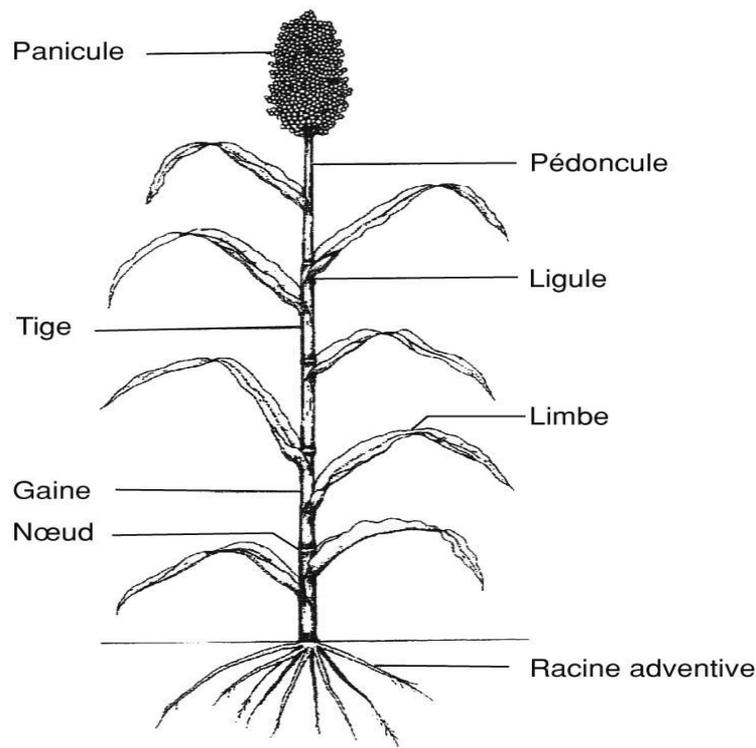


Figure 1.1 : Schéma d'un plant de sorgho à une seule tige principale (Clerget, 2004)

Le sorgho se compose généralement d'environ 75% de tige, 10% de feuilles, 5% de graines et 10% de racines en poids (Sipos *et al.*, 2009). Cette composition qui varie selon les variétés, les cultivars et les conditions de culture a été rapportée sous forme de 37,28% de jus, 36,01% de bagasse, 19,14% de feuilles et 7,58% de panicule sur une base de biomasse humide (Kim *et al.*, 2012). La hauteur de la tige chez les variétés de sorgho cultivé varie de 50 cm à maturité pour les plus courtes jusqu'à 5 à 7 m avec 4 cm de diamètre pour les plus hautes (Saidi *et al.*, 2010 ; Chantereau *et al.*, 2013). La taille des feuilles croît avec leur rang sur la tige jusqu'à un maximum puis diminue régulièrement pour les 4 à 6 feuilles terminales. La taille des feuilles varie aussi selon les variétés et les conditions de culture. Ainsi, la longueur et la largeur des feuilles vont respectivement de 30 à 135 cm et de 1,5 à 13 cm (Chantereau *et al.*, 2013). Les racines sont adventives fasciculées et prennent naissance sur les entre-nœuds très courts de la base des tiges. Elles font de 25 à 30 cm de long et forment un chevelu très important. Certaines d'entre elles sont capables de descendre rapidement à plus de 2 m de profondeur pour extraire de l'eau et des éléments minéraux. Cette caractéristique confère au sorgho sa rusticité et sa résistance à la sécheresse. Cette description architecturale a été effectuée en 2012 par Whitfield *et al.*. Certains auteurs ont regroupé le sorgho en trois variétés principales. La première est le sorgho grain qui a une hauteur variant de 0,9 à 1,8 m et produit de grands épis utilisés principalement pour l'alimentation. La seconde est le sorgho sucré qui a une hauteur qui varie

généralement de 2,4 à 6 m. Cette variété possède des tiges plus épaisses et plus charnues que celles du sorgho grain mais avec des épis plus petits. Elle est utilisée en alimentations humaine et animale ainsi que pour la production d'énergie et de biomatériaux. La troisième variété est de type fourragère et est similaire à la variété sucrée, mais plus petite et présentant des teneurs plus faibles en eau et en sucres et utilisée en alimentation animale (Whitfield *et al.*, 2012).

2.2. Origine et diffusion

Le sorgho commun (*Sorghum bicolor*) est une graminée céréalière et fourragère d'origine africaine (Saidi *et al.*, 2010 ; Teetor *et al.*, 2011 ; Saïed, 2016). Plus précisément il proviendrait de la région frontalière entre l'Ethiopie et le Soudan (Harlan and De Wet, 1972 ; Doggett, 1988). Il fait partie des espèces les plus anciennement cultivées dans le monde. Il aurait été domestiqué il y a environ 6000 ans avant Jésus Christ, dans le Nord-Est de l'Afrique, entre le Soudan et l'Ethiopie, en bordure sud du Sahara, où les plus vieux restes archéologiques ont été trouvés (Wendorf *et al.*, 1992). Il est actuellement cultivé presque partout dans le monde grâce aux progrès génétiques. Cependant, L'époque de sa domestication reste imprécise. Le sorgho aurait atteint l'Asie vers le troisième millénaire avant Jésus Christ avec les migrations inter continentales. Il a atteint l'Europe à l'époque Romaine (753 avant Jésus Christ), puis l'Amérique au XVIème siècle (Barro-kondombo, 2010). Le sorgho possède des caractéristiques agronomiques adaptées aussi bien aux climats chauds et secs qu'aux climats tropicaux et tempérés. Le sorgho est cultivé, dans tous les continents tels qu'illustré par la **figure 1.2**.

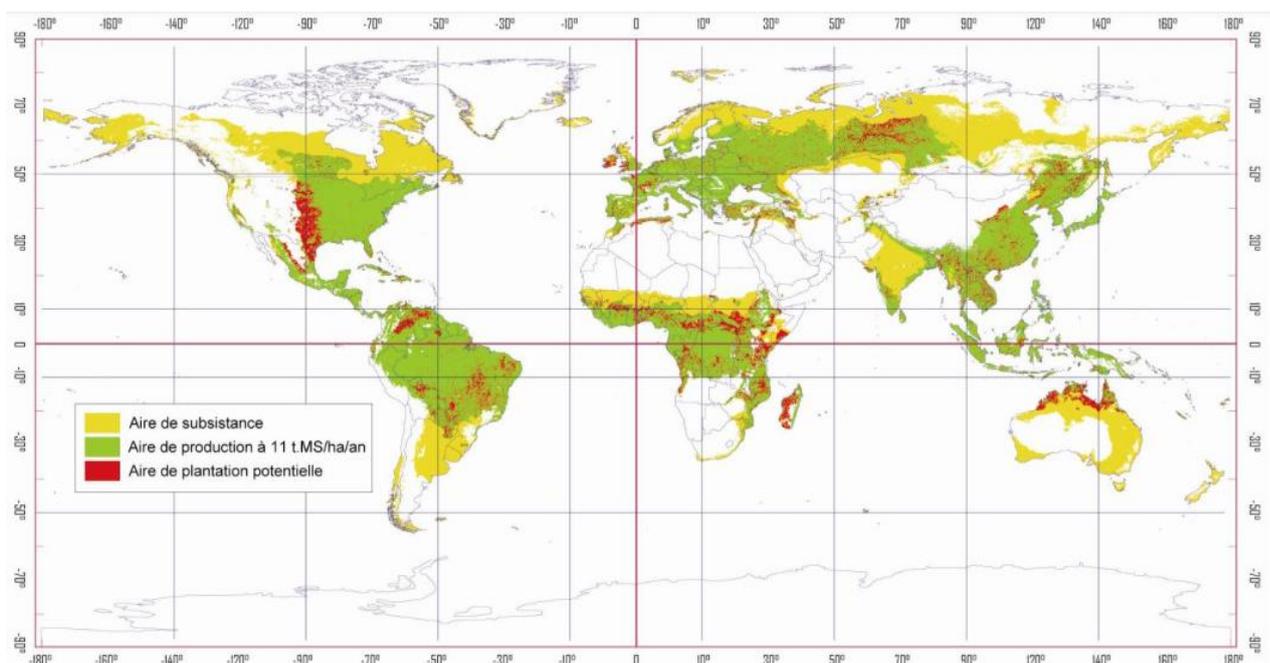


Figure 1.2 : Répartition spatiale de l'aire de culture de sorgho (Saidi *et al.*, 2010)

2.3. Taxonomie

De son nom scientifique *Sorghum bicolor* (L.) Moench, le sorgho est une graminée céréalière appartenant à la famille des *Poaceae* (ex-Graminées), sous famille des *Panicoideae*, tribu des *Andropogoneae* et genre *Sorghum* (Doggett, 1988). Le Sorgho est une espèce monoïque préférentiellement autogame. Le genre *Sorghum* comprend 20 à 30 espèces (Balole and Legwaila, 2006). La plupart des variétés de sorgho cultivées appartiennent à l'espèce *sorghum bicolor*. Cette espèce présente une très grande variabilité génotypique et phénotypique (Saidi et al., 2010 ; Boudries, 2017). En plus des variations de taille à maturité, le genre *Sorghum* se caractérise par un extraordinaire polymorphisme. La couleur du grain de sorgho varie du blanc, jaune pâle ou orange pâle, beige, rouge, au brun-rouge profond, en passant par différentes tonalités de rouge ou de brun (Schober and Bean, 2008 ; Eckhoff and Watson, 2009 ; Awika, 2017 ; Adebo, 2020 ; Espitia-Hernández et al., 2022). La **figure 1.3** illustre cette diversité phénotypique et génotypique des grains du sorgho.



Panicules des sorghos : noir (gauche), blanc (milieu), et rouge (à droite) (Adebo, 2020, Adapté de Awika, 2017)

Différentes pigmentations des grains des sorghos (Espitia-Hernández et al., 2022)

Figure 1.3 : Photographies de la diversité génotypique et phénotypique des panicules et des grains des sorghos à maturité

Le sorgho cultivé présente une très grande diversité de formes décrites par différentes classifications botaniques. La première classification prend en compte l'ensemble des sorghos sauvages et cultivés du genre *Sorghum*. Elle a été établie par Snowden (1936). Cet auteur définit deux sous-genres incluant au total 52 espèces : 28 cultivées et 24 sauvages. Selon la classification de Doggett (1988), le genre *Sorghum* est divisé en cinq sous-genres : *Chaetosorghum*, *Heterosorghum*, *Parasorghum*, *Stiposorghum* et *Eusorghum*. Le sous-genre

Eusorghum est composé de deux espèces sauvages et pérennes, *S. propinquum* et *S. halepense* ainsi que d'une espèce annuelle, *S. bicolor*. L'espèce *S. bicolor* est elle-même divisée en trois sous-espèces. La sous-espèce *S. bicolor* spp. *bicolor*, qui inclut les sorghos cultivés au sein desquels cinq variétés principales sont distinguées, la sous-espèce *S. bicolor* spp. *drummondii* (sorghos adventices) et la sous-espèce *S. bicolor* spp. *Verticilliflorum* (sorghos sauvages). La classification la plus récente et la plus utilisée est celle de [Harlan and De Wet \(1972\)](#). Elle est fondée sur des caractéristiques des épillets (glume et grain) et la forme des panicules. Cinq variétés de base sont distinguées à savoir les variétés *bicolor*, *guinea*, *caudatum*, *durra* et *kafir*, ainsi que les 10 combinaisons deux à deux de ces variétés de base (tels les sorghos *durra-caudatum*, *kafir-caudatum* ou *guinea-kafir*,...). Le **tableau 1.1** présente les principaux caractères identitaires des variétés de base de sorgho.

Tableau 1.1 : Principaux caractères identitaires des variétés de sorgho

Variété	Glumes	Grains	Panicules	Zone de domination
	(Chantereau et al., 2013)	(Chantereau et al., 2013)	(Chantereau et al., 2013)	(Harlan and De Wet, 1972 ; Norman et al., 1995)
<i>Bicolor</i>	Glumes longues recouvrant les $\frac{3}{4}$ ou la totalité du grain	Poids de 1000 grains de 15 à 25 g	Panicules lâches	Savane africaine, Asie du Sud-Est
<i>Guinea</i>	Glumes généralement longues, ouvertes	Grains elliptiques, plus ou moins aplatis dorso-ventralement, de taille variable	Panicules lâches à semi-lâches, souvent longues à port retombant	Savane ouest-africaine, Inde, Asie du Sud-Est
<i>Caudatum</i>	Glumes courtes adhérent au grain en le recouvrant partiellement	Grains dissymétriques, de taille moyenne à grosse	Panicules compactes à semi-compactes, forme à tendance fusioïde	Afrique tropicale
<i>Durra</i>	Glumes courtes adhérent au grain en le recouvrant partiellement	Grains plus ou moins sphériques, de taille variable mais le plus souvent gros à très gros	Panicules compactes à semi-compactes souvent portées par un pédoncule croisé	Proche-Orient et Inde
<i>Kafir</i>	Glumes courtes adhérent au grain en le recouvrant partiellement	Grains elliptiques, de taille moyenne, poids de 1000 grains de 20 à 35 g	Panicules Moyennement compactes, souvent de forme longue et cylindrique	Afrique, au sud de l'équateur

Les variétés de sorghos *bicolor* ont souvent une tige sucrée. De plus, elles présentent des morphologies particulières comme les sorghos à balai, les sorghos papetiers ou les sorghos fourragers ([Chantereau et al., 2013](#)). C'est pour cette raison qu'une autre classification

totale­ment fonctionnelle existe. Elle classe les variétés en fonction de leur usage principal (sorgho grain, fourrager, sucré ou biomasse). Les variétés de sorgho à tige sucrée, majoritairement de la variété *bicolor* (Harlan and De Wet, 1972 ; Deu *et al.*, 2008 ; Chantreau *et al.*, 2010 ; Sagnard *et al.*, 2011) regroupent différents écotypes dont la caractéristique commune est l'accumulation de quantités importantes d'hydrates de carbones dans leurs tiges juteuses (Ritter *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2013). Ces variétés, appelées sorghos sucrés, furent respectivement déterminées comme *Holcus saccharatus* (L.), *Andropogon saccharatus* (R.) et *Sorghum saccharatum* (Pers.) à la fin du XIXème siècle, avant d'être finalement classées au sein des *S. bicolor* (Gutjahr, 2012). Il existe environ 4000 cultivars de sorgho sucré distribués à travers le monde.

2.4. Production et exigences de culture

Le sorgho a une origine africaine mais sa grande diversité génétique et phénotypique en fait une espèce d'intérêt cultivée à travers le monde (Gutjahr, 2012). Comme déjà indiqué dans l'introduction de ce manuscrit, le sorgho commun (*Sorghum bicolor*) se classe mondialement en cinquième rang des céréales avec une production couvrant 6,4% des superficies céréalières totales exploitées et 2,7% des productions céréalières (FAOSTAT, 2024). Les zones de culture principales se situent dans la ceinture qui s'étend de l'Atlantique à l'Ethiopie et à la Somalie (Barro-kondombo, 2010). Le rendement de production en 2022 était de l'ordre de 1412,6 kg/ha et 1017,5 kg/ha respectivement dans le monde et en Afrique (FAOSTAT, 2024). Ces chiffres couvrent des disparités importantes entre les différents pays producteurs. Par exemple, en 2022, les rendements étaient de : 2579,2 kg/ha pour les Etats-Unis ; 844,9 kg/ha pour le Tchad ; 4230,6 kg/ha pour la France ; 2801,5 kg/ha pour le Brésil ; 1621,6 kg/ha pour le Cameroun et 1194,1 kg/ha pour le Nigéria. Ces différences sont essentiellement liées aux contraintes agroécologiques, aux niveaux d'intensification et aux caractéristiques botaniques du matériel végétal dans les différentes zones de culture. Pour la variété de Sorgho sucré, les rendements varient de 32 à 112 tonnes/ha (biomasse fraîche) et de 15 à 25 tonnes/ha (biomasse sèche), selon le cultivar, le climat, la localité et les pratiques culturelles (Bellmer *et al.*, 2010). En Afrique, les sorghos sont cultivés dans une gamme variée d'environnements du nord au sud du continent. Le sorgho est cependant cultivé majoritairement en Afrique de l'Ouest, dans le nord de l'Afrique centrale et en Afrique de l'Est. Le **tableau 1.2** présente quelques chiffres sur les productions et les rendements de production de sorgho dans certaines régions du monde.

Tableau 1.2 : Production, superficies de culture et rendement de production du sorgho dans le monde (Mundia et al., 2019 ; FAOSTAT, 2024)

Région	Années														
	1990			2000			2010			2020			2022		
	P	S	R	P	S	R	P	S	R	P	S	R	P	S	R
Monde	56,8	41,6	1,4	55,8	41,1	1,3	60,2	42,2	1,4	58,7	40,3	1,5	57,6	40,8	1,4
Afrique	11,9	16,4	0,7	18,4	21,1	0,9	25,0	26,1	0,9	27,5	27,3	1,0	29,6	29,0	1,0
Amériques	22,6	7,3	3,4	23,2	7,0	3,3	22,5	5,9	3,8	20,3	5,5	3,7	16,4	2,9	5,7
Asie	18,6	17,2	1,0	11,3	11,9	0,9	10,4	9,4	1,0	9,2	6,9	1,3	8,3	5,1	1,6
Europe	0,6	0,3	2,5	0,8	0,2	3,3	0,7	0,1	4,5	1,3	0,3	4,0	0,7	0,2	3,0
Australie et Nouvelle Zélande	0,9	0,4	2,5	2,1	0,6	3,4	1,5	0,5	3,0	0,4	0,2	1,9	2,6	0,6	4,3

Avec, **P** : Production en Million de tonnes ; **S** : Superficie en Million d'hectares ; **R** : Rendement en tonnes/ha

Les sorghos sont résistants à la sécheresse et à la chaleur (Steduto et al., 1997 ; Berenguer and Faci, 2001 ; Almodares and Hadi, 2009 ; Vasilakoglou et al., 2011). Ils nécessitent peu d'intrants et ont des cycles de culture relativement courts (3-4 mois) comparés à la canne à sucre (> 9 mois). Ils présentent une diversité génétique très importante offrant des possibilités d'adaptation à des climats tempérés et tropicaux. Le sorgho nécessite moins de fertilisants, les apports nécessaires en N sont bien inférieurs à ceux de la plupart des cultures intensives comme le maïs pour un rendement équivalent (Amaducci et al., 2016 ; Ameen et al., 2017). Compte tenu de son cycle court (4 mois), il est tout à fait possible dans les zones où les conditions pluviométriques et météorologiques le permettent, de réaliser deux récoltes par an (Reddy et al., 2007). Le sorgho requiert beaucoup moins d'eau que les autres céréales, sa consommation est de l'ordre de 8000 m³/ha récolté, soit environ le quart de l'eau utilisée par la canne à sucre et près de la moitié de l'eau utilisée par le maïs pour un rendement équivalent (Saidi et al., 2010 ; Wu et al., 2010 ; Mahapatra et al., 2011 ; Amaducci et al., 2016). Les plages optimales des précipitations pour la culture du sorgho varient de 400 à 800 mm et celles de l'humidité relative de 15 à 50% (Rao et al., 2013 ; Chantereau et al., 2013). Le sorgho peut être cultivé dans un intervalle de température de 11 à 42°C avec une température optimale pour la croissance et la photosynthèse de 32 à 34°C et n'a pas d'exigence particulière en termes de sols. Cependant, les meilleurs rendements sont obtenus sur des sols profonds ou argilo-sableux, un peu humifères,

à pH légèrement acide et contenant de l'azote et de la potasse (Basavaraj *et al.*, 2013 ; Saïed, 2016).

3. Procédés d'exploitation et sous-produits associés

Le sorgho connaît une grande diversité d'utilisations que ce soit en alimentation humaine (farines, semoules, boissons, ...), en alimentation animale (sorgho grain, sorgho fourrager, ensilage), en agroénergie (sorgho sucrier, sorgho biomasse) voire en agromatériaux (sorgho fibre) (Yuan *et al.*, 2008 ; Chantereau *et al.*, 2013 ; Basavaraj *et al.*, 2013).

La récolte du sorgho génère d'importantes quantités de sous-produits avec quelques variations en fonction de la variété du sorgho et des conditions de culture. Les feuilles, les tiges, les panicules égrenées ainsi que les repousses, constituent les principaux résidus post récolte. En Afrique, ils sont peu ou pas valorisés et le plus souvent laissés sur la parcelle. Ils servent généralement de pâtures *in situ*, aux bovins, caprins et équins. Il en résulte une perte de ressource par piétinement car les tiges les plus épaisses et charnues qui sèchent sur place constitue un aliment de faible appétence pour les animaux et sont de ce fait peu consommées (Temple *et al.*, 2017) par les animaux. Ils sont très souvent brûlés lors de la préparation du sol pour le prochain semis et contribuent à sa fertilisation organique. Les tiges et les feuilles sont également utilisées comme matériau pour les habitations. Le rachis très long et lâche des sorghos à balais est utilisé pour la fabrication de balais. Les résidus de culture de sorgho génèrent 2 à 3 millions de tonnes de déchets de BLC chaque année au Nigeria. Moins de 40% de cette biomasse sont utilisés comme aliments pour le bétail et comme couverture de chaume, tandis que plus de 60% sont abandonnés et brûlés dans les champs, ce qui accentue la dégradation de l'environnement et des risques sanitaires (Yevich and Logan, 2003 ; Nasidi *et al.*, 2016).

La variabilité phénotypique et génotypique élevée chez les sorghos permet son utilisation dans divers domaines. Ainsi, les variétés à tiges sucrées sont utilisées comme sucrerie où elles sont mâchées après avoir enlevé l'épiderme lignifié (Doggett, 1988 ; Rooney and Waniska, 2000). Les tiges de ces mêmes variétés subissent également des opérations de broyage et de pressage pour en extraire le jus sucré, qui peut produire des bio-carburants ou qui, selon la composition en oses du jus de la moelle, donne des sirops ou du sucre cristallisable (Dehaynin, 2007). Les résidus de fibres obtenus après pressage, constituent la bagasse qui peut potentiellement être valorisée notamment pour la production des vecteurs énergétique tels que le bioéthanol (Zaldivar *et al.*, 2001), le biohydrogène et le biométhane (Antonopoulou *et al.*, 2008), la vapeur ou l'électricité (Bennett and Anex, 2009). Ils peuvent aussi être utilisés comme fourrage,

comme engrais vert ou encore servir à la fabrication d’emballages alimentaires biodégradables (Gutjahr, 2012). Le procédé de production du sucre cristallisé à partir du jus filtré et concentré génère également un sous-produit appelé mélasse, dont la fermentation par des levures, puis la distillation et la déshydratation conduisent à la production d’éthanol-carburant.

Le sorgho est la céréale de base de l’alimentation de nombreuses populations des régions tropicales sèches en Afrique, en Asie ou en Amérique centrale où la production est, pour l’essentiel, autoconsommée (Dehaynin, 2007). Sa faible teneur en gluten en fait un aliment particulièrement intéressant pour les personnes qui y sont allergiques (Dicko *et al.*, 2006 ; Medeiros *et al.*, 2011). En Afrique soudano-sahélienne, les graines du sorgho rentrent dans des préparations sous forme entière ou, plus souvent, après des opérations de décorticage et mouture. La farine obtenue entre dans la composition de diverses formes d’aliments, notamment les pâtes consistantes, les bouillies épaisses comme le *tô* d’Afrique de l’Ouest (Burkina Faso et Mali), de galettes à pâte fermentée comme le *kisra* du Soudan et le *kissar* du Tchad, de pains non levés, de couscous, de beignets, etc... (Dehaynin, 2007 ; Hébert and Griffon, 2010). Le sorgho est parfois utilisé pour la fabrication de farines infantiles, aliments donnés aux enfants à partir de l’âge de quatre à six mois en complément du lait maternel. Ces farines sont élaborées à base de grains torréfiés comme le maïs (46%), le sorgho (21%), le soja (18%) auxquels on ajoute 8% de sucre et 7% de lait en poudre (Chantereau *et al.*, 2013). Les procédés de transformation des grains du sorgho (décorticage, mouture, tamisage, ...) pour la consommation humaine génèrent également des sous-produits valorisables, principalement le son et les résidus des opérations de décorticage et tamisage. La farine du sorgho peut aussi entrer dans la composition de boissons, principalement des bières artisanales en Afrique et une sorte de vin (*baijiu*) en Chine. La fabrication de bières à partir du sorgho est une tradition courante dans la plupart des régions productrices. En Afrique, on trouve ainsi le *dolo* du Burkina Faso, le *tchapalo* du Bénin, le *bilbil* du Cameroun, l’*ikigage* du Rwanda, l’*impeke* du Burundi, le *pito* du Nigéria ou la bière *kaffir* d’Afrique du Sud (Chantereau *et al.*, 2013). Après distillation, le résidu de transformation du sorgho en bière se présente sous forme de graines sèches, appelées drêches. Celles-ci peuvent être utilisées comme aliment pour le bétail.

En zone urbaine, les industries utilisent les produits de base de grains du sorgho (farines et semoules) sous forme simple ou en mélange avec d’autres céréales, pour la fabrication de divers produits tels que les pains, biscuits, pâtes alimentaires et bières.

4. Composition biochimique des sous-produits et leurs intérêts alimentaires, technologiques et fonctionnels : valorisation dans l'alimentation humaine

4.1. Composition biochimique des tiges

La tige du sorgho est une BLC constituée d'une partie centrale de parenchyme médullaire souvent appelée moelle et d'une zone périphérique riche en lignine appelé écorce. La teneur en matière sèche de la tige représente en moyenne 30% de sa masse fraîche (Almodares and Hadi, 2009 ; Gutjahr *et al.*, 2013). La teneur en humidité est plus importante dans la moelle (77%) que dans l'écorce (56%) (Billa *et al.*, 1997 ; Djomdi *et al.*, 2019). Elle est composée principalement de cellulose (30 à 45% de masse sèche), d'hémicelluloses (16 à 30% de masse sèche) et de lignine (15 à 20% de masse sèche) (Kim and Day, 2011 ; Nasidi *et al.*, 2015). La cellulose et les hémicelluloses sont des polysaccharides structuraux complexes qui se concentrent beaucoup plus dans la moelle. La lignine, polymère phénolique, se concentre dans l'écorce et forme une matrice autour des celluloses et hémicelluloses. Elle augmente la résistance mécanique de la tige (**Figure 1.4**).

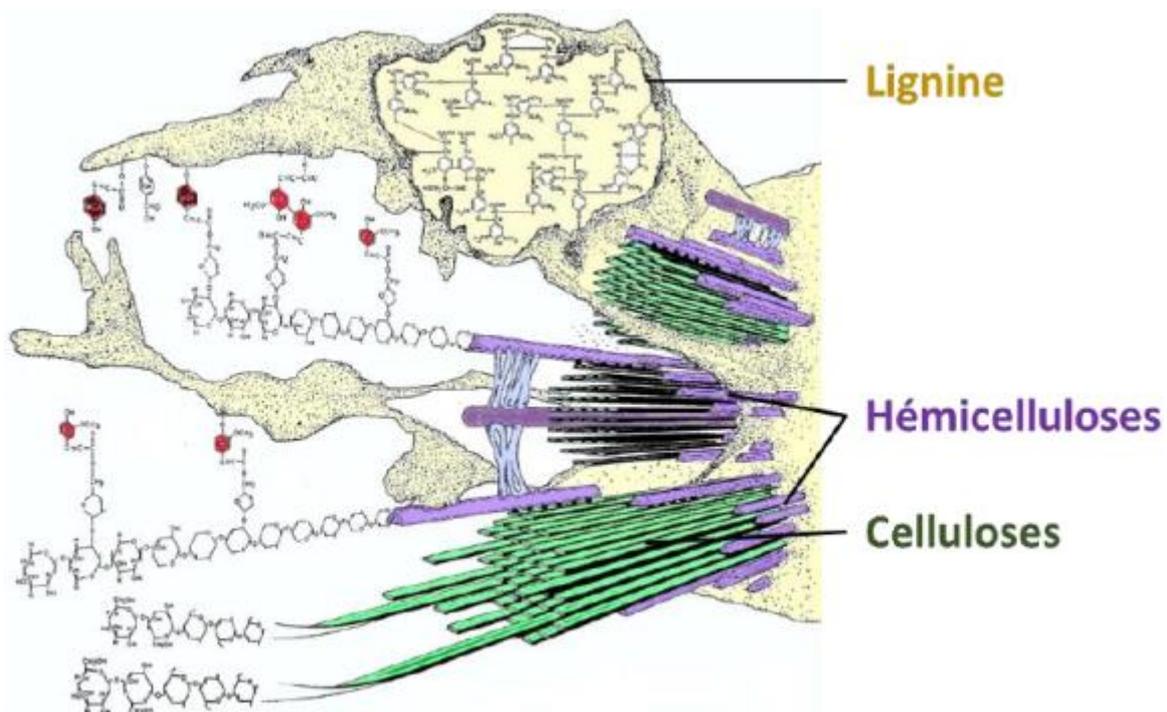


Figure 1.4 : Illustration de la structure moléculaire des fibres de sucres structuraux englobées par le polymère de lignine (Bidlack, 1992)

Les sucres hydrosolubles, principalement des hexoses (glucose, fructose) et du saccharose en quantités variables selon les variétés (Schaffer and Gourley, 1982 ; Murray *et al.*, 2009) sont stockés dans la moelle et représentent une autre part importante du contenu d'un entrenœud (5

à 50% de sa biomasse sèche selon le génotype et l'environnement). Ces sucres libres et solubles, sont présents en quantités importantes pour les variétés de sorgho sucré et sont facilement extractibles.

La composition chimique de la tige de sorgho sucré (sans feuilles), de l'écorce et de la moelle est présentée au **tableau 1.3**.

Tableau 1.3 : Composition chimique de la tige de sorgho sucré (sans feuilles), de la moelle et de l'écorce

Composition structurale de la biomasse en (%) de MS					
Références	Tige effeuillée			Moelle	Ecorce
	(Billa <i>et al.</i> , 1997)	(Khalil <i>et al.</i> , 2015)	(Batog <i>et al.</i> , 2020)	(Billa <i>et al.</i> , 1997)	(Billa <i>et al.</i> , 1997)
Cellulose	12,4	20,1 – 26,1	21,9 – 35,6	8,7	19,2
Hémicellulose	10,2	11,7 – 17,2	21,2 – 41,2	6,3	17,5
Lignine	4,8	5,1 – 11,3	18,2 – 21,5	0,6	8,8
Saccharose	55	9,6 – 17,6	-	67,4	32,2
Glucose	3,2	0,6 – 1,6	-	3,7	2,4
Fructose	-	0,3 – 1,0	-	-	-
Cendre	0,3	-	-	0,2	0,5
Teneur en sucres de la biomasse (g/kg MS)					
	(Djomdi <i>et al.</i> , 2019)	(Crépeau <i>et al.</i> , 2013 ; Crépeau, 2017)	(Saïed, 2016)	(Djomdi <i>et al.</i> , 2019)	
Sucres totaux	497,8	56,4 – 104,7	249,3 – 256,1	376,3	
Sucres solubles	176,5	-	-	228,7	
Sucres réducteurs	41,9	-	-	55,4	
Fructose	-	20,4 – 32,1	70,7 – 76,4	-	
Glucose	-	25,2 – 39,1	65,4 – 71,8	-	
Saccharose	-	2,4 – 34,9	107,9 – 116,6	-	

4.2. Techniques et technologies d'extraction des jus des tiges

Le pressage mécanique et la diffusion sont les techniques utilisées pour extraire les sucres libres de la tige du sorgho sucré. Cependant, avant l'opération d'extraction, une opération de prétraitement ou de fractionnement de la biomasse est nécessaire afin d'améliorer le rendement d'extraction de la sève. La manière dont les tiges sont hachées, coupées, avec ou sans les

feuilles, la séparation de la moelle et de l'écorce, ainsi que le temps entre la récolte et le pressage ont un impact sur le rendement d'extraction du jus (Coble *et al.*, 1984 ; Bellmer *et al.*, 2010). Le pressage uniquement de la moelle contenue dans la tige du sorgho sucré est plus efficace en termes d'extraction de sève que le pressage de la tige entière (Worley *et al.*, 1992). Toutefois, la séparation des feuilles et écorces de la tige amène une étape de fractionnement supplémentaire, qui compromet le rendement énergétique et la rentabilité du procédé, en plus de demander plus de temps (Rains *et al.*, 1993). Le procédé standard d'extraction du sucre de sorgho peut être assimilé à celui du sucre de canne à sucre et de betterave. Dans la littérature, il est possible de distinguer quatre principaux types de presses : les presses à vis, les presses à rouleaux, les presses à bandes et les presses hydrauliques (Crépeau, 2017). La technologie de presse hydraulique à rouleaux ou broyeurs cylindriques, utilisée dans les industries sucrières est souvent employée pour extraire le sucre du sorgho. Le pourcentage de sève extraite dépend de la vitesse de la presse, du taux d'humidité de la biomasse ainsi que des différents ajustements de la presse. Ce processus est lent, laborieux et moins efficace, avec des rendements d'extraction de sève allant de 30 à 60% de la masse initiale (Mask and Morris, 1991 ; Cosgrove *et al.*, 2009 ; Whitfield *et al.*, 2012 ; Regassa and Wortmann, 2014). Ce faible rendement d'extraction de jus pourrait être attribué à la teneur en fibres relativement élevée des tiges du sorgho sucré par rapport à celle de la canne à sucre (Gnansounou *et al.*, 2005). Un autre inconvénient associé au processus de broyage, est la perte de sucre due à des activités microbiennes (Wu *et al.*, 2010 ; Whitfield *et al.*, 2012). C'est dans ce but que plusieurs travaux ont tenté de perfectionner cette technologie afin de la rendre plus efficace et économique. La mise au point d'une série de broyeurs à cylindres en tandem avec un flux à contre-courant du jus pour lixivier les matières solubles a permis d'atteindre un rendement d'extraction des sucres de l'ordre de 87% (Gnansounou *et al.*, 2005). Le développement d'une méthode d'extraction (**Figure 1.5**) à double hachage a permis d'obtenir un jus contenant plus de 80% de sucres initialement présents dans les tiges du sorgho avec une bagasse contenant 40% d'humidité (Badalov, 2008). Une étude comparative entre une presse à vis et une presse hydraulique a également été menée par Crépeau *et al.* (2010). A cet effet, la presse à vis était plus performante que la presse hydraulique du point de vue du taux d'extraction du jus mais a toutefois nécessité une étape de filtration. En effet le jus obtenu contenait plus de résidus que celui issu de la presse hydraulique. D'autres expériences ont également été réalisées pour améliorer l'extraction des sucres des tiges du sorgho sucré par l'ajout d'eau à la bagasse. A cet effet, plusieurs paramètres ont été pris en considération, à savoir la taille des tiges, le ratio solide : liquide (g de tiges/mL d'eau ajoutée) et la température d'incubation sous agitation après l'ajout de l'eau (Jia *et al.*,

2013). Les résultats ont montré qu'un broyage très fin, une température d'incubation de 30°C et un ratio solide : liquide de 0,6 g/mL sont les conditions les plus favorables pour l'extraction du maximum de sucres. Dans ces conditions, le premier cycle de pressage permet d'extraire jusqu'à 90% des sucres tandis qu'après le deuxième pressage, 99% des sucres sont extraits (Jia *et al.*, 2013). Une étude similaire a été également réalisée par Djomdi *et al.* (2019). Ces auteurs rapportent qu'un ratio solide/liquide de 1/1, une température de 45°C et une durée de 30 min d'imprégnation de la bagasse, sont les conditions optimales pour une extraction efficace des sucres. Ces conditions ont permis d'obtenir des taux d'extraction évalués en moyenne à 59,536 et 82,418%, respectivement pour les sucres solubles et les sucres réducteurs résiduels contenus dans la bagasse du premier pressage. Un rendement d'extraction de 98,5% a également été obtenu par Appiah-Nkansah *et al.* (2016) qui ont étudié l'optimisation de l'extraction des sucres hydrosolubles des tiges de sorgho sucré par la méthode d'extraction par diffusion. Les conditions d'extraction optimale des sucres étaient de 114,9 min, 95°C et 22% de charge en biomasse. Toutes ces études ont permis d'améliorer significativement les rendements d'extraction des sucres. Cependant elles sont énergivores et consomment d'énormes quantités d'eau ce qui a tendance à remettre en cause leur rentabilité économique.

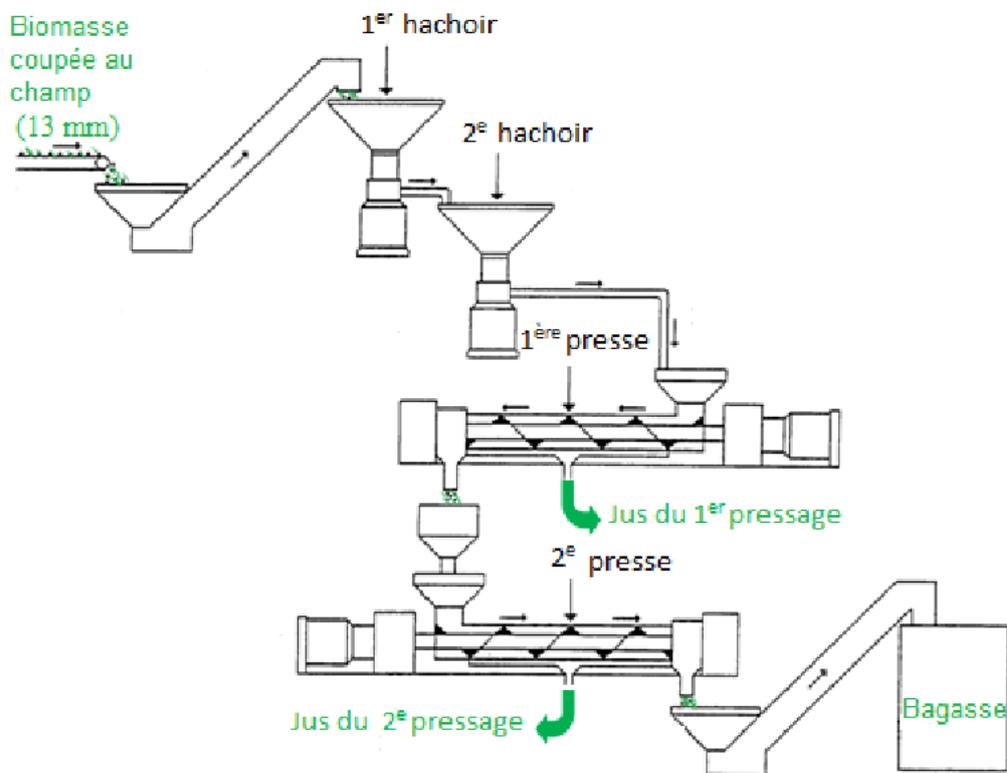


Figure 1.5 : Processus d'extraction du jus à partir du sorgho sucré (adaptée de (Badalov, 2008))

La diffusion est également l'une des techniques utilisées pour l'extraction du jus des tiges du sorgho. C'est une opération de transfert des composés solubles de la matière première vers un solvant, principalement de l'eau. Elle se définit comme « le transfert net de matière d'une région à forte concentration à celle de faible concentration » qui est dû au mouvement moléculaire jusqu'à ce que l'état d'équilibre soit atteint (Crank *et al.*, 1981). Afin de faciliter l'extraction du jus, la biomasse est découpée et broyée en fines particules de tailles uniformes, incubées dans de l'eau à 70 – 80°C circulante à contre-courant. Les composés solubles diffusent alors à travers la paroi des particules (Rein, 1995). Les sucres hydrosolubles sont entraînés (transfert) par le gradient de concentration de la région à forte concentration vers la région de faible concentration selon la loi de diffusion de Fick (équations 1.1 et 1.2) (Crank *et al.*, 1981 ; El Belghiti and Vorobiev, 2004 ; Toda *et al.*, 2016). La quantité de substance qui diffuse par unité de temps est proportionnelle au gradient de concentration, à la direction et au sens de la diffusion (Grohmann *et al.*, 1994).

$$\frac{dq}{dt} = -D \cdot S \cdot \frac{dC}{dx} \quad (1.1)$$

Où $\frac{dq}{dt}$ est la masse de la matière qui diffuse par unité de temps ; **D** le coefficient de diffusion ; **S** la surface à travers laquelle se fait la diffusion et **dC**, le gradient de concentration.

Si la concentration à l'intérieur de la cellule est C_1 , la concentration de l'eau qui entoure la particule de biomasse C_2 et le coefficient d'extraction (qui inclus diffusion, surface et épaisseur de particule) K_e , la vitesse d'extraction est exprimée (variation de concentration dans le temps) par :

$$\frac{dC_1}{dt} = -K_e \cdot (C_1 - C_2) \quad (1.2)$$

L'avancement de l'extraction η_L si la concentration initiale en sucre de la biomasse est C_i et celle de l'eau d'extraction $C_{2,0}$ obtenu par intégration de l'expression ci-dessous, est :

$$\eta_L = \frac{C_1 - C_{2,0}}{C_i - C_{2,0}} = \exp(-K_e \cdot t) \quad (1.3)$$

Il existe quatre types de diffuseurs : le diffuseur horizontal à tube tournant, le diffuseur à tapis, le diffuseur à vis et le diffuseur à tour. De façon générale, la méthode de diffusion est la plus efficace des deux méthodes car elle permet d'obtenir un rendement d'extraction très élevé de l'ordre de 98,8% (Rein, 1995). Le système de diffusion est également moins énergivore,

nécessite moins d'entretien et a de faible coûts d'investissement en raison du manque de pression excessive et des forces de cisaillement des broyeurs à cylindres (Cotlear, 2004). Les usines de diffusion comprennent généralement des broyeurs de déshydratation qui utilisent environ la moitié de la puissance requise dans un broyeur à marteaux énergivore (Rein and Attard, 2007).

4.3. Valorisation dans l'alimentation humaine

La valorisation alimentaire des tiges de sorgho concerne essentiellement les variétés de sorgho sucré. Cette variété regroupant différents écotypes, se caractérise par l'accumulation des quantités importantes des sucres libres non structuraux dans leurs tiges juteuses (Ritter *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2013). Les principaux sucres contenus dans ce jus sont le saccharose, le glucose et le fructose dans des proportions variables selon les variétés (Schaffer and Gourley, 1982 ; Murray *et al.*, 2009). La composition moyenne du jus fermentescible du sorgho sucré est de 53 – 85% de saccharose, 9 – 33% de glucose et 6 – 21% de fructose (Serna-Saldívar *et al.*, 2012). Selon Saballos (2008), le jus extrait des tiges est composé de 89% de saccharose, 8% de glucose et fructose et 3% d'amidon. Le **tableau 1.4** présente les concentrations des différents sucres du jus extrait des variétés du sorgho sucré.

Tableau 1.4 : Concentration en sucres du jus de tige du sorgho sucré

	Concentration des sucres en g/L				
	(Crépeau <i>et al.</i> , 2013)	(Ekefre <i>et al.</i> , 2017)	(Crépeau, 2017)	(Saïed, 2016)	(Djomdi <i>et al.</i> , 2019)
Saccharose	1,36 – 66,55	2,2	66,6 – 79,8	30,54	71,40
Glucose	24,66 – 32,73	61,2	20,0 – 21,0	21,54	-
Fructose	19,91 – 26,80	36,9	16,1 – 17,9	15,99	-
Sucres solubles totaux	60,89 – 111,10	100,3	103,2 – 118,7	67,34	98,85

Le jus riche en sucres obtenu après pressage des tiges subit successivement les opérations de filtration et de concentration par ébullition et donne un sirop épais et visqueux que l'on consomme aujourd'hui pour remplacer le sirop de maïs, le miel ou le sirop d'érable (**Figure 1.6**), (Nebié, 2014 ; Saballos, 2008). Ce jus filtré, après concentration est également utilisé pour la production du sucre cristallisé. Cette opération génère également un autre sous-produit appelé mélasse, dont la fermentation par des levures, puis la distillation et la déshydratation conduisent à la production d'éthanol alimentaire (Chantereau *et al.*, 2013). Le jus peut également être directement fermenté en éthanol alimentaire.



Extraction et filtration du jus de sorgho



Sirop de sorgho

Figure 1.6 : Jus et sirop de sorgho à tige sucrée (Nebié, 2014)

5. Valorisation dans l'alimentation animale

5.1. Composition chimique et valeur nutritionnelle des résidus d'exploitation des grains de sorgho

Les résidus des grains de sorgho issus des opérations de décorticage, mouture, et tamisage (sons et semoules) présentent une composition chimique similaire à celle des grains. Plusieurs auteurs ont étudié la composition de grains de sorgho et ses coproduits. Ils ont indiqué que ces résidus sont une source de glucides, d'acides gras polyinsaturés (AGPI), d'acides aminés dont certains acides aminés essentiels, de minéraux et de vitamines (Pontieri and Del Giudice, 2016 ; Awika, 2017 ; Taylor and Emmambux, 2018). Les teneurs de ces différents éléments varient de 6,2% à 14,9% pour les protéines, 54,6% à 85,2% pour les glucides, 1,3% à 10,5% pour les lipides, 0,9% à 4,2% pour les cendres et 1,4% à 26,1% pour les fibres. Ces variations seraient liées aux génotypes des grains, aux conditions agronomiques, ainsi qu'à certains caractères spécifiques aux cultivars (Mabelebele *et al.*, 2015 ; Adebo, 2020). Comme chez toutes les céréales, l'amidon est la principale forme de stockage des hydrates de carbone dans le grain du sorgho. Sa teneur en amidon varie entre 55,6 et 75,2%, avec une valeur moyenne de 69,5% (Beta *et al.*, 2000 ; Chantereau *et al.*, 2013 ; Awika, 2017). L'amidon de l'albumen est constitué de 70 à 80% d'amylopectine et 30 à 20% d'amylose. La présence de polysaccharides non amyliacés (PSN) dans les grains de sorgho pourrait suggérer leur capacité potentielle à améliorer la fonction intestinale et à réduire le taux de cholestérol (Topping, 2009 ; Warrand, 2006). Le sorgho contient également de nombreux acides aminés tels que l'alanine (7,34-9,62 g/100 g),

l'acide aspartique (4,83-7,06 g/100 g), l'acide glutamique (17,5-28,12 g/100 g), la leucine (12,02-14,48 g/100 g), la phénylalanine (4,03-5,62 g/100 g), la proline (6,66-12,34 g/100 g) et la valine (4,22-6,86 g/100 g). Il reste limité en lysine et tryptophane. Il contient des peptides bioactifs, certaines fractions protéiques et des enzymes telles que la peroxydase cationique, qui exercent des effets anticancéreux, antiviraux, effets antioxydants, hypocholestérolémiants et antihypertenseurs (Kamath *et al.*, 2007 ; Camargo Filho *et al.*, 2008 ; Lin *et al.*, 2013 ; Ortíz Cruz *et al.*, 2015). Le **tableau 1.5** présente la composition chimique de grain. Le sorgho contient des niveaux assez élevés de potassium (K) (900–6957,67 mg/kg), et de phosphore (P) (1498–3787,25 mg/kg). Ces minéraux sont connus pour aider au mouvement musculaire, maintenir le système nerveux et le tissu osseux. Le sorgho est également source de Ca, Fe, Mg, Zn (Motlhaodi *et al.*, 2018) et de vitamines de la série B et de vitamines liposolubles (Cardoso *et al.*, 2014). Le sorgho et ses coproduits ont été considérés comme une source de nutraceutiques et ingrédients fonctionnels à cause de leur charge en composés phénoliques (Lopez *et al.*, 2011). Ces composés constituent l'un des groupes les plus importants d'antioxydants naturels et d'agents chimiopréventifs (Shahidi and Peng, 2018). Outre sa forte activité antioxydante, le grain de sorgho a également des propriétés anticholestérolémique, anti-inflammatoires et anticancéreuses. La consommation régulière de grains de sorgho a été associée à une réduction du risque de maladies cardiovasculaires, de certains types de cancer et du diabète de type II (Xiong *et al.*, 2019).

Comme pour toutes les céréales, la digestibilité de grain de sorgho varie énormément en fonction du patrimoine génétique. L'amidon de grain de sorgho présente la plus faible digestibilité parmi les céréales en raison de la résistance de sa couche périphérique dure de l'endosperme aux enzymes digestives (Rooney and Pflugfelder, 1986). Les variétés et cultivars à faible teneur en tannins semblent avoir la même digestibilité que le maïs (Cousins *et al.*, 1981).

Tableau 1.5 : Composition chimique du grain du sorgho

	Composition approximative (% MS)								
	(Boudries, 2017)	(Ape <i>et al.</i> , 2016)	(Adebiyi <i>et al.</i> , 2005)	(Udachan <i>et al.</i> , 2012)	(Awadelkareem <i>et al.</i> , 2015)	(Jimoh and Abdullahi, 2017)	(Abubakar <i>et al.</i> , 2006)	(Subramanian and Metta, 2000)	(Mohammed <i>et al.</i> , 2019)
Protéines	4,4 – 21,1	9,10	9,35	8,90 – 11,02	10,21 – 13,45	6,23 – 13,81	10,48	8,9	4,27 – 6,06
Matière grasse	2,1 – 7,6	3,10	3,35	2,30 – 2,80	2,84 – 3,02	5,12 – 10,54	2,97	3,7	6,72 – 9,26
Cendres	1,3 – 3,3	2,07	1,98	0,92 – 1,75	1,28 – 1,78	1,12 – 1,68	6,94	1,7	1,67 – 2,32
Fibres brutes	1,0 – 3,4	2,86	2,25	1,40 – 2,70	1,72 – 2,02	1,65 – 7,94	2,01	1,2	1,45 – 2,41
Amidon	55,6 – 75,2	76,51	72,41	70,65 – 76,20	72,44 – 77,28	65,16 – 76,28	61,24	73,50	70,55 – 73,53
Amylose	21,2 – 30,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucres solubles	0,7 – 4,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucres réducteurs	0,05 – 0,53	-	-	-	-	-	-	-	-
Humidité	-	6,36	10,66	8,10 – 9,99	6,67 – 7,29	1,39 – 19,02	6,69	-	10,23 – 11,9
Energie (kcal/kg)	-	-	-	-	-	-	-	4120	4020 – 4275

5.2. Valeur nutritive des fourrages et ensilages de sorgho

La valeur nutritive des fourrages et ensilages dépend de la teneur en matières azotées, en fibres totales, en hémicelluloses, en glucides non structuraux, en matières grasses et en minéraux (Amélia, 2012). La composition chimique et la valeur nutritive des fourrages et des ensilages du sorgho peuvent varier selon les variétés, les conditions de culture et le stade de développement au moment de la récolte. Les fourrages et les ensilages de sorgho sont caractérisés par une teneur élevée en sucres, ce qui pourrait améliorer l'efficacité d'utilisation de l'azote et augmenter la production de lait ou de viande chez les bovins (Tremblay *et al.*, 2005). Les teneurs en azote total du sorgho fourrager varient de 6,2 à 13 g.kg⁻¹ MS, des valeurs relativement inférieures comparées à celles des fourrages de maïs et de luzerne (Black *et al.*, 1980 ; Miron *et al.*, 2005 ; Corredor *et al.*, 2009). Cependant il présente des teneurs élevées en fibres totales qui varient entre 505 et 704 g.kg⁻¹ MS, ainsi qu'en hémicelluloses qui varient de 297 à 458 g.kg⁻¹ MS (Amer, 2011). Un autre indicateur indispensable pour évaluer la valeur nutritive est l'estimation de la digestibilité des fourrages, évaluée en mesurant la digestibilité *in vitro* de la matière sèche (DIVMS) et des fibres totales. La digestibilité est souvent considérée comme étant le meilleur paramètre pour estimer la valeur nutritive d'un fourrage puisqu'elle est étroitement reliée à la proportion d'énergie disponible pour l'animal et donc à la performance nutritionnelle du fourrage (Tremblay *et al.*, 2005). La DIVMS du sorgho fourrager varie de 542 à 730 g.kg⁻¹ MS et est similaire à celle du sorgho sucré évaluée à 589 g.kg⁻¹ MS (McCormick *et al.*, 1995 ; Miron *et al.*, 2005 ; Amer, 2011). Les teneurs en fibres de l'ensilage de sorgho fourrager, évaluées en moyenne à 626 g.kg⁻¹ MS et 373 g.kg⁻¹ MS respectivement pour les fibres totales et hémicelluloses, sont similaires à celles de l'ensilage de sorgho sucré (Amer, 2011). Cependant, l'ensilage de sorgho sucré présente une teneur en lignine moins élevée, une digestibilité *in vivo* des fibres totales et une DIVMS plus élevées que les ensilages de sorgho grain et de sorgho à nervure brune (Di Marco *et al.*, 2009). La digestibilité de la cellulose du sorgho fourrager passe de 72%, pendant la montaison, à 48%, pendant la floraison, puis augmente sensiblement avant de se stabiliser. La valeur énergétique du fourrage de sorgho varie de 4200 à 4300 kcal/kg MS et son apport protéique varie entre 58 et 67 g.kg⁻¹ MS (Dehaynin, 2007). Le fourrage de sorgho constitue également une source de minéraux et notamment de Ca et P suffisante pour satisfaire les besoins des ruminants.

5.3. Valorisation des sous-produits dans l'alimentation animale

Cette valorisation couvre toutes les variétés des sorghos et concerne aussi bien les sous-produits issus des graines et des tiges. En alimentation animale, en raison de leur valeur nutritive et leur

digestibilité, les fourrages et ensilages constituent un aliment de base pour assurer la croissance et la production de lait ou de viande chez les bovins, les caprins et les ovins (Amélia, 2012). Outre les variétés fourragères, les résidus de récolte de sorgho grain tels que les tiges, les feuilles, les repousses et les panicules égrenées sont broyés et souvent mélangés aux sons de céréales pour servir de fourrage à destination des bovins, des ovins ou des caprins (Dehaynin, 2007 ; Temple *et al.*, 2017). La bagasse, résidu issu des procédés d'extraction des sucres des tiges du sorgho sucré est également utilisée comme fourrage (simple ou en mélange avec les sons) pour l'alimentation des ruminants. Sa valeur nutritionnelle est plus élevée pour les animaux que celle de la bagasse de canne à sucre (Wu *et al.*, 2010 ; Venkata *et al.*, 2012). Pour 10 tonnes de sorgho sucré broyé, 5-6 tonnes de bagasse humide peuvent être obtenues (Negro, 1999). Le résidu solide tiré des fermenteurs après la production d'éthanol est un coproduit également, utilisable en alimentation animale.

Les sous-produits de la première transformation de grain du sorgho (sons, semoules, drêches) ont une meilleure valeur nutritive et sont également utilisés dans l'alimentation des monogastriques tels que les porcs et des volailles (Dehaynin, 2007 ; Chantereau *et al.*, 2013 ; Temple *et al.*, 2017). En effet, le son du sorgho, sous-produit issu de l'opération de décorticage des grains, est principalement constitué des enveloppes (péricarpe et testa) riches en fibres, en protéines et en minéraux et des germes (embryon et cotylédon ou scutellum) riches en protéines, en lipides, en minéraux et en vitamines. Le son représente 10 à 12% du grain (Chantereau *et al.*, 2013). Les éléments minéraux majoritaires du sorgho sont le P et le K et sont, pour la plupart, concentrés dans les couches périphériques du grain et dans le germe. Selon Boudries (2017), le son du sorgho est pauvre en protéines et cendres et riche en fibres. Le germe est pour sa part riche en cendres, protéines, huile et vitamines B, mais très pauvre en amidon. Il indique également que plus de 68% de la matière minérale totale et 75% de l'huile du grain complet se situent dans le germe, dont la contribution à la teneur en protéines du grain n'est que de 15%.

6. Valorisation énergétique des tiges de sorgho

6.1. Valorisation énergétique des tiges par voie thermo-chimique

La valorisation énergétique de la biomasse par voie thermo-chimique est une technique de conversion par voie sèche regroupant plusieurs procédés basés sur la dégradation des molécules de la biomasse sous l'effet de la chaleur. On distingue la combustion directe (qui est responsable de plus de 97% de la production mondiale de bioénergie), la pyrolyse, la gazéification et la liquéfaction (Demirbas, 2004 ; Demirbas, 2009). Tous ces procédés se décomposent en une succession d'opérations nécessitant un transfert de chaleur dans une biomasse solide pour

produire des vecteurs énergétiques sous forme liquide (huile pyrolytique), gazeuse (H₂, CO, CH₄, CO₂) et solide (biochar). Les faibles teneurs en lignine ne sont pas particulièrement recherchées pour la conversion thermo-chimique de la biomasse.

La combustion directe utilise la biomasse du sorgho (tige, bagasse) comme combustible solide dans des fours et chaudières pour générer de l'énergie thermique (chaleur ou vapeur) utilisée pour diverses applications industrielles notamment la production d'électricité par cogénération (Salas Fernandez *et al.*, 2009 ; Carrillo *et al.*, 2014). Cependant, ces systèmes de production d'électricité ont un faible rendement global et émettent d'importantes quantités de polluants (Caputo *et al.*, 2005). Par ailleurs, il existe de nombreux défis opérationnels et environnementaux associés à la technologie de combustion de la biomasse. On distingue parmi eux la faible densité apparente des déchets agricoles (environ 5 à 10 fois inférieure à celle du charbon), la teneur élevée en humidité, le faible point de fusion des cendres et la teneur élevée en matières volatiles. La majorité de ces problèmes peuvent être résolus par des systèmes de co-combustion de biomasse (Backreedy *et al.*, 2005). Afin d'améliorer le rendement énergétique de la combustion des tiges du sorgho, la technique de densification est souvent appliquée à la biomasse pour former des granulés et des briquettes, qui sont des produits caractérisés par un pouvoir calorifique élevé (Serra *et al.*, 2017a ; Serra *et al.*, 2017b). D'autre part, la combustion est plus efficace avec une biomasse plus lignifiée, car la lignine augmente le potentiel énergétique de la biomasse (Salas Fernandez *et al.*, 2009).

La pyrolyse est la décomposition thermique de la biomasse sous l'action de la chaleur, en absence totale ou en présence d'une quantité très faible, d'oxygène (air). Il en résulte la formation de produits tels que la bio-huile, le biochar et le gaz de synthèse dont les proportions varient selon la température du réacteur, la vitesse de chauffage, le temps de séjour, la nature et la taille de l'échantillon ainsi que le type de réacteur utilisé (Bridgwater *et al.*, 2007). La pyrolyse peut être conventionnelle (lente) ou rapide (flash) selon les conditions de fonctionnement, (temps, vitesse de chauffe) (Font and Williams, 1995). La pyrolyse lente s'opère à des températures faibles ou modérées (400–500°C) avec un temps de séjour long (plusieurs heures). Le produit obtenu est majoritairement constitué du biochar, et des faibles quantités de bio-huile et gaz sont produites. La pyrolyse rapide se déroule à une température élevée (>700°C) avec une vitesse de chauffage très élevée (>1000°C/s) pour un temps de séjour de l'ordre de quelques secondes. Elle conduit à la production de bio-huile (60%), de biochar (20%) et de gaz de synthèse (20%) (Ansoumane, 2017 ; Stamenković *et al.*, 2020). La

torréfaction est un procédé de pyrolyse spécial effectué à une température basse (200–300°C) et dans des conditions anoxiques (Tumuluru *et al.*, 2011). La pyrolyse rapide est le procédé pyrolytique le plus fréquemment utilisé en raison de son rendement élevé mais nécessite un d'investissement plus élevé. Les rendements vont de 75 à 80% en bio-huile et de 20 à 30% en biochar selon le type de biomasse (Stamenković *et al.*, 2020). Les études menées sur la pyrolyse des tiges et bagasses du sorgho sucré indiquent que le rendement maximal en biochar (39,5%) était atteint à 400°C avec une vitesse de chauffe de 10°C/min. Ce rendement diminue avec l'augmentation de la température en raison de la dégradation des hémicellulose, cellulose et lignine (Kotaiah Naik *et al.*, 2017 ; Filipovici *et al.*, 2017). Il a été montré que le rendement en bio-huile augmentait jusqu'à 15,94% (à 450°C) puis diminuait en raison de dégradation de la cellulose et la formation de gaz non condensables. Une autre étude menée sur la torréfaction de la bagasse du sorgho sucré a montré que les rendements en produits torréfiés étaient de 51 à 70%, et qu'en augmentant la température de torréfaction de 250°C à 300°C, les rendements en biochar diminuaient tandis que les rendements de liquide et de gaz augmentaient (Yue *et al.*, 2017).

La gazéification est une conversion thermochimique de la biomasse en gaz de synthèse (mélange de CO₂, CO, hydrogène et hydrocarbures gazeux), biochar, cendres et goudron par oxydation thermique partielle de la BLC (Cao *et al.*, 2006). Les agents oxydants peuvent être de l'O₂ pur, de l'air, de la vapeur, du CO₂ ou leurs mélanges. Le procédé de gazéification de la biomasse comprend le séchage, la pyrolyse, l'oxydation et la réduction. La quantité, la composition et les propriétés des produits de la gazéification varient en fonction des conditions expérimentales (Rapagnà, 2000). La performance des procédés de gazéification dépend principalement du type de biomasse et du débit d'air (James *et al.*, 2015). La gazéification offre une grande flexibilité en ce qui concerne les matières premières et les carburants produits. De ce fait, elle est considérée comme l'une des technologies les plus prometteuses pour la production d'énergie propre et renouvelable. Selon Stamenković *et al.* (2020), le gaz de synthèse a un faible pouvoir calorifique (environ 4 à 6 MJ/Nm³) et peut être brûlé directement ou utilisé comme combustible pour les moteurs à gaz et les turbines ou comme matière première pour la synthèse des produits chimiques (Amin, 2009). Des expériences menées sur la gazéification des tiges de sorgho ont aboutis à la production de goudrons à hauteur de 2,2 à 3,0 g/m³ et d'un gaz de synthèse à faible pouvoir calorifique (3,53 à 3,90 MJ/m³) composé de 7,9 à 8,8% d'hydrogène, 13,1 à 15,2% de CO, 15,0 à 18,9% de CO₂ et 2,2 à 2,8% de méthane. Le

rendement en biochar était d'environ 12% et son pouvoir calorifique était de 4,2 à 9,4 MJ/kg selon le débit d'air (Qian *et al.*, 2013).

La conversion de la biomasse par liquéfaction thermique se produit à des températures de 200 à 400°C et des pressions de 5 à 20 MPa en l'absence d'oxygène, entraînant souvent des rendements élevés en bio-huile et faibles en biochar par rapport à la pyrolyse (Elliott *et al.*, 2015 ; Stamenković *et al.*, 2020). Le procédé de liquéfaction comprend la dépolymérisation, les réactions de décomposition et de recombinaison (Gollakota *et al.*, 2018). La température et le temps de réaction influencent la conversion de la biomasse et les rendements en produits de liquéfaction (Elliott *et al.*, 2015). Ces derniers sont constitués d'un liquide huileux et visqueux connu sous le nom de bio-huile ou huile lourde, d'un produit aqueux appelé huile légère, d'un résidu solide (biochar) et de gaz (Aljerf, 2015). L'huile lourde peut être utilisée comme matière première pour la production de carburants et de polymères, aromatiques, lubrifiants, et asphaltiques (Peterson *et al.*, 2008). Cependant sa viscosité doit être améliorée avant l'utilisation comme combustible liquide (Demirbas, 2011). L'huile légère peut être utilisée avec succès comme carburant dans le domaine de transport au même titre que l'hydrogène (Huber *et al.*, 2005). Bi *et al.* (2017) ont étudié la production de bio-huile et de biochar via la conversion par liquéfaction de la bagasse de sorgho sucré, préalablement prétraitée en utilisant des catalyseurs homogènes et hétérogènes. Les auteurs rapportent que le meilleur catalyseur est le K_2CO_3 et fournit une bio-huile ayant un pouvoir calorifique supérieur de l'ordre de 33,1 MJ/kg, avec une teneur élevée en carbone (73,2%) et une faible teneur en azote et en soufre (7,7 et 0,2%, respectivement). Le rendement en bio-huile de la tige de sorgho sucré était environ 10% plus élevé que celle obtenu à partir de tiges de maïs ou de peuplier. Le rendement en produits gazeux s'est révélé augmenter de façon concomitante à la température de liquéfaction.

La BLC est une matière première polyvalente et convenable à la production de plusieurs types de vecteurs énergétiques selon les procédés de conversion. De façon générale, la conversion thermochimique nécessitant des températures élevées (200 à plus de 1200°C), présente des faibles rendements globaux de conversion énergétique de la biomasse et émet d'importantes quantités de polluant (Caputo *et al.*, 2005). Elle est adaptée pour des biomasses à faibles teneurs en humidité ($\leq 15\%$) à l'exception des procédés hydrothermaux (gazéification, liquéfaction et carbonisation) et donc limitée par une étape de séchage ou de déshydratation consommatrice d'énergie (Missaoui, 2018). Alors que la conversion énergétique de la BLC se doit d'être écologique, économique et durable afin de répondre aux défis environnementaux et de bioéconomie circulaire (Awasthi *et al.*, 2022 ; Manikandan *et al.*, 2023).

6.2. Valorisation énergétique des tiges par voie biologique

La valorisation énergétique de la BLC par des procédés biologiques présente des avantages économiques et environnementaux par rapport à d'autres technologies. La biomasse peut être convertie en éthanol ou en gaz, tels que méthane et hydrogène, qui ont été récemment qualifiés de carburant du futur (Kazmi *et al.*, 2024). Toutefois, une étape de prétraitement peut être nécessaire avant cette bioconversion. Ses objectifs sont de délignifier la biomasse via la rupture des liaisons lignines-polysaccharides, réduire la cristallinité de la cellulose et augmenter la surface et la taille des pores (pour la production de CH₄) ou solubiliser les sucres (pour la production d'H₂) (Agbor *et al.*, 2011).

6.2.1. Procédés de prétraitement de la BLC

La BLC constitue une source de matière première viable pour la production des divers vecteurs énergétiques et d'autres produits chimiques et matériaux biosourcés. Une large variété de biomasse de diverses origines, est utilisée comme substrat pour la production de vecteurs énergétiques (hydrogène, méthane, éthanol, etc.). On trouve parmi ces biomasses les résidus agricoles, les déchets organiques municipaux, les eaux usées de fabrication industrielle ou les boues d'épurations (Timofeeva *et al.*, 2023). Les résidus agricoles tels que la paille et les balles de riz, les tiges de maïs, les tiges de sorgho, la paille de blé ou la bagasse de canne à sucre peu coûteux et abondamment disponibles à travers le monde sont fréquemment retrouvés dans la littérature. La valorisation énergétique de ces résidus agricoles lignocellulosiques permettrait de réduire la dépendance vis-à-vis de ressources fossiles, relever les défis environnementaux, et améliorer la rentabilité économique et la durabilité de la chaîne de valeur agricole à travers l'économie circulaire (Awogbemi and Kallon, 2022). Toutefois, en raison de la complexité de la structure (composée de cellulose, hémicellulose, lignine) et de sa nature récalcitrante, la bioconversion énergétique de la BLC nécessite des opérations de fractionnement et de prétraitement préalables. Plusieurs techniques de prétraitement (physique, chimique, biologique, ou leur éventuelle combinaison) sont actuellement utilisées et ont permis d'améliorer les performances de conversion (Venturin *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2023).

Le prétraitement physique est l'étape préalable pour tout procédé de prétraitement. Il vise à rompre la structure de la biomasse et libérer ses composés intracellulaires ou réduire la taille des particules afin d'augmenter la surface des fibres et donc d'améliorer les performances. Il présente de nombreux avantages notamment sa simplicité, sa rapidité et sa non toxicité (Shobana *et al.*, 2017). Les méthodes d'irradiation (faisceaux de micro-ondes, d'ultrasons, de

rayons gamma, d'électrons, etc.), l'utilisation de champ électrique pulsé, la congélation et décongélation et le traitement plasma comptent parmi les technologies de prétraitement physique récemment étudiées en plus du traditionnel broyage mécanique (Yang *et al.*, 2023 ; Sun *et al.*, 2022 ; Zhang *et al.*, 2022 ; Wu *et al.*, 2020 ; De Farias Silva *et al.*, 2020). Ces méthodes ont démontré leurs efficacités à l'échelle du laboratoire, cependant leur mise en place à l'échelle industrielle s'avère très coûteuse en raison de leurs fortes consommations énergétiques (Yang *et al.*, 2023).

L'hydrolyse chimique se déroule dans des conditions acides ou alcalines avec des températures souvent élevées conduisant généralement à la dégradation d'une partie des sucres fermentescibles et à la formation de nombreux composés toxiques, corrosifs, ainsi que d'inhibiteurs de fermentation (furfural, hydroxyméthylfurfural, acide acétique, acide formique, etc.) (Shah *et al.*, 1984 ; Ogier *et al.*, 1999). L'hydrolyse chimique est un procédé nocif pour l'environnement limité par des étapes de neutralisation avant la fermentation. L'hydrolyse à l'acide dilué (0,7 – 3,0%) nécessite des températures de l'ordre de 180 – 240°C tandis que l'hydrolyse à l'acide concentré nécessite des quantités importantes d'acide (Banerjee *et al.*, 2010 ; El-Zawawy *et al.*, 2011) et des températures plus faibles.

Les prétraitements biologiques impliquant l'usage de micro-organismes (champignons, bactéries et consortiums microbiens) et/ou d'enzymes sont fréquemment utilisés pour décomposer les BLC. L'approche microbiologique est prometteuse en raison de son caractère écologique. Elle ne génère pas de sous-produits toxiques et corrosifs et est facilement déployable et à de faibles coûts opérationnels (Yang *et al.*, 2023 ; Zabed *et al.*, 2019). Elle présente également d'autres avantages tels que la croissance rapide des microorganismes, la reproductibilité, l'adaptabilité et une forte activité métabolique chez certaines espèces bactériennes telles que *Streptomyces*, *Actinomyces*, *Nocardia*, *Eupatoria* (Zabed *et al.*, 2019). L'hydrolyse enzymatique s'effectue généralement dans des conditions moins sévères que l'hydrolyse chimique (pH 4,8 – 5 et températures 45 – 50) et présente de ce fait, des coûts énergétiques relativement faibles cependant le coût des biocatalyseurs reste élevé. Cette hydrolyse permet de réaliser aussi bien le procédé de saccharification et la fermentation de façon simultanée (SFS) que l'hydrolyse et la fermentation de façon séparée (HFS). De manière générale, les conversions chimiques, physico-chimiques et biochimiques sont les technologies les plus utilisées pour dépolymériser la BLC en sucres fermentescibles (Rabemanolontsoa and Saka, 2016).

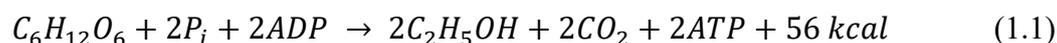
A échelle industrielle dans un concept de bioraffineries, les procédés de prétraitement thermochimiques sont ceux les plus exploitées pour convertir la BLC (Tang *et al.*, 2021 ; Agrawal *et al.*, 2021). Cependant cette approche de prétraitement est très couteuse et représente environ 40% du coût global du procédé de bioconversion énergétique (Haldar and Purkait, 2021 ; Wong *et al.*, 2023). Par ailleurs, ces technologies sont génératrices de composés toxiques et corrosifs. D'autres techniques de déconstruction de la biomasse ont également été récemment développées telles que l'utilisation du dioxyde de carbone supercritique, des solvants eutectiques profonds naturels, de l'acide dilué assisté aux ultrasons, des liquides ioniques en plus des prétraitements biologiques afin de réduire les coûts et faciliter les opérations de prétraitement (Paramasivan *et al.*, 2021 ; Wang *et al.*, 2021 ; Ling *et al.*, 2021). Le développement de stratégies de prétraitement économiquement plus rentables, respectueuses de l'environnement et durables constitue un défi majeur pour une valorisation énergétique efficace de la BLC.

6.2.2. Valorisation en bioéthanol 2G

Le sorgho qui est une plante en C4 bien adaptée aux environnements arides constitue une culture sucrière unique et polyvalente puisqu'elle génère des grains amyliacés, des sucres solubles et fermentescibles dans le jus extrait de la tige et de la BLC (Blummel *et al.*, 2009 ; Rao *et al.*, 2013a). Tous ces composés peuvent être valorisés en éthanol par trois stratégies complémentaires (Gnansounou *et al.*, 2005 ; Antonopoulou *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2013).

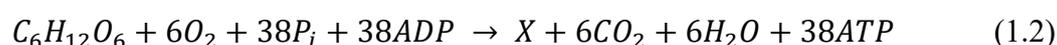
La tige du sorgho sucré est l'une des biomasses les plus attrayantes pour la production de bioéthanol 2G. Ce dernier est une alternative au bioéthanol 1G produit à base d'amidon. Les sucres non structuraux contenus dans le jus du sorgho peuvent être directement convertis en bioéthanol par fermentation sous l'action de certains microorganismes tels que *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* et *Zymomonas mobilis* (Wu *et al.*, 2010 ; Faraco, 2013 ; Du *et al.*, 2014 ; Phutela and Kaur, 2014). *S. cerevisiae* est le plus utilisé des microorganismes à l'échelle industrielle en raison de sa haute performance, sa facilité d'exploitation, sa haute tolérance aux concentrations d'éthanol et à d'autres composés inhibiteurs, sa résistance à la pression osmotique, sa stabilité génétique et sa non pathogénicité (Phwan *et al.*, 2018). *S. cerevisiae* est efficace pour la fermentation des hexoses (glucose, fructose, galactose, etc.) et des diosides à base d'hexoses (saccharose, lactose, etc.). Cependant il est décrit comme étant incapable de fermenter les pentoses (Bahry, 2017) contrairement à certaines souches de levures telles que *P. stipitis* et *B. custersainus* (Phwan *et al.*, 2018). D'autres souches de levures telles que *Candida shehatae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces fragilis*, *Pachysolen*

tannophilus sont également capables de fermenter une large variété de sucre cependant leurs rendements de production d'éthanol sont inférieurs à ceux de *S. cerevisiae* (Mohd Azhar *et al.*, 2017). Les bactéries comptent également parmi les microorganismes utilisés pour la fermentation alcoolique de sucres. Les souches telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* et *Zymomonas mobilis* ont été qualifiées des plus prometteuses pour l'exploitation industrielle (Balat *et al.*, 2008). Elles peuvent se développer dans des milieux minéraux à faible coût et sont capables d'utiliser différentes sources de carbone telles que les glucides, les polyhuiles et les acides gras avec des vitesses de croissance plus élevées que celles des levures, ce qui réduit considérablement le coût de production (Gonçalves and Simões, 2017). Le métabolisme fermentaire des levures permet la conversion du glucose en éthanol et en dioxyde de carbone avec coproduction de certains métabolites secondaires (acides organiques, esters, glycérol, etc.) selon l'équation bilan suivante (**réaction 1.1**).

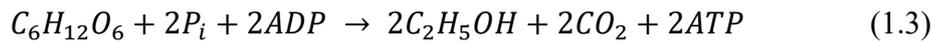


Les conditions opérationnelles et la nature de la source carbonée orientent le métabolisme de la levure qui peut être : soit fermentaire, soit purement oxydatif, soit oxydo-réductif (Flores *et al.*, 2000). La glycolyse est une première étape commune à toutes les voies métaboliques. Elle convertit une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux molécules de NADH. Selon les conditions de culture notamment la concentration en sucre et la disponibilité de l'oxygène, le pyruvate est soit converti en éthanol via l'acétaldéhyde (fermentation), soit oxydé en acétyl coenzyme A puis en CO₂ via le cycle de Krebs (respiration), soit à travers les deux voies respiro-fermentaire (effet Crabtree) (Alayoubi, 2019).

Le métabolisme respiratoire se caractérise par une oxydation complète du glucose à travers la glycolyse, le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative et conduit à la production de biomasse (X), de CO₂ et de H₂O (**réaction 1.2**). Il nécessite la présence de l'oxygène comme accepteur final d'électrons de la chaîne respiratoire et une faible concentration en glucose (< 0.15 g/L) (Pagliardini, 2010 ; Chniti, 2015) . Le cycle de Krebs permet la production de co-enzymes réduits NADH et FADH₂, mais également la synthèse de divers précurseurs de formation des molécules telles que les acides aminés, l'ergostérol et les bases nucléotidiques. La phosphorylation oxydative permet la régénération des co-enzymes réduits NADH et FADH₂ produits lors de la glycolyse.



En absence d'oxygène comme accepteur final d'électrons, cette fonction est assurée par des molécules organiques et le métabolisme s'oriente uniquement vers la voie fermentaire (Pagliardini, 2010 ; Bahry, 2017). Le NAD⁺ est d'abord utilisé comme accepteur intermédiaire d'électrons et réduit en NADH. La réduction finale de l'acétaldéhyde en éthanol et en dioxyde de carbone permet ainsi de maintenir l'équilibre de la balance redox en réoxydant les NADH produits au cours de la glycolyse (**réaction 1.3**).



En présence d'oxygène, un excès de glucose (concentrations supérieures à un certain seuil) fait basculer le métabolisme oxydatif vers un métabolisme oxydo-réductif avec une prédominance de la voie fermentaire par rapport à la voie oxydative. Ce phénomène est appelé effet Crabtree (De Deken, 1966) et le seuil de sensibilité aux concentrations en glucose varie selon le type de levure, et permet ainsi de les classer en levures Crabtree positives et Crabtree négatives si la respiration n'est pas inhibée par la présence de glucose. *S. cerevisiae* est décrit comme une levure Crabtree positive et ce phénomène est observé pour des concentrations en glucose supérieures 0,1 g/L (Bahry, 2017).

Ces différentes voies métaboliques sont résumées sur la **figure 1.7**.

Plusieurs facteurs physico-chimiques tels que la température, l'oxygène dissous, le pH, les nutriments et la vitesse d'agitation influencent la productivité d'éthanol. Les rendements de production de bioéthanol à partir de jus du sorgho sucré varient de 85 à 93% (Serna-Saldívar *et al.*, 2012 ; Du *et al.*, 2014 ; Appiah-Nkansah *et al.*, 2015). Plusieurs études ont été réalisées afin d'améliorer le rendement en éthanol. Ainsi, la co-fermentation de jus et d'amidon des grains de sorgho améliore les rendements de près de 30% tout en réduisant le temps d'hydrolyse enzymatique de l'amidon de 30 min par rapport à la méthode conventionnelle (Appiah-Nkansah *et al.*, 2015). La réduction de la consommation d'eau et d'énergie constitue également un avantage de ce procédé. Par ailleurs, la bagasse obtenue après extraction du jus constitue également une matière première pour la production de bioéthanol (Sipos *et al.*, 2009 ; Stevens and Holou, 2010 ; Rohowsky *et al.*, 2013). Cependant, sa conversion en bioéthanol nécessite une étape de prétraitement de délignification préalable afin d'exposer la cellulose et l'hémicellulose à des enzymes hydrolytiques en vue de leur saccharification. A cet effet, plusieurs méthodes de prétraitement ont été développées afin d'améliorer le rendement d'hydrolyse.

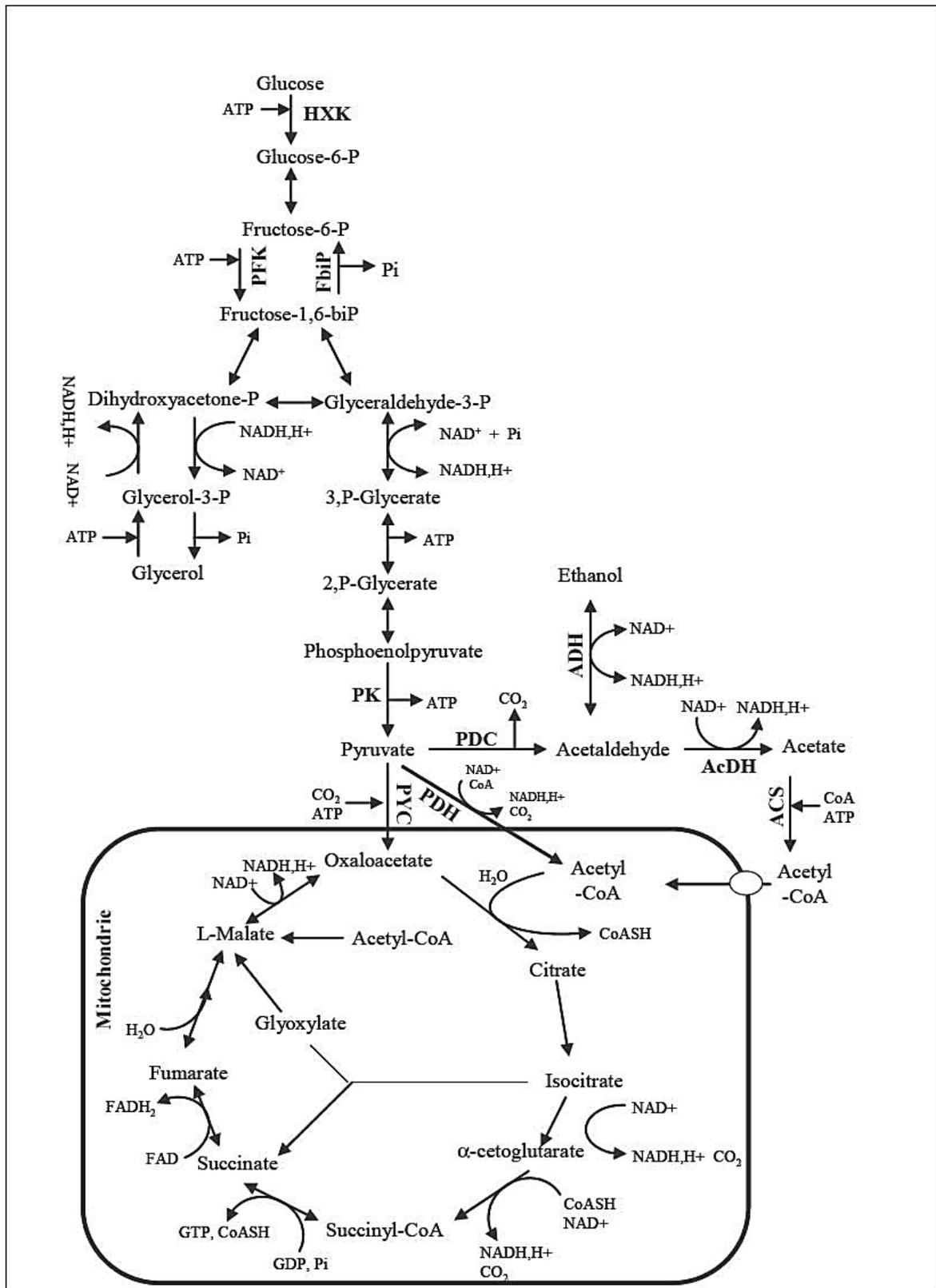


Figure 1.7 : Schéma métabolique de la glycolyse couplée au cycle de Krebs et à la fermentation alcoolique (Poilpré, 2002)

De façon générale, le rendement de production en bioéthanol à partir des tiges du sorgho sucré est évalué en moyenne à 6106 L/ha. Il est donc beaucoup plus élevé que celui de la canne à sucre estimé à 4680 L/ha (Wang *et al.*, 2007). D'autres auteurs ont également rapporté que ce rendement varie de 1250 à 5625 L/ha et est équivalent à celui obtenu à partir de 9 000 à 11 250 kg de grain de sorgho (Li, 2003 ; Zhao *et al.*, 2009). Le rendement énergétique lié à la valorisation des tiges de sorgho en éthanol est compris entre 6 500 à 8 900 kJ/kg et 1 400 à 2 700 kJ/kg de biomasses sèche et fraîche respectivement (en supposant que le rendement énergétique de l'éthanol est de 26 500 kJ/kg) (Christakopoulos *et al.*, 1993 ; Lezinou *et al.*, 1995 ; Mamma *et al.*, 1996). L'intérêt majeur de la valorisation des tiges du sorgho pour la production du bioéthanol 2G, est qu'elle ne concurrence pas ou peu l'usage alimentaire des grains, et contribue à une plus grande réduction des émissions de gaz à effet de serre (-50% par rapport au carburant classique et -10% par rapport au biocarburant 1G) (Rajagopal and Zilberman, 2008 ; Hertel and Tyner, 2013). Cependant la courte période de récolte des tiges, conjuguée à l'extrême instabilité du jus après extraction limitent cette utilisation (Appiah-Nkansah *et al.*, 2015). Il en est de même pour les méthodes de fractionnement et prétraitement de la BLC de tiges.

6.2.3. Valorisation en biométhane

Le processus de méthanisation repose sur la dégradation anaérobie naturelle de la biomasse par des microorganismes. Il est aussi appelé digestion anaérobie. Cette dégradation aboutit à la production d'un mélange gazeux appelé biogaz et composé d'environ 50 à 70% de CH₄, 30 à 50% de CO₂ et de quelques gaz traces (NH₃, N₂, H₂S) et du digestat (Thomas, 2019). La biométhanisation est une succession de réactions chimiques catalysées par des enzymes produites par différentes populations microbiennes avec de caractéristiques métaboliques très diverses. Ces populations microbiennes sont impliquées dans des fonctions spécifiques dans les étapes successives de la biodégradation de la matière organique. C'est un processus séquentiel comportant quatre étapes biochimiques à savoir l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse (Moletta, 1990 ; Wei, 2016). Ces étapes (**Figure 1.8**) sont réalisées par trois groupes bactériens à savoir les bactéries hydrolytiques acidogènes, les bactéries acétogènes et les bactéries méthanogènes (dont les méthanogènes acétoclastes et les méthanogènes hydrogénophiles) (Liu, 2015). Ces groupes fonctionnent en symbiose et ont des exigences nutritives et des caractéristiques physiologiques distinctes.

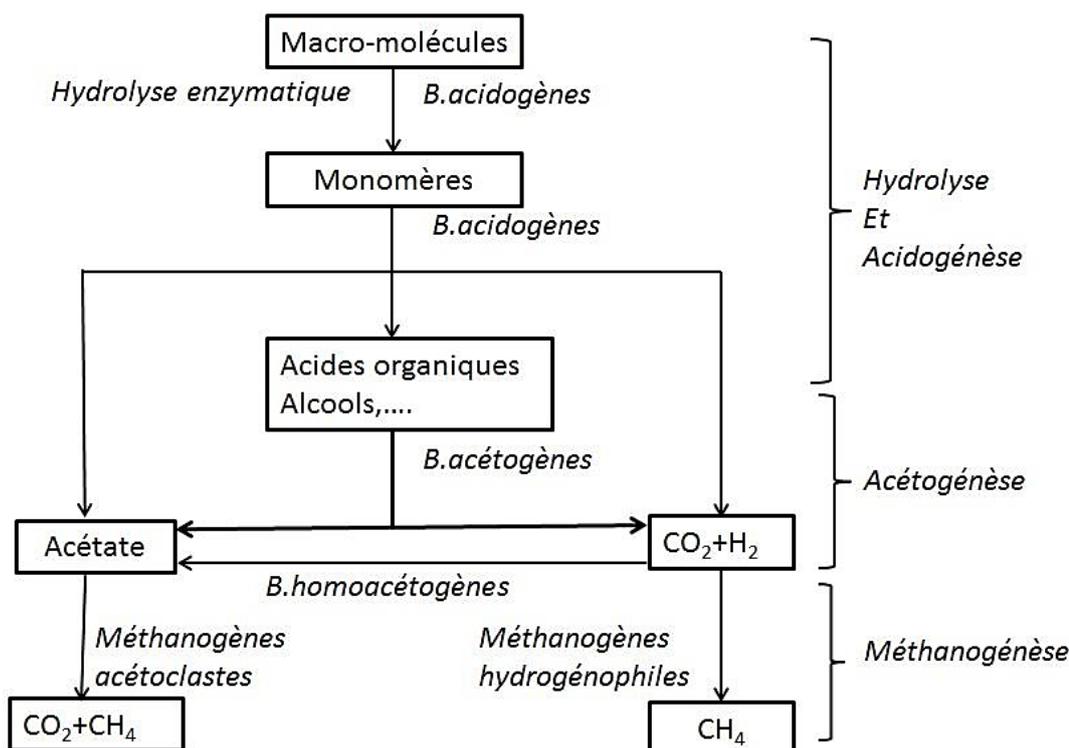


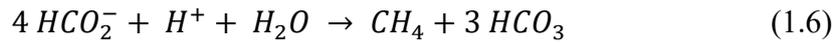
Figure 1.8 : Principales voies métaboliques et nature des populations microbiennes de la méthanisation (Moletta, 1990)

L'hydrolyse permet de libérer de monomères et d'oligomères solubles à partir de macromolécules sous l'action des enzymes hydrolytiques sécrétées par des bactéries anaérobies stricts et/ou facultatifs du genre *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Butivibrio* et *Fibrobacter* (Kim et al., 2009). Au cours de l'acidogénèse, ces monomères et oligomères solubles sont transformés principalement en acides organiques (butyrate, propionate, lactate, etc.) et en alcools mais également en H₂ et CO₂ en plus faibles quantités. Cette étape est réalisée par des bactéries acidogènes (*Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, et *Escherichia coli*). Une accumulation importante d'acides gras volatils durant cette étape constitue un facteur potentiellement limitant pour les étapes suivantes (acétogénèse et méthanogénèse). Au cours de l'acétogénèse, les bactéries acétogènes (genre *Clostridium*, *Acetobacterium*, *Bactéries sulfatoréductrices*...) transforment les acides organiques et alcools en acétate, en CO₂, en H₂ et en formate. La méthanogénèse est l'étape qui aboutit à la production de méthane. Elle est réalisée par les bactéries méthanogènes anaérobies strictes classées parmi le règne des archées (Liu, 2015). Deux voies de production du méthane prédominent :

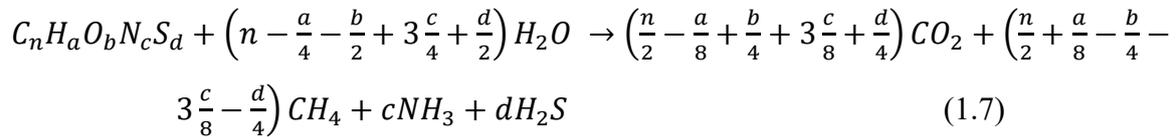
La première est réalisée à partir de l'acétate par les méthanogènes acétoclastes (acétotrophes) selon la **réaction 1.4**. Elle est responsable 70% de la production de méthane.



La deuxième, est réalisée à partir du dioxyde de carbone et de l'hydrogène, par les méthanogènes hydrogénotrophes, selon les **réactions 1.5 et 1.6**.



L'équation de Buswell (**réaction 1.7**) permet d'estimer le volume théorique de biogaz produit connaissant la composition chimique du substrat.



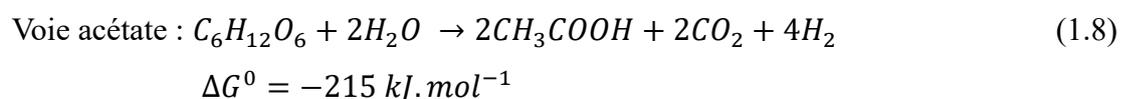
Plusieurs paramètres tels que notamment la nature du substrat (composition biochimique et granulométrie), les conditions opératoires (potentiel redox, pH, température, agitation, pression partielle d'H₂), le ratio inoculum/substrat et le temps de rétention hydraulique influencent les rendements de production du biométhane. Les rendements de production du biogaz était d'environ 14 000 à 16 000 m³/ha pour le sorgho ensilé ([Chantereau et al., 2013](#)). Le potentiel méthanogène de la tige du sorgho varie selon sa composition biochimique, sa variété, sa période de récolte et ses conditions de culture. Dans une étude impliquant 4 génotypes cultivés sur 3 sites, il a été montré que l'impact du génotype sur le potentiel méthanogène du sorgho était de 36% et celui de l'environnement de 34% ([Thomas et al., 2019](#)). Avec un ratio de C/N évalué à 27,625 ([Jamaldheen et al., 2018](#)), le potentiel méthanogène des tiges de sorgho est estimé entre 270 et 335 NmL_{CH₄}.gVS⁻¹ ([Sambusiti et al., 2013](#)). Celui de la bagasse du sorgho sucré a été mesuré à 78 LCH₄/kg de biomasse ([Antonopoulou et al., 2008](#)). Plusieurs études ont été menées afin d'améliorer le rendement de production du biogaz à partir de tiges de sorgho, notamment par des techniques de stabilisation de pH, d'ajustement du ratio C/N et d'apport d'éléments minéraux (Fe, Ni, Zn, Ca) par co-digestion avec d'autres substrats tels que le fumier bovin et les fientes de volailles. [Zhang et al. \(2016\)](#) ont montré que l'ajustement du ratio C/N à 25 et la co-digestion du sorgho avec du fumier de vache permet d'obtenir une production de l'ordre de

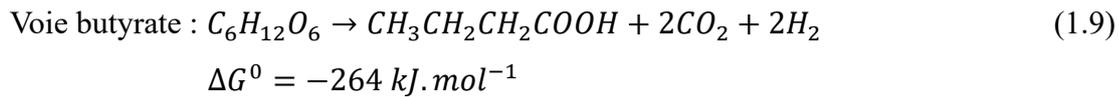
478 mL_{CH₄}.gVS⁻¹ et une augmentation du rendement en biogaz de l'ordre de 26% par rapport à la monodigestion. [Kalamaras and Kotsopoulos \(2014\)](#) ont montré que la co-digestion du sorgho avec du fumier bovin était semblable à celle de maïs (267 et 241 mL_{CH₄}.gVS⁻¹ respectivement).

6.2.4. Valorisation en biohydrogène par voie fermentaire sombre

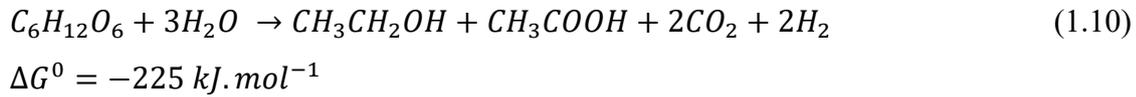
La production de biohydrogène par voies microbiologique peut se faire par des voies dites photo-sensibles (photofermentation et photosynthèse) ([Asada and Miyake, 1999](#)) avec des bactéries fermentaires photosynthétiques et chimiosynthétiques, ou par des voies fermentaires dites sombres par des bactéries fermentaires anaérobies qui produisent de l'hydrogène sans photoénergie. Dans ce dernier cas le coût de la production d'hydrogène est 340 fois inférieur à celle du processus photosynthétique ([Morimoto, 2002](#) ; [Atif et al., 2005](#)). Les glucides sont les principales sources d'hydrogène pendant les processus de fermentation et donc les résidus agricoles riches en glucides tels que les tiges du sorgho peuvent être considérés comme de potentielles sources pour la production de biohydrogène ([Kapdan and Kargi, 2006](#) ; [Kumar et al., 2017](#)). Les espèces microbiennes du genre *Clostridium* sp. qui produisent de l'hydrogène par voie fermentaire présentent une grande affinité pour les sucres simples (glucose, fructose et saccharose) contenus dans le jus de tige du sorgho ainsi que pour les sucres complexes de la bagasse de sorgho (cellulose et hémicellulose) ([Trably et al., 2018](#)). Le rendement de production d'hydrogène dépend du potentiel d'un substrat, mais également de paramètres tels que le mode opératoire utilisé (prétraitement, type de réacteur, conditions opératoires), de l'inoculum utilisé et les métabolites secondaires ([Antonopoulou et al., 2008](#) ; [Trably et al., 2018](#)). En effet, la dégradation des sucres pendant le processus de fermentation s'accompagne de la production d'hydrogène et de divers métabolites tels que des acides gras volatils (acides acétique, propionique et butyrique), acide lactique et éthanol qui peuvent être inhibiteur de cette production d'hydrogène ([Trably et al., 2018](#) ; [Noblecourt et al., 2018](#)).

La production d'acides acétique et butyrique favorise la production d'hydrogène ([Nandi and Sengupta, 1998](#) ; [Hawkes et al., 2002](#)), la fermentation acétique donnant le plus haut rendement théorique de 4 mol H₂/mol d'hexose contre 2 mol H₂/mol d'hexose pour la fermentation butyrique (**réactions 1.8 et 1.9**).



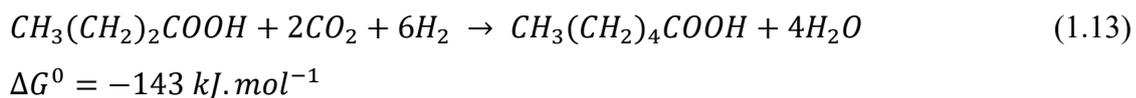
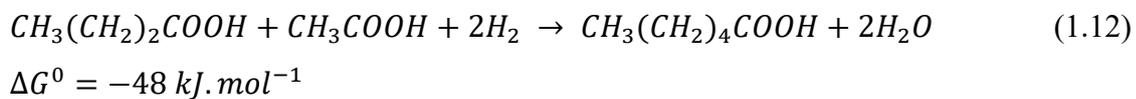
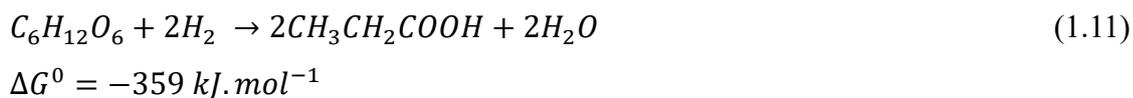


Il existe une autre voie de fermentation mixte qui réalise une coproduction d'acétate et d'éthanol avec un rendement de 2 mol H₂/mol d'hexose (**réaction 1.10**) (Trably *et al.*, 2018).



Les rendements à partir des tiges de sorgho sucré rapporté dans la littérature sont de l'ordre de 10,4 L H₂.kg⁻¹ de tige, après 12 heures de fermentation, ce qui correspond à un rendement énergétique de 104 kJ.kg⁻¹ de biomasse fraîche et de 400 kJ.kg⁻¹ de biomasse sèche de sorgho (Antonopoulou *et al.*, 2008).

La fermentation sombre fait partie intégrante du schéma métabolique de la méthanisation seule la dernière étape est empêchée. De ce fait, lors de l'étape d'acétogénèse, certaines voies de production d'acétate sont également productrices d'hydrogène. C'est le cas notamment lors de la dégradation du lactate, d'éthanol, du butyrate et du propionate. Ce pendant d'autres bactéries de la famille de *Clostridiaceae* (*Clostridium aceticum* ou *Clostridium thermoceticum*) possèdent des voies métaboliques consommatrices d'hydrogène (Paillet, 2017). Elles produisent de l'acétate à partir d'hydrogène par homoacétogénèse. D'autres voies métaboliques productrices de propionate (**réaction 1.11**) ou de caproate (**réactions 1.112 et 1.13**) à partir de butyrate et d'acétate ont été également décrites comme consommatrices d'hydrogène.



De façon générale, un grand nombre de voies métaboliques sont susceptibles d'être impliquées dans la production d'hydrogène par voie fermentaire (**Figure 1.9**).

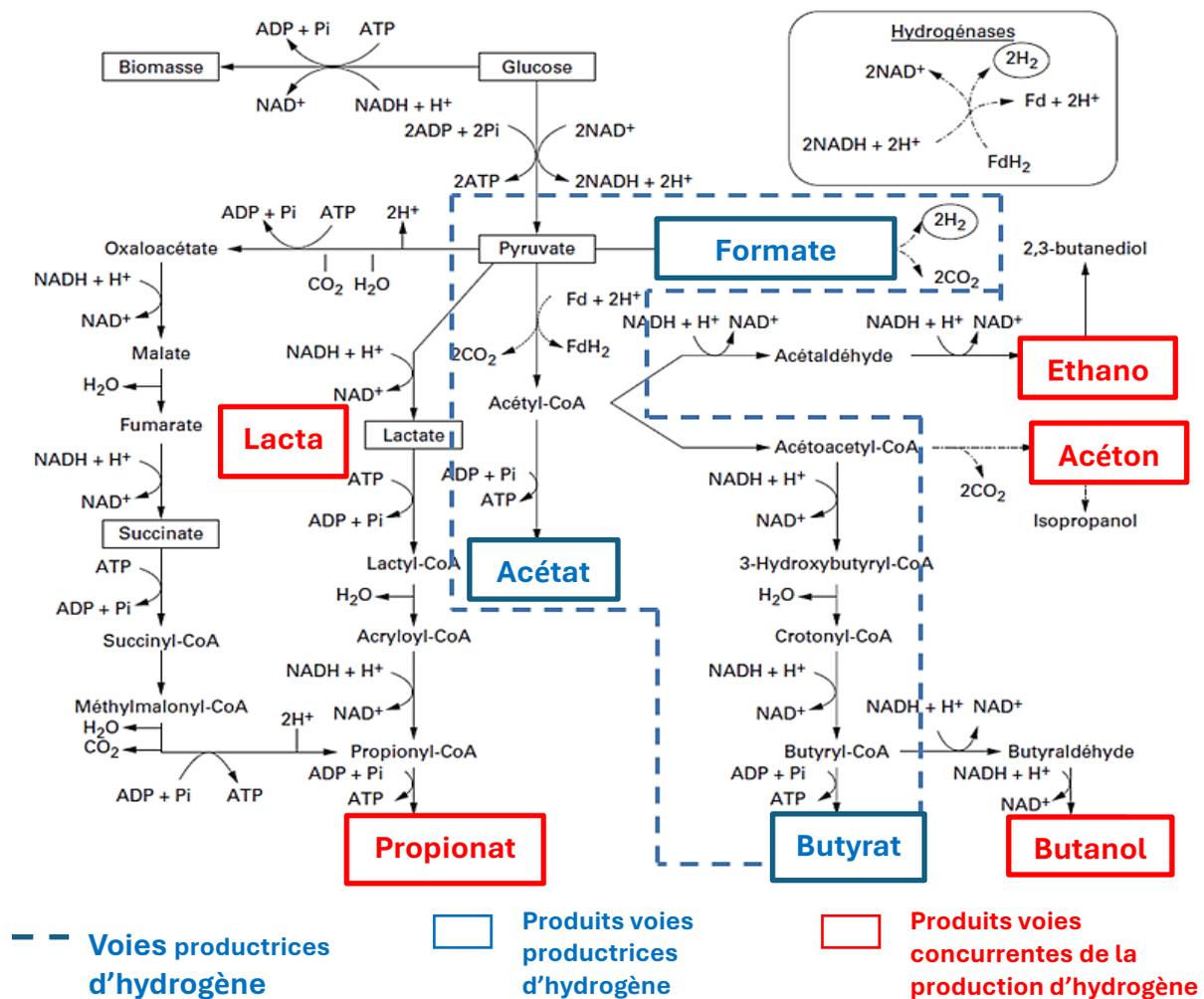


Figure 1.9 : Description des voies productrices d'hydrogène et concurrentes (Trably et al., 2018) modifié par (Noblecourt, 2018)

Le glucose est tout d'abord converti en pyruvate suivant la voie de glycolyse. Cette réaction génère également de l'adénosine triphosphate (ATP) servant de réserve d'énergie pour la cellule. Des éléments réducteurs comme la nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) ou la ferrédoxine réduite (FdH_2) sont également produits et participent aux réactions métaboliques suivantes. Le pyruvate est ensuite transformé en acétylcoenzyme A (acétyl-CoA), en CO_2 et en H_2 par l'action de la pyruvate-ferrédoxine oxydoréductase et d'une hydrogénase. L'acétyl-CoA sera transformée en acétate, avec une production d' H_2 et de CO_2 . Le pyruvate peut également être converti en acétyl-CoA et en formate. Suivant cette voie, le formate est ensuite transformé en CO_2 et H_2 sous l'action d'une formate-hydrogène lyase produite par certaines bactéries anaérobies facultatives comme *Escherichia coli*. Finalement, l'acétyl-CoA est converti en acétate, butyrate, ou éthanol selon les micro-organismes, la charge en substrat et les conditions

opératoires. En raison du grand nombre de métabolismes impliqués, le rendement de production d'hydrogène à partir de la BLC varie également selon ces flux métaboliques.

Bien que les procédés de fermentation sombre soient moins coûteux, ils ne permettent pas d'aboutir à une conversion totale de la matière organique particulièrement pour la BLC difficilement biodégradable. C'est pourquoi, la rentabilité technico-économique de ce procédé ne peut être envisagée qu'en combinant la production d'hydrogène avec une valorisation des résidus soit sous forme d'hydrogène supplémentaire (photofermentation, cellules d'électrolyse microbienne) soit sous forme de méthane (méthanisation) ou de molécules à plus hautes valeurs ajoutées (bioplastiques, éthanol, biolipides, etc.) par transformation biologique ou simple extraction (Trably *et al.*, 2018). La valorisation des acides carboxyliques à chaîne courte (succinate, acétate, propionate, lactate, etc.) issus de procédés fermentaires constitue ainsi depuis peu une nouvelle voie de bioconversion. La production d'acides carboxyliques à chaîne moyenne à partir des acides carboxyliques à chaîne courte est considéré comme un moyen prometteur pour rentabiliser les procédés fermentaires (Wu *et al.*, 2019). L'un des principaux inconvénients de l'utilisation de l'hydrogène est la difficulté d'obtenir un système de stockage fiable, en particulier dans les automobiles. Ce problème pourrait être surmonté par l'utilisation d'hydrures métalliques et nanotubes de carbone qui adsorbent de manière réversible l'hydrogène à température ambiante et basses pressions (Ramachandran, 1998 ; Noike and Mizuno, 2000 ; Ajayan and Zhou, 2001).

7. Perspectives innovantes sur la valorisation du sorgho et ses sous-produits

En plus de son usage alimentaire et énergétique, la BLC issue du sorgho est également utilisée pour la fabrication de matériaux biosourcés à l'instar des bioplastiques et des bio-composites pour lesquels une forte demande existe dans le secteur automobile et dans le domaine de la construction (John and Thomas, 2008 ; Oo *et al.*, 2016). Le principe de base repose sur l'addition de la BLC dans une matrice qui peut être un polymère synthétique (pour les bioplastiques) ou du ciment (pour les bio-composites) afin d'optimiser la cohérence et la résistance mécanique et thermique du matériau (Chupin *et al.*, 2017). Cette addition de biomasse présente des multiples intérêts physico-mécaniques (résistance, poids, plasticité, porosité...), écologiques et économiques (John and Thomas, 2008). Par ailleurs, les sucres fermentescibles contenus dans le jus des tiges du sorgho peuvent également être utilisés comme matière première pour la production industrielle d'acide lactique par *Lactobacillus sp.* (Hetényi *et al.*, 2010), de l'acétone-butanol par *Clostridium acetobutylicum* (Cheng *et al.*, 2008) et la production d'autres acides organiques (Whitfield *et al.*, 2012). Les tiges du sorgho sucré ont

également été valorisées comme matière première pour la production directe d'électricité dans une pile à combustible microbienne (MFC) à deux chambres utilisant des boues anaérobies comme inoculum. L'énergie électrique totale obtenue était de 165 J/g de tiges sèches, avec une tension maximale de 546 mV pour des valeurs maximales de puissance et de densité de courant de 131 mW/m² et 543 mA/m², respectivement (Sjöblom *et al.*, 2017). Il existe d'autres utilisations industrielles des sous-produits du sorgho, qui nécessitent une sélection de variétés particulières. Ainsi, la variété sorgho papetier dont la tige est riche en fibres, est utilisée pour la production de pâte à papier ou de panneaux de construction. Le sorgho à grains riches en amidon est utilisé pour préparer des colles, des adhésifs ou du dextrose (Dehaynin, 2007). Les sorghos tinctoriaux dont les tiges et feuilles sont riches en pigments anthocyanés donnent après broyage et macération une teinture rouge utilisée en tannerie ou en poterie comme teinture ou pigment (Chantereau *et al.*, 2010). Ces pigments tirés des sorghos tinctoriaux sont également utilisés en cosmétique pour les colorations de cheveux. A cet effet, on distingue 659 espèces de sorgho utilisées comme colorants ou tanins, dont 116 espèces pour lesquelles c'est l'usage primaire (Boudries, 2017).

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Collecte, prétraitement et schéma du procédé de bioconversion énergétique des tiges de sorgho

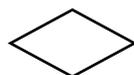
Les tiges du sorgho sucré (*Sorghum bicolor* (L) *moench*) ont été collectées dans un champ de la localité de "KODEK" (10° 39' 19"N ; 14° 24' 42"E ; 880m), département du Diamaré, région de l'Extrême-Nord du Cameroun. Le sorgho (*bicolor*) a été semé le 13 juin 2020 et récolté le 05 novembre 2020 après la maturation physiologique des graines dans les panicules. Les échantillons de tige ont été ensuite immédiatement effeuillés, découpés et stockés dans un congélateur à -20°C pour des analyses ultérieures. La fermentation éthanolique, la fermentation sombre et la méthanisation ont été étudiées (séparément et/ou en combinaison) afin d'optimiser la performance et l'efficacité de la bioconversion énergétique de cette biomasse. La **figure 2.1** présente le schéma de procédé de mise en œuvre global ainsi que les produits intermédiaires issus des différentes opérations unitaires du procédé. La première opération a consisté à collecter les tiges de sorgho en quantité suffisante après son identification (espèce, cultivar, coordonnées GPS, etc.). L'identification a été effectuée à l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement en utilisant la technique de classification simplifiée, proposée par [Harlan and De Wet \(1972\)](#). Les tiges ont ensuite fait l'objet d'une caractérisation physico-chimique incluant la détermination du pouvoir calorifique, des teneurs en sucres extractibles totaux, sucres réducteurs, fibres totales, cellulose, hémicelluloses, lignines, composés phénoliques, matière sèche, matière organique et profil glucidique. Les essais de fermentation ont été réalisés ensuite sur différentes fractions de la biomasse (tige entière, moelle, et jus) afin d'étudier et comparer l'efficacité des procédés. A cet effet, les tiges effeuillées ont été découpées, séchées (étuvage à 60°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante) et broyées à une granulométrie $\leq 0,5$ mm. La moelle a été séparée de l'écorce par épluchage à l'aide d'un couteau à lame rétractable, puis séchée et broyée. L'extraction du jus a été réalisée par pressage mécanique de la moelle.

Selon l'itinéraire 1 (**Figure 2.1**), les tiges collectées ont été prétraitées afin d'éliminer les feuilles et les panicules avant l'étape de pressage ([Sipos et al., 2009](#)). Afin d'optimiser le rendement d'extraction du jus et donc des sucres fermentescibles, la moelle a été séparée de l'écorce par épluchage. Le jus a été extrait de la moelle par broyage et pressage mécanique à l'aide d'un ultra-turrax puis caractérisé avant d'être fermenté. Suivant l'itinéraire 2 (**Figure 2.1**), la fermentation directe du broyat de la moelle en suspension dans l'eau (non traitée et traitée par voie enzymatique) a été testée. Au cours de l'itinéraire 3, différents procédés de bioconversion énergétique (fermentation éthanolique, fermentation sombre et biométhanisation) ont été expérimentés sur le broyat de la tige entière. L'objectif étant d'éviter

ou de limiter au maximum les étapes de fractionnement et d'extraction du jus, fortement consommatrices d'eau et d'énergie. La production du bioéthanol a été testée par fermentation directe du broyat de la tige entière (non traitée) par *Saccharomyces cerevisiae*. Cette fermentation des tiges non traitées a été couplée à la méthanisation mésophile des résidus solides (fraction lignocellulosique) afin de comparer l'efficacité des procédés séparément et leur couplage (fermentation/méthanisation). Une hydrolyse enzymatique (Celluclast 1.5 L et Viscozyme L) du broyat de tiges a également été expérimentée avant l'étape de fermentation en vue d'optimiser l'efficacité de la bioconversion énergétique. Suivant le deuxième volet de l'itinéraire 3, la fermentation sombre (production H₂) a été effectuée en suivant la même approche (fermentation directe de broyat de tiges entières suivie ou non de la méthanisation des résidus fibreux). Enfin, et à titre de comparaison, la méthanisation directe du broyat de tiges entières a été réalisée afin d'établir des bilans comparatifs des différents procédés de bioconversion de l'itinéraire 3.

Légende :

 : Opérations

 : Produits

 : Itinéraires étudiés

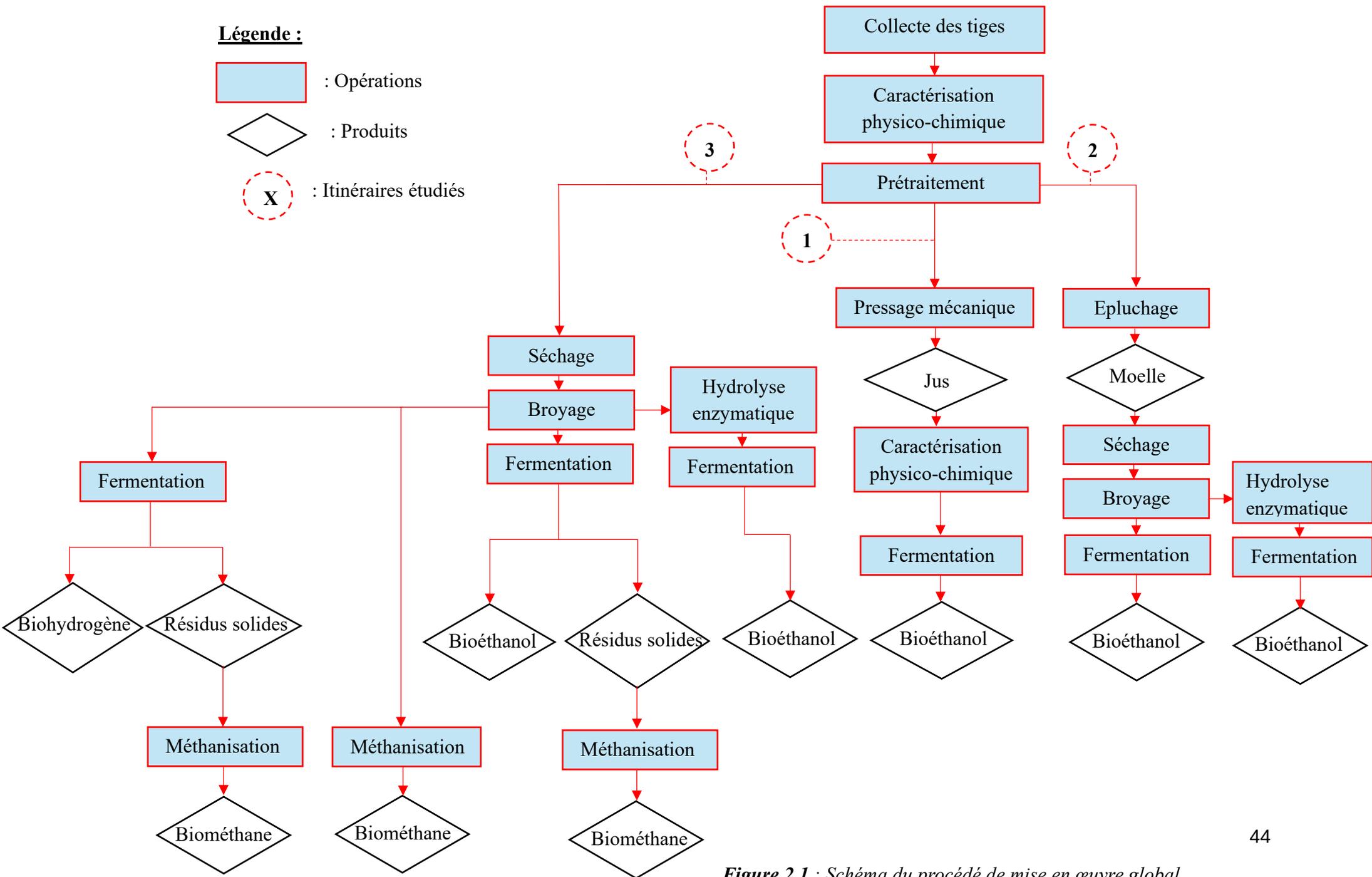


Figure 2.1 : Schéma du procédé de mise en œuvre global

2. Caractérisation physico-chimique de la biomasse

2.1. Détermination des teneurs en eau et en matière sèche

La matière sèche a été déterminée selon la méthode décrite par l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (Latimer, 2023). A cet effet, les échantillons de biomasse fraîche ont été séchés par étuvage à 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Ensuite, la masse résiduelle a été mesurée après refroidissement des échantillons au dessiccateur et la teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage de matière fraîche, a été calculée selon l'équation 2.1 ci-après :

$$T_{MS} = \frac{M_r - T}{M_i - T} \times 100 \quad (2.1)$$

Avec : T_{MS} = taux de matière sèche (%); M_r = masse résiduelle du creuset et son contenu séché (g);
 M_i = masse initiale du creuset et son contenu humide (g); T = tare du creuset (g).

Le taux d'humidité des échantillons (T_{He}) a été déduit de la valeur de la matière sèche selon l'équation 2.2 suivante :

$$T_{He} = 100 - T_{MS} \quad (2.2)$$

2.2. Détermination de la teneur en cendres

La matière minérale a été déterminée par incinération de la biomasse, selon la méthode décrite par l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (Latimer, 2023). Un g d'échantillon de résidus secs issus de l'étuvage a été placés dans des creusets séchés et pré-pesés. L'ensemble a été ensuite placé dans un four à moufle électrique à 550°C pendant 6 heures. Après l'incinération complète de la biomasse, les creusets ont été refroidis dans l'atmosphère d'un dessiccateur puis pesés. La teneur en matière minérale, exprimée en pourcentage de matière sèche, a été calculée selon l'équation 2.3. Les essais sont effectués en tripliquât et le résultat est la moyenne des répétitions \pm l'écart type.

$$T_{MM} = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100 \quad (2.3)$$

Avec : T_{MM} = taux de matière minérale par rapport à M_s (%); M_f = masse finale du creuset et son contenu après incinération (g); M_i = masse initiale du creuset et son contenu sec (g); T = tare du creuset (g).

2.3. Détermination de la composition biochimique de la biomasse

L'estimation de la composition biochimique de la biomasse, notamment sa teneur en fibres totales, hémicelluloses, celluloses et lignines a été effectuée selon la méthode de [Van Soest \(1963\)](#) (**Figure 2.2**).

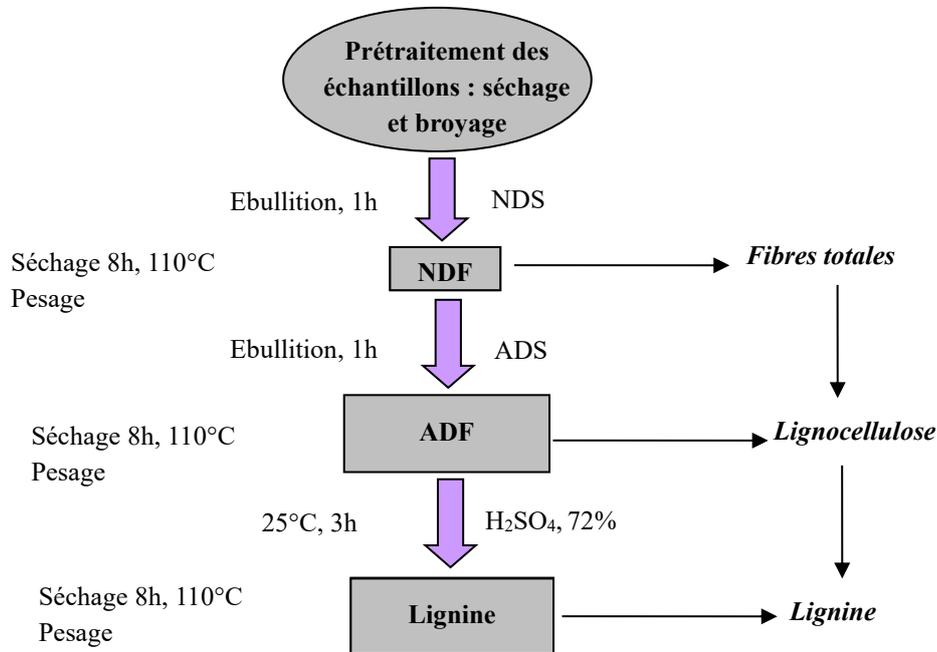


Figure 2.2 : Protocole d'estimation de la composition biochimique de la biomasse ([Van Soest, 1963](#))

Les échantillons ont été préalablement séchés par étuvage à 110°C pendant 24 heures de façon à obtenir une masse constante, puis broyés à une fine granulométrie (≤ 1 mm) à l'aide d'un ultra-turrax.

La détermination de la teneur en fibres brutes consiste à éliminer la fraction non fibreuse de la biomasse à l'aide d'une solution de détergent neutre (NDS, $\text{pH } 7 \pm 1$) constituée de Sodium Dodécyl Sulfate SDS (30 g/L) ; EDTA (18,61 g/L) ; Borate de sodium decahydraté (6,81 g/L) ; phosphate de sodium hydrogène anhydre (4,56 g/L) ; 2 éthoxyl éthanol (10 mL/L). Un g d'échantillon ($E = S$) a été pesé à l'aide d'une balance de précision et introduit dans un ballon réfrigéré (condenseur) puis 100 mL de NDS ont été ajoutés. Le mélange est porté à ébullition (95°C) pendant 1 heure à reflux, puis filtré sous vide à l'aide d'un fritté de taille 3 (40 – 90 μm) préalablement séché et pesé (F). Après filtration, les résidus solides ont été lavés trois fois à l'eau distillée bouillante et deux fois à l'acétone. Les résidus obtenus, constitués des fibres insolubles au détergent neutre (NDF) ont été séchés à 110°C pendant au moins 8 heures et pesés

(W1 = w1-F) après refroidissement dans un dessiccateur. La teneur en fibres totales, exprimée en pourcentage de matière sèche, a été calculée selon la **relation 2.4**.

$$Fibres\ totales = \left(1 - \left(\frac{S-W1}{S}\right)\right) * 100 \quad (2.4)$$

La détermination de la teneur en hémicellulose a été réalisée à partir des résidus insolubles secs issus des NDF, par élimination de la fraction « fibres solubles au détergent acide » (hémicellulose) à l'aide d'une solution de détergent acide (ADS). L'ADS est constituée de Céthyltriméthylammonium bromide (20 g/L) et d'acide sulfurique (0,5 mol/L). Les résidus secs de NDF ont été remis dans le ballon et 100 mL de ADS y ont été ajoutés. Le mélange est porté à 95°C pendant 1 heure à reflux puis filtré à nouveau. Les résidus solides ont été lavés trois fois à l'eau distillée bouillante et deux fois à l'acétone. Les résidus des fibres insolubles au détergent acide (ADF) ont été ensuite séchés à 110°C pendant au moins 8 heures puis refroidis dans l'atmosphère d'un dessiccateur et pesés (W2 = w2-F). La teneur en hémicellulose, exprimée en pourcentage de matière sèche, a été calculée selon la **relation 2.5**.

$$Hémicellulose = \left(\frac{W1-W2}{S}\right) * 100 \quad (2.5)$$

La teneur en cellulose a été déterminée à partir de la masse résiduelle des fibres ADF par digestion de sa fraction cellulosique à l'aide d'acide sulfurique 72%. A cet effet, les frittés contenant les résidus secs ont été trempés pendant 3 heures dans l'acide sulfurique 72% puis filtrés sous vide. Les résidus ont été lavés trois fois à l'eau distillée bouillante et deux fois à l'acétone. Ces résidus ont été ensuite séchés pendant au moins 8 heures à 110°C puis refroidis dans l'atmosphère d'un dessiccateur et pesés (W3 = w3-F). Les teneurs en cellulose et en lignine, exprimées en pourcentage de matière sèche, ont été déterminées selon les **équations 2.6 et 2.7**.

$$Cellulose = \left(\frac{W2-W3}{S}\right) * 100 \quad (2.6)$$

$$Lignine = \left(\frac{W3}{S}\right) * 100 \quad (2.7)$$

2.4. Détermination du pouvoir calorifique

Le pouvoir calorifique a été déterminé à partir des broyats secs des différentes fractions de biomasse selon la méthode de la bombe calorimétrique à l'aide d'un calorimètre isopéribole (calorimètre PARR 6400). Les fractions de biomasse ont été préalablement compressées (3 kPa, 1 min) sous forme des pastilles à l'aide d'une presse mécanique. Leur combustion complète (en présence d'oxygène sous pression) a été réalisée dans la bombe calorimétrique. La bombe est immergée dans l'eau d'un calorimètre de type isopéribole et la chaleur dégagée par la combustion est transmise à l'eau dont l'élévation de la température est mesurée. Le pouvoir calorifique peut alors être calculé sous forme de chaleur de combustion brute selon l'équation 2.8.

$$PCS = \frac{M * Ce * \Delta T - e_1 - e_2 - e_3}{m} \quad (2.8)$$

Où : **PCS** est le pouvoir calorifique supérieur d'échantillon (cal/g) ; **M** est la masse totale en eau du calorimètre (g) ; **Ce** est la capacité thermique massique de l'eau (1 cal/g.°C) ; **ΔT** (**T_{max}** – **T_{min}**) est l'augmentation de la température de l'eau (°C) ; **e₁**, **e₂** et **e₃** représentent respectivement la chaleur produite par la combustion de l'azote, du soufre et du fil fusible (cal) ; **m** est la masse de l'échantillon (g).

La masse totale en eau du calorimètre a été préalablement déterminée par la combustion d'une masse (m) d'acide benzoïque de PCS connu (PCS = 6319 cal/g) et la valeur de M a été calculée selon l'équation 2.9.

$$M = \frac{PCS * m}{\Delta T * Ce} \quad (2.9)$$

2.5. Analyse par diffraction au rayons X

La diffraction au rayons X est une technique largement utilisée pour déterminer la cristallinité de la BLC. L'analyse des fractions lignocellulosiques par diffraction au rayons X a été effectuée afin d'évaluer l'influence de procédés de fermentation sur la cristallinité de la biomasse. Les échantillons ont été préalablement lavés avec un détergent neutre (NDS) et rincés trois fois à l'eau bouillante afin d'éliminer la fraction non fibreuse puis séchés à 60°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Les échantillons séchés ont été scannés à l'aide du diffractomètre au rayon-X (X-ray diffractometer, PAN analytical X'PERT-PRO MRD, Philips) utilisant des rayonnements Cu-Kα₁ et Kα₂ de longueur d'onde 1.5406 et 1.5444 Å respectivement, avec une

tension de 40 kV et un courant de 44 mA. Les échantillons ont été scannés par balayage angulaire sur une plage de 2θ compris entre 5 et 90° avec un pas de $0,008^\circ$. L'indice de cristallinité a été calculé selon la formule proposée par [Segal et al. \(1959\)](#).

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (2.10)$$

Avec, **CrI** : Indice de cristallinité (%); **I₀₀₂** : Intensité maximale (en unités arbitraires) du pic de diffraction mesurée à $22,05^\circ 2\theta$; **I_{am}** : Intensité minimale de diffraction de la fraction amorphe (dans les mêmes unités) mesurée autour de $18,88^\circ 2\theta$.

2.6. Analyse au microscope électronique à balayage à émission de champ (FESEM)

Le suivi de la dégradation de la biomasse, particulièrement la structure morphologique des fibres de tiges avant et après fermentation a été réalisé par la microscopie électronique à balayage. Cette méthode permet de visualiser la texture, la porosité et les microstructures morphologiques de fibres. Les échantillons de fibre ont été déposés sur des talons à l'aide d'adhésifs en carbone et recouverts de platine (Quorum Q150 TES) afin d'obtenir des surfaces conductrices. Les observations ont été effectuées à l'aide d'un microscope électronique à balayage d'émission de champ (Regulus 8230, Hitachi, Japon) à 2 kV avec un détecteur d'électrons secondaires.

3. Extraction des sucres et composés phénoliques

Afin de faciliter l'extraction des sucres, les échantillons de biomasse ont été découpés et séchés par étuvage à 60°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Ils ont ensuite été broyés puis tamisés à une granulométrie de 1 mm. L'extraction des sucres hydrosolubles non structuraux a été effectuée par de l'eau chaude. A cet effet, 1 g de broyat des différentes fractions de tige a été placé dans un flacon puis 50 mL d'eau milli-Q ont été ajoutées et le mélange a été placé au bain-marie à 90°C pendant 90 min. La solution a ensuite été filtrée sous vide à l'aide d'un fritté de taille 3 ($40 - 90 \mu\text{m}$). Le filtrat a été collecté, congelé et utilisé ultérieurement pour le dosage des sucres hydrosolubles et sucres réducteurs totaux ainsi que pour la détermination du profil glucidique. Les résidus fibreux issus de la filtration ont été séchés par étuvage à 60°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante puis hydrolysés par de l'acide sulfurique (0,75 M) ([Latimer, 2023](#)). A cet effet, 0,2 g de résidus fibreux secs ont été placés dans un tube à essai bouché puis 5 mL d'acide sulfurique (0,75 M) y ont été ajoutés. Le mélange a été porté au bain-marie à 100°C pendant 90 min. L'hydrolysate a été ensuite centrifugé à 13 000 g pendant 10 min. Le

surnagent a été récupéré et neutralisé ($\text{pH} = 7 \pm 0,1$) par une solution de NaOH (10M), puis congelé et utilisé ultérieurement pour le dosage des sucres structuraux totaux.

Les composés phénoliques ont été extraits de la biomasse par une solution d'acétone 50% (Bahry, 2017). A cet effet, 1 g d'échantillon a été introduit dans un flacon et mélangé à 40 mL d'un mélange acétone/eau (50% v/v). Le mélange a été agité à température ambiante (20 – 22°C) pendant 60 min. La solution a été ensuite filtrée sous vide par un papier filtre Whatman 1. Le filtrat récupéré a été évaporé sous vide à l'aide d'un rotavapor et le volume perdu a été remplacé par de l'eau milli-Q.

4. Dosages colorimétriques

4.1. Dosage des sucres totaux

Les teneurs en sucres totaux (non structuraux et structuraux) de la biomasse ont été déterminées par la méthode de Dubois *et al.* (1956) utilisant le phénol et l'acide sulfurique. En milieu acide et à chaud, les pentoses (C_5) et hexoses (C_6) subissent une cyclisation pour donner respectivement le furfural et l'hydroxyméthyl furfural (**Figure 2.3**). Les composés ainsi formés interagissent avec le phénol pour former un complexe de coloration jaune - orange absorbant à 483 nm. Une gamme d'étalon de glucose a été réalisée avec des concentrations comprises entre 0,01 et 0,08 g/L à partir d'une solution mère de glucose de concentration 0,1g/L. Pour réaliser cette méthode 500 μL d'échantillon (ou de glucose pour l'étalon ou encore d'eau pour le blanc) ont été introduits dans un tube bouché en verre, 500 μL de phénol (50 g/L) et 2,5 mL d'acide sulfurique concentré (> 96%) ont été ajoutés puis incubés pendant 10 min à température ambiante. La solution a ensuite été vigoureusement homogénéisée au vortex pendant 10 secondes à 3000 rpm et incubée à nouveau pendant 15 min à température ambiante puis 30 min à 35°C au bain marie. L'absorbance à 483 nm est lue contre un témoin sans glucose et la quantité des sucres totaux de chaque prise d'essai est déterminée en se reportant sur la courbe d'étalonnage d'équation de régression (**équation 2.11**).

$$A = aQ + b \quad (2.11)$$

Avec, **A** : Absorbance ; **Q** : Quantité de sucres totaux ; **a** et **b** : Constantes à déterminer

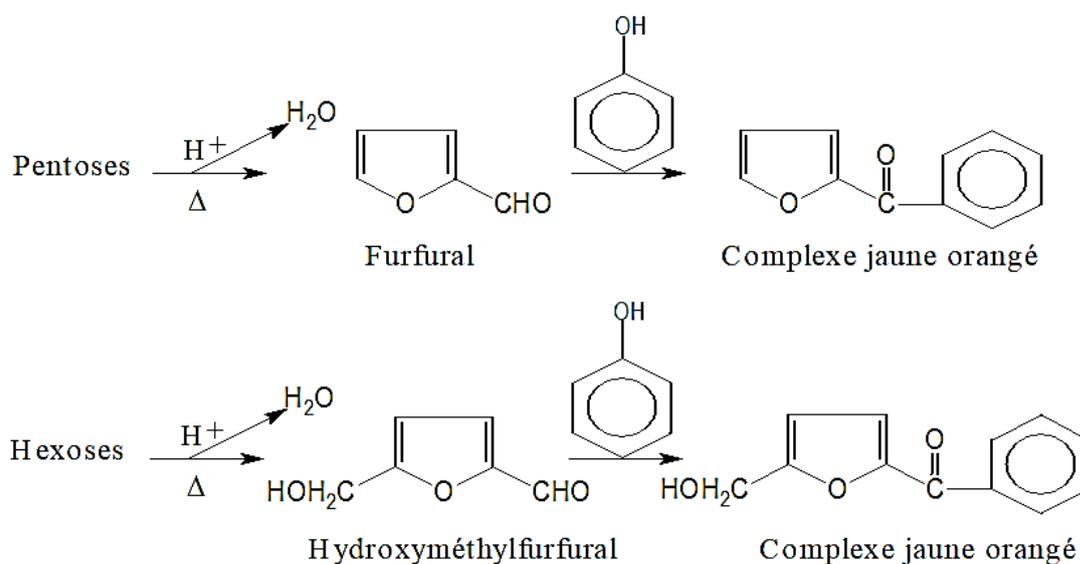


Figure 2.3 : Equation de la réaction des oses avec le phénol en milieu acide et à chaud (Dubois et al., 1956)

4.2. Dosage des sucres réducteurs

La teneur en sucres réducteurs a été déterminée par la méthode à l'acide bicinchoninique décrite par Waffenschmidt and Jaenicke (1987). En présence d'une extrémité réductrice, le couple L-sérine/Cu²⁺ est réduit en L-sérine/Cu⁺. Ce nouveau couple réagit avec le 2,2'-biquinoline-4,4'-dicarboxylique pour former un complexe pourpre qui absorbe à 540 nm. L'absorbance à cette longueur d'onde est proportionnelle à la concentration en sucres réducteurs dans la solution (Waffenschmidt and Jaenicke, 1987). Une gamme d'étalon de glucose a été préparée avec des concentrations comprises entre 0,001 et 0,008 g/L à partir d'une solution mère de glucose de concentration 0,1 g/L. Une solution appelée solution A a été préparée en mettant en solution 6,35 g de NaHCO₃; 2,42 g de Na₂CO₃ et 194,2 mg de 2,2'-biquinoline-4,4'-dicarboxylique dans 100 mL d'eau milli-Q QSP. Une solution B a également été préparée en dissolvant 124,8 mg de CuSO₄·5H₂O et 126,2 mg de L-Sérine dans 100 mL d'eau milli-Q QSP. Les solutions A et B, conservées séparément à 4°C à l'abri de la lumière sont stables 4 semaines. Deux cents μL d'échantillon, 800 μL d'eau milli-Q et 500 μL du mélange des solutions A et B (1/1, v/v) ont été introduits dans un tube bouchant et incubés à 100°C au bain-marie pendant 15 min. Le mélange est ensuite refroidi 5 à 10 min dans un bain d'eau à température ambiante. L'absorbance à 540 nm est lue contre un témoin sans glucose. La quantité de sucres réducteurs de chaque prise d'essai est déterminée en se reportant sur la courbe d'étalonnage d'équation de régression (équation 2.12) :

$$A = aQ + b \quad (2.12)$$

Avec, **A** : Absorbance ; **Q** : Quantité de sucres réducteurs ; **a** et **b** : Constantes à déterminer

4.3. Dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques présents dans les extraits ont été dosés par le réactif de Folin Ciocalteu selon le protocole décrit par [Gutfinger \(1981\)](#). Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{24}$) et d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) qui par réduction lors de l'oxydation des phénols donne un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de Molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue obtenue absorbe à 725 nm proportionnellement à la concentration en composés phénoliques dans la solution. Une gamme étalon a été préparée avec des solutions d'acide gallique de concentrations comprises entre 0,1 et 0,8 g/L. Pour réaliser le dosage, 0,1 mL d'échantillon ont été introduits dans un tube et additionné de 4,9 mL d'eau milli-Q et 0,5 mL du réactif de Folin Ciocalteu. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 3 min. Un mL d'une solution saturée de carbonate de sodium Na_2CO_3 (35%) a été ajouté. Le mélange a été alors vortexé et dilué avec 3,5 mL d'eau milli-Q puis incubé à température ambiante pendant 1 heure. L'absorbance a été mesurée à 725 nm. Les teneurs en composés phénoliques des prises d'essai, sont exprimées en g/L (grammes équivalent d'acide gallique / litre) par référence à la courbe de la gamme d'étalonnage d'équation de régression (**équation 2.13**) :

$$A = aQ + b \quad (2.13)$$

Avec, **A** : Absorbance ; **Q** : Quantité d'acide gallique ; **a** et **b** : Constantes à déterminer.

4.4. Dosage enzymatique des sucres

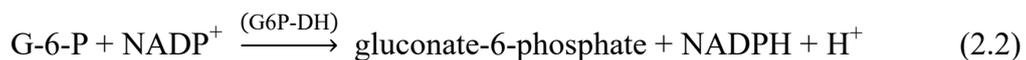
La teneur en sucres hydrosolubles (glucose, fructose et saccharose) a été également déterminé par dosage enzymatique. Le dosage a été réalisé à l'aide d'un kit de dosage de saccharose, D-Fructose et D-Glucose (kit K-SUFRG, Megazyme, Bray Business Park Bray, Co. Wicklow A98 YV29, Ireland) selon le protocole décrit ([Outlaw and Mitchell, 1988](#) ; [Beutler, 1988](#) ; [Kunst et al., 1988](#)). Le kit est composé d'une solution tampon I (25 mL, 2 M, pH 7,6) plus NaN_3 à 0,02% (m/v) jouant le rôle de conservateur ; d'un flacon de poudre de $NADP^+$ plus ATP ; d'une solution (4,1 mL) d'hexokinase plus glucose-6-phosphate déshydrogénase ; d'une solution (2,25 mL) de phosphoglucose isomérase ; d'une solution de référence de D-glucose plus D-fructose (5 mL, 0,2 mg/mL de chaque sucre) ; et d'un flacon de poudre lyophilisée de β -Fructosidase (pH 4,6). Les extraits glucidiques ont été préalablement filtrés sur du papier filtre

Whatman N°1 et la concentration du D-glucose est déterminée avant et après hydrolyse du saccharose par la β -fructosidase (invertase). Les teneurs en D-fructose des échantillons ont été déterminées après dosage du D-glucose et isomérisation par la phosphoglucose isomérase (PGI).

A pH 7.6, l'hexokinase (HK) catalyse la phosphorylation du D-glucose par l'ATP en glucose-6-phosphate (G-6-P), avec formation simultanée d'ADP selon la **réaction 2.1**.



En présence de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH), le G-6-P est oxydé en gluconate-6-phosphate avec formation concomitante de NADPH (**réaction 2.2**).



La quantité de NADPH formée au cours de cette réaction est stœchiométrique avec la quantité de D-glucose. C'est le NADPH qui est mesuré par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

L'hexokinase catalyse également la phosphorylation du D-fructose en F-6-P. Le donneur de P étant l'ATP (**réaction 2.3**)

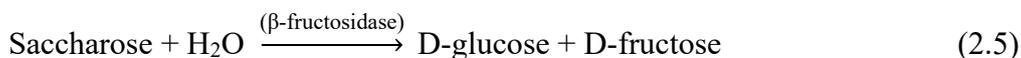


Le F-6-P est ensuite converti en G-6-P par la PGI (**réaction 2.4**).



Le G-6-P réagit à son tour avec le NADP^+ pour former du gluconate-6-phosphate et du NADPH, ce qui conduit à une nouvelle augmentation de l'absorbance, stœchiométrique avec la quantité de D-fructose.

Par ailleurs, à pH 4.6, le saccharose est hydrolysé par la β -fructosidase en D-glucose et D-fructose selon la **réaction 2.5**.



Le D-glucose de l'échantillon, après hydrolyse du saccharose (D-glucose total), a été dosé tel que décrit ci-dessus.

La teneur en saccharose est calculée à partir de la différence des concentrations de D-glucose avant et après hydrolyse par la β -fructosidase.

Les concentrations en D-glucose, en saccharose et en D-fructose ont été calculées par l'**équation 2.14** :

$$C = \left(\frac{V * MW}{\epsilon * d * v} \right) * \Delta A \quad (2.14)$$

Avec : **C** = concentration (g/L) ; **V** = volume final (mL) ; **Mw** = masse molaire de la substance dosée (g/mol) ; ϵ = coefficient d'extinction du NADPH à 340 nm ($\text{L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) ; **d** = trajet optique (cm) ; **v** = volume de l'échantillon (mL) et ΔA = les différences d'absorbance entre l'échantillon et le blanc, à déterminer pour chacune des substances dosées.

5. Méthodes chromatographiques

5.1. Chromatographie Echangeuse d'Anions Haute Performance (CEAHP)

Les profils glucidiques des échantillons (sucres hydrosolubles et hydrolysats des fractions lignocellulosiques) ont été déterminés par la méthode de chromatographie échangeuse d'anions haute performance (CEAHP). A des pH supérieurs au pKa des fonctions hydroxyles des oses (-OH), ces dernières peuvent s'ioniser en oxyanions ou alcoolates ($-\text{O}^-$). Sous cette forme, ils peuvent être séparés selon leur affinité avec une phase stationnaire constituée d'ammoniums quaternaires qui jouent le rôle d'échangeurs d'anions. L'analyse par CEAHP couplée à la détection par ampérométrie pulsée (DAP) consiste à séparer des anions sur une colonne échangeuse d'anions et de détecter leurs groupements oxydables. Le principe consiste à mesurer le courant électrique généré par les molécules oxydées à la surface d'une électrode en or. L'appareillage (**Figure 2.4**) est une chaîne de chromatographie ionique ICS 3000 (Dionex Corporation, Sunnyvale (CA), USA) composée d'un module de pompe pouvant fonctionner en

gradient, d'une électrode de référence Ag/AgCl et d'un détecteur ampérométrique pulsé (DAP) couplé à une électrode de référence en or. La phase stationnaire est constituée de billes de polystyrène et divinylbenzène de 10 μm de diamètre sur lesquelles sont agglomérées des particules fonctionnalisées par des groupements NR_4^+ . Elle supporte des pressions de 275 bars dans une gamme de pH de 0 à 14. L'élution des échantillons se fait en mode isocratique par une solution de NaOH décarbonatée à 16 mM pendant 20 min à un débit de 0,5 mL/min. Après chaque élution, une chasse de 30 min avec une solution de NaOH à 100 mM était réalisée pour éluer les éventuels contaminants encore en interaction avec la phase stationnaire. Avant chaque analyse la colonne était équilibrée pendant 10 min avec la solution de NaOH 16 mM. Tous les échantillons ont été filtrés à 0,22 μm avant injection. Les injections (25 μL) sont réalisées en triplicata. L'acquisition des données et leur traitement sont réalisés par le logiciel chromeleon (version 6.8).



Figure 2.4 : *Chaine de chromatographie ionique ICS 3000 (Dionex)*

5.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

La consommation du glucose (témoin glucose) et la production des métabolites fermentaires (acides gras volatils, éthanol, glycérol, etc.) ont été suivies par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance (1260 Infinity Quaternary LC system, Agilent Technology, Palo Alto, CA, USA)). Deux colonnes d'exclusion ioniques (Rezex ROA 300 \times 7.8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) connectées en série dans un four thermostaté à 50°C et couplée à un réfractomètre (HP série 1100, Agilent Technologies, USA) ont permis de quantifier et d'identifier les différents composés (éthanol, glucose, acides organiques, glycérol, etc.). La phase mobile est constituée d'une solution d'acide sulfurique (2 mM) dans de l'eau ultrapure

(Millipore, MilliQ plus). Le débit de la phase mobile dégazée aux ultrasons (Ney, Ultrasonik 300) est de 0,7 mL/min sous une pression de 70 bars (7000 KPa). La boucle d'injection de 10 μ L est associée à un injecteur automatique thermostaté à 4°C. Avant injection les échantillons ont été préalablement déprotéinisés. Pour ce faire, 125 μ L d'une solution de Ba(OH)₂·8H₂O (0.3 M) et 125 μ L d'une solution de ZnSO₄·7H₂O (5% m/v) ont été mélangées à 1 mL d'échantillon. Après centrifugation à 10 000 g pendant 10 min le surnageant a été filtré à 0,2 μ m (Chromafil, Steinheim, Germany) avant d'être analysé.



Figure 2.5 : Chaine de Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance CLHP

6. Hydrolyse enzymatique de la biomasse

Deux cocktails enzymatiques de liquéfaction ont été testés pour la saccharification des différentes fractions lignocellulosiques. Le Viscozyme L, qui est un mélange d'enzymes cellulolytiques composée d'arabinase, cellulase, β -glucanase, hemicellulase et xylanase d'*Aspergillus sp.*, ayant une activité enzymatique ≥ 100 Fungal Beta-Glucanase Units (FBGU)/g et le Celluclast 1.5 L, qui est un mélange liquide de cellulase contenant des exo et endocellulases, des β -glucosidases et des hémicellulases de *Trichoderma reesei* (activité enzymatique ≥ 700 units/g). Afin de déterminer les conditions optimales d'hydrolyse, des concentrations de broyats de granulométrie $\leq 0,5$ mm de 2%, 5% et 10% (m/v) ainsi que des concentrations en enzymes de 15, 30 et 45 U/g MS (Celluclast) et 15, 30 et 45 FBGU/g MS (Viscozyme) ont été testées. L'hydrolyse a été réalisée dans des réacteurs Radleys (Radleys

reactor, Carousel 6 Plus Reaction Station) de 250 mL avec des volumes de travail de 200 mL (**Figure 2.6**). Le système a été agité à 500 rpm et les températures ont été fixées à 44°C et 50°C respectivement pour le Viscozyme et le Celluclast. Un témoin sans enzyme a été réalisé en parallèle. Afin de suivre la cinétique d'hydrolyse, des prélèvements ont été effectués toutes les 2 heures pour les 10 premières heures, puis au bout de 24 et 48 heures. Les échantillons prélevés ont été soumis à un choc thermique instantané à 100°C pendant 10 min de bain marie sec afin de stopper la réaction d'hydrolyse. Ils ont été ensuite centrifugés (13000 g, 10 min) et les surnageants ont été utilisés pour les dosages des sucres totaux et les sucres réducteurs selon les méthodes de [Dubois *et al.* \(1956\)](#) et [Waffenschmidt and Jaenicke \(1987\)](#) respectivement (protocoles décrits en **sections 4.1** et **4.2**).



Figure 2.6 : Dispositif expérimental d'hydrolyse enzymatique de la biomasse (Radleys reactor)

7. Détermination de potentiel méthanogène des différentes fractions de la biomasse

Afin d'étudier et comparer l'efficacité et les rendements de conversion énergétique des différents procédés : méthanisation simple, fermentation éthanolique simple et couplage fermentation/méthanisation, le potentiel méthanogène a été déterminé sur le broyat de la tige entière brute avant fermentation éthanolique ainsi que sur les résidus solides issus de cette même fermentation. Le potentiel méthanogène des résidus lignocellulosiques issus de la fermentation sombre a été également déterminé afin de comparer les performances énergétiques des procédés : fermentation sombre, méthanisation et couplage fermentation sombre/méthanisation. La détermination du potentiel méthanogène des résidus de fermentation sombre permet également d'étudier l'influence du consortium bactérien utilisé sur la fraction fibreuse de biomasse. La méthanisation a été réalisée dans un réacteur agité d'un volume total

de 2 litres avec 1,4 litre de volume de travail. Le substrat a été inoculé par un consortium issu du digestat de l'unité de méthanisation Méthelec (Clermont-Ferrand). Les tests ont été réalisés dans des conditions mésophiles ($37 \pm 1^\circ\text{C}$), avec une vitesse d'agitation de 120 rpm. Le potentiel méthanogène et la qualité du gaz (volume, composition du biogaz) ont été déterminés selon la méthode de l'agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME), décrite par l'étude interlaboratoires français pour l'harmonisation des protocoles de mesure du potentiel bio-méthanogène (Biological Methane Potential) des matrices solides hétérogènes (Ribeiro *et al.*, 2020). Les expériences ont été effectuées en triplicat et les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart type.

8. Production du bioéthanol 2G

8.1. Souche de levure utilisée

La fermentation a été réalisée en utilisant *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754. Elle a été fournie sous forme de lyophilisat, reprise dans de l'eau milli-Q stérile et étalée sur gélose YM-agar (yeast Medium, Difco 0712-01-8) puis incubée à 28°C pendant 24 heures. La souche a été ensuite conservée à 4°C et repiquée sur boîte de pétri 24 heures avant d'être utilisée en milieu liquide (Bahry *et al.*, 2017).

8.2. Composition du milieu et préculture

Le milieu de culture utilisé est celui décrit par Kristiansen (1994) dont la composition de base ainsi que celle des autres éléments nutritifs additionnels (sels (S), traces (T) et vitamines (V)) sont présentées dans le **tableau 2.1**. La solution Sels-Traces-Vitamines (STV) a été préparée en concentration (x100) par rapport aux concentrations finales attendues dans le milieu de culture. Elle a été ensuite stérilisée par filtration à l'aide des filtres de $0,2 \mu\text{m}$ (Unité de filtration Stéritop $0,20 \mu\text{m}$, Merck Millipore, Allemagne) et récupérée dans une bouteille préalablement autoclavée puis conservée à 4°C .

Tableau 2.1 : Composition du milieu de culture de *Saccharomyces cerevisiae*

Milieu de base	
Eléments	Concentration (g.L ⁻¹)
Glucose	50
Extrait de levure	3
KH ₂ PO ₄	5
(NH ₄) ₂ SO ₄	2
Sels (S)	
Eléments	Concentration (mg.L ⁻¹)
KCL	120
CaCl ₂ , 2H ₂ O	60
MgCl ₂ , 6H ₂ O	520
FeSO ₄ , 6H ₂ O	35
MnSO ₄ , H ₂ O	3,8
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,5
Traces (T)	
Eléments	Concentration (µg.L ⁻¹)
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	2,3
CoSO ₄ , 7H ₂ O	2,3
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	3,3
H ₃ BO ₃	7,3
KI	1,7
NiSO ₄ , 6H ₂ O	2,5
Vitamines (V)	
Eléments	Concentration (mg.L ⁻¹)
Thiamine HCl	5
Pyridoxine HCl	6,25
Acide nicotinique	5
D-biotine	0,125
Ca D-pantothenate	6,25
Myoinositol	125

Les précultures ont été réalisées dans des Erlenmeyers piqués de 500 mL avec 200 mL de volume de travail. A cet effet, les Erlenmeyers contenant la solution du milieu de base ont été stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 20 min puis 2 mL de la solution STV et quelques gouttes d'antimousse ont été ajoutés après refroidissement. Les milieux ont été ensuiteensemencés par des colonies de *Saccharomyces cerevisiae* prélevées sur boîte de Pétri, de façon à obtenir une densité optique initiale comprise entre 0,1 et 0,2 (spectrophotométrie à 600 nm). La préculture a été incubée à 30°C sous agitation (200 rpm) pendant 12h avant d'être utilisée pour l'ensemencement des différents milieux de cultures.

8.3. Culture en Erlenmeyer

8.3.1. Essai de fermentation des différentes fractions de biomasse

Des essais de fermentation ont été réalisés sur différentes fractions (broyats de tiges entières, broyats de moelle et jus) de biomasse afin d'étudier et comparer l'efficacité et la performance des procédés de production de bioéthanol. A cet effet, une partie de la tige a été épluchée et le jus a été extrait à partir de la moelle par pressage mécanique. La tige entière et la moelle ont ensuite été découpées et séchées par étuvage à 60°C jusqu'à obtention d'une masse constante puis broyées à une granulométrie de 1 mm (**Figure 2.7**).

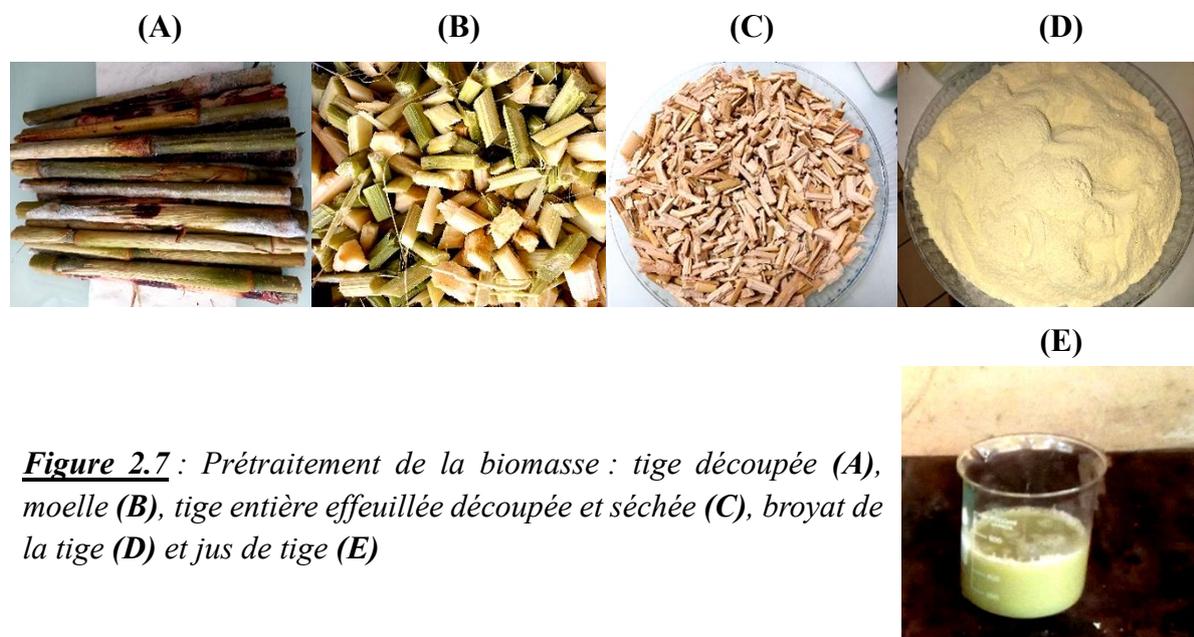


Figure 2.7 : *Prétraitement de la biomasse : tige découpée (A), moelle (B), tige entière effeuillée découpée et séchée (C), broyat de la tige (D) et jus de tige (E)*

Ces tests de fermentation préliminaires ont été réalisés dans des Erlenmeyers de 500 mL contenant 200 mL de volume de travail. Les différents milieux de culture étaient composés de 10% (m/v) de biomasse additionnés d'éléments nutritifs additionnels tels que décrits par

Kristiansen (1994) à l'exception du glucose (**Tableau 2.1**). Les milieux de cultures ont été ensuite stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 20 min, puis 2 mL de la solution STV et quelques gouttes d'antimousse ont été rajoutés après refroidissement. Les milieux ont été inoculés avec un volume de 10% (v/v) d'une préculture de *Saccharomyces cerevisiae* en phase de croissance exponentielle puis incubés à 30°C sous agitation (200 rpm). Les prélèvements des milieux (5 mL) ont été effectués toutes les 2 heures pour le suivi de la cinétique de culture.

8.3.2. Saccharification et fermentation de la biomasse prétraitée

A l'issue des tests préliminaires d'hydrolyse avec les deux enzymes, le Viscozyme a été choisi pour la suite de saccharification de la biomasse en raison de son rendement élevé comparé au Celluclast. Les conditions optimales d'hydrolyse obtenues avec 10% (m/v) de charge en biomasse combinée à une charge enzymatique de 45 FBGU/g MS de biomasse, ont été utilisées. L'hydrolyse a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires de 44°C et 500 rpm d'agitation dans des réacteurs de 250 mL pour des volumes de travail de 200 mL. Les échantillons ont été incubés pendant 24 heures et les hydrolysats obtenus après l'étape de saccharification ont été transférés dans des Erlenmeyers de 500 mL, puis enrichies par des éléments nutritifs additionnels tel que décrit par Kristiansen (1994) à l'exception du glucose. Après autoclavage à 121°C pendant 20 min, 2 mL de la solution STV et quelques gouttes d'antimousse ont été ajoutés après refroidissement. Les milieux ont ensuite été inoculés avec un volume de 10% (v/v) d'une préculture de *Saccharomyces cerevisiae* en phase de croissance exponentielle. La fermentation a été réalisée dans les mêmes conditions que celles décrites dans la **section 8.3.1** contre un témoin de biomasse non prétraité. Les prélèvements de milieu de culture ont été effectués toutes les 2 heures pour le suivi de la cinétique de culture.

8.4. Culture en bioréacteur

La fermentation a été réalisée dans un réacteur aéré et agité d'un volume total de 6 litres (Global Process Concept, GPC-Bio, La Rochelle, France) avec 4 litres de volume de travail. L'unité de fermentation (**Figure 2.8**) comprend : une cuve en verre stérilisable à l'autoclave, une platine supérieure en inox qui supporte le système d'aération et des orifices d'injection des liquides correcteurs et des substrats en cours de culture à l'aide de 3 pompes péristaltiques, une sonde pH (Ingold, 10 405 4482), une sonde température (Pt 100), une sonde à oxygène dissous (Ingold, 34 100 3003), une sonde antimousse permettant de réguler le niveau de mousse, une canne plongeante pour effectuer les prélèvements, un système d'agitation, un système de régulation de température, une sortie pour l'effluent gazeux équipée d'un condenseur refroidi à 4°C. Le fermenteur est alimenté par un circuit d'air comprimé à 2 bars préalablement séché

par un passage à travers une bouteille contenant un composé dessiccant (CaSO_4 anhydre) puis filtré avant d'entrer dans le fermenteur. Le débit d'alimentation est régulé par un débitmètre massique (Tylan FC 261). A la sortie du fermenteur, l'effluent gazeux est refroidi, filtré et comprimé. Le suivi de la consommation en oxygène et la production de CO_2 est ainsi assuré par un analyseur O_2/CO_2 (ZRE gas analyser, Fuji Electric, Japan). Les différentes sondes (pH, pO_2 , température, sonde de niveau), ainsi que les analyseurs de gaz et le débitmètre massique délivrent des signaux à l'unité de contrôle digital (Micro DCU 300, GPC, La Rochelle, France). A partir des informations provenant des différents capteurs, la DCU régule et contrôle les différents paramètres (régulation du pH, température, vitesse d'agitation et débit d'aération) par l'intermédiaire de régulateurs de type PID. L'acquisition est pilotée par un logiciel, C-Bio (GPC, La Rochelle, France) implanté sous Windows NT auquel ont notamment été incorporés les calculs de bilan gazeux permettant de suivre l'évolution des vitesses de respiration au cours du temps. Le logiciel permet aussi de transformer le micro-ordinateur en poste de pilotage du fermenteur par l'intermédiaire de la DCU.

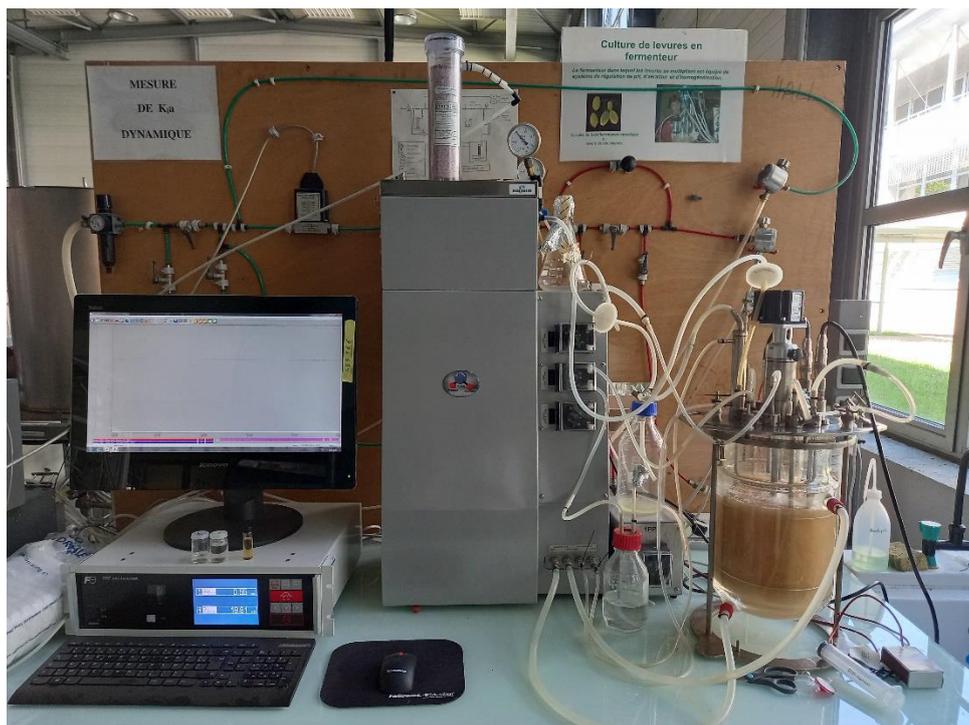


Figure 2.8 : Unité de fermentation (Global Process Concept, GPC-Bio)

Les différents milieux de culture étaient composés de 10% (m/v) de la fraction de biomasse correspondant (broyat de tige ou de moelle) ou du jus suffisamment dilué, enrichis par des éléments nutritifs additionnels tels que décrits par [Kristiansen \(1994\)](#) à l'exception du glucose. Un témoin glucose a été réalisé en parallèle. Le réacteur (6 litres de volume total avec 4 litres

de volume de travail) contenant le milieu de cultures a été stérilisé par autoclavage à 121°C pendant 20 min. A l'issue de l'autoclavage, les différentes sondes ont été connectées et le réacteur a été placé sous agitation et le milieu saturé en oxygène (aération). Quarante mL de la solution STV et quelques gouttes d'antimousse ont été rajoutés après refroidissement. Le réacteur a été ensuite ensemencé avec un volume de 10% (v/v) d'une préculture de *Saccharomyces cerevisiae* en phase exponentielle de croissance. La température a été réglée à 30°C, l'aération fixée à 1,5 L/min et l'agitation à 500 rpm. Le pH a été contrôlé à 5 par l'ajout automatique d'une solution de NaOH 2M. Des prélèvements ont été effectués toutes les 2 heures (broyats tige effeuillée et moelle) ou toutes les heures (jus du sorgho et témoin glucose) pour le suivi de la cinétique de la culture.

8.5. Suivi de culture

La culture a été suivie grâce à quatre paramètres : la production d'éthanol, la consommation des sucres fermentescibles, la croissance microbienne et la composition en carbone et azote total. La production d'éthanol et la consommation du glucose (témoin glucose) ont été suivies par CLHP (**section 5.2**). La consommation des sucres totaux (broyats tige entière, moelle et jus) a été suivie par la méthode de dosage de [Dubois *et al.* \(1956\)](#) utilisant le phénol et l'acide sulfurique (**section 4.1**). La croissance microbienne (témoin glucose et jus) a été suivie par spectrophotométrie (A_{600}) à l'aide d'un spectrophotomètre (Biomate 3S, UV-visible spectrophotometer, Thermo Scientific, Lyon, France). Les échantillons ont été dilués ($DO < 0,4$) afin d'obtenir une absorbance réellement proportionnelle à la concentration de biomasse microbienne présente dans l'échantillon. La quantité de biomasse sèche des échantillons a été déterminée par mesure de masse sèche des suspensions de levures. Pour ce faire, un volume connu de prélèvement a été filtré sous vide sur un filtre de porosité 0,45 μm (acétate de cellulose 0,45 μm) préalablement séché et pesé. Le filtre et son contenu humide ont été ensuite séchés par étuvage à 110°C pendant 24h de façon à obtenir une masse constante, puis pesés après refroidissement dans un dessiccateur. La concentration en biomasse sèche a été déterminée en calculant la différence de masse du filtre avant et après filtration ramenée au volume filtré. Une corrélation linéaire a été ensuite établie entre la densité optique et la concentration de biomasse microbienne. Le suivi de l'évolution de la composition en carbone et azote total a été effectué par l'analyse des échantillons au COT/NT. L'appareil est équipé d'un injecteur automatique OCT-1 (8-port sampler Shimadzu) qui prélève et injecte les échantillons dans un four chauffé à 720°C en présence d'un catalyseur. Le carbone et l'azote contenus dans l'échantillon sont totalement oxydés sous forme de CO_2 et NO_x . Il est muni de deux unités de détection dont la

première (TOC-V CSN, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon) analyse la concentration en carbone total et la seconde (Total Nitrogen Measuring Unit (TNM-1)) analyse la concentration en azote total. L'acquisition des données et leur traitement sont réalisés par le logiciel TOC-V software. Avant l'injection, les échantillons ont été préalablement centrifugés et le surnageant a été récupéré et dilué avec de l'eau ultra pure de façon à obtenir des concentrations comprises entre 0 et 100 ppm pour l'azote et 0-1000 ppm pour le carbone.

9. Production de biohydrogène par fermentation sombre

9.1. Consortium bactérien

Le consortium bactérien utilisé est issu de la collection de cultures de l'axe-GePEB (Institut Pascal, Université Clermont Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France). Le consortium avait été prélevé de boues de station d'épuration et soumis à un pré-traitement thermochimique au 2-bromoéthanesulfonate (10 mM) afin d'éliminer les Archées productrices du méthane. Ensuite il a été repiqué plusieurs fois (à 10% (v/v)) jusqu'à stabilisation (production d'hydrogène reproductible et constante) avant d'être stocké à 4°C. Le consortium isolé est repiqué mensuellement (Noblecourt *et al.*, 2017). Des analyses PCR ont été effectuées pour déterminer la population microbienne du consortium. Ces analyses ont révélé une faible diversité constituée principalement de *Clostridium sp.*, comme genre dominant (environ 94 à 99%). La souche la plus abondante était la souche *Clostridium butyricum* CDC-51208 (Noblecourt *et al.*, 2017).

9.2. Composition du milieu et préculture

Le milieu de culture était adapté de Noblecourt *et al.* (2017). Pour faciliter la préparation de ce milieu de culture, 4 solutions minérales ont été préalablement préparées en grande quantité et stockées à 4°C. Les compositions des différentes solutions minérales et celle du milieu de culture sont présentées respectivement dans les **tableaux 2.2** et **2.3**. Le substrat était constitué du broyat de tige entière à différentes charges en biomasse ou du glucose à 20 et 40 g/L respectivement pour la préculture et le témoin glucose.

Tableau 2.2 : Composition des solutions minérales

	Eléments	Concentration (g.L⁻¹)
Solution 1	K ₂ HPO ₄	18
	KH ₂ PO ₄	18
Solution 2	(NH ₄) ₂ SO ₄	72
	NaCl	12
Solution 3	MgSO ₄ , 7H ₂ O	1,2
	CaCl ₂ , 2H ₂ O	1,2
	MnSO ₄ , 6H ₂ O	0,15
	CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,015
	FeSO ₄ , 7H ₂ O	0,4
Solution 4	H ₃ BO ₃ , H ₂ O	6
	ZnCl ₂	8,2
	NiCl ₂ , 6H ₂ O	2,6
	CuCl ₂ , 2H ₂ O	1,5
	Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	2,6
	FeCl ₂ , 4H ₂ O	75

Tableau 2.3 : Composition du milieu de culture du consortium bactérien

Milieu de culture	
Eléments	Concentration (% (v/v))
Solution 1	7,5
Solution 2	7,5
Solution 3	0,02
Solution 4	5
Solution de biotine 1 g/L	0,02
Solution de PABA 1 g/L	0,01
Solution d'hémine 1 g/L	0,1
Solution de résazurine 1 g/L	0,1
H ₂ O	79,3
Eléments additionnels	
	Concentration (% (m/v))
Na ₂ CO ₃	0,4
L-cystéine	0,05

Les précultures ont été réalisées dans des bouteilles anaérobies de 100 mL avec 90 mL de volume de travail. Le milieu a été préparé et reparti dans des bouteilles puis fermées par un septum et serties. Les milieux de culture ont été ensuite stérilisés (121°C pendant 20 min) puis refroidis à 60°C et flushés de façon stérile avec du CO₂. Les solutions de L-cystéine et de NaCO₃ ont été rajoutées de façon stérile au moyen d'un filtre de porosité 0,22 µm sous flux de CO₂ afin de faciliter la réduction du milieu. La biotine a été rajoutée quand la température atteignait 35°C (**Figure 2.9**). Après 10 min de réduction sous flux de CO₂, le milieu a été inoculé à 10% (v/v) avec une préculture en phase exponentielle de croissance puis incubé pendant 30h à 35°C sous agitation (150 rpm).

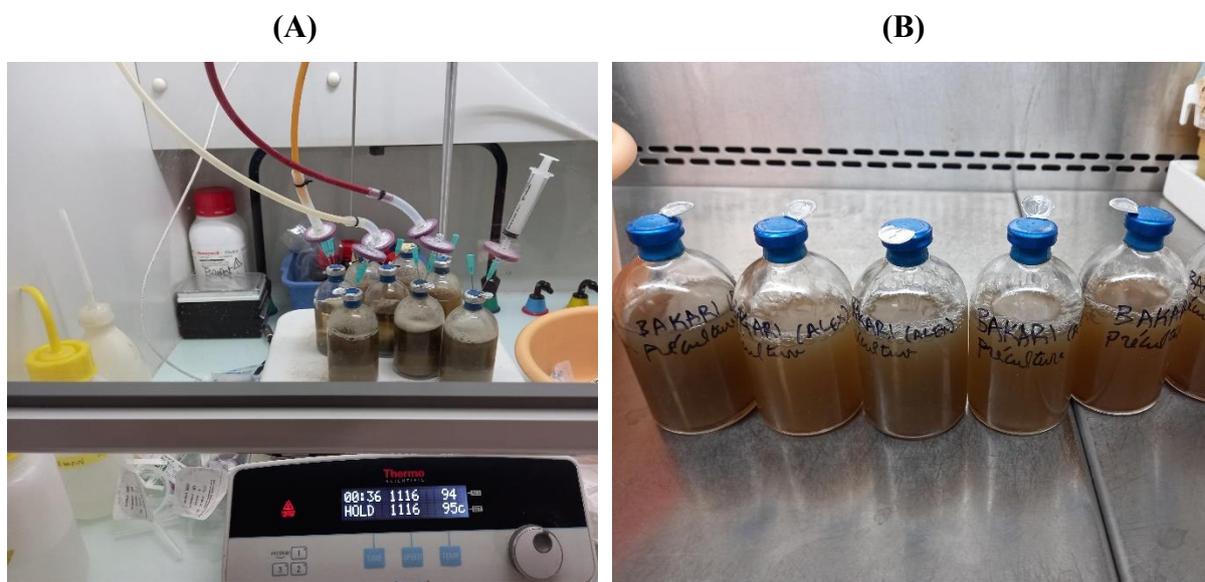


Figure 2.9 : Préparation du milieu de préculture avant (A) et après (B) incubation

9.3. Mise en culture

La fermentation sombre a été réalisée dans un réacteur de 3L à l'aide du dispositif Bionet engineering (Bionet F1-Twin BCU, ROSITA Bioprocess SW, Murcia, Spain) avec 2,5L de volume de travail. Le réacteur est une cuve en verre stérilisable à l'autoclave et dotée d'un jacket externe conçue pour la régulation de température et d'une platine supérieure en inox qui supporte le système d'agitation, les orifices d'injection des liquides correcteurs, les sondes (pH, température, potentiel redox, niveau de mousse, etc.). Cette platine dispose d'un tube plongeant pour effectuer des prélèvements, d'un système d'agitation, d'une sortie pour l'effluent gazeux équipée d'un condenseur refroidi à 5°C. Le dispositif (**Figure 2.10**) permet le suivi de deux cultures en parallèle grâce à deux cuves reliées à l'unité de contrôle. En effet, cette unité de

contrôle ou Bioreactor Control Unit (BCU) peut fonctionner en mode simple ou double commande (contrôle simultané de 2 réacteurs). La BCU dispose de 6 pompes péristaltiques dont 3 par réacteur, d'un système d'alimentation des réacteurs en gaz (air, N₂, CO₂, O₂). Elle assure également le contrôle et la régulation des différents paramètres (température, pH, vitesse d'agitation, niveau de mousse, potentiel redox, etc.). L'acquisition est pilotée par le logiciel ROSITA Bioreactor Control Software. Le logiciel ROSITA peut contrôler plusieurs bioréacteurs simultanément (multi-bioreactor).

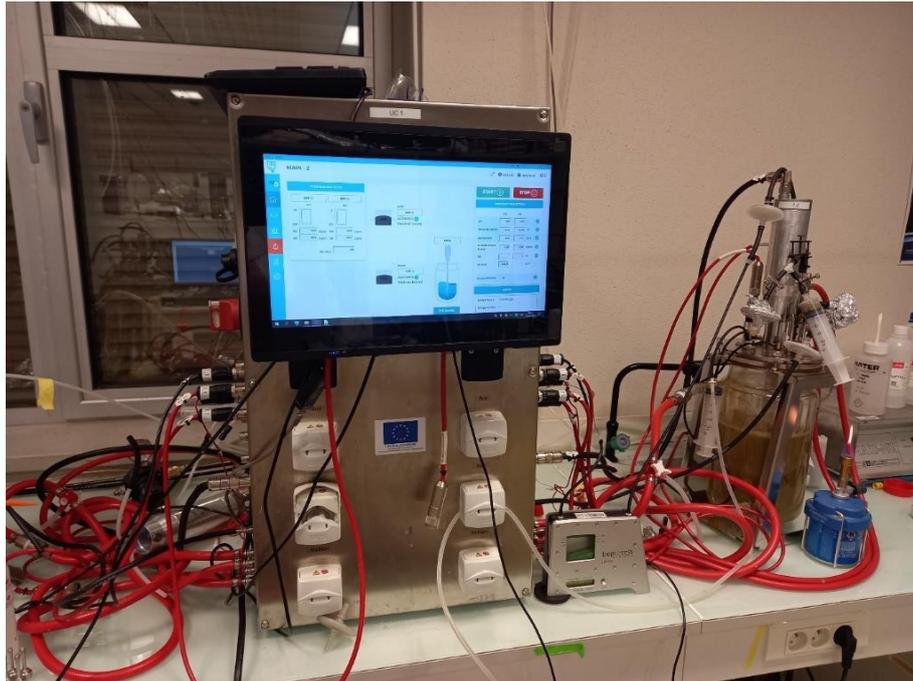


Figure 2.10 : Unité de fermentation sombre (Bionet F1-Twin BCU, ROSITA Bioprocess SW)

La fermentation sombre a été effectuée sur le broyat de tiges entières afin de limiter les opérations de fractionnement et de prétraitement de la biomasse. Trois différentes charges en biomasse (5%, 10% et 15% (m/v)) ont été testées (granulométrie ≤ 0.5 mm). Un témoin glucose a été réalisé en parallèle. Le réacteur contenant le milieu de culture a été stérilisé (121°C pour 20 min) puis flushé de façon stérile avec du CO₂. Les solutions de L-cystéine et de NaCO₃ ont été rajoutées de façon stérile à l'aide d'un filtre de porosité 0,22 μ m sous flux de CO₂ afin de faciliter la réduction du milieu, puis la biotine a été rajoutée quand la température atteignait 35°C. Le réacteur a été inoculé à 10% (v/v) avec une préculture en phase exponentielle de croissance. La température a été réglée à 35°C avec une vitesse d'agitation de 150 rpm et le pH a été fixé à 6 par l'ajout automatique d'une solution de NaOH 3M. Des échantillons ont été prélevés toutes les 5h pour le suivi de la consommation en sucre, de la production d'acides gras volatils et de la dégradation de la fraction lignocellulosique de la biomasse. La sortie de la phase

gazeuse du réacteur a été connectée à un système d'analyse en ligne en temps réel permettant de déterminer le débit, le volume total et la composition des gaz produits.

En effet, la cinétique de production du biogaz notamment le débit et le volume de production a été suivie à l'aide d'un débitmètre de gaz (Bioprocess μ Flow control, Lund, Sweden) connecté à un système d'acquisition et d'analyse des données en ligne et en temps réel (Bioprocess Control). La sortie du débitmètre a été connectée à un système de chromatographie en phase gazeuse en ligne et en temps réel (2-Module chassis, Inficom Fusion micro-GC). L'analyse de la composition du biogaz a été effectuée une fois toutes les 2h par l'injection automatique dans le micro-GC. La **figure 2.11** présente le dispositif expérimental utilisé pour le suivi de la cinétique de production, l'analyse quantitative et qualitative du biogaz.

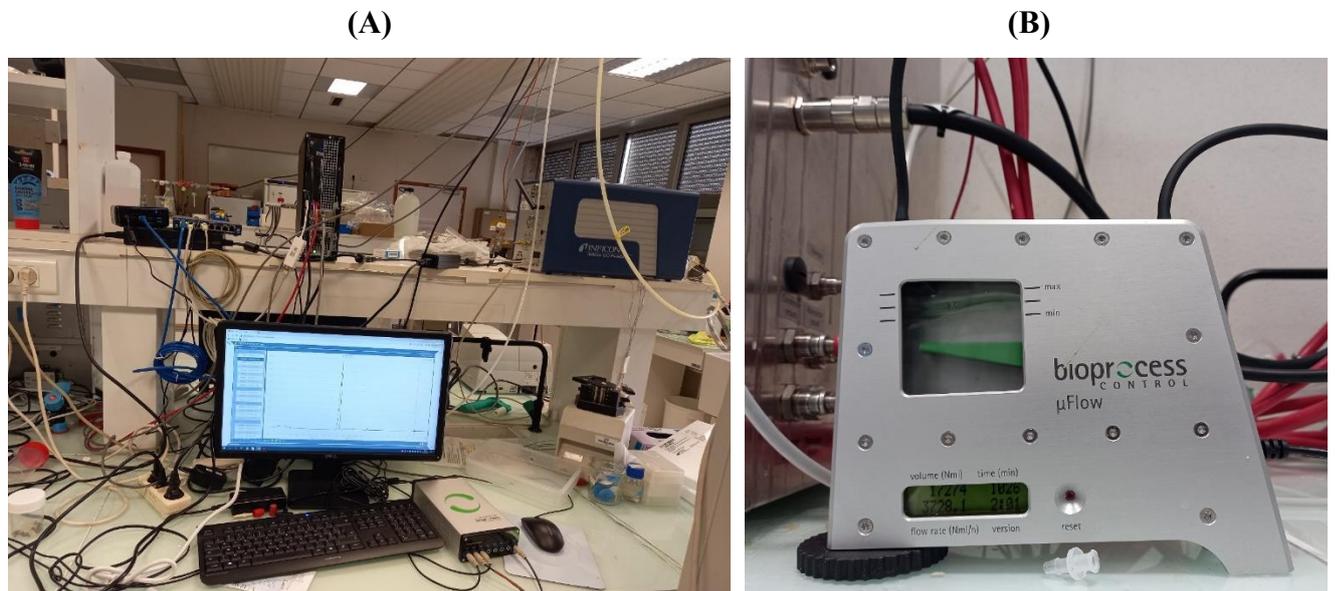


Figure 2.11 : Système de suivi de production et d'analyse quantitative et qualitative du biogaz : Inficom Fusion micro-GC (A) débitmètre Bioprocess μ Flow (B)

Le micro-GC était équipé de deux canaux et d'un détecteur de conductivité thermique (TCD). Le premier canal était équipé d'une colonne tamis moléculaire (5 Å) et permettait d'identifier et de déterminer la composition en H₂, O₂, N₂, CH₄ et CO. Il fonctionnait sous flux d'argon comme gaz vecteur avec une pression de 30 psi et les températures de l'injecteur et de la colonne étaient respectivement à 70 et 50°C. Le second canal permettait d'identifier du CO₂, et du H₂S à l'aide d'une colonne Para plot U (PPU) et de l'hydrogène à une pression de 15 psi était utilisé comme gaz vecteur. Les températures de l'injecteur et de la colonne étaient respectivement de 70 et 60°C.

9.4. Suivi de culture

La cinétique de fermentation a été suivie à travers la consommation des sucres totaux, la production d'acides gras volatils dans le milieu réactionnel et la production de gaz. La consommation des sucres totaux (pour les tiges) a été suivie par la méthode de [Dubois *et al.* \(1956\)](#) telle que décrite en **section 4.1**. La production d'acides gras volatils et la consommation de glucose (témoin glucose) ont été suivies par CLHP (1260 Infinity Quaternary LC system, Agilent Technology, Palo Alto, CA, USA) selon le protocole décrit dans la **section 5.2**. Le carbone et l'azote total ont été suivis par analyse COT/NT selon le protocole décrit en **section 8.5**.

9.5. Suivi de dégradation de la fraction lignocellulosique de tiges

Différentes techniques d'analyse et de caractérisation de la biomasse ont été utilisées afin de suivre et d'identifier les changements morphologiques et structurels causés par l'effet du consortium bactérien.

Une analyse de la composition biochimique et les caractérisations physico-chimique et structurelle de la biomasse ont été effectuées avant et après la fermentation sombre afin d'étudier et comparer l'influence du consortium microbien sur la structure de la fraction fibreuse de la biomasse. A cet effet, les résidus solides ont été séparés de la fraction liquide par centrifugation après la fermentation, puis séchés par étuvage à 60°C jusqu'à l'obtention de masse constante. Les taux de matière sèche, matière organique, etc..., ont été mesurés selon la méthode décrite par l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ([Latimer, 2023](#)) et selon le protocole décrit en **sections 2.1** et **2.2**. La composition structurale de la biomasse a été suivi selon la méthode de [Van Soest \(1963\)](#) décrite en **section 2.3**.

La détermination des pouvoirs calorifiques a été effectuée sur des broyats de tige brute et les résidus solides issus du procédé de fermentation sombre selon la méthode de la bombe calorimétrique utilisant un calorimètre isopéribole (*Calorimètre PARR 6400*) décrite dans la **section 2.4**.

L'indice de cristallinité de la fraction fibreuse des broyats avant et après fermentation a été déterminé par l'analyse par diffraction au rayons X (**section 2.5**).

Le suivi de la dégradation de la structure morphologique (texture, porosité et fissures) des fibres de tiges avant et après fermentation a été réalisé par la microscopie électronique à balayage d'émission de champ (**section 2.6**).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Amélioration des performances du procédé de production de bioéthanol 2G à partir des tiges de sorgho sucré

1.1. Introduction

L'émergence de vecteurs énergétiques durables issus de la bioconversion de la BLC trouve son origine dans la nécessité d'une transition énergétique. Les tiges de sorgho sucré comptent parmi les résidus agricoles identifiés comme matières premières pour la production d'énergies alternatives. Sa forte teneur en sucres fermentescibles est un avantage qui limite les opérations de saccharification complexes nécessaires à la bioconversion des fractions fibreuses. Le bioéthanol est un vecteur énergétique qui peut être produit à partir de la bioconversion de tiges de sorgho sucré. Toutefois, les procédés actuels de production d'éthanol à partir de cette biomasse consistent à extraire les sucres hydrosolubles et à les fermenter séparément de la fraction lignocellulosique. De ce fait, ces procédés s'avèrent économiquement peu rentables et consommateurs d'eau et d'énergie. Cette étude expérimente la fermentation directe (sans extraction du jus) du broyat de tige entière afin de rentabiliser le procédé. L'objectif était également de réaliser une saccharification enzymatique de la partie lignocellulosique des tiges afin d'améliorer le rendement de production d'éthanol (**Figure 3.1**). Une caractérisation physico-chimique des tiges a été d'abord réalisée afin de déterminer leur potentiel énergétique, puis des essais de fermentation par *Saccharomyces cerevisiae* ont été effectués sur différentes fractions (broyats des tige entière et moelle à granulométrie $\leq 1\text{mm}$) afin d'étudier et comparer l'efficacité du procédé par rapport à celle de la fermentation du jus extrait par pressage mécanique. Ensuite, un traitement de saccharification enzymatique des différentes fractions de la biomasse (tige entière et moelle à granulométrie $\leq 0,5\text{ mm}$) a été réalisé en utilisant deux cocktails cellulolytiques : le Celluclast 1.5 L et le Viscozyme L. Trois rapports enzyme/substrat ont été étudiés pour chacun des deux extraits enzymatiques (Celluclast à 15, 30 et 45 U/g MS de biomasse ; et Viscozyme à 15, 30 et 45 FBGU/g MS de biomasse) en combinaisons à trois charges en biomasse (2, 5 et 10% m/v). Les hydrolysats obtenus ont été ensuite fermentés par *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats issus de ces expérimentations ont montré la faisabilité de bioconversion de broyats de tiges entière de sorgho sucré en bioéthanol et ont fait l'objet d'une publication dans le journal *Waste and Biomass Valorization*.

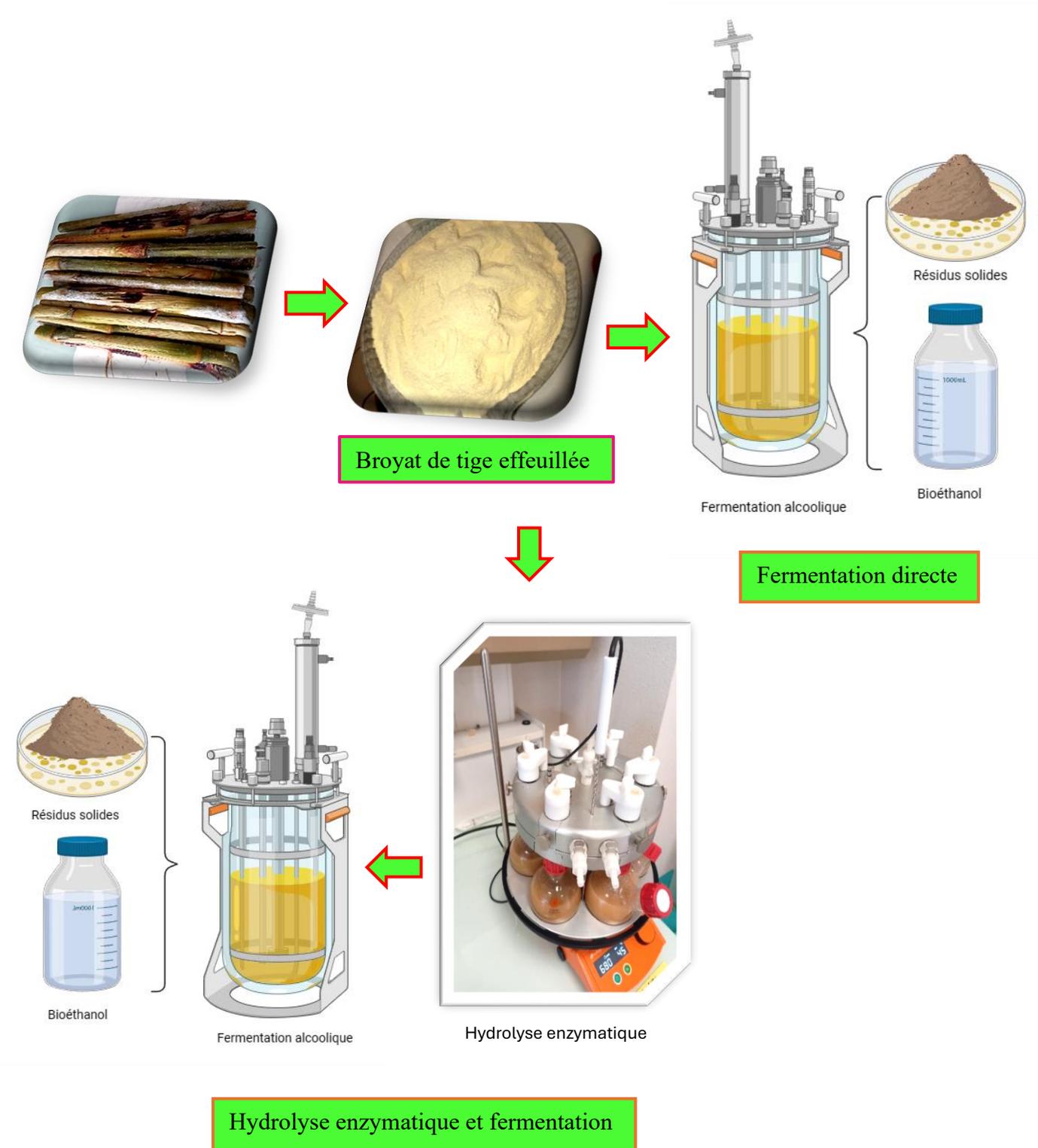


Figure 3.1 : Procédé de production du bioéthanol 2G par co-fermentation des sucres libres et sucres structuraux des tiges de sorgho sucré

1.2. Article publié dans Waste and Biomass Valorization



Optimization of Bioethanol Production after Enzymatic Treatment of Sweet Sorghum Stalks

Hamadou Bakari^{1,2,3} · Djomdi³ · Zieba Falama Ruben^{1,4} · Djouldé Darnan Roger³ · Delattre Cedric² · Pierre Guillaume² · Dubessay Pascal² · Michaud Philippe²  · Christophe Gwendoline²

Received: 25 July 2022 / Accepted: 21 December 2022
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2023

Abstract

Sweet sorghum stalks energy recovery is one of the most interesting alternatives to meet the current challenge of energy security. The usual ethanol production process from this biomass proves to be less profitable due to very expensive juice extraction step. This study aims to improve the performance and efficiency of this process experimenting new processing techniques of direct whole stem fermentation combined with enzymatic hydrolysis. Fermentation tests were carried out on shredded whole stem and pith (particle size ≤ 1 mm) and enzymatic process efficiency was compared to fermentation of juice obtained after mechanical pressing. Saccharification treatments of biomass fractions (whole stem and pith with particle size ≤ 0.5 mm) were performed using Celluclast 1.5 L and Viscozyme L, with three different enzymatic loads (15, 30 and 45 U/g DM; and 15, 30 and 45 FBGU/g DM) combined to three different biomass loadings (2, 5 and 10% w/v). Fermentation was carried out using *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentation yields were 0.45; 0.50 and 0.49 g Eth/g of consumed sugars respectively for juice, marrow and whole stem. Saccharification with Viscozyme at 45 FBGU/g DM enzymatic load and 10% (w/v) of biomass load allowed an increase of 39.63% and 28.14% in ethanol production yield; and 27.50% and 26.42% for biomass conversion efficiency, respectively between treated and untreated whole stem fractions and between treated and untreated pith fractions. Sweet sorghum stalk is a viable and sustainable source of alternative energy feedstock. Direct fermentation of the whole stem treated with cellulolytic enzyme makes it possible to dispense the juice extraction step, improving energy bioconversion performance and efficiency.

✉ Michaud Philippe
philippe.michaud@uca.fr

Hamadou Bakari
bakari.hamadou@doctorant.uca.fr

Djomdi
ngdjomdi@yahoo.fr

Zieba Falama Ruben
rubenziebafalama@gmail.com

Djouldé Darnan Roger
djoulde@gmail.com

Delattre Cedric
cedric.delattre@uca.fr

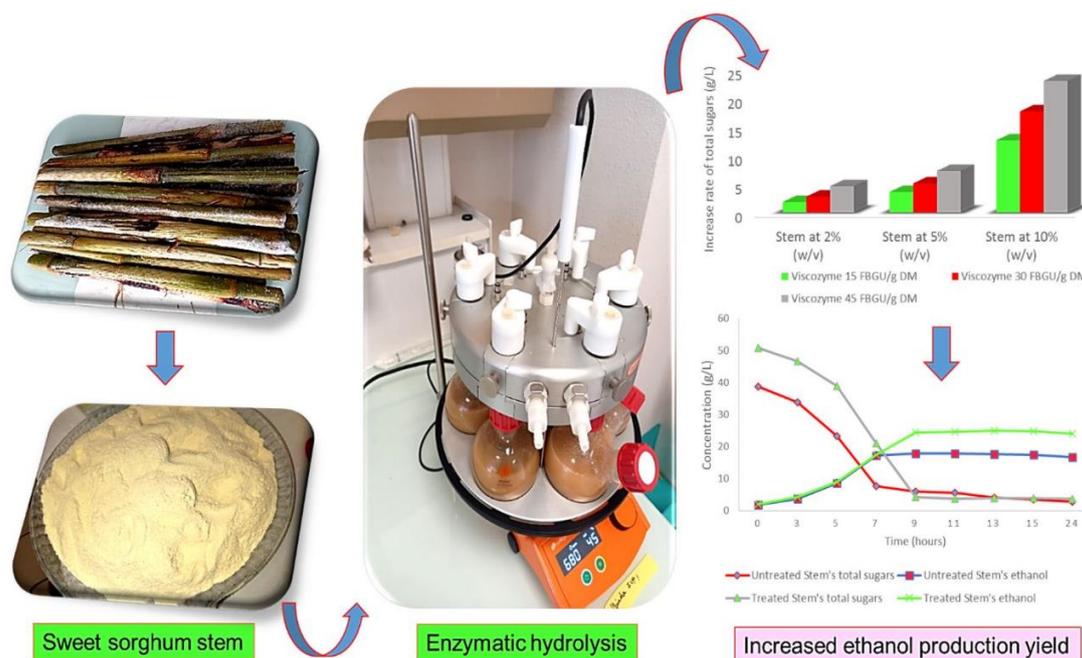
Pierre Guillaume
guillaume.pierre@uca.fr

Dubessay Pascal
pascal.dubessay@uca.fr

Christophe Gwendoline
gwendoline.christophe@uca.fr

- ¹ Energy Research Laboratory, Institute for Geological and Mining Research (IRGM), Renewable Energy Section (LRE/SENC), P.O. Box 4110, Nlongkak, Yaounde, Cameroon
- ² Université Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, 63000 Clermont-Ferrand, France
- ³ Department of the Renewable Energies, The National Advanced School of Engineering of Maroua, University of Maroua, P.O. Box 46, Maroua, Cameroon
- ⁴ National Advanced School of Mines and Petroleum Industries, University of Maroua, P.O. Box 46, Maroua, Cameroon

Graphical Abstract



Keywords Sorghum · Fermentation · Enzymatic hydrolysis · *Saccharomyces cerevisiae* · Ethanol

Statement of Novelty

This study presents an improvement in the performance and profitability of the ethanol production process from sweet sorghum stalks. This through a new operating mode combined with enzymatic treatment. Contrary to the usual process which consists to extract and ferment the sweet juice from the lignocellulosic fraction (bagasse), this study proposes a direct fermentation of the crushed whole stem, improving the process profitability considering lower water and energy consumptions. The study presents also an optimization of ethanol production yield after enzymatic hydrolysis of the whole stem. The bioconversion yields into ethanol rates of increase were 27.50% and 26.42% respectively between treated and untreated whole stem fractions, and between treated and untreated pith fractions.

Introduction

The growing demand for energy lead to the drastic reduction of fossil resources and climate changes caused by greenhouse gas emissions. So, energy security is a major concern requiring us to seek sources of alternative energies [1, 2]. As mitigation measures, it is imperative to adopt policies to

minimize the use of fossil reserves, maintaining environmental sustainability and reducing greenhouse gas emissions [3]. Biofuels development is one of the most sustainable and clean energy source emerging strategies. Green biomass, in particular crop residues, is one of the best sources of raw materials for alternative energies. Ethanol production from lignocellulosic material as a strategy to mitigate global warming and improve global energy security has attracted worldwide attention [4]. However, the raw material should come from inedible agricultural residues to avoid direct competition between the production of bioethanol and foods [5]. Sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) moench), a cereal grass producing both starchy seeds and stalks with high contents of fermentable sugars has been identified as a plant with interesting and promising potential to meet this challenge. Indeed, sorghum is the fifth most cultivated cereal in the world due to its ability to adapt to marginal agronomic conditions but also for its high yield of green biomass with juicy and sweet stalks [6–8]. Sorghum green biomass yield has been estimated between 20 and 120 tonnes/ha depending on the cultivation conditions and the botanical characteristics of the plant material [9]. In 2020, its world and African estimated production were 58.70 and 27.47 million tonnes over an area of 40.25 and 27.29 million hectares, respectively [10]. Generally, ethanol production process from sweet sorghum stalks consists of extracting juice from fresh

stalks to ferment it. In this process, liquid fraction and the solid residues (bagasse) are processed separately [11–14]. However, this process turns out to be economically unprofitable because of the extraction techniques that consume a lot of water and energy. Mechanical pressing using two or three rolls press leads to low juice extraction yields, often below 50% of stem mass [13, 15]. Development of multi-stage press technologies combined with the diffusion extraction technique allows sugar extraction yields of around 90% [16]. Adding distilled water to bagasse followed by their incubation at temperatures ≤ 45 °C significantly improved extraction yields and achieved fermentescible sugar extraction rates in the order of 99% [17, 18].

Faced with these extraction processes which consume significant quantities of water and energy, the uses of chemical or enzymatic hydrolysis of bagasse before ethanol production by fermentation have been experimented [19]. The objective was to hydrolyse cellulose and hemicellulose into fermentable sugars and to co-ferment them with those of the juice. Chemical hydrolysis takes place under acid or alkaline conditions with often high temperatures, generally leading to the degradation of a part of fermentable sugars and the formation of numerous toxic and corrosive compounds, as well as inhibitors (furfural, hydroxymethylfurfural, acetic acid, etc.) of fermentation [20, 21]. It is not a green process and it is restricted by the neutralization steps before hydrolyzate fermentation. Dilute acid hydrolysis (0.7–3.0%) requires high operating temperatures (180–240 °C) whereas concentrated acid hydrolysis requires huge amounts of acid and therefore is less economical [4, 22]. Enzymatic hydrolysis, on the other hand, has relatively low utility costs, except that of biocatalyst, it is generally carried out under middle conditions (pH 4.8–5 and temperatures 45–50) and does not present any problem of materials corrosion [23]. It offers the opportunity of carrying out both the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) and separate hydrolysis and fermentation (SHF).

Regarding to these properties, this study experiments an enzymatic hydrolysis of shredded sweet sorghum whole stalks aiming to overcome the very costly sugar extraction step and to increase the amount of fermentable sugars in this biomass with the objective of improving its bioconversion into ethanol. Two enzymes (Celluclast 1.5 L and Viscozyme L) were tested on shredded whole stem and pith

and the fermentation was carried out using *Saccharomyces cerevisiae*.

This study presents an improvement in the performance and efficiency of the ethanol production process from sweet sorghum stems and its economic profitability. The aim was to prove that it is possible to dispense the expensive juice extraction step. Unlike to the usual process which consists to extract and ferment the sweet juice separately from the biomass lignocellulosic fraction (bagasse), this study proposes a direct fermentation of the crushed whole stem, improving the process profitability considering lower water and energy consumptions. The study presents also an optimization of ethanol production yield after enzymatic hydrolysis of the whole stem.

Materials and Methods

Collection and Pretreatment of Sorghum Stalks

The sorghum stalks from sorghum (*bicolor*) were collected on November 05, 2020 at “KODEK” (10° 39' 19"N; 14° 24' 42"E; 880 m), a locality of DIAMARE department, located in the Far North region of Cameroon. Stem samples were immediately cut up and stored in a -20 °C freezer for further analysis. To study the performance and efficiency of the ethanol production process from this biomass, fermentation tests were carried out on different stalk fractions (whole stem, marrow, and juice). Indeed, the stem was deleafed, cut up, dried and ground. The marrow was separated from the bark by peeling, then dried and ground. Juice extraction was carried out by mechanical pressing of the marrow. Figure 1 shows the different biomass pretreatment operations.

Figure 2 presents the overall implementation process as well as the intermediate products resulting from the different process unit operations. The first operation consisted of collecting biomass (sorghum stalks) in sufficient quantity after having identified it (species, cultivar, GPS coordinates, etc.). It was then subjected to a physico-chemical characterization, in particular the determination of the contents of extractable sugars, total fibres, cellulose, hemicelluloses, lignin, phenolic compounds, dry matter, organic matter, etc. The fermentation was tested on different biomass fractions in order to study and compare the efficiency of the process.

Fig. 1 Biomass pretreatment operations: cut stalk (A), Marrow (B), whole deleafed stalk cut up and dried (C) and ground stalk (D)

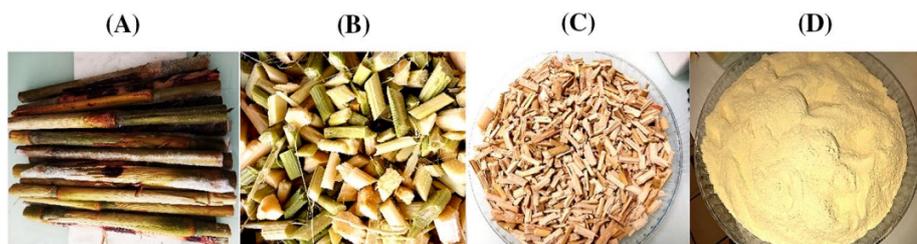
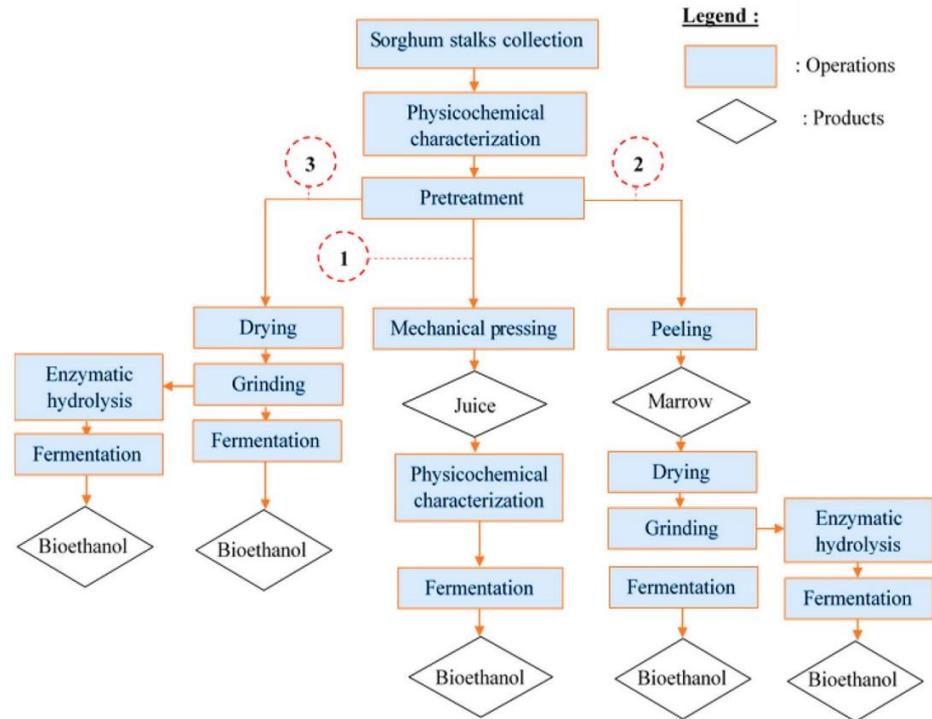


Fig. 2 Overall research implementation flow



According to itinerary 1 in Fig. 2, the collected stems were pretreated to remove leaves and panicles before the pressing step [11]. The pith was separated from the bark by peeling in order to optimize the juice and sugars extraction yields. The juice was extracted from the marrow by crushing and mechanical pressing using a mill, then characterized and fermented. Following route 2 in Fig. 2, the direct fermentation of ground marrow (untreated and treated) was tested. During itinerary 3, the direct fermentation of shredded whole deleafed stems (treated and untreated) was tested. The objective is to limit as much as possible the fractionation steps that consume a lot of energy and water.

Physicochemical Characterization of Sorghum Stem

The dry matter was determined according to the AFNOR method [24], by stoving biomass samples at 105 °C until a constant mass was obtained. The dry matter content, expressed as a percentage of fresh matter, was calculated according to Eq. (1) after cooling the samples in a desiccator.

$$DM_C = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100 \quad (1)$$

where DM_C is the dry matter content (%); M_f is the mass of the crucible and residual dry sample (g); M_i is the initial mass of the crucible and its wet contents (g); T is the empty crucible tare (g).

The samples moisture content (M_C), expressed in (%) was deducted from the dry matter value according to Eq. (2):

$$M_C = 100 - DM_C \quad (2)$$

Mineral matter was determined from residual dry samples by electric muffle furnace incineration at 550 °C for 6 h, and its value was calculated according to the Eq. (3) after cooling.

$$MM_C = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100 \quad (3)$$

where MM_C is the mineral content compared to DM (%); M_f is the final mass of the crucible and residual sample after incineration (g); M_i is the initial mass of the crucible and dry sample before incineration (g); T is the empty crucible tare (g).

The tests were carried out in three repetitions and the result is the average of the repetitions.

The sorghum stem biochemical composition, namely total fibers content, hemicellulose, cellulose, and lignin was determined by the method described by Van Soest [25].

The total fibers content (%), expressed as a percentage of dry matter, was calculated according to Eq. (4):

$$Total\ Fibers = \left(1 - \left(\frac{S - W1}{S}\right)\right) * 100 \quad (4)$$

where S is the initial sample mass (g) and $W1$ is the mass of residual sample insoluble in neutral detergent (g).

The hemicellulose content was determined from the dry residues of neutral detergent insoluble fiber ($W1$). It is expressed as a percentage (%) of dry matter and calculated according to Eq. (5):

$$\text{Hemicellulose} = \left(\frac{W1 - W2}{S} \right) * 100 \quad (5)$$

where $W2$ is the mass of residual sample insoluble in acid detergent (g).

Cellulose and lignin contents were determined after sulphuric acid (72%) digestion of the cellulosic fraction of the residual mass of acid detergent insoluble fibers ($W2$). They are expressed as a percentage (%) of dry matter and are calculated according to Eqs. (6) and (7) respectively.

$$\text{Cellulose} = \left(\frac{W2 - W3}{S} \right) * 100 \quad (6)$$

$$\text{Lignin} = \left(\frac{W3}{S} \right) * 100 \quad (7)$$

where $W3$ is the residual mass of sample after sulphuric acid digestion (g).

Determination of Biomass Sugars Contents

The water-soluble and total sugars contents were determined according to the method of Dubois et al. [26] using phenol and sulfuric acid. The soluble sugars were extracted with hot water (90 °C for 90 min) from different biomass fractions powders. For this purpose, 1 g of biomass powder was mixed with 50 mL of milli-Q water and heated in a water bath at 90 °C for 90 min and then filtered under vacuum using a size 3 frit (40–90 µm). The filtrate was used for soluble sugars analysis as well as for biomass reducing sugars content determination. The reducing sugar content was determined by method described by Waffenschmidt and Jaenicke [27], using biquinchoninic acid. The fibrous residues from the filtration were dried by stoving at 60 °C until a constant mass was obtained. They were then hydrolyzed to extract the insoluble structural sugars. For this purpose, 0.2 g of dry fibrous residues were mixed with 5 mL of sulfuric acid (0.75 M) and heated in a water bath at 100 °C for 90 min. The hydrolyzate was then centrifuged at 13 000 g for 10 min and the supernatant was recovered and neutralized (pH = 7 ± 0.1) with a NaOH solution, then used for the determination of total structural sugars.

Determination of Total Phenolic Compounds Content

The phenolic compounds were extracted by mixing 1 g of biomass powder in 40 mL of diluted acetone solution

(50% v/v of acetone/water) and stirred at room temperature (20–22 °C) for 60 min. The solution was then filtered under vacuum through a Whatman 1 filter paper and the filtrate was recovered. It was then separated from the solvent by evaporation under vacuum using a rotavapor and the lost volume was replaced by milli-Q water. The extracts of the phenolic compounds were assayed with Folin Ciocalteu's reagent according to the protocol described by Gutfinger [28]. Biomass total phenolic compounds contents were expressed as grams of gallic acid equivalent / kilogram DM of sample (g GAE/Kg DM sample).

Fermentation Test of Different Biomass Fractions

The fermentation was carried out using *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754. It was taken up in sterile water and spread on YM-agar agar (yeast Medium, Difco 0712–01-8) before to be incubated at 28 °C for 24 h. The strain was then stored at 4 °C and subcultured on a petri dish for 24 h before being used in the culture vessels [29].

Preliminary fermentation trials were tested on different biomass fractions (whole stalks, marrow and juice) in order to study and compare the efficiency and performance of the bioethanol production process from sweet sorghum stalks. For this purpose, part of the stem was peeled and the juice was extracted from the pith by mechanical pressing. The whole stem and the pith were then cut up and dried by stoving at 60 °C until a constant mass was obtained, then ground to a particle size ≤ 1 mm. The fermentation was carried out in 500 mL Erlenmeyer flasks, with 200 mL working volume. The different culture media were composed of 10% (w/v) of the corresponding biomass fraction or sufficiently diluted stem sorghum juice, enriched with additional nutrients as described by Kristiansen [30], except glucose. The culture media were then autoclaved at 121 °C for 20 min and inoculated with 10% (v/v) of *Saccharomyces cerevisiae* preculture in exponential phase of growth. They were then incubated at 30 °C with 200 rpm stirring speed. The media samples were taken every 2 h to monitor the fermentation kinetics.

The fermentation kinetic was monitored through three parameters: ethanol production, fermentable sugars consumption and microbial growth. The consumption of fermentable sugars was monitored by the colorimetric total sugars assay method of Dubois et al. [26]. Microbial growth was monitored measuring A_{600} (Biomate 3S, UV-visible spectrophotometer, Thermo Scientific, Lyon, France). Ethanol production was quantified by HPLC device (1260 Infinity Quaternary LC system, Agilent Technology, Palo Alto, CA, USA). It was equipped with two ionic exclusion columns (Rezex ROA 300 × 7.8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) connected in serial in an oven (50 °C) and coupled to a refractometer as detector. The mobile phase consisted of 2 mM sulfuric acid solution, in ultrapure water (Millipore,

MilliQmore), pumped at 0.7 mL/min flow rate and 70 bars (7000 kPa). Ethanol was detected using a refractometer (HP 1100 series, Agilent Technologies, USA). Samples were previously deproteinized before injection in order to avoid clogging of the column. To do this, 125 μ L of barium hydroxide solution (0.3 M) and 125 μ L of zinc sulphate solution (5% w/v) were added to 1 mL of sample and centrifuged at 10 000 g for 10 min then the supernatant was filtered using a 0.2 μ m cellulose acetate filter (Chromafil, Steinheim, Germany) before analysis.

Enzymatic Hydrolysis of Biomass

Two liquefaction enzymatic cocktails were tested for the saccharification of different fractions of biomass fibers. The first one was Viscozyme L. It is a cellulolytic enzymes mixture composed of arabinase, cellulase, β -glucanase, hemicellulase, and xylanase from *Aspergillus sp.* with an enzymatic activity ≥ 100 Fungal Beta-Glucanase Units (FBGU)/g. The second one was Celluclast 1.5 L. It is a liquid complete cellulase mixture from *Trichoderma reesei* containing exo- and endocellulases, β -glucosidases, and hemicellulases with an enzyme activity ≥ 700 units (U)/g. To determine the optimal hydrolysis conditions, three different biomass loads were studied, 2%, 5% and 10% (w/v) from different biomass powders with particle size ≤ 0.5 mm. Different enzymatic loads were also tested in combination with different biomass loads: Celluclast at 15, 30 and 45 U/g DM of biomass; and Viscozyme at 15, 30 and 45 FBGU/g DM of biomass. Hydrolysis was carried out in 250 mL Radleys reactor (Carousel 6 Plus Reaction Station) with 200 mL of working volume. The reactors were agitated with a rotational mixing speed of 500 rpm and the temperatures were set at 44 °C and 50 °C respectively for the Viscozyme and the celluclast assays. A control sample without enzyme was carried out in parallel under the same conditions. In order to follow the hydrolysis kinetics, samples were taken every 2 h for the first 10 h, then at 24 h and after 48 h. The samples taken were subjected to an instantaneous thermal shock at 100 °C for 10 min in a dry bath to stop the hydrolysis. Samples were then centrifuged (13 000 g, 10 min) and the supernatants were collected and used for total and reducing sugars analyses.

Enzymatic Saccharification and Fermentation

Biomass enzymatic hydrolysis was performed using Viscozyme under optimal hydrolysis conditions with 45 FBGU/g DM of biomass of enzymatic load and 10% (w/v) biomass load. Viscozyme was chosen because of its high yield compared to Celluclast. Hydrolysis was carried out in 250 mL Radleys reactor (Carousel 6 Plus Reaction Station) with 200 mL of working volume and under the same

hydrolysis conditions of 44 °C and 500 rpm stirring speed. The samples were incubated for 24 h and the hydrolysates obtained after biomass hydrolysis step were transferred into 500 mL Erlenmeyer flasks, then autoclaved at 121 °C for 20 min and inoculated with a volume of 10% (v/v) of *Saccharomyces cerevisiae* preculture in exponential growth phase. The fermentation was carried out under the conditions described in section (I.5) against a non-pretreated biomass control. The culture medium samples were taken every 2 h to monitor the fermentation kinetics according to the methods described in section (I.5).

The statistical analysis of the data was carried out using the Excel spreadsheet of the Microsoft office software version 2013. The tests were carried out in triplicate and the results were expressed as mean \pm standard deviation.

Results and Discussions

Physicochemical Characteristics of Sorghum Stem

Biomass Dry Matter and Ash Content

The stalk of *S. bicolor* ecotype studied had a dry matter content evaluated on average at 31.74% for the whole deleafed stem (consisting of bark and marrow). This result is similar to those of Almodares and Hadi [31] and Gutjahr et al. [32], who also reported dry matter content evaluated at 30% of the fresh mass of the studied varieties of sorghum stalks. This content was evaluated at 21.90% and 47.89% respectively for the marrow and the bark (Table 1). The analysis of these results revealed that the moisture content, representing the juice content of the stem, is essentially contained by the marrow, i.e. 78.1% against 52.11% for the bark. These results are in line with those of Billa et al. [33] and Djomdi et al. [18] who also worked on the stalks of sweet sorghum varieties and reported that the moisture content was higher in the marrow (77%) than in the bark (56%).

The biomass ash content was quantified at 3.34% of DM for the whole deleafed stem. It was estimated at 2.90% of DM in the bark, and at 5.69% of DM in the marrow, i.e. 1.96 times higher than that of the bark. These ash content values are much higher and in contradiction with those of Billa et al. [33], who reported ash contents values of 0.3%, 0.2% and 0.5% of DM, respectively for the whole stem, marrow and bark. They indicated that bark contains 2.5 times more ash than marrow. This variation of ash content as well as its distribution in different biomass fractions could be explained by the genotypic characteristics of the varieties, the specificities of the cultivars studied and the agronomic conditions.

Table 1 Physicochemical characteristics of sorghum stalk

	Biochemical composition of sorghum stem		
	Deleafed stem	Marrow	Bark
Dry matter (%)	31.74 ± 0.44	21.90 ± 0.24	47.89 ± 0.09
Ash (% DM)	3.34 ± 0.15	5.69 ± 0.09	2.90 ± 0.004
Fiber (% DM)	63.50 ± 1.04	29.59 ± 0.19	75.71 ± 0.09
Hemicellulose (% DM)	16.96 ± 1.62	14.01 ± 0.16	17.78 ± 0.91
Cellulose (% DM)	18.25 ± 2.03	12.53 ± 0.41	33.75 ± 1.61
Lignin (% DM)	28.60 ± 1.49	3.03 ± 0.18	24.24 ± 0.70
Total sugars (g/Kg DM)	731.69 ± 5.49	780.44 ± 19.39	384.12 ± 0.09
Soluble sugars (g/Kg DM)	538.22 ± 5.38	628.80 ± 8.84	183.74 ± 6.68
Reducing sugars (g/Kg DM)	377.68 ± 11.47	326.20 ± 20.24	61.05 ± 11.95
Phenolic compounds (g/Kg DM)	5.20 ± 0.27	4.20 ± 0.20	3.95 ± 0.19

Biochemical Composition of Biomass

The biochemical composition analysis of the whole deleafed stem of *S. bicolor* revealed that it contained 63.50% DM of total fibers, 16.96% DM of hemicellulose, 18.25 DM of cellulose and 28.60% DM of lignins. This composition validated the potential of the fibers from these stems as a source of fermentable sugars accessible after their hydrolysis. This fibers content is similar to that of certain varieties of sweet sorghum studied by Amer [34] (62.6% DM), Amélia [35] (74.7 to 75.5% DM) and Tremblay et al. [36] (56.6% DM). However, the hemicellulose and cellulose contents are much closer to those of the varieties studied by Khalil et al. [37] (11.7 – 17.2 and 20.1–26.1% DM, respectively). Similar studies carried out by several authors indicated that the distribution of total fibers into hemicellulose, cellulose and lignin varies enormously according to the sorghum varieties studied. It was evaluated on average at 10.2; 12.4 and 4.8% DM respectively in hemicellulose, cellulose and lignin according to variety studied by Billa et al. [33]. It was evaluated on average at 21.2–41.2; 21.9–35.6 and 18.2–21.5% DM respectively in hemicellulose, cellulose and lignin, according to those studied by Jolanta et al. [38]. Kim and Day [39] and Nasidi et al. [40] reported that it was composed mainly of cellulose (30 to 45% DM), hemicelluloses (16 to 30% DM) and lignins (15 to 20% DM). This biochemical composition of sorghum stalk is comparable to that of rice straw whose average composition reported by some authors in the literature is 28–40%; 22–35% and 12–18% respectively in cellulose, hemicellulose and lignins [41, 42].

Furthermore, this study shows that the stem total fibers are much more concentrated in the bark, with a content estimated on average at 75.71% DM, i.e. 2.55 times higher than that of the marrow which was evaluated at 29.59% DM. On the other hand, most of the sorghum stem lignin was concentrated in the bark with contents evaluated on average at 24.25% DM, against 3.03% DM in the marrow. Billa et al. [33] also reported in their study that the bark contains almost

all of the stem lignin content, with 8.8% DM against 0.6% DM in the marrow. The hemicellulose and cellulose contents were evaluated on average respectively at 14.01 and 12.53% DM and at 17.78 and 33.75% DM, respectively in the marrow and the bark. The biochemical composition of the shredded whole stem, in particular its high total fibers content (63.50% DM), is a major asset making it suitable to be used as feedstock for the production of additional bioethanol. Hemicellulose (16.96% DM) and cellulose (18.25% DM) can be hydrolyzed into simple sugars that can be fermented into ethanol after a hydrolysis step. However, its relatively high lignin content (28.60% DM) can affect the hydrolysis process and would require a prior delignification operation in order to optimize the hydrolysis yield and therefore the bioconversion yield of this biomass into ethanol. These results and others physicochemical characteristics of different sorghum stem fractions are summarized in Table 1.

Biomass Sugars Content

The whole deleafed stem sugars content is evaluated on average at 731.69; 538.22 and 377.68 g/Kg DM, respectively for total sugars, soluble sugars and reducing sugars (Table 1). The stem total sugars content of the *S. bicolor* ecotype studied in this work was higher than that of the varieties studied by Crépeau et al. [43] and Crépeau [44]. Indeed, these authors reported total sugars contents between 56.4 and 104.7 g/Kg DM. It was also higher than those of the varieties studied by Noura Saïed [45] (249.3–256.1 g/Kg DM) and Djomdi et al. [18] (497.8 g/Kg DM). This study reveals that the sweet sorghum stem carbohydrate content is mainly concentrated in the marrow, with contents estimated on average at 780.44; 628.80 and 326.20 g/Kg DM respectively in total sugars, soluble sugars and reducing sugars, against 384.12; 183.74 and 61.05 g/Kg DM, respectively in the bark. This observation was also reported by Djomdi et al. [18], who studied the stem sugars content of a sweet sorghum cultivar from the Far North region of Cameroon, and found sugars

contents much higher in marrow (228.7 and 55.4 respectively for soluble and reducing sugars) than in the whole deleafed stem (176.5 and 41.9 respectively). Furthermore, the results of this study show that the soluble sugars content of *S. bicolor* is much higher than that observed by Almodares and Hadi [31], in Quebec with CSSH 45 hybrid sorghum variety (145–298 g/kg DM) or by Noura Saïed [45] on the same hybrid variety (129.39 g/kg DM). These variations of stem sugars content, observed in sweet sorghums, could be explained not only by specific genotypic characters of the races, varieties and cultivars studied, but also by the difference in agronomic and environmental conditions. Due to its high content of fermentable free sugars, sweet sorghum stalk constitutes a viable and sustainable source of raw material for 2G fuel bioethanol production. This sugar content could be further enhanced by a hydrolysis operation of the fibrous part of this biomass, thus improving ethanol productivity.

Biomass Phenolic Compounds Content

The *S. bicolor* stalks studied has total phenolic compounds contents evaluated on average at 5.2; 4.2 and 3.95 g/Kg DM, respectively for the whole stem, pith and bark. These phenolic compounds values are much lower than those reported by Hao et al. [46], who studied the BJ0602 variety of sweet sorghum grown in China and obtained stalks phenolic compounds contents evaluated on average at 2.21 mg/g. Ring et al. [47] also studied the evolution of phenolic compounds on different sorghum tissues (caryopes, glumes, stems, and leaves) during its growth, and reported that the phenolic compounds of the stem, quantified at 4.8 mg/g, varied very little during its growth and after its physiological maturation. Similar observations were also reported by Sereme et al. [48] who indicated phenolic compound contents <2% DM in sorghum *caudatum* stems and also noticed very small variations of stem phenolic compounds compared to other tissues (sheaths, leaves and roots) during sorghum growth. These low contents of sorghum stem phenolic compounds observed in this study are a major asset, since phenolic compounds have a negative impact on microbial growth and metabolism and at high concentrations, can act as an antimicrobial compounds [46, 49, 50] and therefore negatively impact the ethanol production from microbial fermentation. As a result, the productivity of bioethanol from the stems of the *S. bicolor* variety studied would not be significantly impacted with regard to the low levels of phenolic compounds observed.

Bioethanol Production from Different Biomass Fractions

Traditionally, the process for producing ethanol from sweet sorghum stalks involves the extraction stage followed by juice filtration and fermentation. Several research works

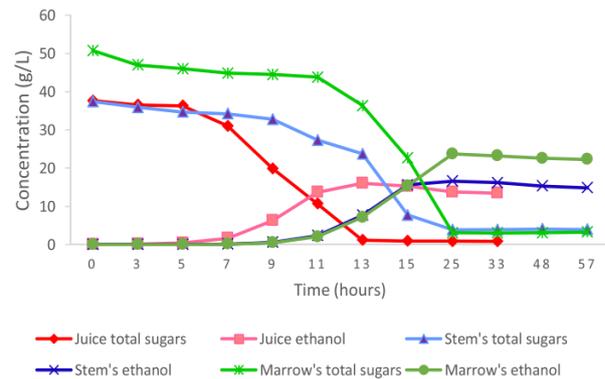


Fig. 3 Fermentation kinetics of different biomass fractions (juice, Marrow and whole stem)

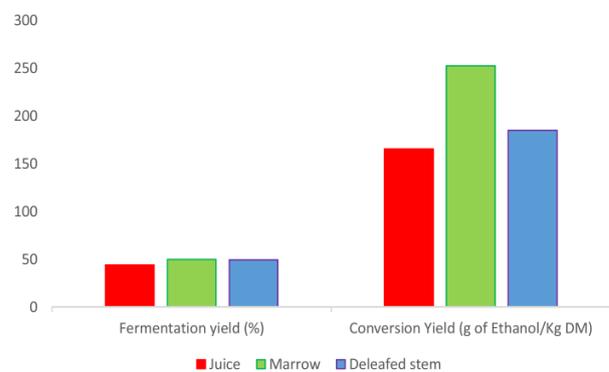


Fig. 4 Fermentation and conversion yields of different biomass fractions

have made it possible to improve the performance and yield of fermentable sugars extraction. However, extraction techniques remain laborious and consuming a lot of water and energy [51]. This study aims to do the proof of concept of eliminating this juice extraction in order to improve the performance of ethanol production process from this biomass. The fermentation of whole stem and marrow crushed (particle size ≤ 1 mm) was tested and compared to that of corresponding juice extracted by mechanical pressing. Fermentation kinetics of different biomass fractions were shown in Fig. 3.

The fermentation yields evaluated on average at 0.45; 0.50 and 0.49 g of ethanol/g of consumed sugars were obtained respectively for juice, marrow and whole stem (Fig. 4). The direct fermentation of ground whole stem and marrow yields slightly higher than that of juice fermentation. These results show that the fibrous particles (contained in the whole stem and marrow samples) did not impact the yield of ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*. These results are in line with the observations of Jia et al. [17], who reported that the fibrous particles contained in sweet sorghum juice did not impact the fermentation yield (0.428 – 0.437 and

0.429–0.434 g of ethanol/g of consumed sugars, respectively for filtered and unfiltered juice). Authors concluded that the juice filtration step was not necessary. A similar observation was also reported by Bálint et al. [11], who noticed that there was no significant difference in the yields of ethanol production from sorghum stalk juice extracted with or without leaves, the yields were 0.42–0.45 g Eth/g consumed sugars. On the other hand, they noticed a significant difference in sugar content between the samples of juice extracted in different ways, the extracts without leaves had sugar contents about 20% higher.

Furthermore, the conversion yields obtained were evaluated at 165.44; 252.62 and 184.87 g of ethanol/Kg DM, respectively for juice, marrow and whole stem. These results show that the direct fermentation of shredded stem and pith presents much higher biomass conversion yields compared to that of corresponding juice extracted by mechanical pressing. This could be explained by the fact that the mechanical pressing extraction process presents a low yield of fermentable sugars extraction. On the other hand, direct fermentation uses almost all the sugars. These conversion yield values obtained in this study are higher than those obtained by Khalil et al. [37], who evaluated the efficiency of ethanol production from the juice and bagasse of five sweet sorghum varieties and obtained maximum overall production of 160 mL/g DM with SS-301 variety. The results of this study show that the juice extraction step, which consumes a lot of water and energy, could be dispensed.

Biomass Enzymatic Hydrolyse

Two enzymatic cocktails were tested on different stem fractions (whole stalk and pith) in order to determine the best suited to the saccharification of this biomass. Enzyme load is one of the most important factors influencing the efficiency of enzymatic hydrolysis process [52]. To compare the effectiveness of the enzyme cocktails, three different enzymatic loads were studied for each of the two enzymes studied (15, 30 and 45 U/g DM of biomass; and 15, 30 and 45 FBGU/g DM of biomass) respectively for Celluclast and Viscozyme. The hydrolysis kinetics, studied through the evolution of reducing sugar content, are summarized in Figs. 5 and 6.

Influence of Enzyme Load on Saccharification

The saccharification efficiency was influenced by the enzyme load. The reducing sugar content increased logically with increasing enzymatic load for a fixed biomass (Fig. 5). For example, at 5% of biomass load, the concentration of reducing sugars, initially evaluated at 62 g/Kg DM, reached 109.03 and 136.01 g/Kg DM, respectively for celluclast enzymatic loads of 15 and 45 U/g DM (Fig. 5C). These concentrations reached 116.16 and 142.22 g/Kg DM

respectively for Viscozyme using 15 and 45 FBGU/g DM with the same biomass concentration of 5% (Fig. 5D). A similar observation was reported by Zeghlouli et al. [53], who experimented ethanol production via enzymatic hydrolysis of argan pulp using Celluclaste 1.5 L and Viscozyme L. These authors obtained reducing sugars concentrations of 700.36 and 723.36 g/Kg DM, respectively for Celluclaste and Viscozyme with a biomass load of 2% (w/v). Jin et al. [42], also tested the production of ethanol after the enzymatic hydrolysis of rice straw pretreated with NaOH. Enzyme loading in a range of 50 to 200 FPU/mL were studied and the maximum yield of reducing sugars (529.90 g/Kg) was obtained after 20 h of hydrolysis with an enzymatic load of 200 FPU/mL. Deliana et al. [54], also studied the enzymatic hydrolysis of empty fruit bunch and indicated that the enzyme concentration strongly influences the speed and yield of hydrolysis (6.2% against 10.67% concentrations in glucose equivalent were obtained after 72 h of hydrolysis at 10 FPU and 40 FPU respectively). This study reveals that Viscozyme has better saccharification yields with a maximum concentration of reducing sugars evaluated at 188.68 g/Kg DM after 24 h of hydrolysis with an enzymatic load of 45 FBGU/g DM and 10% (w/v) biomass concentration (Fig. 5F). The maximum concentration of reducing sugars was 170.37 g/Kg DM after 48 h of hydrolysis using Celluclast at 45 U/g DM and 10% (w/v) biomass load (Fig. 5E).

Similar results were obtained testing the impact of the enzymatic load on the marrow saccharification (Fig. 6). However, a significant difference in hydrolysis speed and yield was observed between the two enzymatic cocktails studied. At 2% of biomass for example, the concentrations of reducing sugars initially evaluated at 4.5 g/Kg DM, reached 15.91 and 109.41 g/Kg DM after 2 h of hydrolysis respectively with Celluclast at 45 U/g DM and Viscozyme at 45 FBGU/g DM (Fig. 6A and B) for maximum concentrations of 42.08 and 158.01 g/Kg DM respectively, after 24 h of hydrolysis. This indicates that Viscozyme has the best marrow hydrolysis yield with a higher hydrolysis rate compared to Celluclast. This phenomenon could be explained by largest diversity of polysaccharide hydrolases in Viscozyme compared to Celluclast which is mainly composed of cellulases [53]. Furthermore, this could also be explained by the fact that the pith contains a relatively low lignin content compared to the whole stem (28.60 ± 1.49 against 3.03 ± 0.18 respectively for the whole stem and marrow (Table 1)), which could accelerate the marrow enzymatic digestibility.

Effect of Biomass Load on Saccharification

The influence of biomass concentration was studied by monitoring the evolution of total soluble sugar content during the enzymatic hydrolysis of different biomass

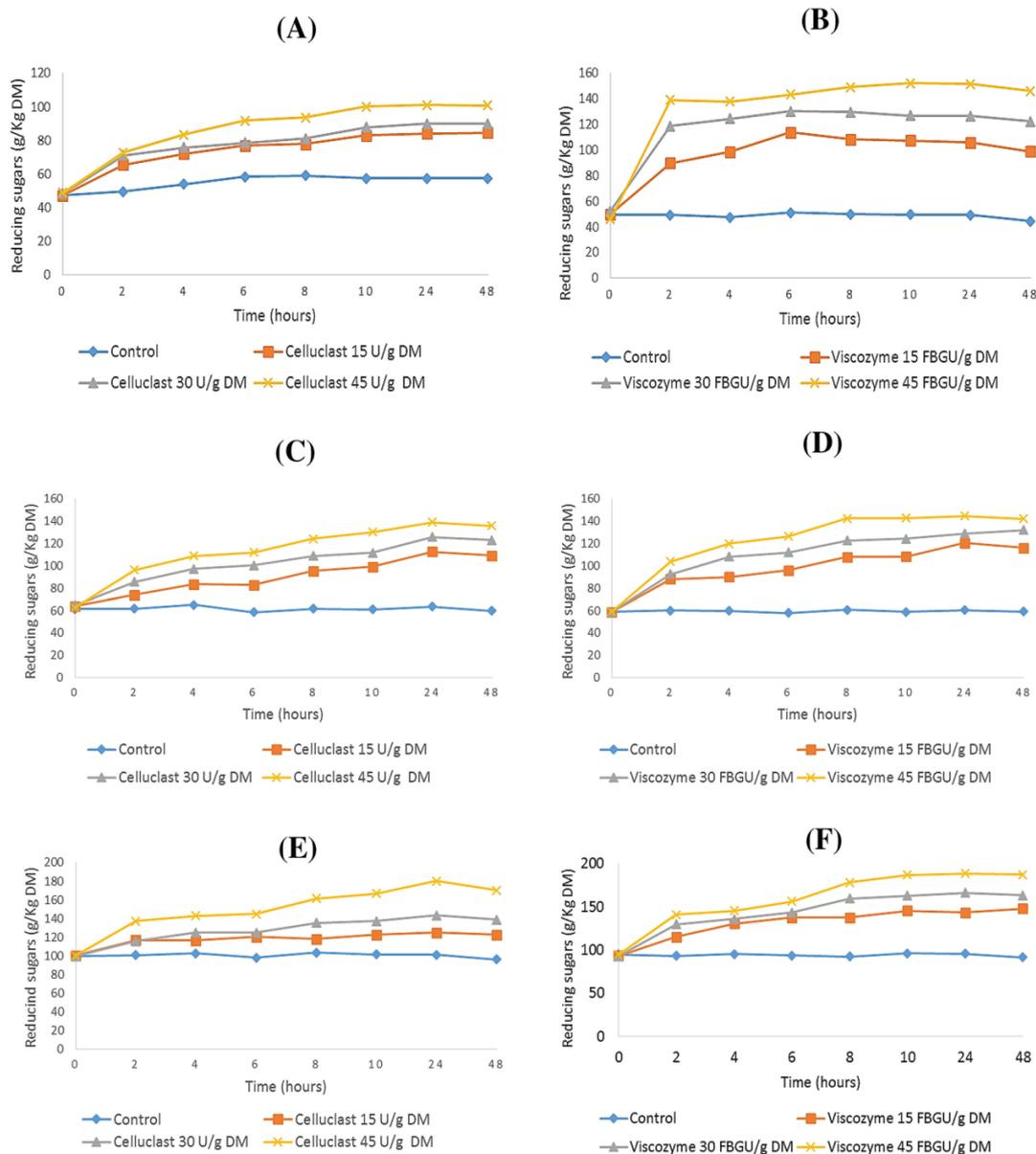


Fig. 5 Whole stem enzymatic hydrolysis kinetics at different enzymatic loads (15, 30 and 45 U/g DM) Celluclast and (15, 30 and 45 FBGU/g DM) Viscozyme combined at different biomass loads: **A** and **B** biomass 2% w/v; **B** and **C** biomass 5% w/v; and **E** and **F** biomass 10% w/v

fractions. Figure 7 shows that for the two biomass fractions studied (whole stem and pith), the total soluble sugar content increased with increasing biomass concentration for both Celluclast and viscozyme. For example from 5 to 10% (w/v) of whole stem hydrolysis with Celluclast at 45 U/g DM, total sugars increased from 6.22 to 16.07 g/L respectively (Fig. 7A) and from 7.30 to 23.08 g/L respectively, for hydrolysis with Viscozyme at 45 FBGU/g DM (Fig. 7B). The same result was observed with other fractions. For example from 2 to 5% (w/v) of marrow an increase of total sugars from 0.8 to 4.93 g/L respectively was observed with Celluclast at 30 U/g DM (Fig. 7C) and

from 4.98 to 9.68 g/L with Viscozyme at 30 FBGU/g DM. Similar observations were reported by Qiu et al. [55], who studied the influence of substrate load during the enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated with phosphoric acid and hydrogen peroxide. Four substrate loadings were tested, and the results showed that the higher glucose concentrations were correlated with the higher biomass concentrations. However, contrary to these observations, some authors have reported in the literature that high substrate concentrations resulted in hydrolysis inhibition with low hydrolysis yields [56]. The extent of substrate inhibition depends on total substrate/total enzyme ratio [57, 58].

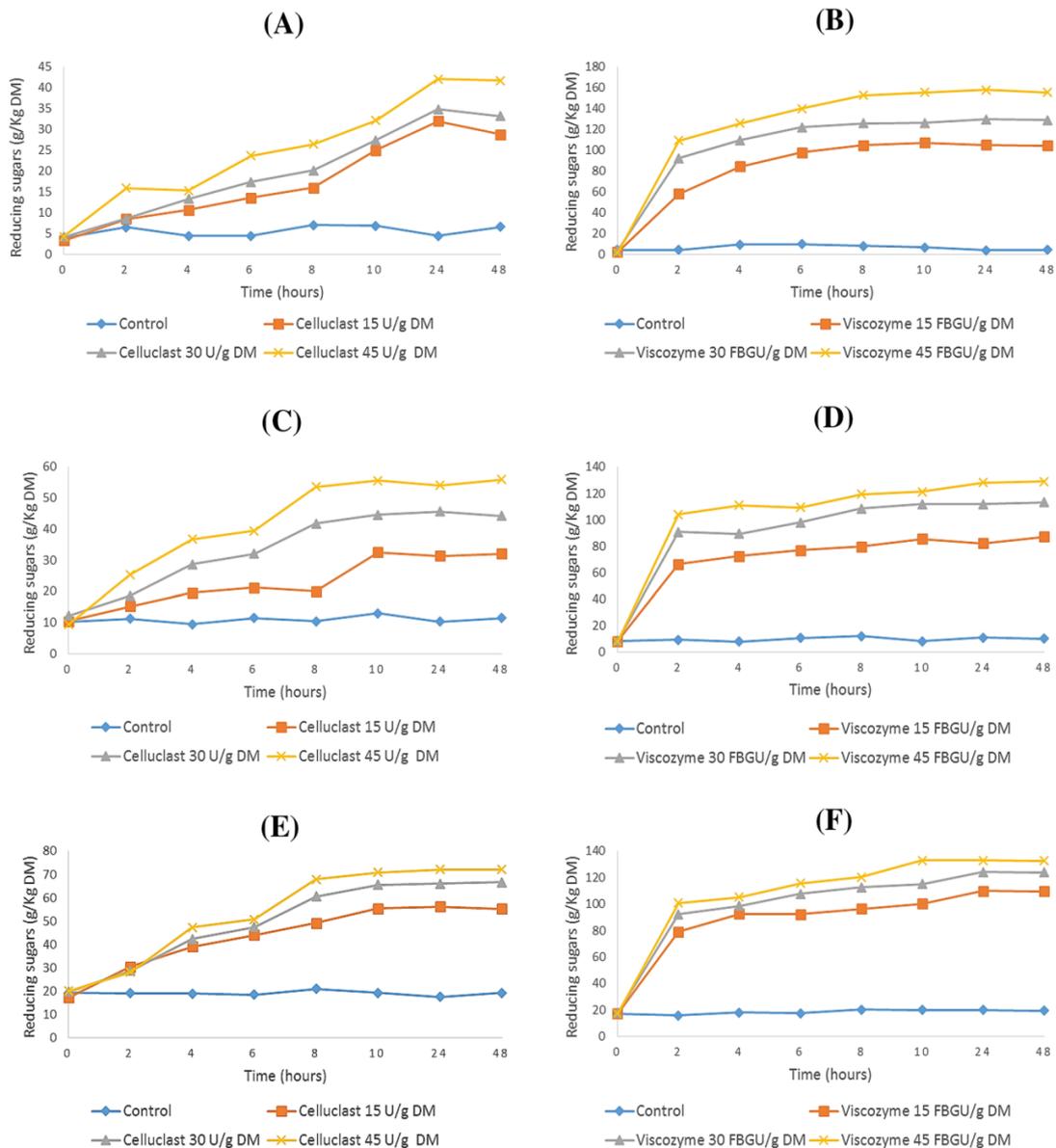


Fig. 6 Kinetics of marrow enzymatic hydrolysis at different enzymatic loads (15, 30 and 45 U/g DM Celluclast and 15, 30 and 45 FBGU/g DM Viscozyme) combined at different biomass loads: **A** and **B** biomass 2% w/v; **C** and **D** biomass 5% w/v; and **E** and **F** biomass 10% w/v

Improving Ethanol Production Yield: Hydrolysates Fermentation

In order to improve the yield of ethanol production, Viscozyme, presenting better saccharification yields compared to Celluclast, was used to carry out the enzymatic hydrolysis of different fractions of sorghum stalks. The optimal conditions (Viscozyme at 45 FBGU/g DM and 10% (w/v) of substrate concentration) were used and the hydrolysates were fermented by *Saccharomyces cerevisiae* against a corresponding untreated biomass fraction control. The fermentation kinetics followed through the

production of ethanol and the consumption of total sugars in the reaction media are presented in Figs. 8 and 9.

The ethanol conversion yields, evaluated on average at 212.01 and 270.32 g Eth/Kg DM were obtained respectively for the untreated and treated whole stem (Fig. 10A). This indicates that the fermentation of the hydrolyzate of the whole stem treated with Viscozyme made it possible to increase bioconversion in ethanol of the order of 27.50% compared to the fermentation of the untreated stem (Fig. 10B). The same bioconversion yields were evaluated at 276.74 and 349.86 g Eth/Kg DM, respectively for the untreated and treated marrow (Fig. 10A). This also

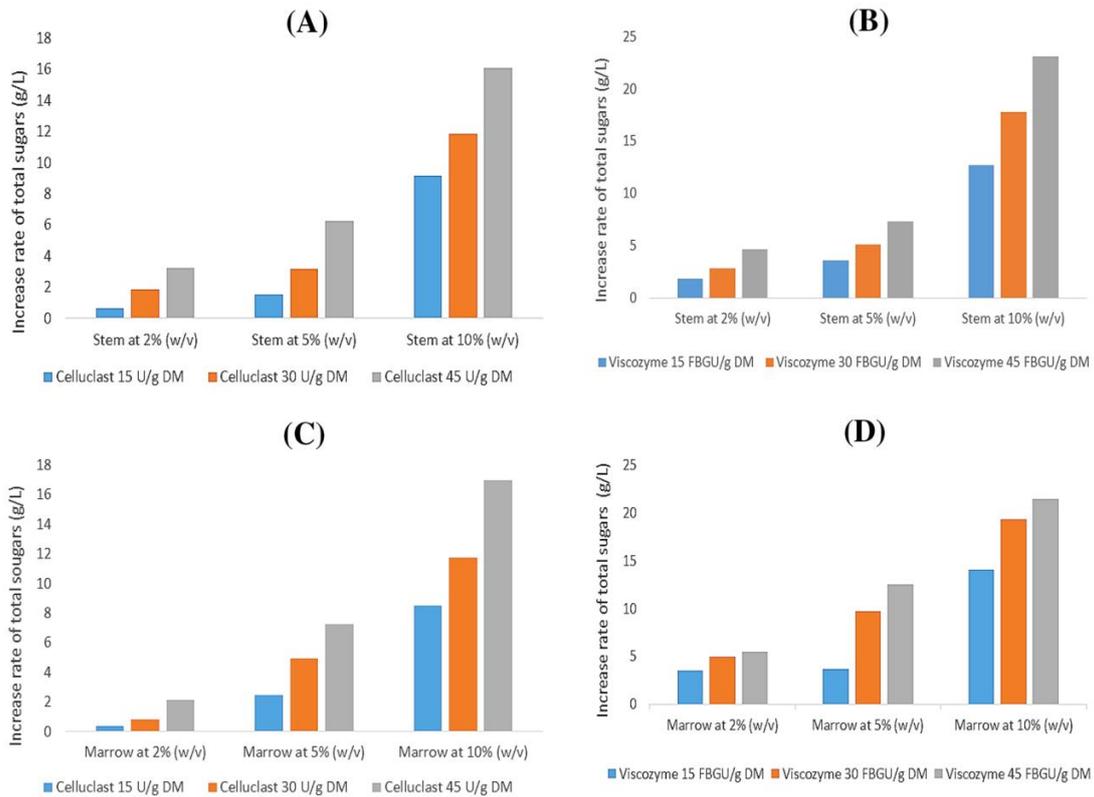


Fig. 7 Rate of increase in total sugars as a function of the biomass load and the enzymatic load for different biomass fractions hydrolysis: whole stem (A and B) and marrow (C and D)

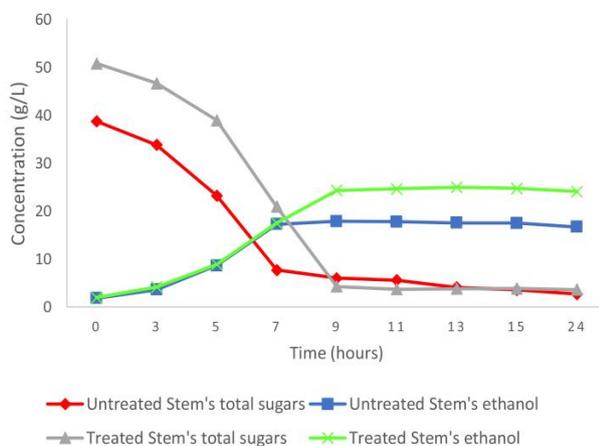


Fig. 8 Fermentation kinetics of treated and untreated whole stem

indicates a rate of increase in the order of 26.42% between fermentation of untreated and treated marrow (Fig. 10B). These results show that enzymatic hydrolysis makes it possible to obtain a significant increase in the rate of biomass bioconversion. These results also indicate that expressed in terms of rate of increase in ethanol production yield, it would be more beneficial and profitable to treat the whole

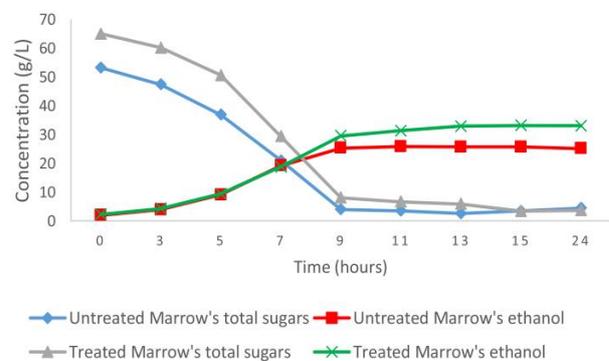


Fig. 9 Fermentation kinetics of treated and untreated marrow

stem (richer in total fiber (Table 1)) which releases more additional sugars compared to the pith. These ethanol yields increases compared to the consumption of total sugars in hydrolyzates were evaluated at 39.63% and 28.14% respectively for the treated and untreated whole stem fractions and between the fractions of treated and untreated marrow (Fig. 10B). These conversion efficiencies are significantly higher than those reported by Sudiyani et al. [59], who also experimented ethanol production after enzymatic hydrolysis (at 30 FPU of Cellic®Ctec2 and Cellic®Htech2 enzymes)

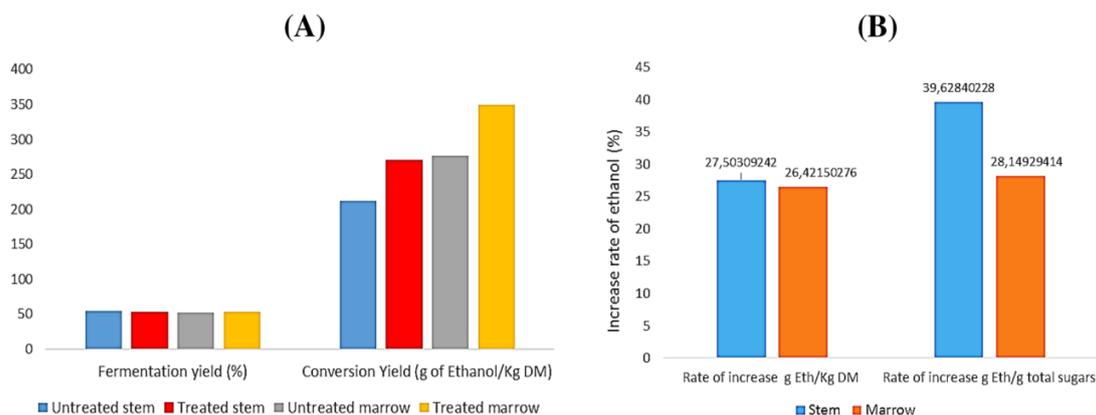


Fig. 10 Fermentation and conversion yields of different treated and untreated biomass fractions (A) and the corresponding ethanol increase rates (B)

of sweet sorghum stalk bagasse pretreated with 10% (w/v) NaOH. The bioconversion yields after fermentation of the hydrolyzate by *S. cerevisiae* were 178.34 and 110.66 L/ton respectively by the process of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) and separate hydrolysis and fermentation (SHF). Similarly, Jin et al. [42] experimented the production of ethanol after enzymatic hydrolysis (20 FPU/mL) of rice straw pretreated with 1% NaOH and obtained a maximum yield of 189 g Eth/Kg DM after fermentation of the hydrolyzate by *Saccharomyces tanninophilus*. Bahry et al. [29] also experimented the production of ethanol from carob waste hydrolyzed by sulfuric acid. They reported that the fermentation yield of waste in solid state by *S. cerevisiae*, was evaluated at 155 g/Kg and was higher than that of the fermentation of waste extract in liquid phase which, was limited to 78 g/Kg.

These results show that the process for ethanol production tested by this study makes it possible to significantly improve the yield of conversion of sorghum stalks into ethanol. It is a green and environmental friendly process, efficient and more suitable for sustainable development policy compared to other ethanol production methods from lignocellulosic feedstock.

Conclusion

This study aimed to improve the bioconversion of sweet sorghum stalks into ethanol. The direct fermentation process (without juice extraction) of ground whole stem experimented in this study significantly improved the efficiency of the ethanol production process. The conversion yields were 165.44; 252.62 and 184.87 g Eth/Kg DM of biomass respectively for juice, marrow and whole stem. Enzymatic hydrolysis applied to different shredded (particle size ≤ 0.5 mm) biomass fractions (whole stem and marrow)

showed that Viscozyme led to better biomass saccharification yield compared to Celluclast. The optimal conditions (Viscozyme at 45 FBGU/g DM and 10% (w/v) of biomass concentration) made it possible to obtain increases in total sugar concentrations evaluated at 23.08 and 21.39 g/L after 24 h of hydrolysis, respectively for whole stem and pith hydrolysates. The fermentation of the subsequent hydrolysates by *S. cerevisiae* made it possible to significantly increase the biomass conversion yields. The bioconversion yields were 212.01 and 270.32 g Eth/Kg DM respectively for the untreated and treated whole stem fractions, i.e. a rate of increase of 27.50%. They were 276.74 and 349.86 g Eth/Kg DM, respectively for the untreated and treated marrow fractions, i.e. a rate of increase of 26.42%. Contrary to the usual process, this study reveals that the juice extraction step, which consumes a lot of water and energy could be dispensed improving the performance and efficiency of the ethanol production process from sweet sorghum stalks. The performance of this new process was further enhanced by a saccharification treatment of the biomass lignocellulosic fraction using cellulolytic enzymes. However, since xylose, which is one of the main sugars obtained after saccharification of the lignocellulosic fraction of this biomass, is not consumed by *S. cerevisiae*, it would also be relevant for the future studies to explore the fermentation of biomass hydrolyzate in mixed culture between *S. cerevisiae* and *Z. mobilis*, or by other strains of microorganisms such as *Pachysolen tannophilus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *S. tanninophilus*, etc., capable of fermenting pentoses.

Acknowledgements The authors would like to thank the French government which financed H.B.'s research mobility through its Eiffel scholarship program of excellence.

Author Contributions Conceptualization: HB, D and PM; Methodology: GC, DDR and HB; Formal analysis and investigation: HB, DP and PG; Writing—original draft preparation: HB and ZF; Writing—review

and editing: DC and PG; Supervision: PM and DDR] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Author H.B. has received research support from Campus France (The French agency in charge of promoting French higher education abroad, managing scholarships from French and foreign governments and welcoming international students). Campus France, D21-000000051, Hamadou Bakari

Data Availability All data generated and analyzed during this study are included in this published article.

Declarations

Competing interests The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

References

- Phoon, B.L., Lai, C.W., Juan, J.C., Show, P.L., Pan, G.: Recent developments of strontium titanate for photocatalytic water splitting application. *Int. J. Hydro. Energy*. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.01.166>
- Rubin, E.M.: Genomics of cellulosic biofuels. *Nature* **454**, 841–845 (2008)
- Phwan, C.K., Ong, H.C., Chen, W., Ling, T.C., Ng, E.P., Show, P.L.: Overview: comparison of pretreatment technologies and fermentation processes of bioethanol from microalgae. *Energy Convers. Manage.* **173**, 81–94 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.07.054>
- El-Zawawy, W.K., Ibrahim, M.M., Abdel-Fattah, Y.R., Nadia, A., Soliman, N.A., Mahmoud, M.M.: Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydr. Polym.* **84**, 865–871 (2011)
- Sakai, S., Tsuchida, Y., Okino, S., Ichihashi, O., Kawaguchi, H., Watanabe, T., Yukawa, H.: Effect of lignocellulose-derived inhibitors on growth of and ethanol production by growth-arrested *Corynebacterium glutamicum* R. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 2349–2353 (2007)
- Wang, Y., Chen, C.J., Cai, D., Wang, Z., Qin, P.Y., Tan, T.W.: The optimization of L-lactic acid production from sweet sorghum juice by mixed fermentation of *Bacillus coagulans* and *Lactobacillus rhamnosus* under unsterile conditions. *Bioresour. Technol.* **218**, 1098–1105 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.069>
- Wang, Y., Chang, J.Q., Cai, D., Wang, Z., Qin, P.Y., Tan, T.W.: Repeated-batch fermentation of L-lactic acid from acid hydrolysate of sweet sorghum juice using mixed neutralizing agent under unsterilized conditions. *J. Chem. Technol. Biot.* **92**, 1848–1854 (2017). <https://doi.org/10.1002/jctb.5195>
- Zhang, C.W., Wen, H., Zheng, J., Fu, C.H., Chen, C.J., Cai, D., Qin, P.Y., Wang, Z.: A combination of evaporation and chemical preservation for long-term storage of fresh sweet sorghum juice and subsequent bioethanol production. *J. Food Process. Pres.* **42**, 13825 (2018). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13825>
- Saballos, A.: Development and utilisation of sorghum as a bio-energy crop. *Gen. Improv. Bioenergy. Crops*. (2008). https://doi.org/10.1007/978-0-387-70805-8_8
- FAOSTAT. (2022) Données de l'alimentation et de l'agriculture. <http://www.fao.org/faostat/fr/#home>. Accessed 24 July 2022
- Bálint, S., Jutka, R., Zsolt, S., Zsófia, K., Dóra, D., Kati, R.: Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: enzymatic hydrolysis of steam-pretreated bagasse. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **153**, 151–162 (2009). <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8423-9>
- Sheehan, J., Himmel, M.E.: Enzymes, energy, and the environment: cellulose development in the emerging bioethanol industry. *Biotechnol. Prog.* **15**, 817–827 (1999)
- Husiatynska, N., Hryhorenko, N., Kalenyk, O., Husiatynskyi, M., Teterina, S.: Studying the process of extracting sugary substances from the stalks of sweet sorghum in the technology of making food syrups. *Eastern-Euro J. Enterp Technol.* **4**, 17–24 (2021). <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2021.237785>
- Appiah-Nkansah, N.B., Li, J., Rooney, W., Wang, D.: A review of sweet sorghum as a viable renewable bioenergy crop and its techno-economic analysis. *Renew Energy*. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.066>
- Monroe, G.E., Nichols, R.L., Bryan, W.L., Sumner, H.R.: Sweet sorghum juice extraction with 3-roll mills. *Trans ASAE*. **27**, 651–654 (1984). <https://doi.org/10.13031/2013.32845>
- Grigorenko, N.A., Stangeeva, N.I. (2017) Improvement of the method of sugars extracting from stems of sorghum. *Prodovolchi resursy*. **9**: 150–153 Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pr_2017_9_20
- Jia, F., Chawhuaymak, J., Riley, M.R., Zimmt, W., Ogden, K.L.: Efficient extraction method to collect sugar from sweet sorghum. *J. Biol. Eng.* **7**, 1 (2013). <https://doi.org/10.1186/1754-1611-7-1>
- Djomdi, Hamadou, B., Klang, M.J., Djoulde, D.R., Christophe, G., Michaud, P.: Extraction performance of juice and bioethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Glob. J. Eng. Sci. Res. Manag.* **6**, 57–66 (2019)
- Sriariyanun, M., Kitiborwornkul, N., Tantayotai, P., Rattanaporn, K., Show, P.L.: One-pot ionic liquid-mediated bioprocess for pretreatment and enzymatic hydrolysis of rice straw with ionic liquid-tolerance bacterial cellulase. *Bioengineering* **9**, 17 (2022). <https://doi.org/10.3390/bioengineering9010017>
- Shah, R.B., Clausen, E.C., Gaddy, J.L.: Production of Chemical Feedstocks from Biomass. *CEP Newlt.* January, 76 (1984)
- Ogier, J.C., Ballerini, D., Leygue, J.P., Rigal, L., Pourquié, J.: Production d'éthanol à partir de biomasse Lignocellulosique. *Oil Gas. Sci. Technol.—Revue de l'IFP*. **54**, 67–94 (1999)
- Banerjee, S., Mudliar, S., Giri, B., Satpute, D., Chakrabarti, T., Pandey, R.A.: Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies. *Biofuels, Bioprod. Biorefin.* **4**, 77–93 (2010)
- Duff, S.J.B., Murray, W.D.: Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Bioresour. Technol.* **55**, 1–33 (1996)
- AFNOR (Association Française de Normalisation): Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes, Jus de fruits. 1^{ère} éd., Afnor Compétences, Paris la défense, France (1982)
- Van Soest, P.J.: The use of detergents in the analysis of fibrous feeds: II. a rapid method for the determination of fiber and lignin. *Off. Agric. Chem.* **46**, 829 (1963)
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A., Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* **28**, 350–356 (1956)
- Waffenschmidt, S., Jaenicke, L.: Assay of reducing sugars in the nanomole range with 2,2'-bicinchoninate. *Anal. Biochem.* **165**, 337–340 (1987)
- Gutfinger, T.: Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **58**, 966–968 (1981)
- Bahry, H., Pons, A., Abdallah, R., Pierre, G., Delattre, C., Fayad, N., Taha, S., Vial, C.: Valorization of carob waste: definition of a second-generation bioethanol production process. *Bioresour. Technol. Elsevier* **235**, 25–34 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.056>

30. Kristiansen, B.: Integrated design of a fermentation plant: the production of baker's yeast. VCH, New York (1994)
31. Almodares, A., Hadi, M.R.: Production of bioethanol from sweet sorghum: a review. *Afr. J. Agric. Res.* **4**, 772–780 (2009)
32. Gutjahr, S., Clément-Vidal, A., Soutiras, A., Sonderegger, N., Brannonier, S., Dingkuhn, M., Luquet, D.: Grain, sugar and biomass accumulation in photoperiod-sensitive sorghums. II. biochemical processes at internode level and interaction with phenology. *Funct. Plant Biol.* **40**, 355–368 (2013)
33. Billa, E., Koullas, D.P., Monties, B., Koukios, E.G.: Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Ind. Crops Prod.* **6**, 297–302 (1997)
34. Amer, S.M.M.: Evaluation of high water soluble carbohydrates annual forages for dairy cattle, pp. 32–87. McGill University, Québec City (2011)
35. Amélia, D.P.B.: Rendement en biomasse et en sucres et valeur nutritive du millet perlé sucré et du sorgho sucré en fonction de la date de récolte et du délai entre le hachage et le pressage du fourrage. Mémoire, Maîtrise en biologie végétale, p. 114. Université Laval, Québec city (2012)
36. Tremblay, G.F., Lefebvre, D., Petit, H., Lafrenière, C.: La valeur nutritive des fourrages. Dans : Bélanger G., Couture L. et G. Tremblay. 2005. Les plantes fourragères, pp. 154. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, (2005)
37. Khalil, S.R.A., Abdelhafez, A.A., Amer, E.A.M.: Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Ann. Agric. Sci.* **60**, 317–324 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.005>
38. Jolanta, B., Jakub, F., Aleksandra, W., Agnieszka, E.: Bioethanol production from biomass of selected sorghum varieties cultivated as main and second crop. *Energies.* **13**, 6291 (2020). <https://doi.org/10.3390/en13236291>
39. Kim, M., Day, D.F.: Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **38**(7), 803–807 (2011)
40. Nasidi, M., Agu, R., Deeni, Y., Walker, G.: Improved production of ethanol using bagasse from different sorghum cultivars. *Biomass Bioenerg.* **72**, 288–299 (2015)
41. Saini, J.K., Saini, R., Tewari, L.: Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. *Biotech.* **5**, 337–53 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0246-5>
42. Jin, X., Song, J., Liu, G.: Bioethanol production from rice straw through an enzymatic route mediated by enzymes developed in-house from *Aspergillus fumigatus*. *Energy.* **190**, 116395 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116395>
43. Crépeau, M., Khelifi, M., Vanasse, A., Seguin, P., Tremblay, G.F.: Compressive forces and harvest time effects on sugars and juice extracted from sweet pearl millet and sweet sorghum. *Trans. ASABE* **56**(5), 1665–1671 (2013)
44. Crépeau, M.: Optimisation de la récolte, de l'entreposage et du pressage du millet perlé sucré et du sorgho sucré cultivés au Québec pour la production de bioéthanol. Thèse Doctorat en sols et environnement, p. 151. Université Laval, Québec city (2017)
45. Noura, S.: (2016) Amélioration de l'extraction des sucres de la biomasse du millet perlé sucré et du sorgho sucré pour une éventuelle production de bioéthanol Mémoire Maîtrise en sols et environnement. Université Laval, Québec city (2015)
46. Hao, C., Xuejiao, T., Qunli, Y., Wei, H., Jihong, C., Libin, Z.: Sweet sorghum stalks extract has antimicrobial activity. *Ind Crops Prod.* **170**, 113746 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113746>
47. Ring, A.S., Waniska, R.D., Rooney, L.W.: Phenolic compounds in different sorghum tissues during maturation. *Biomass.* **17**, 39–49 (1988)
48. Sereme, A., Kuoda-Bonafos, M., Nacro, M.: Phenolic compounds in *Sorghum caudatum* tissues during plant development. *Biomass Bioenerg.* **4**, 69–71 (1993)
49. Acosta-Estrada, B., Gutierrez-Urbe, J., Serna-Saldivar, S.: Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.* **152**, 46–55 (2014)
50. Irvan, S.K., Khaswar, S., Erliza, N., Gumbira, S.E.: Sorghum stalk juice pre-treatment method for bioethanol fermentation process. *Energy Procedia.* **65**, 140–145 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.01.047>
51. Teshome, H.R., Charles, S.W.: Sweet sorghum as a bioenergy crop: Literature review. *Biomass Bioenerg.* **64**, 348–355 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.03.052>
52. Zhu, Y., Xin, F., Chang, Y., Zhao, Y., Weichong, W.: Feasibility of reed for biobutanol production hydrolyzed by crude cellulase. *Biomass Bioenergy.* **76**, 24–30 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.02.013>
53. Zeghlouli, J., Christophe, G., Guendouz, A., El Modafar, C., Belkamel, A., Michaud, P., Delattre, C.: Optimization of bioethanol production from enzymatic treatment of argan pulp feedstock. *Molecules.* **26**, 2516 (2021). <https://doi.org/10.3390/molecules26092516>
54. Deliana, D., Sri, O.T., Eka, T., Muhammad, N.: Haznan abimanyu comparison of SHF and SSF processes using enzyme and dry yeast for optimization of bioethanol production from empty bunch. *Energy Procedia.* **68**, 107–116 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.03.238>
55. Qiu, J., Ma, L., Shen, F., Yang, G., Zhang, Y., Deng, S., Zhang, J., Zeng, Y., Hu, Y.: Pretreating wheat straw by phosphoric acid plus hydrogen peroxide for enzymatic saccharification and ethanol production at high solid loading. *Bioresour. Technol.* **238**, 174–181 (2017)
56. Cheung, S.W., Anderson, B.C.: Laboratory investigation of ethanol production from municipal primary wastewater. *Bioresour. Technol.* **59**, 81–96 (1997)
57. Huang, X.L., Penner, M.H.: Apparent substrate inhibition of the *Trichoderma reesei* cellulase system. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 2096–2100 (1991)
58. Penner, M.H., Liaw, E.T.: Kinetic consequences of high ratios of substrate to enzyme saccharification systems based on *Trichoderma cellulase*. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (eds.) *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, pp. 363–371. American Chemical Society, Washington, DC (1994)
59. Sudiyani, Y., Triwahyuni, E., Muryanto, Burhani, D., Waluyo, J., Sulawaty, A., Abimanyu, H.: Alkaline pretreatment of sweet sorghum bagasse for bioethanol production. *Int. J. Renew. Energy Dev.* **5**, 113–118 (2016)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

1.3. Discussion

Cette étude présente une amélioration de performance de procédé de production d'éthanol à partir des tiges sucrées de sorgho que l'on pourrait appliquer à d'autres BLC similaires. La composition des tiges de sorgho étudiées (31,74% de MS) a révélé la présence de fibres (63,50%), d'hémicelluloses (16,96%), de celluloses (18,25%) et de lignines (28,60%). La composition biochimique des tiges de sorgho sucré est comparable à celles d'autres BLC telles que les tiges de maïs, de canne à sucre, les pailles de riz, de panic érigé, etc. qui varient de 15 à 36% MS (hémicelluloses), de 35 à 53% MS (celluloses), et de 14 à 32% MS (lignines) (Kim and Day, 2011 ; Serna-Saldívar *et al.*, 2012 ; Brown and Brown, 2014). Les teneurs en sucres totaux, solubles et réducteurs étaient respectivement de 731,69 ; 538,22 et 377,68 g/kg MS. L'analyse des monosaccharides issus de l'hydrolyse acide de la fraction lignocellulosique des tiges a révélé que les sucres structuraux non hydrosolubles étaient composés principalement de xylose (142,64 g/kg MS), glucose (103,61 g/kg MS), arabinose (17,32 g/kg MS) et quelques traces de galactose (5,17 g/kg MS). La teneur en composés phénoliques totaux était de 5,2 g/kg MS. Cette faible teneur en composés phénoliques antimicrobiens a constitué un atout majeur pour la bioconversion énergétique des tiges (Acosta-Estrada *et al.*, 2014 ; Kartawiria *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2021).

Les rendements de fermentation ont été de 0,45 ; 0,50 et 0,49 g Eth/g de sucres consommés, respectivement pour le jus, la moelle et la tige entière. La fermentation des broyats de tiges entières et de moelle présentait des rendements légèrement supérieurs (8,9 et 11,1% de plus) à celui de la fermentation du jus. Ce résultat montre que la présence des fractions lignocellulosiques dans les milieux de culture n'impacte pas le rendement de production d'éthanol par *Saccharomyces cerevisiae* conformément aux observations de certains auteurs (Sipos *et al.*, 2009 ; Jia *et al.*, 2013). Il est donc possible d'éliminer l'étape d'extraction et de reconsidérer le procédé de production d'éthanol à partir de cette biomasse. Cette observation a été renforcée par des meilleurs rendements de bioconversion obtenus avec les broyats de tige entière (184,87 g Eth/kg MS) et moelle (252,62 g Eth/kg MS équivalent tige) comparativement au jus (165,44 g Eth/kg MS équivalent tige). Ces rendements sont comparables à ceux obtenus à partir des tiges de miscanthus (185 – 253 g Eth/kg MS) (Cerazy-Waliszewska *et al.*, 2019) par procédé de saccharification et fermentation simultanées (SFS) après un prétraitement de délignification thermochimique (NaOH 1,5% à 90°C pendant 5h). Ces rendements sont également similaires à ceux obtenus à partir de l'hydrolysats des tiges de maïs (139,6 – 204,8 g Eth/kg MS) (Akter *et al.*, 2020) après un prétraitement de délignification thermochimique

(1,5% H₂SO₄ à 110°C pendant 2h) et d'hydrolyse enzymatique avec le Celluclast 1.5 L (7.5 FPU/g tige) et le Novozyme 188 (12.5 CBU/g tige) ou encore à ceux obtenus à partir de la fraction organique des déchets solides municipaux (113 – 407 g Eth/kg) (Mosquera-Toscano *et al.*, 2023). Ils sont cependant largement supérieurs à ceux obtenus à partir des extraits des dattes sèches (74,7 g/kg MS) et des betteraves sucrières (29 g/kg MS) (Fennouche *et al.*, 2019).

L'hydrolyse enzymatique appliquée aux broyats de tiges entières et moelle (granulométrie ≤ 0,5 mm) a montré que le Viscozyme était plus efficace que le Celluclast pour saccharifier cette biomasse avec un rendement de bioconversion en sucres réducteurs de 188,68 g/kg MS après 24 heures d'hydrolyse à 45 FBGU/g MS de charge enzymatique et 10% (m/v) de charge en biomasse contre 170,37 g/kg MS après 48h d'hydrolyse en utilisant le Celluclast à 45 U/g MS de charge enzymatique et 10% (m/v) de charge en biomasse. Par ailleurs, les résultats ont montré que la teneur en sucres totaux augmentait logiquement avec l'augmentation de charges en biomasse et en enzymes aussi bien pour le Celluclast que pour le Viscozyme, ce qui est en accord avec certains auteurs (Qiu *et al.*, 2017 ; Zeghlouli *et al.*, 2021). Par contre, ces résultats sont en contradiction avec les observations d'autres auteurs qui ont rapporté que des concentrations élevées en substrat entraînaient l'inhibition de l'hydrolyse de la BLC (Cheung and Anderson, 1997 ; Penner and Liaw, 1994 ; Huang and Penner, 1991). Cela pourrait s'expliquer par la différence des compositions biochimiques et élémentaires des substrats étudiés. En effet, il a été démontré que certains composés dérivés de lignine (acides vanilliques et syringiques et syringaldes), de furan (furfural, hydroxyméthylfurfural) ainsi que d'autres acides organiques (formic, acétique) issus de la saccharification des BLC sont toxiques et inhibiteurs des enzymes (Viikari *et al.*, 2012).

La fermentation des hydrolysats par *S. cerevisiae* a permis d'obtenir des rendements de bioconversion de 212,01 et 270,32 g Eth/kg MS respectivement pour les fractions de tiges entières avant et après prétraitement avec le Viscozyme, soit un taux d'augmentation de 27,50%. La même tendance a été obtenue pour l'hydrolysat de la moelle avec un taux d'augmentation de 26,42% entre la fermentation de la moelle non traitée (276,74 g Eth/kg MS) et traitée avec le Viscozyme (349,86 g Eth/kg MS). Cela confirme que l'étape de fractionnement et particulièrement celle de l'épluchage n'est pas nécessaire et qu'il est possible hydrolyser le broyat de tige entière pour obtenir de meilleurs rendements. Exprimés en termes de sucres totaux consommés, ces taux d'augmentation de rendement de bioconversion étaient de 39,63% pour les fractions de tiges entières avant et après prétraitement avec le Viscozyme, et de 28,14%, pour les fractions de moelle avant et après prétraitement avec ce même cocktail enzymatique.

Ces rendements de bioconversion sont largement supérieurs à ceux rapportés par [Sudiyani et al. \(2016\)](#) (140,89 et 87,421 g Eth/kg) avec l'hydrolysate de bagasse de tige du sorgho sucré prétraité avec une solution de NaOH à 10%, [Jin et al. \(2020\)](#) (189 g Eth/kg MS) avec l'hydrolysate des pailles de riz prétraitées avec une solution de NaOH à 1%, ou encore [Bahry et al. \(2017\)](#) (155 g Eth/kg de déchets) à partir des déchets de caroube hydrolysés par de l'acide sulfurique.

Ces résultats montrent que l'étape d'hydrolyse enzymatique permet d'améliorer considérablement le rendement de bioconversion de tiges de sorgho. Toutefois, le xylose, l'un des sucres majoritaires obtenus après saccharification de la fraction lignocellulosique des tiges n'est pas consommé par *S. cerevisiae*. Il serait donc également pertinent d'explorer la fermentation de l'hydrolysate de tiges en culture mixte entre *S. cerevisiae* et *Zymomonas mobilis* ([Phwan et al., 2018](#)), ou par d'autres souches des microorganismes à l'instar de *Pichia stipitis*, *Pachysolen tannophilus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *Saccharomyces tanninophilus*, capables de convertir les pentoses en éthanol ([Kumar et al., 2009](#) ; [Dahnum et al., 2015](#) ; [Jin et al., 2020](#)).

Les tiges de sorgho sucré constituent une source viable et durable de matière première pour la production de bioéthanol 2G. La fermentation directe du broyat de tige entière permet d'éviter l'étape d'extraction du jus et améliorer ainsi la performance, l'efficacité et la rentabilité de procédé de bioconversion de cette biomasse. La performance de ce nouveau procédé a été renforcée par un traitement de saccharification de la fraction lignocellulosique par des enzymes cellulolytiques. Cependant, l'hydrolyse enzymatique, bien qu'efficace et plus écologique, représente environ 30% du coût total de bioconversion ([Zabed et al., 2019](#) ; [Li et al., 2023](#)). Ce poste peut donc se révéler être un facteur limitant pour son implémentation à l'échelle industrielle. Le développement d'un procédé de bioconversion énergétique plus efficace et à moindre coût s'avère donc nécessaire. C'est pourquoi, une autre approche par couplage des procédés fermentation-méthanisation a été expérimentée dans la suite de l'étude afin d'optimiser le rendement global de bioconversion énergétique, limiter les coûts de production et rentabiliser le procédé.

2. Optimisation de l'efficacité de bioconversion énergétique de tiges sorgho sucré par couplage de procédés fermentation alcoolique – méthanisation

2.1. Introduction

La valorisation énergétique des tiges de sorgho sucré constitue une voie de valorisation pour ce sous-produit agricole dans un contexte de diminution des ressources fossiles et de réchauffement climatique. La bioconversion présente des avantages économiques et environnementaux par rapport à d'autres technologies de conversion énergétique (Antonopoulou *et al.*, 2008). Le bioéthanol et le biométhane sont des vecteurs énergétiques produits à partir de la bioconversion de tige de sorgho sucré. La technologie de méthanisation est reconnue comme la méthode la plus efficace de bioconversion énergétique de ce type de biomasse lignocellulosique comparée à la fermentation éthanolique (Głąb *et al.*, 2019). Toutefois, pris séparément, un seul procédé de bioconversion ne permet d'aboutir qu'à une conversion partielle de cette biomasse. Il est donc nécessaire de reconsidérer les voies de bioconversion énergétique de cette biomasse. Les procédés actuels et notamment ceux de production d'éthanol s'avèrent économiquement peu rentables du fait de l'extraction du jus qui est très consommatrice d'eau et d'énergie. De plus, en raison de sa composition (cellulose, hémicellulose et lignine), la bioconversion énergétique de la fraction lignocellulosique des tiges de sorgho nécessite des opérations de fractionnement et de prétraitement préalables. Ces opérations de prétraitement sont souvent complexes et très coûteuses. Ainsi, même si l'hydrolyse enzymatique expérimentée dans le cadre de cette étude a démontré son efficacité, sa mise en place à l'échelle industrielle pourrait s'avérer très peu rentable en raison des coûts des enzymes et des conditions opératoires. De plus, certaines techniques d'hydrolyse peuvent conduire à la dégradation d'une partie des sucres fermentescibles et à la formation des nombreux composés toxiques, corrosifs, inhibiteurs de croissance microbienne. Pour toutes ces raisons, cette étude visait à augmenter le rendement global de bioconversion énergétique et la rentabilité du procédé en couplant la fermentation directe de broyats de tiges entières et la méthanisation des résidus solides. Etant donné que la saccharification de la fraction fibreuse n'est pas particulièrement nécessaire pour la valorisation par la voie de méthanisation, l'objectif était d'améliorer les performances et l'efficacité du procédé de bioconversion énergétique de tiges de sorgho sucré. Le digestat final peut alors être valorisé comme fertilisant organique après épandage (Akobi *et al.*, 2016). Une caractérisation physico-chimique incluant la détermination du pouvoir calorifique des tiges brutes a été effectuée afin d'évaluer leur potentiel énergétique. Ensuite la fermentation directe du broyat de tiges entières couplée à la méthanisation mésophile

des résidus solides a été expérimentée (**Figure 3.2**). Enfin la méthanisation directe du broyat de tiges entières a été réalisée afin d'établir des bilans comparatifs d'efficacité des différents procédés de bioconversion. Les résultats de ces expérimentations ont été publiés dans le journal *Bioengineered*.

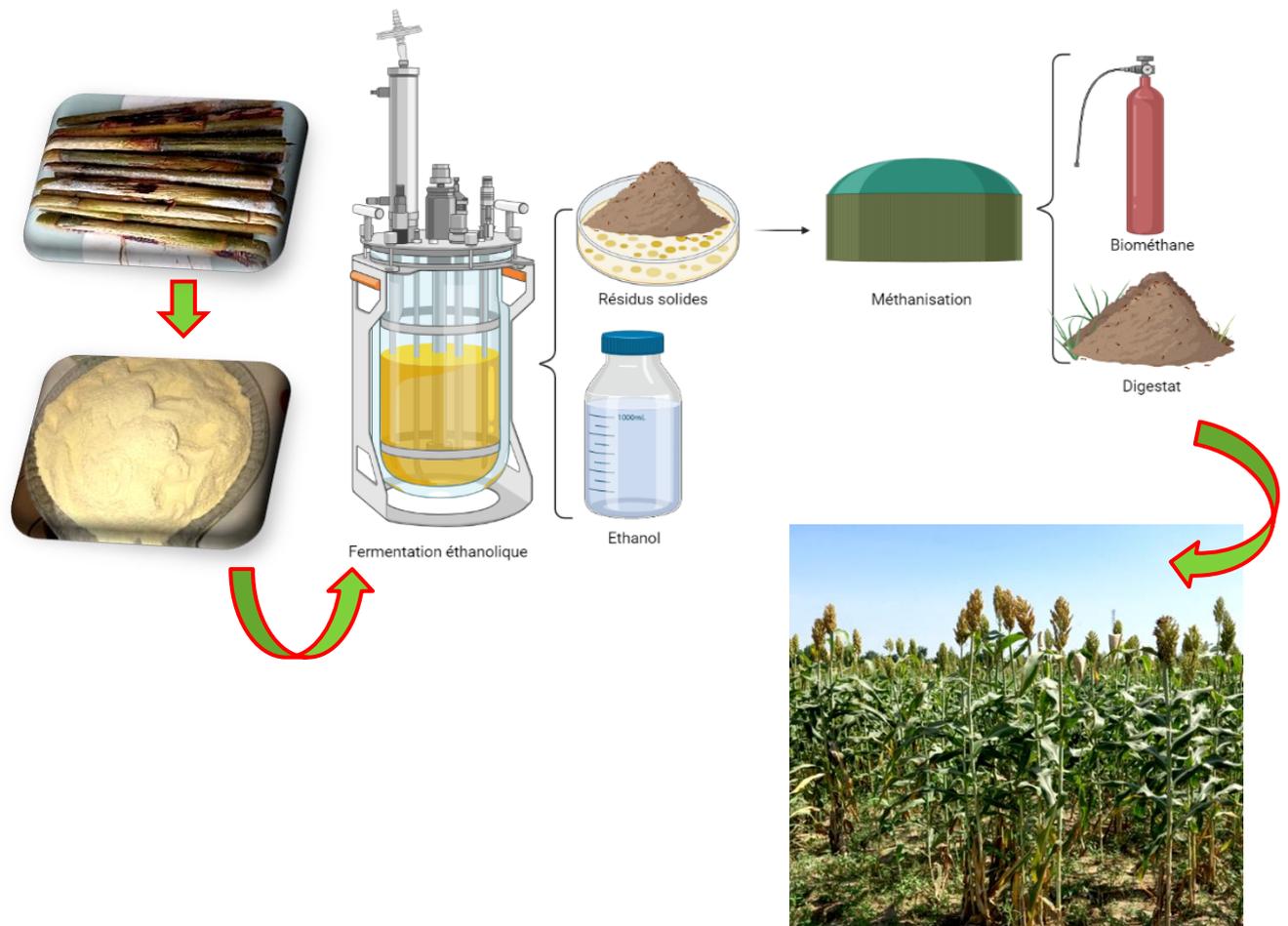


Figure 3.2 : Procédé de couplage fermentation alcoolique – méthanisation des tiges de sorgho sucré

2.2. Article publié dans Bioengineered

Optimization of energy recovery efficiency from sweet sorghum stems by ethanol and methane fermentation processes coupling

Bakari Hamadou^{a,b,c}, Djomdi Djomdi^c, Ruben Zieba Falama^{a,d}, Roger Djouldé Darnan^c, Fabrice Audonnet^b, Pierre Fontanille^b, Cedric Delattre^b, Guillaume Pierre^b, Pascal Dubessay^b, Philippe Michaud^b, and Gwendoline Christophe^b

^aEnergy Research Laboratory, Renewable Energy Section (LRE/SENC), Institute for Geological and Mining Research (IRGM), Nlongkak Yaounde, Cameroon; ^bUniversité Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, Clermont-Ferrand, France; ^cDepartment of the Renewable Energies, the National Advanced School of Engineering of Maroua, University of Maroua, Maroua, Cameroon; ^dNational Advanced School of Mines and Petroleum Industries, University of Maroua, Maroua, Cameroon

ABSTRACT

Taken separately, a single sweet sorghum stem bioconversion process for bioethanol and bio-methane production only leads to a partial conversion of organic matter. The direct fermentation of crushed whole stem coupled with the methanization of the subsequent solid residues in a two-stage process was experimented to improve energy bioconversion yield, efficiency, and profitability. The raw stalk calorific value was 17,144.17 kJ/kg DM. Fermentation step performed using *Saccharomyces cerevisiae* resulted in a bioconversion yield of 261.18 g Eth/kg DM, *i.e.* an energy recovery efficiency of 6921.27 kJ/kg DM. The methanogenic potentials were 279 and 256 LCH₄/kg DM, respectively, for raw stem and fermentation residues, *i.e.* energy yields of 10,013.31 and 9187.84 kJ/kg DM, respectively. Coupling processes have significantly increased yield and made it possible to reach 13,309.57 kJ/kg DM, *i.e.* 77.63% of raw stem energy recovery yield, compared to 40.37% and 58.40%, respectively, for single fermentation and methanization processes.

HIGHLIGHTS

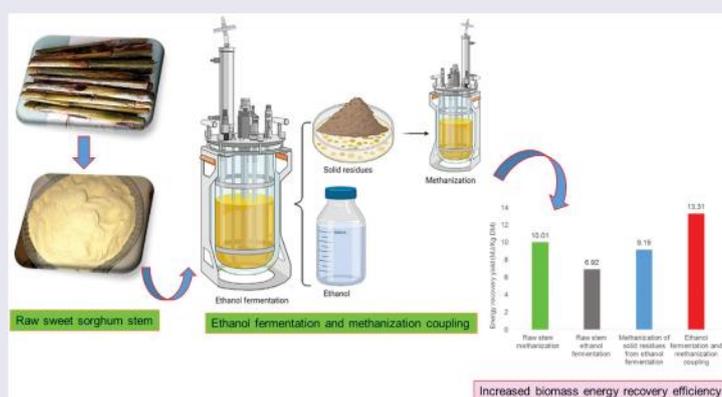
- Sweet sorghum stem is a viable feedstock source for efficient coproduction of ethanol and methane
- Sorghum stems calorific value determination revealed an energy potential of 17.15 MJ/kg DM
- Energy recovery by single methanization yielded 18.03% more than ethanol fermentation
- Coupling processes has significantly increased energy recovery yield and profitability

ARTICLE HISTORY

Received 28 March 2023
Revised 8 June 2023
Accepted 4 July 2023

KEYWORDS

Sorghum; bioconversion; bioenergy; ethanol; methane; energy efficiency; biomass



1. Introduction

World population increase and economic development lead to an exponential growth of the global

energy demand. The energy sector, which is essentially based on fossil resources, is the source of about three quarters of GHG emissions and has

CONTACT Gwendoline Christophe  gwendoline.christophe@uca.fr  Université Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, Clermont-Ferrand, France

© 2023 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

already raised the mean global temperature by 1.1°C with a lot of negative impacts on the environment [1]. While fossil resources are increasingly depleted, further accentuating concerns about energy and environmental security. Faced with this context, the international community has opted for an energy transition policy targeted to reduce GHG emissions and achieve carbon neutrality in order to cap global warming to 1.5°C by 2050 [2]. The use of renewable energy sources has become an absolute and unavoidable necessity in order to meet this current challenge. Development of energy recovery efficiency from biomass is one of the most important ways of keeping our environment sustainable. Lignocellulosic biomass is one of the most available alternative sources of energy and accounts for approximately 14% of renewable energy consumption worldwide [3]. In the last decade, the use of lignocellulosic biomass agricultural residues as alternative to generate various kinds of energy vector biomolecules, has gained increasing interest because of its several interesting features including diversity, sustainability, and low GHG emissions [4]. Sweet sorghum is one of the most attractive sources of bioenergy because of its versatility, combining the production of starchy grains, high fermentable sugars content stalks and a high green biomass yield [5]. Sorghum multifunctionality gives it the specificity of providing interesting solutions to meet energy and environmental challenges without adversely affecting food chain [6]. Its green biomass productivity varies from 20 to 120 tonnes/ha, depending on the agronomic and environmental conditions as well as the variety's botanical specificities [7]. In addition, several features make sorghum one of the most interesting cereal crops, including resistance to extreme agronomic conditions, resilience, low input requirements and high production yield. Fifth most produced cereal crops worldwide, sorghum global production in 2020 was estimated at 58.70 million tonnes out of a cropping area of 40.25 million hectares [8]. Sweet sorghum stalks energy recovery like any other lignocellulosic biomass, can be carried out using several techniques, in particular thermochemical conversion (direct combustion, pyrolysis, gasification, liquefaction, etc.) or biological conversion

(ethanol fermentation, biomethanization, dark fermentation for hydrogen production, etc.). Thermochemical conversion has low overall energy recovery yields and emits large amounts of pollutants, and therefore many operational and environmental challenges are associated with it [9]. On the other hand, bioconversion presents economic and environmental advantages compared to other technologies [10]. Bioethanol and biomethane are among the most well-known energy vector biomolecules produced from the bioconversion of sweet sorghum stem [11]. Currently, methanization proves to be the more efficient method of lignocellulosic biomass energy bioconversion compared to ethanol fermentation [12]. However, taken separately, a single bioconversion process only leads to a partial conversion of organic matter. More specifically, energy recovery yield from sweet sorghum stems by single ethanol fermentation process is between 6500 and 8900 kJ/kg DM (considering ethanol energy yield at 26,500 kJ/kg) [10,11], while the energy potential or calorific value of sweet sorghum stalk has been estimated at around 18,320 kJ/kg DM [13,14]. This low yield is mainly due to the fact that this lignocellulosic biomass is composed mostly of cellulose, hemicellulose and lignin which integrate strongly forming a complex structure, resistant and difficult to metabolize by microorganisms. A pretreatment step aimed at fractionation is often necessary in order to enhance the accessibility of microorganisms to carbohydrate polymers. Several pre-treatment techniques (mechanical, chemical, thermal, biological, or their eventual combination, etc.) are currently used and have improved performance [15]. However, they have limitations such as high energy or reagent costs, potential pollutants, formation of inhibitor compounds for microbial metabolism, low efficiencies, substrate loss, etc. [4]. In addition, the pretreatment of lignocellulosic biomass, in particular, the production of sugar monomers from the fibrous fraction, is a complex and the costliest part of the biomass energy conversion process [16]. Moreover, the typical process of ethanol production from sweet sorghum stalks proves to be unprofitable because of the very costly juice extraction step. The liquid

fraction and the solid residues are usually processed separately. This fractionation step leads to a low energy bioconversion yield, while efficient pathways of biomass energy recovery with lower energy consumption are essential for cost-effective production of bioenergy from lignocellulosic feedstocks [17–19]. Development of more efficient and profitable energy bioconversion process is therefore necessary. This study experiments a combination of direct ethanol fermentation and methanization in order to enhance the overall energy recovery efficiency and profitability of this process. Direct ethanol fermentation (without juice extraction nor pretreatment step) of crushed whole stem using *Saccharomyces cerevisiae* coupled with the mesophilic methanization of the subsequent solid residues in a two-stage process has been proposed in this work. The overall objective is to improve the energy bioconversion process yield and performance of sweet sorghum stems.

2. Material and methods

2.1. Sorghum stems collecting and pretreatment

The studied sweet sorghum stalks (*Sorghum bicolor* (L) Moench) were harvested in the locality of 'KODEK' (10° 39' 19"N; 14° 24' 42"E; 880 m), department of DIAMARE, Far North region of Cameroon. Stalk samples were then forthwith stripped, cut out, and kept at –20°C. Ethanol fermentation and methanization have been studied (separately and in combination). Figure 1 shows the overall process diagram. The sorghum variety was first formally identified (species, cultivar, GPS coordinates, etc.), and then a sufficient quantity of stalks was harvested. The stems then underwent a physicochemical characterization. Ethanol production has been experimented on different fractions of the biomass (juice, pith, and whole stem) in order to compare the process efficiency. For this purpose, the stripped stems were cut up, dried (steaming at 60°C until

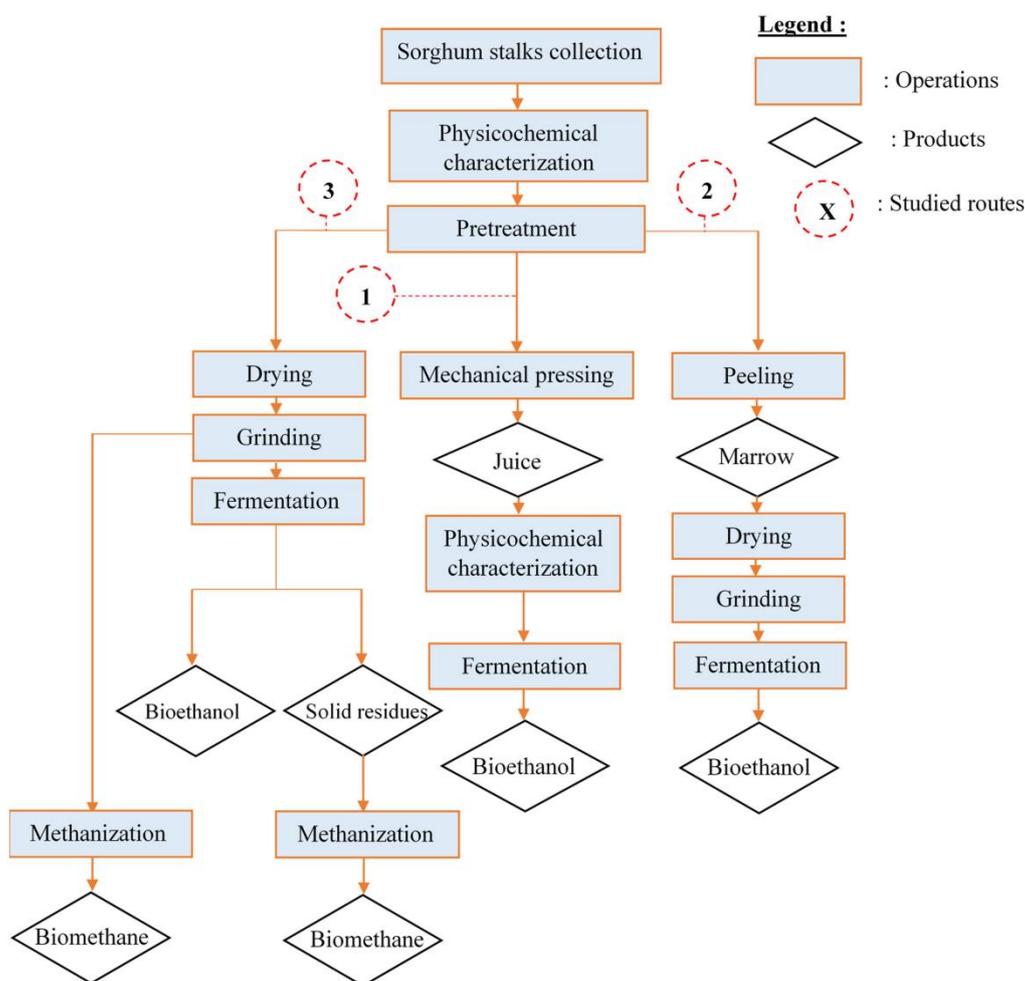


Figure 1. Overall research implementation flow.

obtaining constant mass) and crushed to a grain size ≤ 0.5 mm using a mill. A sample of stems was peeled to separate the pith from the bark, and then dried and crushed in the same way. The juice was extracted from wet pith samples by grinding and mechanical squeezing using a mill then characterized before being fermented following the description of **route 1** (Figure 1). According to **itinerary 2**, direct fermentation of crushed pith suspended in water has been experimented. During **route 3**, single direct ethanol fermentation and direct methanization were experimented on raw shredded whole stalk. Then, the methanization of the subsequent solid residues from ethanol fermentation was also tested in order to compare the efficiencies of the processes separately and the fermentation/methanization coupling process.

2.2. Sweet sorghum stalk physicochemical characterization

The determination of the biomass dry matter content has been carried out according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) method [20]. Samples were first steamed at 105°C while monitoring the decrease in mass until a stable mass was obtained. The biomass dry matter rate, expressed as a percentage of wet matter, has been estimated after cooling samples in the atmosphere of a desiccator, according to Equation (1):

$$DM_r = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100 \quad (1)$$

With, DM_r : Dry matter rate (%); M_f : Final crucible mass and its residual dry contents (g); M_i : Initial crucible mass and its wet contents (g); T : Tare of empty crucible (g).

The moisture rate of the samples (M_r) has been deduced from the dry matter content according to Equation (2):

$$M_r = 100 - DM_C \quad (2)$$

The ash content determination has been carried out by incineration in an electric muffle furnace (550°C for 6 h) of the subsequent dry residues of the samples. The mineral content has been expressed as a percentage of DM and estimated

after cooling in the atmosphere of a desiccator, according to Equation (3):

$$MM_r = \frac{M_f - T}{M_i - T} \times 100 \quad (3)$$

With, MM_r : Mineral matter rate (%); M_f : Final crucible mass and its residual sample contents after incineration (g); M_i : Initial crucible mass and its dry sample contents before incineration (g); T : Tare of empty crucible (g).

The organic matter content (OM_C) has been deduced from the mineral matter content according to Equation (4):

$$OM_C = 100 - MM_r \quad (4)$$

All experiments have been performed in triplicate, and the results are the mean values of the repetitions.

The determination of the sorghum stalk biochemical composition has been carried out according to Van Soest [21].

Sorghum stalk total fiber rate, expressed as a percentage of DM, has been evaluated as described by Equation (5):

$$Total\ Fibers = \left(1 - \left(\frac{S - W1}{S} \right) \right) * 100 \quad (5)$$

With, S : Initial mass of biomass sample (g) and $W1$: Residual mass of insoluble in neutral detergent (g).

Hemicellulose has been evaluated from the dried residual parts of neutral detergent-insoluble fibers ($W1$). It was expressed as a percentage of DM and quantified as described by Equation (6):

$$Hemicellulose = \left(\frac{W1 - W2}{S} \right) * 100 \quad (6)$$

where $W2$ represents the residual mass of a biomass fraction insoluble in acid detergent (g).

Cellulose and lignin have been quantified after sulfuric acid (72%) digestion of residual fractions of acid-detergent-insoluble fibers ($W2$). They were expressed as a percentage of DM and estimated as described by Equations (7) and (8), respectively.

$$Cellulose = \left(\frac{W2 - W3}{S} \right) * 100 \quad (7)$$

$$Lignin = \left(\frac{W3}{S} \right) * 100 \quad (8)$$

where W_3 represents the residual mass of a biomass sample after digestion with sulfuric acid (g).

The phenolic compounds content was determined by the assay method using Folin Ciocalteu's reagent according to the protocol described by Gutfinger [22] and expressed in grams of gallic acid equivalent/liter (g GAE/L).

Calorific values were determined according to the bomb calorimeter method using an isoperibol calorimeter (*calorimètre* PARR 6400). To this end, the shredded biomass fractions were previously compressed (3 kPa for 1 min) in the form of pellets using a mechanical press. Then, a complete combustion (in the presence of pressurized oxygen) of a pellet sample was carried out in the bomb calorimeter. The bomb was immersed in the water of the calorimeter, and the heat released by the combustion was transmitted to the water whose temperature rise was measured. The higher calorific value, calculated as gross heat of combustion, was calculated according to Equation (9):

$$HCV = \frac{M * Ce * \Delta T - e_1 - e_2 - e_3}{m} \quad (9)$$

where HCV is the higher calorific value of the sample (cal/g); M represents the total water mass of the calorimeter (g); Ce is the water specific heat capacity (1 cal/g.°C); ΔT ($T_{max} - T_{min}$) is the water temperature increase (°C); e_1 , e_2 , and e_3 represent, respectively, the heat released by the combustion of nitrogen, sulfur, and fuse wire (cal); m represents the mass of the biomass sample (g).

The total mass of water in the calorimeter (M) has been previously determined by the combustion of a mass (m) of benzoic acid of known higher calorific value ($HCV = 6319$ cal/g), and the value of M was calculated according to Equation (10):

$$M = \frac{HCV * m}{\Delta T * Ce} \quad (10)$$

2.3. Determination of sugar content and carbohydrate profile of biomass

The contents of water-soluble sugars and non-water-soluble structural sugars were determined by the enzymatic assay method, using K-SUFRG

assay kit (Megazyme, Bray Business Park Bray, Co. Wicklow A98 YV29, Ireland) according to the protocol elaborated by Outlaw and Mitchell [23], Beutler [24], and Kunst et al. [25]. For this purpose, the carbohydrate extracts were previously filtered using Whatman N°1 filter paper and then D-glucose concentration of samples was firstly estimated before and after hydrolysis of sucrose by β -fructosidase (invertase). The samples D-fructose contents were estimated after the D-glucose assay and after isomerization by phosphoglucose isomerase (PGI). Water-soluble sugars were extracted from different shredded biomasses with hot water. To that end, 1 g of ground biomass fraction has been mixed with 50 mL of Milli-Q water in a flask and heated to 90°C for 90 min using a water bath. The solution was filtered under vacuum using a size 3 frit (40–90 μ m), and the filtrate was recovered and used for the determination of total water-soluble sugars as well as for the determination of the carbohydrate profile. The subsequent fibrous fractions from the filtration were dried (60°C until mass stabilization) then hydrolyzed with sulfuric acid (0.75 M) in order to extract the structural water-insoluble sugars. To do this, 0.2 g of the dried fibrous fractions have been mixed with 5 mL of sulfuric acid solution (0.75 M) and heated (100°C for 90 min) using a water bath. The hydrolyzates were then subjected to 10 min of centrifugation at 13 000 g. The supernatants were recovered and neutralized ($pH = 7.0 \pm 0.1$) using a 10 M NaOH solution and used for total water-insoluble sugars assay and for the determination of their monosaccharidic composition.

The monosaccharidic composition of the different extracts was investigated by the High-Performance Anion-Exchange chromatography (HPAEC-PAD) device, which is an ICS 3000 ion chromatography chain (Dionex Corporation, Sunnyvale (CA), USA). It consists of a pump module that can operate in gradient and a pulsed amperometric detector (HPAE-PAD). The stationary phase consists of polystyrene and divinylbenzene beads 10 μ m in diameter on which particles functionalized by NR_4^+ groups are agglomerated. It reaches stable pressures of 275 bars in a pH range of 0 to 14. The samples were eluted in isocratic mode with a 16 mM decarbonated

NaOH solution at 0.5 mL/min of flow rate for 20 min. After each elution, a 30 min chase with a 100 mM NaOH solution was performed to elute any contaminants still interacting with the stationary phase. Before each analysis, the column was equilibrated with the 16 mM NaOH solution for 10 min. All samples have been filtered using 0.22 μ m filter before being injected. The injections are performed in triplicate, and the injection loop is 25 μ L. Data acquisition and processing have been carried out using Chromeleon software (version 6.8).

2.4. Ethanol production from different sorghum stalk fractions

Saccharomyces cerevisiae ATCC 7754 was used for ethanol production. The strain was taken up in sterile water and spread on YM-agar agar (yeast Medium, Difco 0712-01-8) and then incubated at 28°C for 24 h. It was then preserved at 4°C and subcultured on a petri dish for 24 h before being used as a preculture to inoculate the reactor [26]. The fermentation was carried out using an aerated and stirred reactor of 6 L total volume (Biostat A, B. BRAUN, Germany), with 4 L of working volume. Culture media consisted of 10% (m/v) of equivalent biomass fraction (particle size of 0.5 mm) or juice diluted at 60 g/L of total sugars content, supplemented with additional nutrients as indicated by Kristiansen [27] with the exception of glucose. A glucose control was carried out in parallel. Culture media have been firstly autoclaved (121°C for 20 min) before being inoculated with 10% (v/v) of a preculture of *Saccharomyces cerevisiae* in the exponential growth phase. The temperature of the culture medium was set at 30°C, with an aeration of 1.5 L/min, 500 rpm of stirring speed, and the pH was fixed at 5 by the automatic addition of a 2 M NaOH solution. Samples have been taken every 2 h (shredded stalk and marrow) and every 1 h (sorghum juice and glucose control) for fermentation kinetics monitoring (total sugars consumption, microbial growth, and the production of bioethanol). The total sugars consumption (for juice, crushed whole stem and marrow) was monitored by the assay method described by Dubois

et al. [28] using sulfuric acid and phenol. Biomass growth was monitored measuring A_{600} (Biomate 3S, UV-visible spectrophotometer, Thermo Scientific, Lyon, France). Bioethanol production and glucose consumption (for glucose control) were monitored using HPLC (1260 Infinity Quaternary LC system, Agilent Technology, Palo Alto, CA, USA) device. It was provided with two ionic exclusion columns (Rezex ROA 300 \times 7.8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) interconnected in series in an oven (50°C) and coupled to a refractometer (HP 1100 series, Agilent Technologies, USA) as products detector. The mobile phase involved a solution of 2 mM sulfuric acid at 0.7 mL/min flow rate and 70 bars (7000 kPa). In order to avoid column clogging, all the samples have been firstly deproteinized before injection. To this end, 125 μ L of a 0.3 M barium hydroxide solution and 125 μ L of zinc sulfate solution (5% w/v) have been mixed to 1 mL of samples and subjected to 10 min of centrifugation (Thermo scientific, Lyon, France) at 10 000 g. The supernatants have been filtered using a 0.2 μ m cellulose acetate filter (Chromafil, Steinheim, Germany) before being analyzed.

2.5. Determination of biochemical methane potential

The methanogenic potential was determined on the shredded raw stem without ethanol fermentation as well as on the subsequent solid residues from fermentation. Methanization was carried out in a stirred reactor of 2 L total volume with 1.4 L of working volume. The substrate was inoculated by a consortium from the digestate of the Metholec methanization unit. The tests were carried out under mesophilic conditions ($37 \pm 1^\circ\text{C}$), with a stirring speed of 120 rpm. The methanogenic potential and the quality of the gas (volume, biogas composition) have been followed according to the French Agency for Ecological Transition (ADEME) method [29]. Data statistical analysis was performed using the Excel spreadsheet of the Microsoft office software version 2013. The experiments have been performed in three repetitions, and results were reported as an average \pm standard deviation.

3. Results and Discussion

3.1. Sugar content and monosaccharidic composition of biomass

The whole sorghum stem water-soluble sugars composition was sucrose, glucose, and fructose with concentrations estimated, respectively, at 79.29, 199.22, and 196.08 g/kg DM (Table 1). The sugar concentrations of sorghum variety subject to this study are much higher than those of the varieties experimented by Crépeau et al. [30] whose concentrations were 2.4–34.9, 25.2–39.1, and 20.4–32.1 g/kg DM, respectively. However, it is much closer to those of the varieties experimented by Ostovareh et al. [31], with, respectively, 121, 92, and 83 g/kg DM. The same carbohydrate profile was observed in the pith and in the bark. However, the sucrose contents were much higher in the pith and in the bark compared to that of the whole stem. They were 212.83 and 82.05 g/kg DM, respectively, for marrow and bark. This study shows that, sorghum stalk water-soluble sugar content is essentially concentrated in the pith compared to the bark, where the contents were only 82.05, 52.28, and 47.52 g/kg DM, respectively, for sucrose, glucose, and fructose. These results are in accordance with the remarks made by Billa et al. [32], who studied the biochemical composition of the sweet sorghum stem and indicated that the pith was twice as rich in glucose and sucrose (71% of dry weight) compared to bark (34.6%). These results show that this agricultural by-product, due to its high concentration of fermentable water-soluble sugars, constitutes an interesting source of raw material for bioethanol production. This sorghum stem's high content of free and fermentable sugars makes it suitable for the production of several types of energy vector biomolecules. It is therefore relevant to explore

and find the most efficient and profitable energy conversion pathways. Direct ethanol fermentation/methanization coupling process would optimize energy recovery while avoiding the costly steps of fractionation and pretreatment of the biomass. Ethanol fermentation produces not only ethanol but also a large quantity of microbial biomass (*Saccharomyces cerevisiae*) which is often very little valued. Optimization of energy bioconversion process of fermentable sugars from sorghum stalks would involve the energy recovery of solid fermentation co-products, in particular, the *Saccharomyces cerevisiae* biomass. The valorization of liquid secondary metabolites from ethanol fermentation, particularly short-chain carboxylic acids (succinate, acetate, propionate, lactate, etc.) is also positioned as a new innovative and promising bioconversion pathway. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass through chain elongation reaction has currently attracted the attention of several authors and is considered as a promising way for the future compared to traditional techniques of single ethanol fermentation or methanization pathways [33].

Furthermore, analysis of the biomass fibrous fraction (bagasse) hydrolyzate reveals that the water-insoluble structural sugars were composed mainly of xylose, glucose, arabinose, and some traces of galactose. For the crushed whole stem bagasse, the sugar proportions were 53.07%, 38.55%, 6.44%, and 1.92%, respectively, for xylose, glucose, arabinose, and galactose (Table 1). The same carbohydrate profile was observed for the marrow and bark fractions, with a predominance of xylose and glucose contents, evaluated, respectively, at 25.65% and 67.88% for the marrow bagasse and 67.81% and 24.79% for bark bagasse. Sipos et al. [34] also investigated the carbohydrate profile of sweet sorghum stalk bagasse. The sugar

Table 1. Carbohydrate profile and sugar content of different biomass fractions.

	Deleafed stem	Marrow	Bark
Carbohydrate profile and sugar content of raw biomass (g/kg DM)			
Glucose	199.22 ± 1.57	165.80 ± 1.41	52.28 ± 0.91
Fructose	196.08 ± 1.26	158.74 ± 1.32	47.52 ± 0.78
Sucrose	79.29 ± 1.05	212.83 ± 1.96	82.05 ± 1.11
Carbohydrate profile and sugar content of bagasse (g/kg DM)			
Arabinose	17.32 ± 1.08	20.67 ± 1.81	12.85 ± 1.04
Galactose	5.17 ± 0.21	8.21 ± 0.37	3.11 ± 0.14
Glucose	103.61 ± 2.46	303.32 ± 2.98	53.54 ± 1.76
Xylose	142.64 ± 2.69	114.60 ± 2.83	146.41 ± 2.74

concentrations were 44.14, 17.96, and 5.53 g/L, respectively, for xylose, glucose, and arabinose, *i.e.* 65.26%, 26.55%, and 8.17%, respectively. These results show that sweet sorghum stalk bagasse is a source of additional sugars that could be used to optimize sorghum stem energy bioconversion through a prior saccharification process. However, lignocellulosic biomass saccharification techniques (enzymatic hydrolysis, biocatalyst in particular), although they improve the energy bioconversion yield, prove to be economically unprofitable due to the cost of reagents and operating conditions. Chemical hydrolysis, due to its toxic and corrosive nature, is not environmentally friendly and generates microbial growth inhibitor compounds. It is therefore necessary to reconsider the energy bioconversion strategies and pathways of this biomass. Moreover, due to the presence of a high proportion of xylose in bagasse hydrolyzate, its valorization into bioethanol requires the choice of microorganisms capable of metabolizing pentoses in order to make the bioconversion process more profitable.

3.2. Biochemical composition of sorghum stalk juice

The biochemical composition of the biomass is a crucial factor that determines the relevance of the choice of adequate energy recovery technique. The juice sugar content of the *S. bicolor* studied was 252.51 and 78.46 g/L, respectively, for total water-soluble sugars and reducing sugars. This concentration of total water-soluble sugar is much higher than that indicated by Djomdi et al. [35] on the same variety (98.85 g/L). This sugar content is also higher than those of the varieties experimented by Crépeau et al. [30] and Daniel et al. [36], who reported sugar contents evaluated, respectively, at 60.89–111.10 g/L and 100.3 g/L. Moreover, the sorghum juice carbohydrate profile for this study was mainly composed of glucose, fructose, and sucrose. Sucrose was the dominant sugar, and the proportions were 64.4%, 21.13%, and 14.47%, respectively, for sucrose, glucose, and fructose. Similar compositions, evaluated on other sweet sorghum varieties, were previously indicated by Prasad et al. [37] (60%, 33%, and 7%, respectively, in sucrose, glucose, and fructose) and Serna-Saldívar et al. [38] with proportions

estimated at 53–85%, 9–33%, and 6–21%, respectively. This high sucrose content is consistent with other experiments [39,40], and the glucose concentration is very often higher than that of fructose. This carbohydrate profile of sorghum juice is comparable to that of sugar cane juice. However, sugar cane juice has a relatively higher sucrose content (90–98%) with very low proportions of glucose (0.5–4%) and fructose (0.5–6%) [38,41]. The sorghum juice phenolic compounds content was evaluated at 0.32 g/L. A similar observation was indicated by Sereme et al. [42] who reported contents of phenolic compounds <2% DM in the sorghum caudatum stalk. This low content of phenolic compounds in sorghum juice is a major asset for its valorization for ethanol production, since these compounds have detrimental effects on biomass growth and metabolism and can act, at high concentrations, as antimicrobials [43]. Beyond this sorghum stalk juice biochemical composition (high fermentable sugars content with low concentration of phenolic compounds), very suitable for ethanol production, the extraction processes tend to restrict its profitability due to high water and energy consumption. Enzymatic treatment applied to the shredded whole stems without extraction step has been recently demonstrated by Bakari et al. [44]. Admittedly, the authors have demonstrated that the extraction step could be dispensed and therefore significantly improve the process economic profitability, but the energy bioconversion yield remains to be perfected. This explains the need to experiment with the coupling of direct ethanol fermentation of shredded whole stems and the methanization of subsequent solid residues. This would make it possible to valorize both the stem fibrous fraction and the microbial biomass (*Saccharomyces cerevisiae*) as well as other fermentation secondary metabolites. Avoiding the extraction and hydrolysis steps would make the process more profitable.

3.3. Biochemical composition and calorific value of different biomass fractions

Analysis of the chemical composition of raw deleafed sorghum stalk revealed contents estimated at 93.5% and 87.5%, respectively, for dry matter and organic matter. These contents are

comparable to those of the varieties experimented by Luna et al. [45], who reported 95.3–95.9% and 94.6–95.6%, respectively, for DM and OM. The solid residues from the ethanol fermentation process have compositions similar to that of the shredded raw stalk. The contents were 96.0% and 86.5%, respectively, for DM and OM. This could be explained by the fact that these solid fermentation residues, although devoid of water-soluble sugars, also contain large quantities of microorganisms (*Saccharomyces cerevisiae*), and therefore additional organic matter. The hemicellulose, cellulose, and lignin contents of the raw stem were 17.39%, 22.27%, and 5.09% DM, respectively, *i.e.* 88.61% of these sorghum stem total fibers were made up of hemicellulose (38.85%) and cellulose (49.76%). This represents a potential source of substrates for bio-methane production, since the expensive process of fibrous fraction saccharification is not necessary for energy recovery through methanation pathway. These contents are much higher than those of the variety experimented by Billa et al. [32], who reported 10.2% and 12.4% DM, respectively, for hemicellulose and cellulose. However, they are much closer to those of the varieties experimented by Khalil et al. [40], (11.7–17.2% and 20.1–26.1% DM, respectively, for hemicellulose and cellulose) and those of the variety studied by Billa et al. [32] (4.8% for lignin). Similar experiments performed by several authors indicate that total fibers content as well as its distribution in hemicellulose, cellulose, and lignin vary widely depending on the studied varieties of sorghum. Moreover, the total fiber contents were 81.84% DM and 44.75% DM, respectively, for ethanol fermentation solid residues and raw stems. Ethanol fermentation solid residues

cellulose, hemicellulose, and lignin contents were 33.11, 44.87, 3.86% DM, respectively (Table 2), and 95.28% of total fibers consisted of hemicellulose (54.83%) and cellulose (40.45%) compared to 88.61% for raw stem fibers. This confirms that the residual stem fibrous fraction has been enriched with fibers from *Saccharomyces cerevisiae* growth and is therefore a potential source of additional energy that can be recovered by a subsequent methanation process. In addition to the microbial fiber supply, fermentation process also allowed partial degradation of sorghum stem fibers (Figure 2). However, *Saccharomyces cerevisiae* not being able to degrade fibers, this degradation observed after fermentation was essentially due to the autoclaving operation. The ethanol fermentation-methanization coupling process effectively improves the energy recovery yield without costly traditional pretreatment methods. The calorific values were 17,144.17 and 18,117.23 kJ/kg DM, respectively, for raw stalk and solid residues from ethanol fermentation process. These results show that ethanol fermentation residues have a slightly higher energy potential than that of the raw biomass. This relatively high energy content of the ethanol fermentation residues could be explained by their high fiber content (81.84% DM) compared to the raw biomass (44.75% DM) (Table 2). Sweet sorghum stem biochemical composition and its calorific value were comparable to those of other lignocellulosic feedstocks such as corn stover, sugarcane, rice straw, switchgrass, etc., estimated at 16.28–18.64 MJ/kg (for calorific value), 35–53% DM (for cellulose), 15–36% DM (for hemicellulose), and 14–32% DM (for lignin) [13,38,46].

Table 2. Calorific value and biochemical composition of sorghum stem biomass before and after ethanol fermentation.

References		Calorific value (MJ/Kg)	DM (%)	OM (%)	Total fibers (%) (DM)	Cellulose (%) (DM)	Hemicellulose (%) (DM)	Lignin (%) (DM)
This study	Raw sorghum stem	17.15	93.50	87.50	44.75	22.27	17.39	5.09
	Solid residues from ethanol fermentation	± 0.47	± 0.93	± 0.87	± 0.71	± 0.18	± 0.65	± 0.19
		18.11	96.00	86.50	81.84	33.11	44.87	3.86
		± 0.32	± 0.88	± 0.96	± 0.73	± 0.42	± 0.39	± 0.11
[14,38]	Sweet sorghum	18.32	-	-	13.0	25–44.6	22–27.1	11–24.7
[13]	Corn stover	17.65	-	-	-	35–53.0	15–28.0	15–21
[38,46]	Sugar cane	17.33	-	-	13.5	41.6	19–25.1	20.3–32
[38]	Rice straw	16.28	-	-	-	36.0	28.0	14.0
[13]	Switchgrass	18.64	-	-	-	36.0–43	31.6–36	17–22

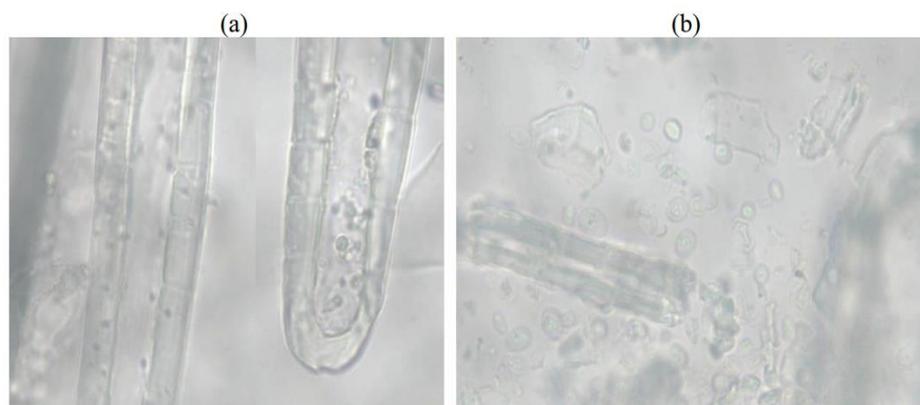


Figure 2. Structure of raw sorghum stalk fibers before fermentation (a) and mixture of sorghum stalk fibers and microbial biomass after fermentation (b).

3.4. Ethanol production from different stalk fractions

Ethanol production was tested on three fractions of sorghum stalk biomass (shredded whole stalk and marrow with particle size ≤ 0.5 mm and mechanical extracted juice) in order to compare the efficiency of fermentation processes. The fermentation kinetics are presented in Figure 3. The degradation rates (residual mass after fermentation) were 30.47% and 43.12%, respectively, for whole stem and pith. Ethanol fermentation efficiencies were 0.46, 0.43, and 0.44 g Eth/g consumed total sugars, respectively, for whole stem, pith, and juice (Figure 4). These results show that there is no major difference between the fermentation efficiencies of the different stem fractions. The biomass fractionation, in particular, the juice extraction step, is therefore not necessary, thus

offering the possibility of fermenting the whole ground stem, improving the process efficiency. In addition, whole stalk fermentation brings additional *Saccharomyces cerevisiae* fibers to the fibrous sorghum fraction and constitutes a major asset for subsequent methanization step of the ethanol fermentation residues. These results confirm the observations made by Bakari et al. [44] who reported that the very expensive and laborious juice extraction step, consuming energy and water, could be avoided, significantly enhancing the efficiency and sorghum stem fermentation process performance. Similar ethanol production yields, 0.41–0.44 g Eth/g consumed sugar [34]; 0.39–0.48 g Eth/g consumed sugar [47] and 0.42–0.48 g Eth/g consumed sugar [48] have been reported in different studies. The juice fermentation kinetics was similar and comparable to that of

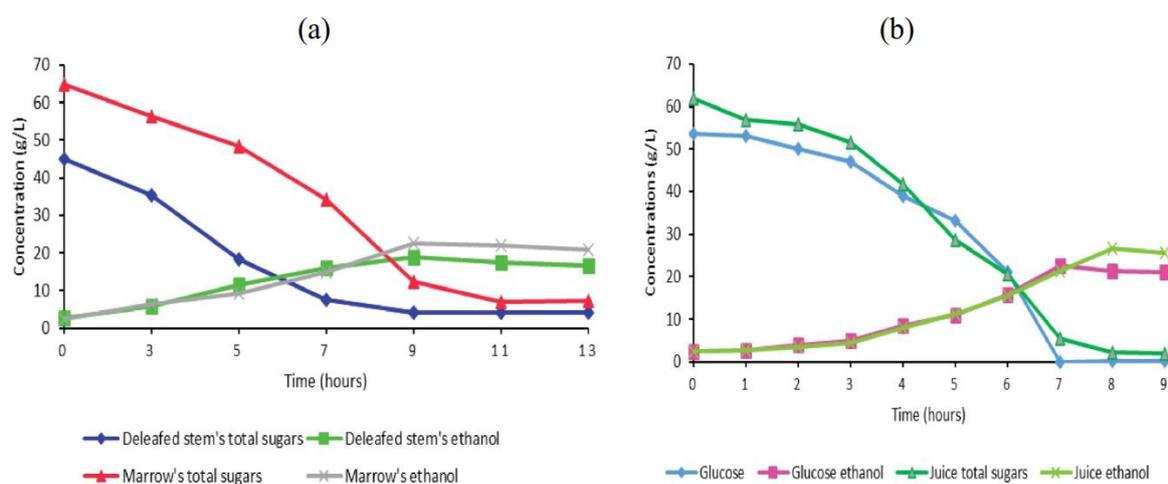


Figure 3. Kinetics of different biomass fractions fermentation: (a) shredded whole stalk and marrow, (b) juice and glucose control.

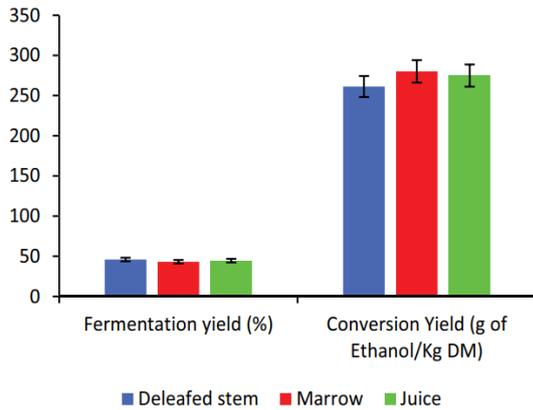


Figure 4. Ethanol fermentation and bioconversion yields for different biomass fractions.

the glucose control fermentation (Figure 3b), which implies that the sweet sorghum juice, due to its biochemical composition and in particular its carbohydrate profile, constitutes an adequate substrate for ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae*.

Furthermore, the bioconversion yields were 261.18, 280.02, and 274.85 g Eth/kg DM, respectively, for whole stalk, marrow, and juice (Figure 4). These yields are much higher than those obtained by Ban et al. [49], who reported 147 g/kg DM. These bioconversion yields, expressed in terms of energy recovery efficiency, were 6921.27, 7420.53, and 7283.52 kJ/kg DM, respectively (considering ethanol calorific value at 26,500 kJ/kg [10]). These results are in accordance with those reported by some authors in the literature [10,11], who indicated that energy recovery efficiency of sorghum stalk bioconversion to ethanol was between 6500 and 8900 kJ/kg DM. These results indicate that sorghum stalk bioconversion by single ethanol fermentation made it possible to recover, respectively, 40.37%, 43.28%, and 42.48% of the raw biomass initial energy content. This justifies the need and the choice to recover the

ethanol fermentation solid residues in the form of methane in order to optimize the energy conversion yield of this sorghum by-product.

3.5. Production of bio-methane from different biomass fractions

The bio-methanization was tested on the shredded raw stem before and after ethanol fermentation. The methanogenic potentials were (319 ± 11) and (296 ± 23) L_{CH_4}/kg of organic matter, respectively, for raw deleafed stalk and ethanol fermentation residues (Table 3). This result is in line with those of several other previously reported studies. Głab et al. [12] reported that the methanogenic potential of sweet sorghum stalks was 296–342 L_{CH_4}/kg total solids. It was 317 L_{CH_4}/kg volatile solids according to the study performed by Herrmann et al. [50] on hybrid variety of sweet sorghum (*Sorghum bicolor x sudanense*). Expressed in terms of raw biomass, the potentials were (279 ± 10) and (256 ± 20) L_{CH_4}/kg of raw biomass, respectively, for raw deleafed stalk and fermentation residues. These results are comparable to those reported by Ostovareh et al. [31], who obtained 278.7 L_{CH_4}/kg volatile solids after organosolv pretreatment of sweet sorghum stems. This bioconversion by anaerobic digestion process leads to the energy recovery yields of 10,013.31 and 9187.84 kJ/kg of raw biomass, respectively, for raw deleafed stalk and fermentation residues (considering the lower calorific value of methane at 35.89 MJ/m³ [51]). Antonopoulou et al. [10] experimented with methane production from sweet sorghum stem bagasse and reported that the methanogenic potential was 78 L_{CH_4}/kg and an energy yield of 9845 kJ/kg DM. This study shows that sorghum stalk bioconversion by anaerobic digestion

Table 3. Sorghum stalks bioconversion yield.

References		Total soluble sugars (% DM)	Methanogenic potential (L_{CH_4}/kg OM)	Ethanol yield (g Eth/kg DM)	Total energy recovery yield (%)
This study	Raw sorghum stems	53.82 ± 5.38	319 ± 11	261.18 ± 2.8	77.63
[12,49]	Sweet sorghum stalks	-	296–342	119.47–147	-
[31]	Treated sweet sorghum stalks	29.6	278.7	107.3	-
[10]	Sweet sorghum stems	-	107	-	75.02

process made it possible to recover, respectively, 58.40% and 53.59% of raw stalks initial energy content. These results show that the ethanol fermentation residues have similar and comparable methanogenic potential to that of the raw stem. This could be explained by the high fiber content of these residues composed of 44.87% and 33.11%, respectively, in hemicellulose and cellulose, against 17.39% and 22.27%, respectively, for the raw stem fibers (Table 2). The ethanol fermentation allowed an additional microbial fiber supply, significantly improving the methanogenic potential of the solid residues. The partial degradation of stem fibers during the fermentation step also facilitated their decomposition by methanogenic bacteria enhancing energy bioconversion efficiencies. Furthermore, bioconversion by single methanization of raw shredded stem has a better energy recovery yield (10013.31 kJ/kg) compared to single ethanol fermentation (6921.27 kJ/kg). The direct fermentation of shredded stalks coupled with methanization of the subsequent solid residues made it possible to reach 13,309.57 kJ/kg DM, with an energy recovery yield of 77.63% of raw biomass initial energy content (Table 3), *i.e.* respectively 37.26% and 19.23% more compared to single fermentation and single methanization (Figure 5). Recovering sweet sorghum stems without going through costly extraction or hydrolysis processes significantly improves the overall energy conversion

efficiency, making the process more cost-effective.

Figure 6 illustrates the cumulative production kinetics and the evolution of the methanogenic potential of the biomass as a function of the hydraulic retention time. The cumulative production of methane began from the first days of anaerobic digestion without a latency phase. It was relatively low (25%) during the first 11 days for both substrates. The exponential production phase started from the 12th day and the plateau (100%) was reached after 22 days and 25 days of methanization, respectively, for shredded raw stem and ethanol fermentation residues (Figure 6a). These results show that the ethanol fermentation solid residues, because of their high fiber content, constitute a substrate for methanization in the same way and comparable to the raw stem. Thus, highlighting the relevance of recovering them into methane in order to optimize the process energy efficiency. Głąb et al. [12] experimented with the biomethanization of sweet sorghum stalk and noticed that the cumulative methane production increased intensively during the initial phase until the 5th day and the plateau was reached after approximately 30 methanization days. These observations are similar to those reported by Herrmann et al. [50] who studied methanization on certain cereal crops (sorghum, maize, rye, triticale) and noticed a rapid production of methane during the first

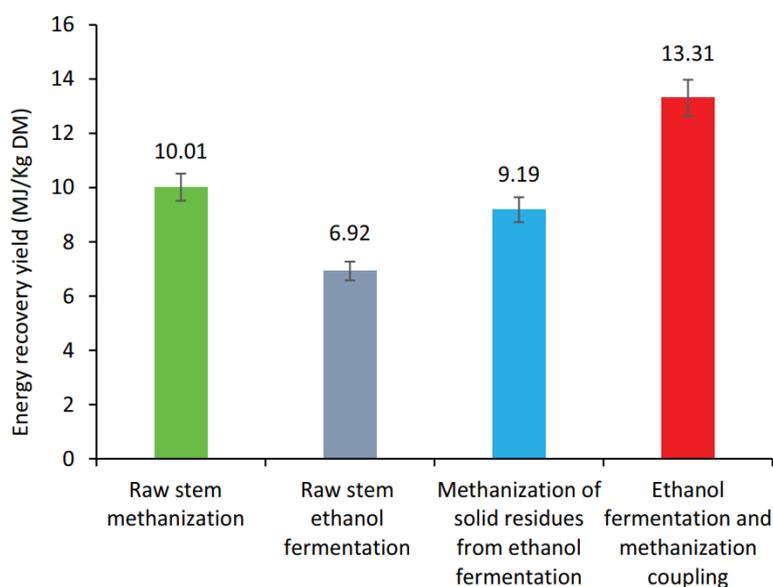


Figure 5. Energy efficiency of different biomass bioconversion processes.

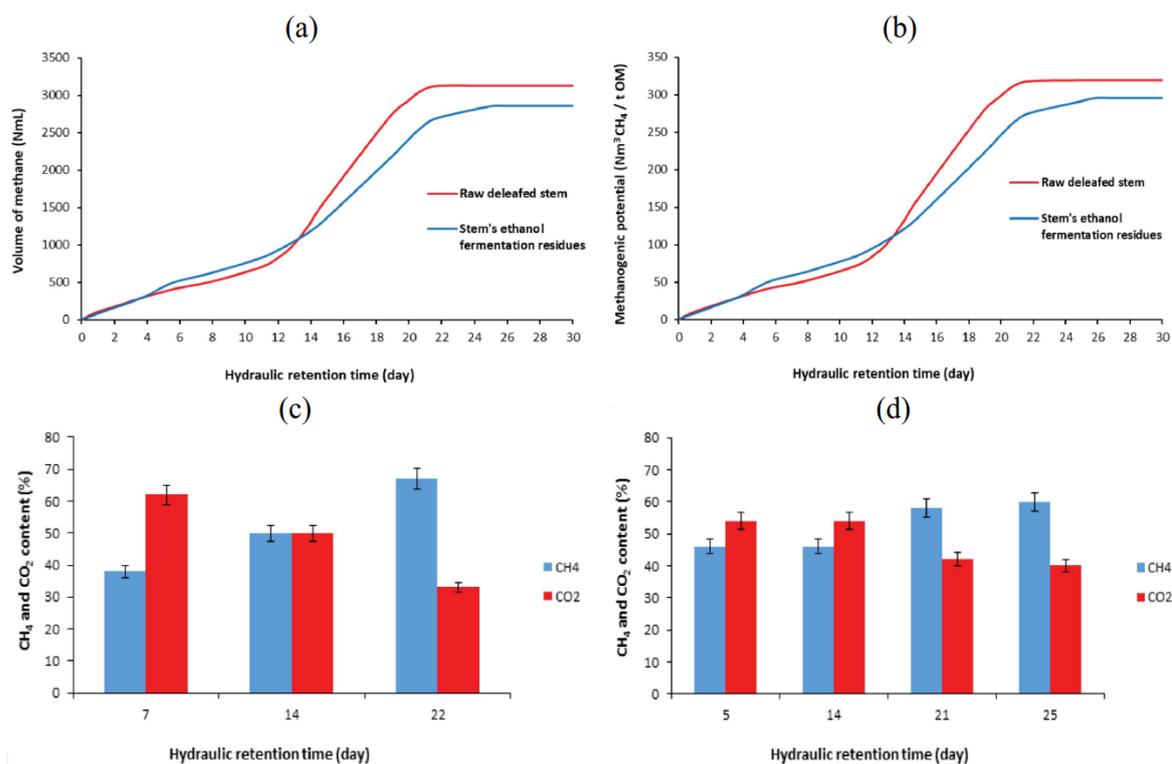


Figure 6. Kinetics of cumulative methane production (a) and evolution of biomass methanogenic potential (b). Evolution of CH₄ and CO₂ contents as a function of hydraulic retention time for raw stem (c) and solid ethanol fermentation residues (d).

days of methanization without inhibition or lag phase. This rapid and intense production of methane could be explained by the fact that the organic matter contained in the substrate is easily biodegradable.

Figure 6 shows the evolution of biogas composition, in particular, the evolution of the CH₄ and CO₂ contents according to the hydraulic retention time during the bio-digestion process. Biogas composition analysis revealed a high CO₂ content at the beginning of the methanization process until the 7th day (62% CO₂ and 38% CH₄), then this trend was gradually reversed and reached 68% CH₄ and 32% CO₂ after the 22nd day of methanization of the shredded raw stem (Figure 6c). The same trend was observed for the bio-digestion of ethanol fermentation residues. The composition of the biogas was 53% CO₂ and 47% CH₄ on the 7th day and 60% CH₄ and 40% CO₂ after the 25th day of bio-digestion (Figure 6d). These results are comparable to those obtained by Antonopoulou et al. [10] who experimented with the methanogenic potential of sweet sorghum stems and indicated that the methane content was 64%. Takaki

et al. [52] experimented with the methane production from the vinasse resulting from ethanol fermentation process from sweet sorghum stalk juice. They obtained biogas with an average methane content of 62.7%. This study shows that solid residues from sorghum stalk ethanol fermentation process constitute a raw material for the production of biogas with a high methane content and comparable to that of raw stalk.

3.6. Economic analysis

Several studies have demonstrated the cost-effectiveness of sweet sorghum fermentable sugars bioconversion into ethanol. The cost of ethanol production estimated at 615.4 \$/ton (0.49 \$/L) was reported by Li et al. [53] using advanced solid state fermentation technology. This study indicated that feedstock cost accounts for 78% of the total cost. A similar ethanol production cost of 0.58 \$/L has been reported by Regassa and Wortmann [54] for Florida's sweet sorghum stems. These cost estimates were made including sweet sorghum production and harvesting, the

input for biomass logistics, etc., which were the major expenses. For example, costs were estimated at 54.4% to 57.8% for biomass logistics input factor, and biomass conversion into ethanol accounted for about 38.4% to 42.2% [55]. In fact, although considering all these factors, the cost of producing bioethanol from free sugars of sweet sorghum stems was found to be the lowest and cost-effective compared to other similar lignocellulosic biomass (sugar cane, wheat, cassava, beet, etc.) [53]. The present study focused on sweet sorghum stalks that were agricultural by-products. Generally, in Africa, sorghum was grown mainly for seeds for human consumption, and the stalks were left in the fields in abundance. Therefore, in the economic analysis, the production and harvesting costs have not been considered, but only the costs of transport and other input factors related to the bioconversion of biomass, are considered. Thus, the cost of biomass logistics input factor (representing 54.4% to 57.8% of the total cost), given by the previous authors, would be significantly improved, making the proposed method of the present study more profitable. Moreover, the estimated bioconversion cost made by the authors mentioned above also includes costs linked to the biomass pre-treatment operations (juice extraction, hydrolysis, etc.). Biomass pre-treatment costs (electricity, water, enzymes, reagents, etc.) significantly increase the input factor of bioconversion process. For example, enzymatic hydrolysis leads to an increase in production cost estimated at 0.03–0.2 \$/L of ethanol [56,57]. Similarly, an increase of 1.78–1.90 \$/L depending on the type of pre-treatment applied was reported by Da Silva et al. [58] for different pre-treatment processes. Devi et al. [59] reported that the cost was 0.57 \$/L of ethanol produced from lignocellulosic biomass through enzymatic and chemical hydrolysis. They found that, the major part of the production cost was attributed to the chemical pre-treatment and saccharification of the biomass. The direct fermentation of the shredded whole stems tested in this study made it possible to recover the free sugars while avoiding the juice extraction cost, reducing therefore the total operating cost and improving the economic profitability of the bioconversion process. On the other hand, the methanation of the subsequent solid residues from the direct

fermentation has eliminated the costs of biomass hydrolysis. The energy recovery efficiency and the economic profitability could be significantly improved compared to the expensive traditional method of biomass hydrolysis.

4. Conclusion

Optimization of energy recovery process from sorghum stalks has been investigated. Physicochemical characterization of raw biomass reveals a high concentration of fermentable free sugars, composed of 199.22, 196.08, and 79.29 g/kg DM, respectively, for glucose, fructose, and sucrose. Its composition (31.74% dry matter) was total fibers, hemicellulose, cellulose, and lignin at, respectively, 63.50%, 16.96%, 18.25%, and 28.60% DM. Its calorific value was 17,144.17 kJ/kg DM. Energy recovery yields by single bioconversion processes of fermentation and methanization were, respectively, 6921.27 and 10,013.31 kJ/kg DM. Coupling processes significantly enhanced yield reaching 13,309.57 kJ/kg DM, with 77.63% energy recovery, *i.e.* 37.26% and 19.23% more compared to single fermentation and methanation, respectively.

Acknowledgment

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author [G.C.] upon reasonable request.

Disclosure statement

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Funding

Financial support to perform this study was provided by the French government which funded Bakari Hamadou's research mobility through its Eiffel excellence scholarship program. Campus France (EIFFEL-DOCTORAT 2021 / n° P769728GD21–0000000051).

Credit Authors Contribution Statement

Bakari Hamadou, Djomdi Djomdi, and Ruben Zieba Falama: Conceptualization, Methodology, Investigation, Software, Data curation, Writing – Original draft preparation. Fabrice

Audonnet and Pierre Fontanille: Visualization, Investigation. Cedric Delattre and Guillaume Pierre: Software, Validation. Roger Djouldé Darnan and Pascal Dubessay: Meyhology, Writing – Reviewing and Editing. Philippe Michaud and Gwendoline Christophe: Conceptualization, Methodology, and Supervision.

References

- [1] IEA, 2021. World Energy Outlook 2021. IEA, Paris. <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2021>.
- [2] IEA, 2022. World Energy Investment 2022. IEA, Paris. <https://www.iea.org/reports/world-energy-investment-2022>.
- [3] Kevser M, Tekbaş M, Doğan M, et al. Nexus among biomass energy consumption, economic growth, and financial development: Evidence from selected 15 countries. *Energy Rep.* 2022;8:8372–8380. doi: 10.1016/j.egy.2022.06.033
- [4] Gaballah ES, El-Fatah AA, Xu C, et al. Enhancement of biogas production from rape straw using different co-pretreatment techniques and anaerobic co-digestion with cattle manure. *Biores Technol.* 2020;309:123311. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123311
- [5] Zhang CW, Wen H, Zheng J, et al. A combination of evaporation and chemical preservation for long-term storage of fresh sweet sorghum juice and subsequent bioethanol production. *J Food Process Pres.* 2018;42:13825. doi: 10.1111/jfpp.13825
- [6] Bakari H, Djomdi, Ruben ZF, et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and its main parts (by-products) as promising sustainable sources of value-added ingredients. *Waste Biomass Valor.* 2022; doi: 10.1007/s12649-022-01992-7
- [7] Saballos A. Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. In: Vermerris W, editor. Genetic improvement of bioenergy crops. New York, NY: Springer New York; 2008. pp. 211–248. doi: 10.1007/978-0-387-70805-8_8
- [8] FAOSTAT, 2022. Food and agriculture data. Accessed 21 December 2022. <http://www.fao.org/faostat/fr/#home>
- [9] Caputo AC, Palumbo M, Pelagagge PM, et al. Economics of biomass energy utilization in combustion and gasification plants: effects of logistic variables. *Biomass Bioenergy.* 2005;28(1):35–51. doi: 10.1016/j.biombioe.2004.04.009
- [10] Antonopoulou G, Gavala HN, Skiadas IV, et al. Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresour Technol.* 2008;99(1):110–119. doi: 10.1016/j.biortech.2006.11.048
- [11] Mamma D, Christakopoulos P, Koullas D, et al. An alternative approach to the bioconversion of sweet sorghum carbohydrates to ethanol. *Biomass Bioenergy.* 1995;8(2):99–103. doi: 10.1016/0961-9534(95)00006-S
- [12] Głąb L, Sowiński J, Chmielewska J, et al. Comparison of the energy efficiency of methane and ethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) with a variety of feedstock management technologies. *Biomass Bioenergy.* 2019;129:105332. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105332
- [13] Brown RC, Brown TR. 2014. Biorenewable resources: engineering new products from agriculture. 2nd ed. Iowa: John Wiley & Sons; doi: 10.1002/9781118524985
- [14] Appiah-Nkansah NB, Li J, Rooney W, et al. A review of sweet sorghum as a viable renewable bioenergy crop and its techno-economic analysis. *Renewable Energy.* 2019;143:1121–1132. doi: 10.1016/j.renene.2019.05.066
- [15] Venturin B, Frumi CA, Scapini T, et al. Effect of pretreatments on corn stalk chemical properties for biogas production purposes. *Bioresour Technol.* 2018;266:116–124. doi: 10.1016/j.biortech.2018.06.069
- [16] Mamata S, Beom SK. Current developments in lignocellulosic biomass conversion into biofuels using nanobiotechnology approach. *Energies.* 2020;13(20):5300. doi: 10.3390/en13205300
- [17] Manikandan S, Vickram S, Sirohi R, et al. Critical review of biochemical pathways to transformation of waste and biomass into bioenergy. *Biores Technol.* 2023;372:128679. doi: 10.1016/j.biortech.2023.128679
- [18] Mamata S, Aarti RD, Beom SK. Cellulase mimicking nanomaterial-assisted cellulose hydrolysis for enhanced bioethanol fermentation: an emerging sustainable approach. *Green Chem.* 2021;23(14):5064–5081. doi: 10.1039/D1GC01239H
- [19] Mamata S, Beom SK. Lignin valorization using biological approach. *Biotechnol Appl Biochem.* 2020;68(3):459–468. doi: 10.1002/bab.1995
- [20] AOAC A. Official methods of analysis 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA: Sci. Educ; 1995.
- [21] Van Soest PJ. The use of detergents in the analysis of fibrous feeds: II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Official Agri Chem.* 1963;46(5):829. doi: 10.1093/jaoac/46.5.829
- [22] Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc.* 1981;58(11):966–968. doi: 10.1007/BF02659771
- [23] Outlaw WH, Mitchell CT. Sucrose. In: Bergmeyer HU, editor *Methods of enzymatic analysis*. Vol. VI. 3rd ed. Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd; 1988. pp. 96–103.
- [24] Beutler HO. D-Fructose. In: Bergmeyer HU, editor *Methods of enzymatic analysis*. Vol. VI. 3rd ed. Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd; 1988. pp. 321–327.
- [25] Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. D-Glucose. In: Bergmeyer HU, editor *Methods of enzymatic analysis*. Vol. VI. 3rd ed. Cambridge, UK: VCH Publishers (UK) Ltd; 1988. pp. 163–172.
- [26] Bahry H, Pons A, Abdallah R, et al. Valorization of carob waste: Definition of a second-generation bioethanol

- production process. *Bioresour Technol Elsevier*. 2017;235:25–34. doi: [10.1016/j.biortech.2017.03.056](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.056)
- [27] Kristiansen B. *Integrated design of a fermentation plant: The production of Baker's yeast*. Weinheim, Germany; New York, NY, USA: VCH; 1994.
- [28] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem*. 1956;28:350–356. doi: [10.1021/ac60111a017](https://doi.org/10.1021/ac60111a017)
- [29] Ribeiro T, Cresson R, Pommier S, et al. Measurement of biochemical methane potential of heterogeneous solid substrates: results of a two-phase French inter-laboratory study. *Water*. 2020;12:2814. doi: [10.3390/w12102814](https://doi.org/10.3390/w12102814)
- [30] Crépeau M, Khelifi M, Vanasse A, et al. Compressive forces and harvest time effects on sugars and juice extracted from sweet pearl millet and sweet sorghum. *Trans ASABE*. 2013;56(5):1665–1671. doi: [10.13031/trans.56.10271](https://doi.org/10.13031/trans.56.10271)
- [31] Ostovareh S, Karimi K, Zamani A. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. *Ind Crops Prod*. 2015;66:170–177. doi: [10.1016/j.indcrop.2014.12.023](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.023)
- [32] Billa E, Koullas DP, Monties B, et al. Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Ind Crops Prod*. 1997;6(3–4):297–302. doi: [10.1016/S0926-6690\(97\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00031-9)
- [33] Qinglian W, Xian B, Wanqian G, et al. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: Current advances and perspectives. *Biotechnol Adv*. 2019;37(5):599–615. doi: [10.1016/j.biotechadv.2019.03.003](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.003)
- [34] Sipos B, Récey J, Somorai Z, et al. Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: Enzymatic hydrolysis of steam-pretreated bagasse. *Appl Biochem Biotech*. 2009;153(1–3):151–162. doi: [10.1007/s12010-008-8423-9](https://doi.org/10.1007/s12010-008-8423-9)
- [35] Djomdi HB, Klang MJ, Djoulde DR, et al. Extraction performance of juice and bioethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Global J Eng Sci Res Manage*. 2019;6(7):57–66. doi: [10.5281/zenodo.3357842](https://doi.org/10.5281/zenodo.3357842)
- [36] Daniel EE, Ajit KM, Mark LJ, et al. Evaluation of three cultivars of sweet sorghum as feedstocks for ethanol production in the Southeast United States. *Heliyon*. 2017;3(12):e00490. doi: [10.1016/j.heliyon.2017](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017)
- [37] Prasad S, Singh A, Jain N, et al. Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India. *Energy Fuels*. 2007;21:2415–2420. doi: [10.1021/ef060328z](https://doi.org/10.1021/ef060328z)
- [38] Serna-Saldívar SO, Chuck-Hernández C, Pérez-Carrillo E, et al. Sorghum as a multifunctional crop for the production of fuel ethanol: Current status and future trends. *Bioethanol*, Prof. Marco Aurelio Pinheiro Lima (Ed.), ISBN: 978-953-51-0008-9. *InTech*. 2012;51–74. ISBN: 978-953-51-0008-9. <http://www.intechopen.com/books/bioethanol/sorghum-as-a-multifunctional-crop-for-the-production-of-fuel-ethanol-current-status-and-future-tren>
- [39] Amaducci S, Monti A, Venturi G. Non-structural carbohydrates and fibre components in sweet and fibre sorghum as affected by low and normal input techniques. *Ind Crops Prod*. 2004;20:111–118. doi: [10.1016/j.indcrop.2003.12.016](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.12.016)
- [40] Khalil SRA, Abdelhafez AA, Amer EAM. Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Ann Agric Sci*. 2015;60:317–324. doi: [10.1016/j.aosas.2015.10.005](https://doi.org/10.1016/j.aosas.2015.10.005)
- [41] Ratnavathi CV, Kalyana SC, Komala V.V, et al. Sweet sorghum as feedstock for biofuel production: A review. *Sugar Tech*. 2011;13(4):399–407. doi: [10.1007/s12355-011-0112-2](https://doi.org/10.1007/s12355-011-0112-2)
- [42] Sereme A, Kuoda-Bonafos M, Nacro M. Phenolic compounds in Sorghum caudatum tissues during plant development. *Biomass Bioenergy*. 1993;4(1):69–71. doi: [10.1016/0961-9534\(93\)90028-3](https://doi.org/10.1016/0961-9534(93)90028-3)
- [43] Hao C, Xuejiao T, Qunli Y, et al. Sweet sorghum stalks extract has antimicrobial activity. *Ind Crops Prod*. 2021;170:113746. doi: [10.1016/j.indcrop.2021.113746](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113746)
- [44] Bakari H, Djomdi, Ruben ZF, et al. Optimization of bioethanol production after enzymatic treatment of sweet sorghum stalks. *Waste Biomass Valor*. 2023; doi: [10.1007/s12649-022-02026-y](https://doi.org/10.1007/s12649-022-02026-y)
- [45] Luna P, Risfaheri H, Charalampopoulos D, et al. Fractionation of carbohydrate polymers from Indonesian sorghum by-products. *Food Bioprod Process*. 2022;135:114–122. doi: [10.1016/j.fbp.2022.07.007](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.07.007)
- [46] Kim M, Day DF. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2011;38(7):803–807. doi: [10.1007/s10295-010-0812-8](https://doi.org/10.1007/s10295-010-0812-8)
- [47] Ratnavathi CV, Suresh K, Vijay KBS, et al. Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice. *Biomass Bioenergy*. 2010;34(7):947–952. doi: [10.1016/j.biombioe.2010.02.002](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.02.002)
- [48] Laopaiboon L, Pornthap T, Jaisil P, et al. Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae*. *World J Microbiol Biotechnol*. 2007;23(10):1497–1501. doi: [10.1007/s11274-007-9383-x](https://doi.org/10.1007/s11274-007-9383-x)
- [49] Ban J, Yu J, Xu Z, et al. Ethanol production from sweet sorghum residual. *Front Chem Sci Eng*. 2008;2(4):452–455. doi: [10.1007/s11705-008-0072-6](https://doi.org/10.1007/s11705-008-0072-6)
- [50] Herrmann C, Heiermann M, Idler C. Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresour Technol*. 2011;102(8):5153–5161. doi: [10.1016/j.biortech.2011.01.012](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.012)
- [51] Theuretzbacher F, Bauer A, Lizasoain J, et al. Potential of different Sorghum bicolor (L. Moench) varieties for combined ethanol and biogas production in the Pannonian climate of Austria. *Energy*. 2013;55:107–113. doi: [10.1016/j.energy.2013.04.020](https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.04.020)
- [52] Takaki M, Tan L, Murakami T, et al. Production of biofuels from sweet sorghum juice via ethanol–methane two-stage fermentation. *Ind Crops Prod*. 2014;63:329–336. doi: [10.1016/j.indcrop.2014.10.009](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.009)

- [53] Li S, Li G, Zhang L, et al. A demonstration study of ethanol production from sweet sorghum stems with advanced solid state fermentation technology. *Appl Energy*. 2013;102:260–265. doi: [10.1016/j.apenergy.2012.09.060](https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.09.060)
- [54] Regassa TH, Wortmann CS. Sweet sorghum as a bioenergy crop: Literature review. *Biomass Bioenergy*. 2014;64:348–355. doi: [10.1016/j.biombioe.2014.03.052](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.03.052)
- [55] Yang X, Li M, Liu H, et al. Technical feasibility and comprehensive sustainability assessment of sweet sorghum for bioethanol production in China. *Sustainability*. 2018;10(3):731. doi: [10.3390/su10030731](https://doi.org/10.3390/su10030731)
- [56] Kandasamy M, Hamawand I, Bowtell L, et al. Investigation of ethanol production potential from lignocellulosic material without enzymatic hydrolysis using the ultrasound technique. *Energies*. 2017;10(1):62. doi: [10.3390/en10010062](https://doi.org/10.3390/en10010062)
- [57] Klein-Marcuschamer D, Oleskowicz-Popiel P, Simmons BA, et al. The challenge of enzyme cost in the production of lignocellulosic biofuels. *Biotechnol Bioeng*. 2012;109(4):1083–1087. doi: [10.1002/bit.24370](https://doi.org/10.1002/bit.24370)
- [58] Da Silva ARG, Ortega CET, Rong B-G. Techno-economic analysis of different pretreatment processes for lignocellulosic-based bioethanol production. *Biores Technol*. 2016;218:561–570. doi: [10.1016/j.biortech.2016.07.007](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.007)
- [59] Devi A, Niazi A, Ramteke M, et al. Techno-economic analysis of ethanol production from lignocellulosic biomass—a comparison of fermentation, thermo catalytic, and chemocatalytic technologies. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2021;44:1093–1107. doi: [10.1007/s00449-020-02504-4](https://doi.org/10.1007/s00449-020-02504-4)

2.3. Discussion

L'optimisation de l'efficacité de procédés de bioconversion énergétique des tiges de sorgho sucré a été étudiée. La caractérisation biochimique des tiges brutes a révélé une forte teneur en sucres hydrosolubles composée de saccharose (79,29 g/kg MS), glucose (199,22 g/kg MS) et fructose (196,08 g/kg MS). Son pouvoir calorifique était de 17144,17 kJ/kg MS et comparable à ceux d'autres BLC telles que les tiges de maïs, de canne à sucre, les pailles de riz, de panic érigé, etc. variant entre 16280 et 18640 kJ/kg MS (Kim and Day, 2011 ; Serna-Saldívar *et al.*, 2012 ; Brown and Brown, 2014). Le rendement de bioconversion des tiges par fermentation alcoolique simple était de 261,18 g Eth/kg MS, ce qui équivaut à un rendement énergétique de 6921,27 kJ/kg MS, soit 40,37% du potentiel énergétique initial de la biomasse. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par plusieurs auteurs après fermentation simple des tiges de sorgho sucré (Christakopoulos *et al.*, 1993 ; Lezinou *et al.*, 1994 ; Mamma *et al.*, 1995 ; Antonopoulou *et al.*, 2008). Ces auteurs ont rapporté des rendements de bioconversion énergétique compris entre 6500 – 8900 kJ/kg MS. Au-delà de la composition biochimique des tiges de sorgho (forte teneur en sucres fermentescibles, faible teneur en composés phénoliques, etc.) très favorable à la production d'éthanol, l'approche par fermentation directe expérimentée a permis d'éviter les étapes de fractionnement et d'améliorer la rentabilité. Toutefois, le rendement de bioconversion énergétique reste encore à parfaire. Ce qui explique la nécessité et le choix de coupler la fermentation directe des broyats de tiges à la méthanisation des résidus solides.

Les résidus solides issus de la fermentation présentent une potentialité énergétique (18117,23 kJ/kg MS) légèrement supérieure à celle des tiges brutes (17144,17 kJ/kg MS). Cela pourrait s'expliquer par sa forte teneur en fibres (81,84%) comparée à celle des tiges brutes (44,75%). Les potentiels méthanogènes ont été évalués à 279 ± 10 et 256 ± 20 L_{CH4}/kg de biomasse respectivement pour les broyats de tiges brutes et les résidus de la fermentation, correspondant respectivement à des rendements énergétiques de 10013,31 et 9187,84 kJ/kg de tiges. Ces rendements correspondent respectivement à 58,40%, et 50,71% des teneurs énergétiques initiales des biomasses. Ces potentiels méthanogènes sont similaires à ceux rapportés par Ostovareh *et al.* (2015) (278 L_{CH4}/kg tiges de sorgho sucré après un prétraitement organosolv), Navarro *et al.* (2020) (224 L_{CH4}/kg déchets de bois après un prétraitement enzymatique), mais largement supérieurs à ceux obtenus par Antonopoulou *et al.* (2008), (78 L_{CH4}/kg et un rendement énergétique de 9845 kJ/kg MS de bagasse de tige de sorgho sucré). Cependant, ils étaient inférieurs à ceux des tiges de la variété hybride de sorgho sucré (*Sorghum bicolor* x

sudanense) (311 – 346 L_{CH4}/kg), de maïs (342 – 378 L_{CH4}/kg), de seigle (312 – 346 L_{CH4}/kg) et de triticale (334 – 374 L_{CH4}/kg) (Herrmann *et al.*, 2011) ou encore des pailles du riz (374 L_{CH4}/kg) (Patil *et al.*, 2021).

Le couplage des procédés fermentation – méthanisation a significativement amélioré le rendement et a permis d'atteindre 13309,57 kJ/kg MS, soit 77,63% du potentiel énergétique des tiges brutes, contre 40,37% et 58,40% respectivement pour les procédés de fermentation et méthanisation simples. Au-delà de l'optimisation du rendement de bioconversion énergétique des tiges, le couplage des procédés a permis de réduire également les coûts opérationnels liés à la production de vecteurs énergétiques. Les coûts de production du bioéthanol à partir des tiges de sorgho sucré ont été estimés entre 0,49 et 0,58 \$/L (Li *et al.*, 2013 ; Regassa and Wortmann, 2014 ; Devi *et al.*, 2021). Une importante partie (30 à 40%) de ces coûts (électricité, eau, enzymes, réactifs, etc.) sont attribués aux opérations de prétraitement et fractionnement de la biomasse (extraction des jus, hydrolyse, saccharification etc.) (Haldar and Purkait, 2021 ; Wong *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2023). L'hydrolyse enzymatique entraîne une augmentation du coût de production comprise entre 0,03 et 0,2 \$/L d'éthanol (Klein-Marcuschamer *et al.*, 2012 ; Kandasamy *et al.*, 2017). De même, une augmentation de 1,78 à 1,90 \$/L selon le type de prétraitement appliqué, a été rapportée par Da Silva *et al.* (2016) pour différents procédés de prétraitement. L'approche proposée par cette étude a permis d'obtenir une coproduction efficace de bioéthanol et biométhane tout en évitant les coûts de prétraitement et de fractionnement, réduisant ainsi le coût total de production. Toutefois, la valorisation des métabolites secondaires liquides issus de procédé de fermentation alcoolique et en particulier celle des acides organiques, constitue également un moyen de rentabiliser davantage la bioconversion de cette biomasse.

En raison de ses caractéristiques physico-chimiques, la tige du sorgho sucré constitue une source de matière première convenable pour la production de plusieurs types de vecteurs énergétiques. Il s'avère donc pertinent d'explorer et de définir la voie de conversion énergétique la plus efficace et rentable. La prochaine section de cette étude décrit la production du biohydrogène par fermentation sombre de cette biomasse. Dans cette étude, un consortium bactérien producteur d'hydrogène agira comme agent de prétraitement de la biomasse lignocellulosique. Cette approche vise une production efficace de H₂ à partir des sucres libres couplée à un prétraitement de la fraction fibreuse en vue de sa valorisation optimale par méthanisation, et donc l'optimisation de performance et rentabilité de bioconversion.

3. Optimisation de performance et rentabilité de bioconversion énergétique de tiges de sorgho sucré par couplage de procédés fermentation sombre – méthanisation

3.1. Introduction

L'adoption de la politique de transition énergétique est l'une des mesures d'atténuation pour relever les défis actuels de la sécurité énergétique, des préoccupations environnementales et du développement durable (Chen *et al.*, 2023). Le développement d'un procédé performant et rentable pour une coproduction de plusieurs vecteurs énergétiques est un défi majeur pour la bioconversion énergétique des tiges de sorgho sucré. Les procédés habituels passent généralement par diverses techniques de prétraitement de sa fraction lignocellulosique. Cependant ces techniques sont coûteuses et représentent environ 30 à 40% du coût global du procédé de bioconversion énergétique (Haldar and Purkait, 2021 ; Wong *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2023) en plus d'être génératrices, pour certaines, de composés toxiques et corrosifs et d'inhibiteurs de croissance microbienne. Le prétraitement biologique notamment l'utilisation de certaines espèces bactériennes productrices d'hydrogène par voie fermentaire sombre a été reconnu comme prometteur en raison de son caractère écologique, non toxique et économique (Yang *et al.*, 2023 ; Zabed *et al.*, 2019). Certaines souches bactériennes du genre *Clostridium sp.*, *Cellulomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Thermomonospora sp.*, et *Streptomyces sp.* sont dotées d'une forte capacité de dégradation des substrats complexes (Zabed *et al.*, 2019 ; Parvathy Eswari *et al.*, 2023) avec une faible production de composés inhibiteurs (Awogbemi and Kallon, 2022). Par ailleurs, le biohydrogène est un vecteur énergétique propre (H₂O comme produit de combustion) qui possède un pouvoir calorifique relativement élevé (120 – 142 MJ/kg), par rapport à d'autres combustibles usuels tels que le gaz naturel (54.4 MJ/kg) (Sampath *et al.*, 2020), le méthane (50 MJ/kg) et l'éthanol (26.8 MJ/kg) (Sillero *et al.*, 2022). De plus la production d'hydrogène par voie fermentaire sombre génère d'autres métabolites secondaires de haute valeur ajoutée tels que les acides organiques et des solvants (Fuess *et al.*, 2020) valorisables dans diverses domaines d'applications industrielles. Pour ces raisons, l'étude mise en œuvre visait à produire de l'hydrogène par fermentation sombre à partir des broyats des tiges entières en utilisant un consortium bactérien majoritairement constitué de la souche *Clostridium butyricum* CDC-51208. L'objectif était de capitaliser la capacité hydrolytique du consortium bactérien pour une production optimale d'hydrogène et d'acides gras volatils à partir des sucres libres et comme prétraitement efficace de la fraction lignocellulosique. Trois différentes charges en broyat de tiges (granulométrie ≤ 0.5 mm) (5%, 10% et 15% (m/v)) ont été testées. La

fermentation sombre a été ensuite couplée à la méthanisation mésophile des résidus solides en vue d'une coproduction efficace, rentable et écologique des vecteurs énergétiques (H_2 et CH_4).

La **figure 3.3** présente le schéma de ce procédé de couplage fermentation sombre – méthanisation. Les résultats issus de ces expérimentations ont fait l'objet d'un article dans le journal *BioEnergy Research*.

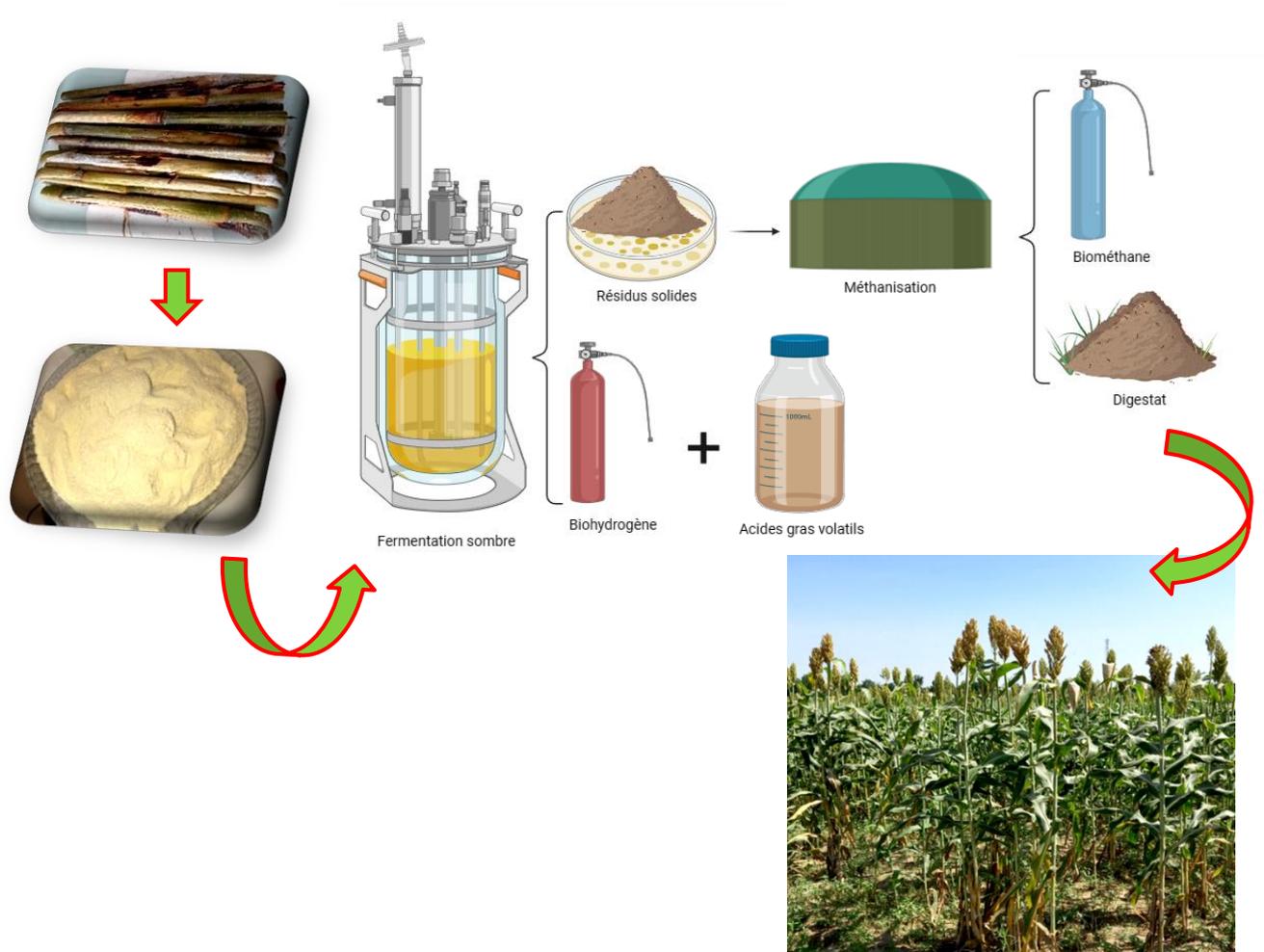


Figure 3.3 : Procédé de couplage fermentation sombre – méthanisation des tiges de sorgho sucré

3.2. Article publié dans BioEnergy Research



Hydrogen and Fatty Acid Production by Dark Fermentation of Sweet Sorghum Stalks as an Efficient Pre-treatment for Energy Recovery Before Their Bioconversion into Methane

Bakari Hamadou^{1,2,3} · Djomdi Djomdi³ · Ruben Zieba Falama^{1,4} · Christine Gardarin² · Christelle Blavignac⁵ · Fabrice Audonnet² · Cedric Delattre² · Guillaume Pierre² · Pascal Dubessay² · Roger Djouldé Darnan³ · Philippe Michaud² · Gwendoline Christophe²

Received: 24 October 2023 / Accepted: 29 January 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

Abstract

Hydrogen, volatile fatty acids (VFAs), and methane coproduction from sweet sorghum stems using bacterial consortium was investigated as an efficient and sustainable pre-treatment strategy to improve energy recovery. Integrated two-stage dark fermentation and methanization approach aimed to reduce fractionation, juice extraction, and pre-treatment steps to improve the efficiency and sustainability of stalks energy bioconversion. Stems biomass loading did not significantly influence hydrogen and VFAs productivities. Energy recovery yields were (7.07) and (10.01) MJ/kg dry matter (DM), respectively, for raw stem single dark fermentation (DF) and methanization processes, corresponding to 41.22% and 58.37% of raw stalk energy potential. Methanogenic potential increase of 31.9% and energy bioconversion yield of 13.21 MJ/kg DM were reached for solid residues from DF (80.75% of their energy content), suggesting that bacterial consortium efficiently pre-treated sorghum stalk fibers. Coupling process led to 88.74% net biomass energy recovery yield, corresponding respectively to 57.38% and 40.23% more than single DF and methanization. Fiber degradation ability of DF bacterial consortium significantly contributed to improve sorghum stalk energy recovery efficiency and cost-competitiveness.

Keywords Sorghum bicolor · Bioenergy · Biohydrogen · Biomethane · Energy efficiency

Highlights

Biomass loading did not significantly influence H₂ and VFAs productivities.
DF bacterial consortium effectively pre-treated sorghum stem fibrous fractions.
DF solid residues had 31.9% higher methanogenic potential than raw stems.
DF and AD coupling process led to 88.74% of net energy production yield.

✉ Philippe Michaud
philippe.michaud@uca.fr

- ¹ Energy Research Laboratory, Institute for Geological and Mining Research (IRGM), Renewable Energy Section (LRE/SENC), P.O. Box 4110, Nlongkak, Yaounde, Cameroon
- ² Université Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne INP, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France

Introduction

Technological and socio-economic developments and demographic growth have accentuated the reduction of natural resources and environmental impacts. Climate change caused by the increase in greenhouse gas emissions due to the excessive use of fossil fuels is a major concern [1]. This context is at the origin of alternative solution development to

- ³ Department of the Renewable Energies, School of Engineering of Maroua, The National Advanced, University of Maroua, P.O. Box 46, Maroua, Cameroon
- ⁴ National Advanced School of Mines and Petroleum Industries, University of Maroua, P.O. Box 46, Maroua, Cameroon
- ⁵ Centre Imagerie Cellulaire Santé, Université Clermont Auvergne, UFR de Médecine Et Des Professions Paramédicales, 28 Place Henri Dunant, 63000 Clermont-Ferrand, France

achieve the objectives of carbon neutrality and sustainability. Energy transition policy is one of the mitigation measures to meet the current challenges of energy security, environmental concerns, and sustainable development [2]. Hydrogen production from biomass is particularly interesting and attractive due to its great ability to address environmental challenges. Lignocellulosic biomass (LCB) is an abundant, sustainable, and cheap feedstock [3, 4]. Its productivity was estimated at around 10 metric tons per hectare and per year [5]. It is a viable raw material source to produce various energy carriers, biosourced chemicals, and biobased materials. Biological and thermochemical ways are the two current methods of hydrogen production from LCB. Biological pathway, especially dark fermentation (DF), is promising process considering its versatility, low cost, eco-friendliness, sustainability, high hydrogen productivity, and other [6]. Moreover, biohydrogen is clean (emitting only H₂O as combustion product), environmentally friendly, and has a relatively high calorific value (120–142 MJ/kg) compared with natural gas (54.4 MJ/kg) [6], methane (50 MJ/kg), or ethanol (26.8 MJ/kg) [7]. Biohydrogen production via DF process generates other secondary high value metabolites such as organic acids and solvents [8]. On the other hand, solid residues from DF are particularly interesting for methanization, given the fact that some DF bacterial consortia act as pre-treatment agents for LCB bioconversion (degradation of lignin or increasing porosity of cellulose and hemicellulose for example [9]). This bacterial ability to degrade complex substrates including agricultural residues is a major advantage of DF. LCB bacterial pretreatment process is characterized by low energy consumption, low production of inhibitory compounds, and as ecological [10]. A wide variety of biomass has been used as substrate for hydrogen production, including municipal organic waste, industrial wastewater, sewage sludge, and agricultural by-products [11]. Agricultural residues such as rice straws and husks, corn stalks, sorghum stalks, wheat straws, and sugar cane bagasse are inexpensive and available worldwide. Their bioconversion into energy would reduce dependence on fossil resources, respond to environmental issues, and improve the economic profitability and sustainability of the agricultural value chain through a circular economy [10]. Among these agricultural by-products, sweet sorghum stalks (*Sorghum bicolor* (L) *moench*) have been identified as feedstock with high potential. Sorghum has a great adaptability to extreme agronomic conditions and requires little nutritional input. It is the fifth most cultivated cereal in the world with a productivity of 25 to 40 tons of dry matter (DM) biomass/ha for sweet stem varieties. Sweet sorghum stalks have high contents of fermentable sugars (glucose, fructose, and sucrose) in addition to the fibrous fraction [12]. This high fermentable sugar content is an asset offering the possibility of easier energy recovery from the stems and makes

it possible to dispense costly pre-treatment and fractionation processes. However, due to the complexity and recalcitrance of its structure (composed of cellulose, hemicellulose, and lignin), the fibrous fraction energy bioconversion requires fractionation and pre-treatments. Thermochemical pre-treatments, including steam explosion, organosolvents, dilute alkali or acids, hydrothermal treatments, and microwave, are among the most widely used in biorefineries [3, 13]. However, these pre-treatments are very expensive and accounts for around 40% of the total cost of the energy bioconversion process [14, 15]. In addition, these operations generate toxic and corrosive compounds and inhibitors for enzyme hydrolysis and microbial growth. They have also significant environmental concerns [16]. Several biomass deconstruction techniques have recently been developed, including the use of supercritical carbon dioxide, natural deep eutectic solvents, ultrasound assisted dilute acid, and ionic liquids, in addition to biological pre-treatments [17–19] in order to reduce costs and facilitate pre-treatment operations. Biological pre-treatments, particularly enzymatic saccharification, although efficient and more ecological, enzyme costs account for about 30% of the total bioconversion costs [20]. Developing more cost-effective, environmentally friendly, and sustainable pre-treatments becomes a major challenge for LCB energy recovery. The present investigation focused on biohydrogen production from shredded sweet sorghum stalks using a fiber-degrading bacterial consortium. The objective was to develop an integrated approach for bioconversion of stem fermentable sugars into biohydrogen, combined with an efficient and more profitable pre-treatment of the fibrous fractions in order to optimize energy recovery yield. DF process was followed by methanization of subsequent solid residues in a two-step process. The aim was to avoid the juice extraction, fractionation, and pre-treatment steps, to reduce the operation cost and improve the economic profitability of the energy bioconversion.

Material and Methods

Sweet Sorghum Stem Collection and Processing

Sorghum stalks (*Sorghum bicolor* (L) *moench*) were collected in November 2020 from an agricultural farm at “KODEK” (10° 39′ 19″N; 14° 24′ 42″E; 880 m), a locality of the department of DIAMARE in the Far North region of Cameroon. The stem samples were stripped, cut out, and dried by steaming at 60 °C until a constant mass was obtained, then ground to a particle size ≤ 0.5 mm and stored at room temperature. Sorghum stalks had been characterized in previous studies. The water-soluble sugars and total sugars contents were 538.22 and 731.69 g/kg DM, respectively [16]. The carbohydrate profile of water-soluble free sugars

was glucose (199.22 g/kg DM), fructose (196.08 g/kg DM), and sucrose (79.29 g/kg DM). Whereas that of the insoluble structural sugars obtained after acidic hydrolysis was xylose, glucose, arabinose, and galactose at 53.07%, 38.55%, 6.44%, and 1.92%, respectively [12].

Bacterial Consortium and Culture Media

The bacterial consortium was obtained from the culture collection of the Axe-GePEB laboratory (Institut Pascal, Université Clermont Auvergne, F-63000 Clermont-Ferrand, France). The consortium had been taken from sewage treatment plant sludge, treated (methane producing Archaea removal), subcultured several times until stabilization, and stored in the collection [21]. Molecular and quantitative PCR analyses were performed to determine the microbial population profile of the bacterial consortium. The profile showed low diversity with mainly *Clostridium sp.* which was the most dominant species (around 94 to 99%) and only a few other bacteria. The most abundant strain was *Clostridium butyricum* strain CDC-51208 [21].

The culture medium, adapted from Noblecourt et al. [21], was composed of 7.5, 7.5, 0.02, 5% (v/v), respectively, for mineral solutions 1, 2, 3 and 4; 0.02% (v/v) of a 1 g/L biotin solution; 0.01% (v/v) of a 1 g/L PABA solution; 0.1% (v/v) of a 1 g/L hemin solution; 0.1% (v/v) of a 1 g/L resazurin solution; 79.3% H₂O; 0.4% Na₂CO₃; 0.05% cysteine; and the corresponding biomass load (5, 10, and 15% (w/v)) as substrate or glucose at 20 and 55 g/L, respectively, for preculture and glucose control. The compositions of the different mineral solutions were (g/L) as follows: Solution 1: K₂HPO₄ (18); Solution 2: KH₂PO₄ (18), (NH₄)₂SO₄ (72), NaCl (12); Solution 3: MgSO₄·7H₂O (1.2), CaCl₂·2H₂O (1.2), MnSO₄·6H₂O (0.15), CoCl₂·6H₂O (0.015), FeSO₄·7H₂O (0.4); Solution 4: H₃BO₃·H₂O (6), ZnCl₂ (8.2), NiCl₂·6H₂O (2.6), CuCl₂·2H₂O (1.5), Na₂MoO₄·2H₂O (2.6), FeCl₂·4H₂O (75).

Two-Stage Biohydrogen and Methane Production

The DF process was performed in a 3-L reactor with 2.5-L working volume using Bionet engineering (Bionet F1-Twin BCU, ROSITA Bioprocess SW) divides. Three different biomass loads (5, 10, and 15% (w/v)) were tested from shredded stalks (particle size ≤ 0.5 mm) in order to study the influence of biomass loading on the biohydrogen production efficiency and yield. A glucose control at 55 g/L initial concentration was carried out in parallel. The culture media were first sterilized (autoclaving at 121 °C for 20 min) then sterile flushed with CO₂ to remove oxygen in the reactor atmosphere. L-cysteine and NaCO₃ were simultaneously added under CO₂ flow to facilitate medium reduction, and biotin was added when the temperature reached 35 °C. The culture

media were then inoculated at 10% (v/v) with a pre-culture in the exponential growth phase. The temperature was set at 35 °C with 150 rpm stirring speed, and the pH was set at 6 by the automatic addition of a 3 M NaOH solution. Culture media samples were taken every 5 h to monitor sugar consumption and the production of VFAs. The gas phase outlet of the reactor was connected to an online and real-time system for monitoring the flow rate and total volume of gas production which was also connected to the gas analyzer (micro-GC).

Anaerobic digestion (AD) was carried out on shredded raw stem and DF solid residues to investigate and compare the efficiency and energy conversion yields of bioconversions (single DF, single AD, and DF/AD coupling). The methanogenic potential quantification of DF solid residues also makes it possible to study the influence of DF bacterial consortium on the stems fibrous fraction. AD process was carried out using a 2 L total volume stirred reactor with 1.4 L of working volume. The experiments were carried out under mesophilic conditions (37 ± 1 °C) with a stirring speed of 120 rpm. The inoculum was taken from the consortium from the digestate of the Methelec methanization unit. The methanogenic potential as well as the gas quality (biogas composition, production kinetics, etc.) for different substrates were carried out according to the biochemical methane potential (BMP) test procedure provided by the French Agency for Ecological Transition (ADEME) [22].

Analytical Methods

The flow rate and the volume of gas production were monitored using a gas flowmeter (Bioprocess Control µFlow). The outlet of the gas flowmeter was connected to an online gas chromatography analyzer (2-Module chassis, INFICON Fusion Micro GC). Biogas composition was analyzed every 2 h. The Micro GC was equipped with two channels and a thermal conductivity detector (TCD). The first channel was equipped with a molecular sieve column (5 Å) and allowed to identify and determine the composition in H₂, O₂, N₂, CH₄, and CO. It used argon as a vector gas with a pressure of 30 psi, and the injector and column temperatures were 70 and 50 °C, respectively. The second channel allowed the identification of CO₂ and H₂S using a Para plot U (PPU) column, and hydrogen at a pressure of 15 psi was used as a vector gas. The injector and column temperatures were 70 and 60 °C, respectively.

The kinetics of fermentation was followed through the consumption of total sugars and the production of VFAs. The consumption of total sugars (for stems) was monitored by the assay method of DuBois et al. [23]. The production of VFAs and the consumption of glucose were monitored by high-performance liquid chromatography (HPLC) device (1260 Infinity Quaternary LC system, Agilent Technology,

Palo Alto, CA, USA). The HPLC equipment was composed of two ionic exclusion columns (Rezex ROA 300×7.8 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA) connected in serial in an oven (50 °C) and coupled to a refractometer (HP series 1100) as detector. The mobile phase consisted of 2 mM sulfuric acid solution, in ultrapure water (Millipore, Milli-Q, and more), pumped at 0.7 mL/min flow rate and 70 bars (7000 kPa). To avoid clogging of the column, the samples were previously deproteinized before injection. For this purpose, 1 mL of sample were mixed with 125 µL of barium hydroxide solution (0.3 M) and 125 µL of zinc sulfate solution (5% w/v) and centrifuged at 10,000 g for 10 min. The supernatant was collected and filtered through a 0.2 µm cellulose acetate filter (Chromafil, Steinheim, Germany) before being injected into the HPLC.

Monitoring of Stem Fiber Bacterial Degradation

Biomass Physico-chemical and Structural Characterization

DF solid residues were separated from the liquid fraction by centrifugation (13,000 g for 10 min at 25 °C) after DF, then dried at 60 °C until a constant mass was obtained. The dry matter and organic matter content determination was carried out according to the method described by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [24]. The structural composition of the biomass, in particular the fibers, cellulose, hemicellulose, and lignin contents, was monitored according to the method described by Soest [25].

The calorific values were determined on shredded raw stem and DF solid residues according to the bomb calorimeter method using an isoperibol calorimeter (PARR 6400 *Calorimeter*) as described by Hamadou et al. [12].

Biomass X-ray Diffraction Analysis

The follow-up of the biomass degradation was carried out using X-ray diffractometer to evaluate the influence of DF bacterial consortium on the structural composition and crystallinity of the stem fibrous fraction. The stem samples were first washed with neutral detergent solution (composition as described by Soest [25]) and rinsed three times with boiling water in order to eliminate the non-fibrous fraction. The resulted fraction was then dried at 60 °C until a constant mass was obtained. The dried samples were scanned with X-ray diffractometer (PAN analytical X'PERT-PRO MRD, Philips) using Cu-K α 1 and K α 2 radiation of wavelength 1.5406 and 1.5444 Å, respectively, with a voltage of 40 kV and a current of 44 mA. The samples were scanned over a range of 2θ between 5 and 90° with an angular step of 0.008°. The crystallinity index was calculated according to Eq. 1 established by Segal et al. [26].

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad (1)$$

where **CrI** is the Crystallinity Index (%), I_{002} is the maximum intensity (in arbitrary units) of the diffraction peak measured at 22.05° 2θ , and I_{am} is the minimum diffraction intensity of the amorphous fraction (in the same units) measured around 18.88° 2θ .

Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM) Analysis

The morphological structure monitoring of the stem fibers before and after DF process was carried out using scanning electron microscopy. Biomass samples were placed on the stub surface using adhesive carbon tabs and coated with platinum (Quorum Q150 TES) to obtain charge conductive surfaces. Observations were carried out using a field emission scanning electron microscope Regulus 8230 (Hitachi, Japan) at 2 kV with a secondary electron detector.

Statistical Analysis

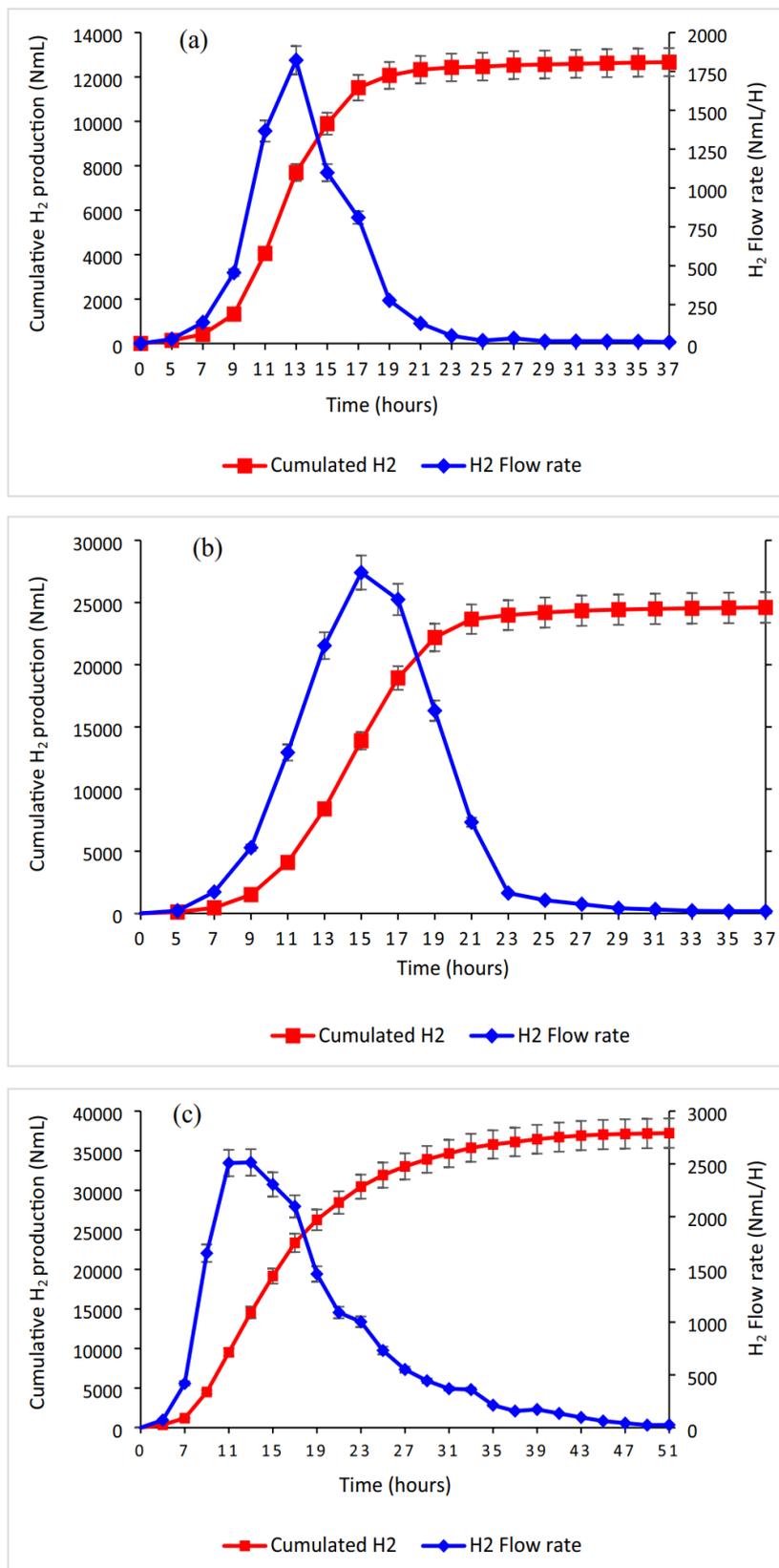
Experiments were performed in triplicate, and results were expressed as mean \pm standard deviation. The Microsoft Office 365 Excel spreadsheet was used for the statistical analysis of the data.

Results and Discussion

Biohydrogen Production with Different Stem Biomass Loading

The DF of shredded whole stems has been carried out to reduce the biomass fractionation, particularly the water and energy consuming juice extraction step. Three different biomass loadings (5, 10, and 15% w/v) were experimented to study the effectiveness of the bacterial consortium and the influence of biomass loading on hydrogen production. The hydrogen production kinetics are shown in Fig. 1. Total hydrogen production volumes were (12.67 \pm 0.64), (24.61 \pm 1.23), and (37.23 \pm 1.86) LH₂, respectively, for 5, 10, and 15% (w/v) stem biomass loads. Production started after 5 h of lag phase and maximum production flow rates of (1.83 \pm 0.09), (2.75 \pm 0.13), and (2.82 \pm 0.14) LH₂/h, respectively, were reached after 13 h of fermentation. No significant difference in gas composition had been observed between different biomass loads tested and glucose control. Maximum biohydrogen contents ranging from 54.89 to 57.98% for the different biomass loads and from 53.16 to 55.64% for the glucose control were reached at the production peak.

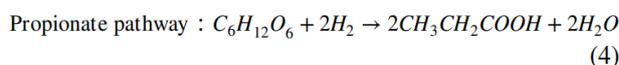
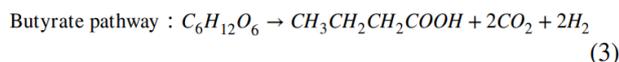
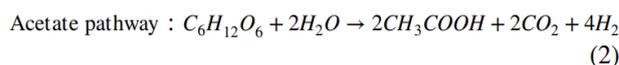
Fig. 1 Kinetics of hydrogen production at different stem biomass loadings. **a** Biomass 5% w/v. **b** Biomass 10% w/v. **c** Biomass 15% w/v



However surprisingly, under the experimental conditions of this study, faster hydrogen production with high flow rates was observed for culture media with crushed stems compared to the glucose control. The maximum production rate for the glucose control was 0.32 ± 0.02 LH₂/h (after 60 h), and the total production of 12.77 ± 0.64 LH₂ was reached after 92 h of fermentation (Supplementary Fig. 1a). These results show that high concentrations of substrate solid fractions (stem biomass load) are neither an inhibiting nor limiting factor for hydrogen production. Hydrogen production was rather correlated and increased proportionally with increasing stem biomass load. Therefore, it is possible to dispense the juice extraction step and obtain efficient hydrogen production from crushed whole sorghum stalks. This observation agrees with that reported by Feng [27] who studied the effect of different concentrations of sorghum stalk substrate on the hydrogen production yield using oscillating photosynthetic organisms. He found that cumulative hydrogen production increased with increasing substrate concentration. A similar observation was reported by Ntaikou et al. [28] who obtained efficient hydrogen production from whole sweet sorghum stalks using pure cultures of *Ruminococcus albus* bacterium. This study is also in agreement with the observations reported by Noblecourt et al. [29] who demonstrated the ability of this bacterial consortium to efficiently convert food waste fractions into biohydrogen. Sorghum juice and bagasse were usually separated and processed separately for most authors who tested biohydrogen production from sweet sorghum stalks. As a result, bioconversion yields as well as profitability were less convincing through these traditional methods due to the biomass fractionation and pre-treatment stages. A maximum biohydrogen production rate of 1.75 LH₂/d was reported by Antonopoulou et al. [30] from sweet sorghum extracts. Biohydrogen production rates ranging from 0.135 to 0.140 LH₂/h were obtained from sweet sorghum stalk bagasse after alkaline pretreatment with NaOH followed by enzymatic hydrolysis [31]. The approach proposed in this study makes it possible to optimize bioconversion with less biomass fractionation and therefore a lower cost.

DF Secondary Metabolites Biomolecules

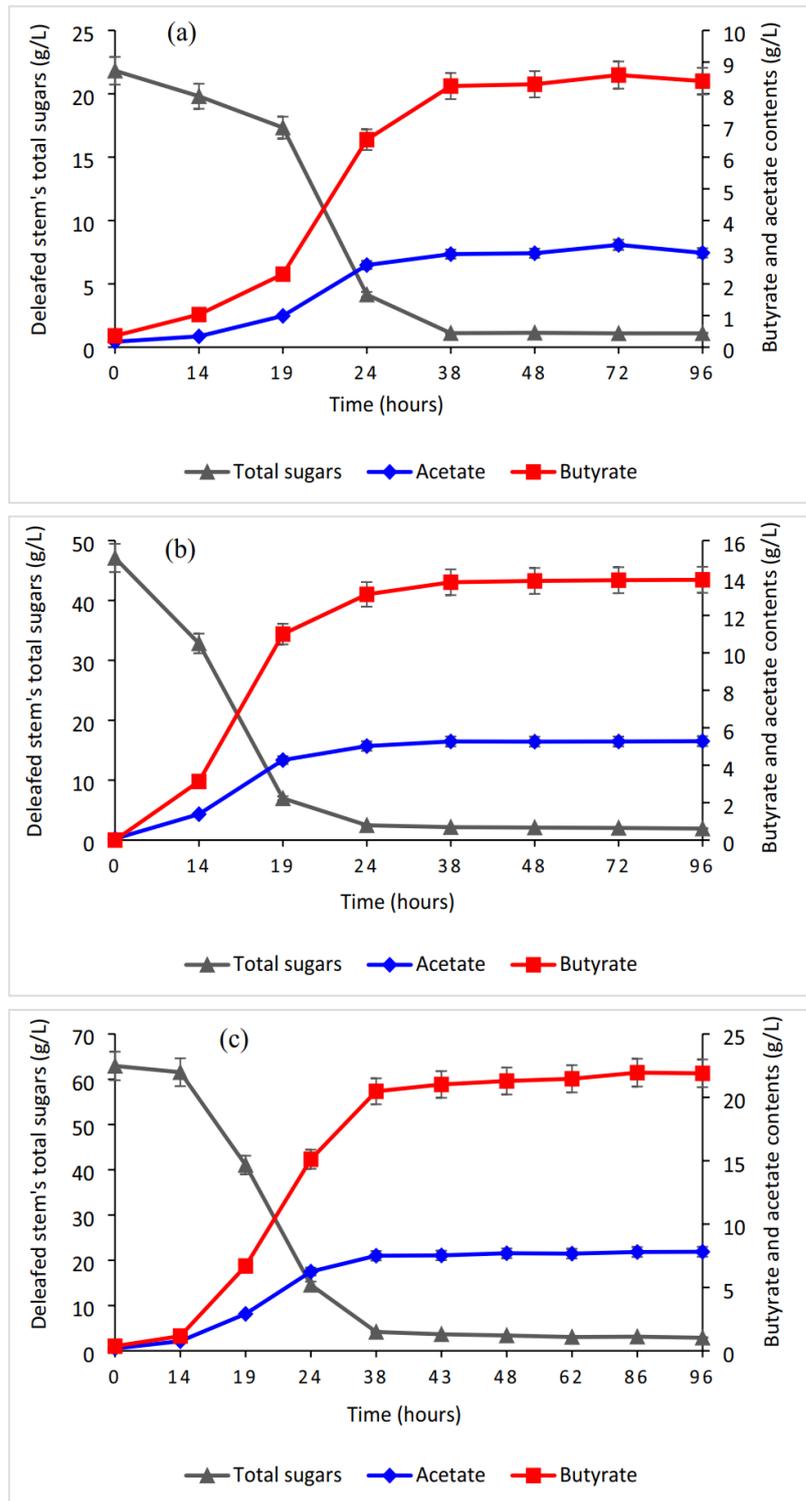
In addition to biohydrogen, sweet sorghum stem DF produced secondary metabolites with high added value, particularly VFAs. The main coproduced VFAs were acetate and butyrate. As well known, the production of butyrate and acetate favors the production of biohydrogen according to Eqs. 2 and 3, whereas propionate production Eq. 4, one of the biohydrogen-consuming pathways, was not detected in this experiment.



The butyrate biohydrogen production pathway was privileged by the bacterial consortium used in this study compared to the acetate one. This could be explained by the profile of the bacterial community composed mainly of *Clostridium butyricum* strain CDC-51208, well known as a hydrogen producer by butyrate route [21]. The maximum butyrate concentrations reached were (8.59 ± 0.43) , (13.94 ± 0.69) , and (21.95 ± 1.09) g/L, respectively, for 5, 10, and 15% w/v of stem biomass load (Fig. 2), whereas the maximum acetate concentrations reached were (3.23 ± 0.16) , (5.29 ± 0.26) , and (7.82 ± 0.39) g/L, respectively.

The same secondary metabolite profile was observed for the glucose control. However, the VFAs concentrations were lower in this case $(9.79 \pm 0.48$ and 3.61 ± 0.18 g/L, respectively for butyrate and acetate, Supplementary Fig. 1(c)). These VFAs contents are higher than those reported by Islam et al. [1] who investigated the biohydrogen and VFAs coproduction from enzymatic hydrolysate of NaOH pre-treated sweet sorghum stems, using *Clostridium thermosaccharolyticum* (DSM572). They obtained maximum concentrations of 2.33 and 2.36 g/L, respectively, for acetate and butyrate. Moreover, no biohydrogen production inhibition effect was observed despite these high contents of total VFAs co-produced in the culture medium. Contrary to the observations reported by Noblecourt et al. [21] who used the same bacterial consortium and indicated that the accumulation of VFAs above 12.5 g/L led to a sharp decrease of biohydrogen production rate, these results show that the bacterial consortium adapted to high VFAs concentrations (about 30 g/L for 15% stems biomass loads (Fig. 2c)). This great adaptability and resilience of the studied consortium for high contents of VFAs is a major asset allowing efficient co-production of hydrogen and VFAs. VFAs are high added value biomolecules which are widely used in food and chemical synthesis industries as well as in various other industrial applications [8, 29]. VFAs are also positioned as future production sources of new biomolecules with higher energy content, particularly medium chain carboxylic acids production through chain elongation reaction, identified as one of the innovative and promising techniques of green biotechnology [12, 32]. VFAs valorization for biolipids production using oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* was also demonstrated by Fontanille

Fig. 2 Kinetics of VFAs production at different stem biomass loadings. **a** 5% w/v biomass. **b** Biomass 10% w/v. **c** Biomass 15% w/v



et al. [33] who obtained an efficient biomass growth with up to 40% of lipid content with butyrate and propionate mixture as culture medium. In addition, traces of citrate (0.35 to 0.74 g/L) and ethanol (0.34 to 0.73 g/L) were observed, respectively, for stem biomass loads of 10 and 15% w/v.

Influence of Stem Biomass Load on Biohydrogen and VFAs Production Yields

Biohydrogen production yields were (126.66 ± 1.86) , (123.03 ± 1.02) , and (124.09 ± 1.07) $\text{LH}_2/\text{kg DM}$ of sorghum stalks, respectively, for 5, 10, and 15% w/v stem biomass

loading (Fig. 3). These results show that the biomass load did not influence the hydrogen productivity, suggesting that the bacterial consortium offers the major advantage of being perfectly suitable for DF of lignocellulosic substrates with high solid particle content.

This biohydrogen production yield was higher than those reported by authors such as Antonopoulou et al. [34] (10.4 LH₂/kg sorghum stalks), Ntaikou et al. [28] (60 LH₂/kg sorghum stalks), Antonopoulou et al. [30] (10.51 LH₂/kg sorghum stalks), and Islam et al. [1] (84.47 LH₂/kg sorghum stalks). These lower stem bioconversion yields into biohydrogen could be explained firstly by stalk biomass characteristics differed according to the studied varieties and processes where sorghum juice and fibers were separated and proceeded separately. Moreover, in these studies, DFs were carried out using single bacterial strains with lower efficiencies compared to the bacterial consortium used in this study. No significant effect of stem biomass load was observed on VFAs productivity either. Production yields of total VFAs (including butyrate and acetate) were (251.24 ± 6.25), (240.85 ± 5.06), and (247.87 ± 6.39) g_{VFAs}/kg DM of sorghum stems, respectively, for 5, 10, and 15% w/v stem biomass loads. These results show that the studied bacterial consortium allowed to achieve an efficient coproduction of hydrogen and VFAs.

Effect of DF Bacterial Consortium on the Morphological Structure and Physicochemical Properties of Biomass

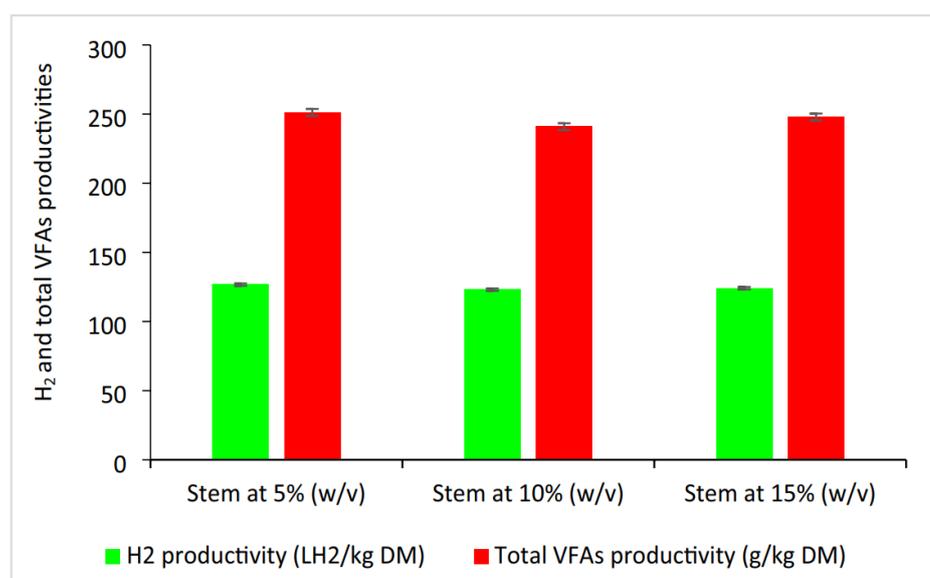
Morphological Structure of Sorghum Stem Fibers

Texture analysis of biomass fibers was carried out before and after DF. Figure 4 shows the changes in morphological

structure observed after the different bioconversion processes studied. A smooth and rigid structure with less porosity was observed for the control fibers (Fig. 4a). Heavily destroyed fibers with alveolar structures exhibiting larger porosity, cracks, and loosening fibers were observed after DF process (Fig. 4b–d). No significant differences in texture change were observed between the different biomass loads tested. Morphological destruction of fibers was more noticeable with methanization residues (Fig. 4e), with relatively complete decomposition of fibers into debris.

The same trend, but with less destruction, was observed for the most recalcitrant fiber fractions, probably those from the sorghum stem bark containing more lignin (supplementary Fig. 2). A smooth, compact, and less porous texture was observed for the control fibers (supplementary Fig. 2(a)) while more porous, fractured, and degraded structures were detected after DFs (supplementary Fig. 2(b), (c) and (d)). Numerous pores with diameters ranging from 0.96 to 1.39 μm were visible for the DF residual fiber fractions from all the different stem biomass loads tested. This fiber degradation (samples pore size change) for DF residues exposed some of their internal areas as compared with the raw stem fibers, suggesting the DF bacterial consortium effect. These high porosities of DF residual fibers facilitated their degradation during the subsequent methanization step. This could explain the higher methanization rate as well as the higher methanogenic potential observed for DF residues compared to raw stalks. These morphological changes in stem fiber microstructure resulting from bacterial activity have been previously reported by several authors who investigated bacterial pretreatment on different LCBs [35]. Tsegaye et al. [36] reported that bacterial pretreatment of wheat straw using *Ochrobactrum oryzae* BMP03

Fig. 3 Hydrogen and VFAs production yields as a function of different stem biomass loadings



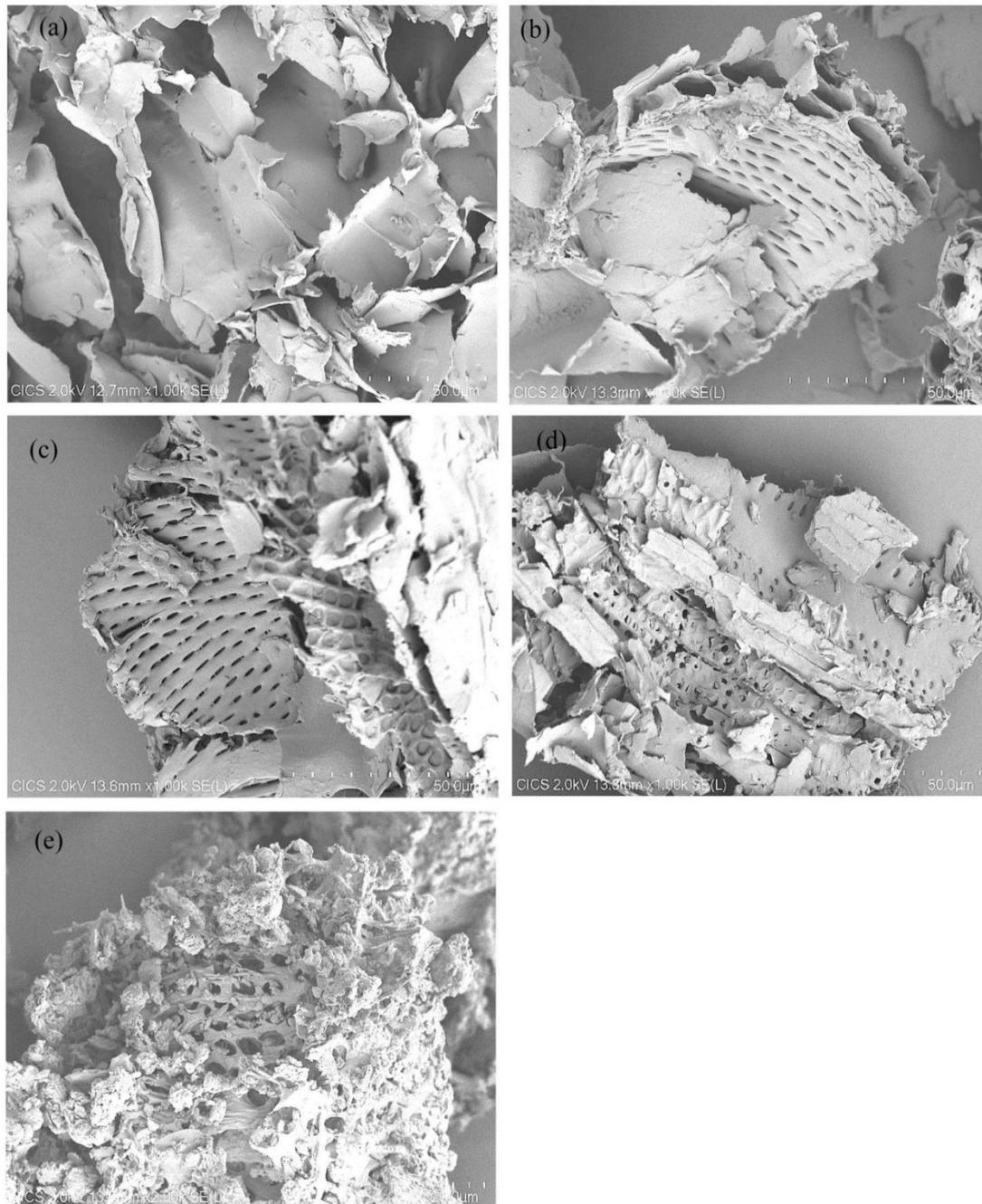


Fig. 4 FESEM images for raw stem fibers (a). DF solid residues at different stem biomass loadings: **b** 5% w/v, **c** 10% w/v, and **d** 15% w/v biomass. Solid residues from methanization process (e)

significantly improved their subsequent hydrolysis and therefore increased the reducing sugar production yield. Similar observations were also reported by Singh et al. [37] who experimented fungal pre-treatment of water hyacinth biomass using *Alternaria alternata* strain AKJK-2. They noted changes in texture, pore size, and cracks of the samples after biological pre-treatment, leading to efficient cellulose solubilization and higher reducing sugar yield.

X-ray Diffraction of Stem Fibers

X-ray diffraction analysis of stem fibrous fractions before and after DFs was performed to study the effect of bacterial consortium on their structural composition. The diffractograms obtained (supplementary Fig. 3) show typical characteristic peaks for cellulose, located between 18.8 and $22.05^\circ 2\theta$. The crystallinity indices were 36.18% for raw stem fibers

and 54.78, 52.92, and 50.63%, respectively, for DF solid residues with 5, 10, and 15% (w/v) stem biomass loadings (Table 1). These results reveal a significant increase in the crystallinity index for DF residual fibrous fractions compared to raw stem fibrous ones. This crystallinity increase could be explained by the DF bacterial consortium degradation of the lignin–hemicellulose complex cover, leading to the exposure of crystalline cellulose.

This observation had been highlighted by several authors who tested LCB delignification using various pre-treatment techniques and reported a significant increase in crystallinity index with treatment efficiency. Tang et al. [38] reported an increase in crystallinity index from 51.8% for raw sunflower straw to 61.4% achieved after tartaric acid-assisted hydrothermal pre-treatment. A comparative study of various pre-treatment methods was carried out on *sorghum durra* stalks by Jamaltheen et al. [39]. These authors reported variations in crystallinity indices from 18.3% for the raw stems to the highest index of 60% reached with the 1% NaOH treatment coupled to ultrasonication. A similar observation was reported by Nlandu et al. [40] who experimented with supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) pre-treatment and enzymatic hydrolysis on flax stem fibers from agricultural flax waste. Crystallinity index ranged from 53 to 72%, respectively, for raw and pre-treated flax fibers had been reported. However, depending on the nature and purity of treated biomass (content of amorphous and crystalline fractions of cellulose and hemicellulose, their composition pure or bound to other polymers, etc.) constant values or decreases in crystallinity indices after pre-treatment had been reported by some authors. Narayanaswamy et al. [41] observed no change in crystallinity index before and after SC-CO₂ pre-treatment of corn stover. Zheng et al. [42] on the contrary reported a decrease in crystallinity of approximately 50% after CO₂ explosion pre-treatment of Avicel.

Furthermore, the DF bacterial capacity for biomass delignification demonstrated in this study is a major asset combining co-production of hydrogen and VFAs and effective

fiber pre-treatment for the subsequent methanization step. These results agree with the observations of several authors who studied the bacterial hydrolysis of LCB. Several bacterial strains including *Lysinibacillus* sps., *Pseudomonas* sps., *Acinetobacte* sps., *Streptomyces* sps., and *Thermomonospora* sps. have been reported to be particularly efficient and can reach 50.1% delignification rate when tested as a biomass pre-treatment agent [9].

Biomass Physicochemical Properties

Physico-chemical characterization was carried out on sorghum stems before and after DF. The raw stem fibers were composed of hemicellulose (38.85%), cellulose (49.76%), and lignin (11.38%) (Table 1). This composition is comparable to that of other reported LCBs such as sugar cane, corn stover, wheat straw, and rice straw [10]. A similar biochemical composition was observed for solid residues from DF. However, a slight decrease in hemicellulose content (from 38 to 35%) and a slight increase in cellulose content (from 49 to 51%) were observed for DF residual fibers compared to those of raw stem fibers. This slight modification of the fibers structural composition after DF process could be explained by the partial depolymerization of hemicellulose and lignin by the bacterial consortium. The degradation of complex substrates including lignocellulosic biomass is one of the major advantages of carrying out DF using mixed culture of anaerobic bacteria [21]. Several authors have reported the potential of certain bacterial strains for lignin degradation. A degradation rate of 44.47% was, for example, achieved from wheat straw lignin using *Ochrobactrum oryzae* BMP03 [36]. No difference has been observed between residual fibers resulting from different biomass loadings tested. Therefore, biomass loading did not significantly influence the bacterial consortium effect on the biomass physicochemical properties. These results show that the DF bacterial consortium led to a deconstruction of the sorghum stem fibers without quantitative modification of its biochemical

Table 1 Physicochemical properties of sweet sorghum stems

	Crushed raw stem	Dark fermentation residues at different biomass loads			Methanization residues
		5% (w/v)	10% (w/v)	15% (w/v)	
Crystallinity index (%)	36.18±0.13	54.78±0.15	52.92±0.18	50.63±0.18	-
Total fibers (% DM)	44.75±0.71	64.09±0.56	67.43±0.42	66.24±0.29	38.09±0.74
Hemicellulose (% DM)	17.39±0.65	22.86±0.36	24.15±0.63	23.80±0.12	13.40±0.37
Cellulose (% DM)	22.27±0.18	31.77±0.64	34.73±0.51	34.26±0.54	3.33±0.73
Lignin (% DM)	5.09±0.19	9.46±0.73	8.55±0.19	8.18±0.72	21.35±0.86
Composition in % relative to total fibers					
Hemicellulose	38.85±0.85	35.67±0.45	35.81±0.74	35.93±0.63	35.23±0.31
Cellulose	49.76±0.62	49.58±0.87	51.52±0.97	51.72±0.69	8.77±0.91
Lignin	11.38±0.52	14.74±0.58	12.68±0.24	12.35±0.47	55.99±0.41

composition. A similar observation was reported by Nlandu et al. [40] after SC-CO₂ pre-treatment of flax fibers.

Effect of DF on the Methanogenic Potential of Sorghum Stem Fibers

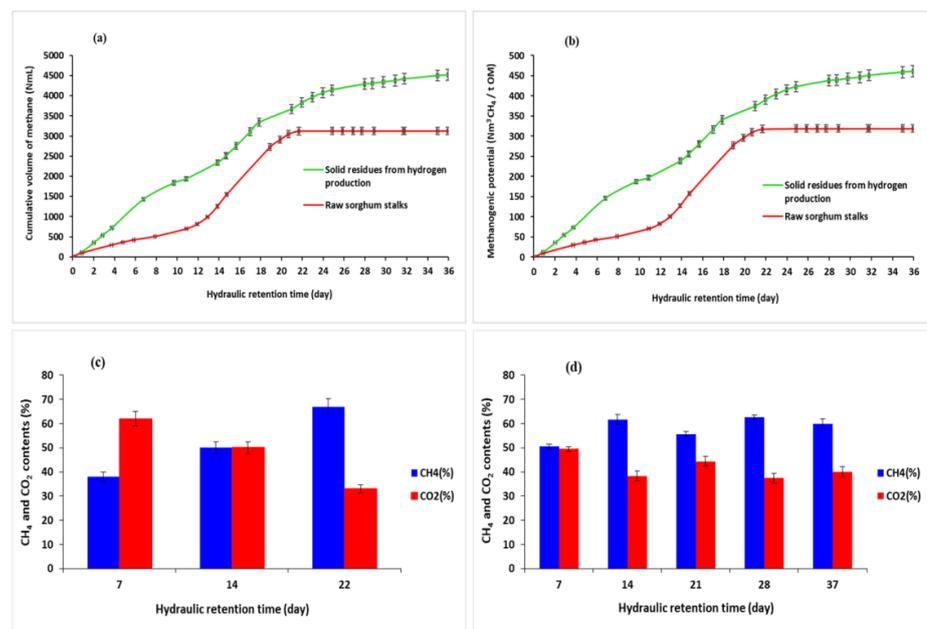
Methanization was carried out on DF solid residues and shredded raw stalks to study the influence of DF process on the biomass methanogenic potential. Methanization kinetics and evolution of biogas composition as a function of hydraulic retention time are shown in Fig. 5. The trends were significantly different; relatively higher production rate and methanogenic potential were observed for DF residues compared to those of raw stems. Cumulative methane production volumes were (3126 ± 12) and (4518 ± 24) NmL_{CH₄}, respectively, for raw stems and DF residues (Fig. 5a). The methanogenic potentials were, respectively, (319 ± 11) and (461 ± 25) L_{CH₄}/kg of organic matter, *i.e.*, an increase of 44.51% for DF residues compared to that of raw sorghum stalks. This high methanization rate and higher methanogenic potential observed for DF residues could be explained by the effect of biomass fiber degradation performed by DF bacterial consortium. These results show that beyond the efficient production of hydrogen and VFAs, this bacterial consortium effectively pre-treated the sorghum stem fibers, which resulted in a significant improvement of methane production yield.

Similar observation of LCB depolymerization bacterial ability was pointed out by Nurika et al. [35] who tested the degradation of oil palm empty fruit bunches using four different bacterial strains as potential pre-treatment methods in order to improve methane production yield. They

obtained 25% of biomass lignin breakdown, resulting to the highest average methanogenic potential increase of 42 L_{CH₄}/kg VS. Expressed in terms of biomass raw material, the methanogenic potentials were (279 ± 10) and (368 ± 20) L_{CH₄}/kg biomass raw material, respectively, for raw stalk and DF process residues, *i.e.*, 31.9% more for residues. These methanogenic potentials are higher than those reported by Antonopoulou et al. [34] (78 and 29 L_{CH₄}/kg of sweet sorghum) obtained, respectively, from sweet sorghum juice extraction process bagasse and the effluent from juice DF hydrogenogenic reactor. However, these results are similar to those reported by some authors, including Gła̧b et al. [43] (296–342 L_{CH₄}/kg TS of sweet sorghum stems), Herrmann et al. [44] (317 L_{CH₄}/kg VS of sweet sorghum stalks), and Ostovareh et al. [45] (278.7 L_{CH₄}/kg VS of sweet sorghum stems).

No significant difference in the biogas composition and quality was observed between raw stem methanization and that of the residual fibers from DF. The average methane contents were $56 \pm 1\%$ and $57.4 \pm 1.2\%$, respectively, for raw stalks and DF solid residues. However, from the methanization process start, the biogas production rate was higher for the DF residues, with 25% production achieved after 5 days, compared to 12 days for the raw stems. This trend was maintained until reaching 75% after 18 days for both substrates. From the first 7 days of methanization process, methane content was also higher for DF residues (46%) compared to that of raw stems (38%) (Fig. 5c and d), thus confirming the influence and the significant improvement of sorghum stem methanogenic potential due to the sorghum fiber degradation effect by the DF process bacterial consortium.

Fig. 5 Methanization kinetics and evolution of biogas composition as a function of hydraulic retention time. **a** Cumulative methane productions. **b** Methanogenic potentials. **c** Evolution of raw stem's CH₄ and CO₂ contents. **d** Evolution of CH₄ and CO₂ contents for DF solid residues



Biomass Energy Recovery Efficiency for Singles and Coupling Processes

Determination of initial calorific values was firstly carried out on shredded sorghum stalks before and after DF process. The calorific values were (17.15 ± 0.47) and (16.36 ± 0.25) MJ/kg, respectively, for the raw stems and solid residues from DF process. This sweet sorghum stalk energy potential is comparable to those of other LCBs such as almond shells (17.6 MJ/kg), rice straw (15.1 MJ/kg), and wheat straw (18.5 MJ/kg) [46]. Sorghum stalk energy recovery yield by single DF process was (7.07 ± 0.35) MJ/kg DM, *i.e.*, 41.22% of the stem energy potential (taking into account the calorific values of hydrogen (12.77 MJ/m^3 [7]), acetate (14.557 MJ/kg), and butyrate (24.8 MJ/kg) [8]). Anaerobic digestion of subsequent solid residues yields (13.21 ± 0.56) MJ/kg DM, *i.e.*, 80.75% of their energy potentials, whereas coupling process yields (16.91 ± 0.44) MJ/kg sorghum DM (Fig. 6). In addition, the raw stem energy recovery yield by single methanization was (10.01 ± 0.23) MJ/kg DM (considering methane's lower heating value at 35.89 MJ/m^3 [12]), *i.e.*, 58.37% of raw stem energy potential and 22.38% less compared to DF residues energy potential. These results show that the coupling process led to 98.6% biomass energy recovery yield, *i.e.*, respectively, 57.38 and 40.23% more compared to single raw stems DF and methanization processes. Single methanization led to a higher energy yield compared to the single DF. These results reveal that DF bacterial consortium efficiently pre-treated sorghum stalks, leading to significant increase in energy bioconversion yield after methanization of subsequent solid residues through a two-step coupling process.

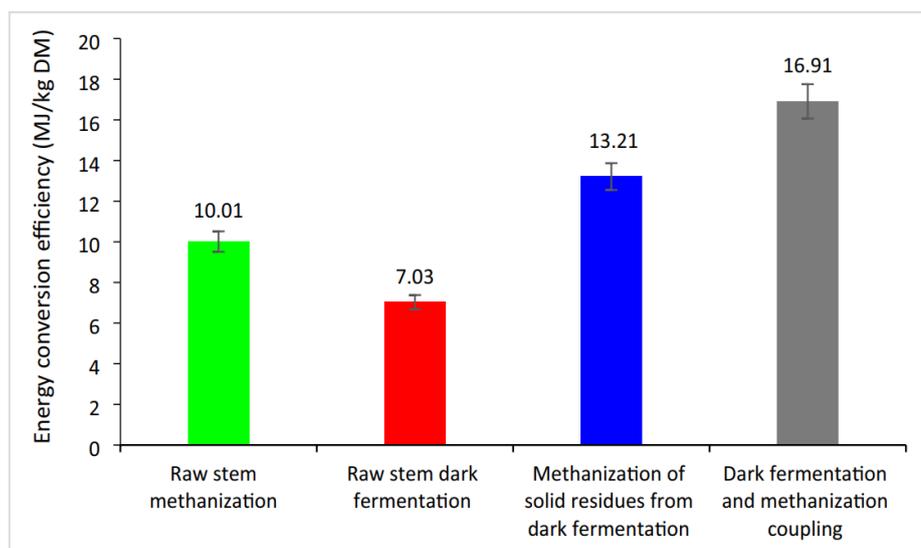
This investigated approach of whole sweet sorghum stem bioconversion process (without costly juice extraction or

harmful thermochemical pre-treatment steps) allows optimization of energy yield, cost-effectiveness, and environmental friendliness. These observations corroborate those of Hamadou et al. [12] who obtained an energy recovery yield of 77.63% from sweet sorghum stems through ethanol fermentation and anaerobic digestion coupling process. However, the approach proposed by the present study yields more compared to that of Antonopoulou et al. [34] who investigated hydrogen production from sweet sorghum juice extract followed by methane production from bagasse and subsequent DF effluents. They obtained a total energy recovery yield equivalent to 3.97 MJ/kg sweet sorghum.

Process Energy Balance

The net energy produced for DF and AD coupling process is the difference between the generated energy (contained in various produced gases and metabolites including H_2 , CH_4 , and VFAs) and the energy spent for the whole system operating conditions, including electrical energy for stirring, pumping, maintaining the reaction medium temperature, and heat loss to the environment. The net energy varies depending on the operating conditions, particularly the reactor size and the operational temperature. Ruggeri et al. [47] reported that the net energy resulted for DF process varied from 45 to 88% of the energy generated from the end products depending on working temperature (16, 20, and 30 °C), and the maximum percentage was obtained at 35 °C. The authors indicated that the energy spent for the process represented 21% of the total energy produced (2% for dispersion energy, 4% for electrical energy, and 15% for heating energy). However, according to Perera et al. [48], the net energy gain decreased with fermentation temperature and was negative when the operating temperature exceeded

Fig. 6 Biomass energy recovery efficiency for different bioconversion processes



30 °C. They recommended 25 °C as the optimal process temperature for positive net energy gain in DF process. Similarly, Ghimire et al. [49] found that the net energy varied from 40 to 90% of available energy for DF and AD coupling processes. In fact, coupling DF and AD processes as carried out in the present study was highly recommended by the authors mentioned above in order to significantly improve the net energy balance from the energy recovery of DF end-products and residues. Furthermore, the present study was carried out with the optimal process temperature (35 °C) as indicated by some authors, suggesting that would make it possible to obtain the net energy of 88 to 90% of the energy recovered from sorghum stem energy bioconversion. Based to this optimal percentage of generated energy (16.91 MJ/Kg sorghum DM, *i.e.*, 98.6% of the raw biomass energy potential) suggested in the literature, the net energy gain would vary from 14.88 to 15.22 MJ/kg sorghum DM, corresponding to 86.76–88.74% of the raw biomass energy potential.

Economic Analysis

Feedstock cost accounts for about 50% of the total cost of lignocellulosic biorefinery [50]. Dark fermentative biohydrogen production technology has the potential to become cost-effective and competitive because it can use low-value waste feedstock. LCB agricultural residues such as sorghum stalks tested in this study are non-food material, cheap, and abundant worldwide [49]. In Africa particularly, sorghum is cultivated mainly for seeds dedicated to human consumption; stems are often abandoned in the field in abundance. However, pre-treatment costs accounting for over 30% of the total operating costs [51] constitute a major challenge to be addressed. According to Soares et al. [52], dark fermentative biohydrogen cost projected to 2025 (5.65 \$/kg of biohydrogen) remains higher than that of natural gas (0.134 \$/kg) or steam methane reforming (1.0–2.0 \$/kg) despite the low cost of LCB feedstock. Several studies have experimented with various techniques to reduce LCB pre-treatment costs. For example, the combination of chemical–biological methods, in particular acid treatment followed by enzymatic hydrolysis, significantly improved the energy recovery efficiency [53]. However, using enzymes on a commercial scale is the main contributing factor to the high costs of pre-treatment [52]. Direct fermentation of crushed whole sorghum stem (without juice extraction step) proposed by this study made it possible to avoid costly and water and energy consuming juice extraction step. Furthermore, tested DF bacterial consortium led to an effective pre-treatment of stem solid fractions leading to significant improvement of their subsequent methanization yield (31.9% more compared to raw stems) while avoiding pre-treatment cost (30% of total operating cost). The two-stage biohydrogen and methane production coupling process tested by this study made it possible to

significantly improve the energy recovery yield and economic profitability of sorghum stalk energy bioconversion process.

Conclusion

Studied bacterial consortium demonstrated ability of performing combination of hydrogen and VFAs co-production from sorghum stem free sugars, as well as an efficient stems fibrous fraction pre-treatment. Direct fermentation of crushed whole stalks made it possible to avoid costly juice extraction step. Hydrogen and VFAs productions were correlated and increased proportionally with increasing stem biomass load. Methanogenic potential of DF solid residues was significantly increased by 31.9% compared to that of raw sorghum stalks, suggesting an effective DF bacterial consortium pre-treatment effect. Proposed approach significantly improved energy bioconversion yield with less biomass fractionation and pre-treatment steps, improving operating costs and economic profitability.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s12155-024-10724-9>.

Acknowledgements Authors would like to thank the “Centre Imagerie Cellulaire Santé (CICS), UCA PARTNER, 63000 Clermont-Ferrand” and “Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)—UMR 6296” for their collaboration on biomass FESEM scanning and X-ray diffraction analyses.

Author Contribution All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection, and analysis were performed by Bakari Hamadou, Christine Gardarin, Christelle Blavignac, Djomdi Djomdi, and Ruben Zieba Falama. The first draft of the manuscript was written by Bakari Hamadou, and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Hamadou Bakari’s research mobility was financially supported by the French government through its Eiffel excellence scholarship program (Campus France (D21–0000000051)).

Data Availability The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Competing Interests The authors declare no competing interests.

References

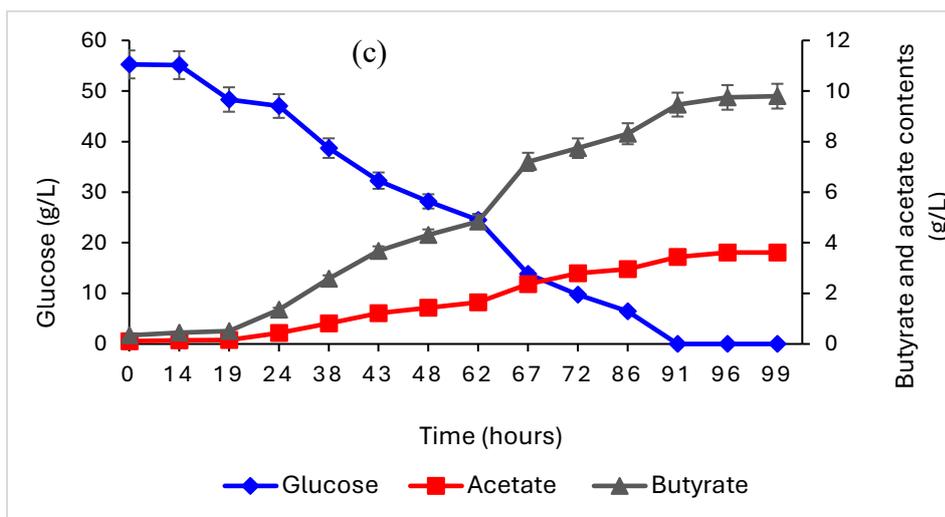
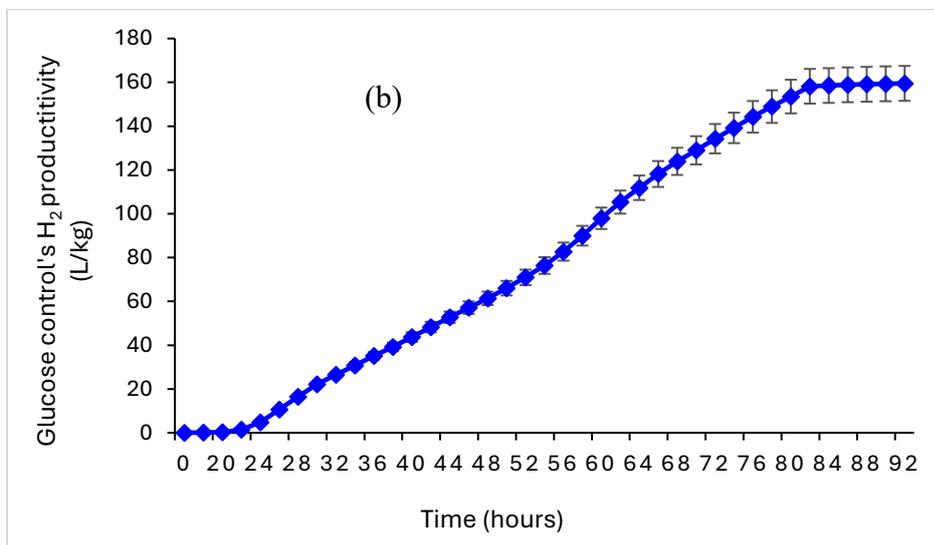
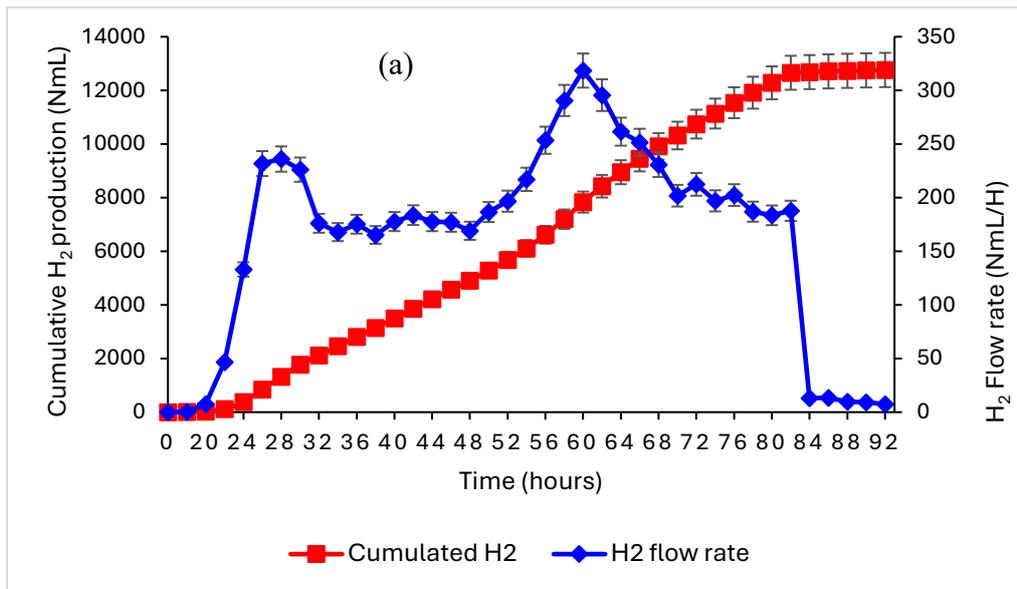
- Islam MS, Zhang Z, Qu S-B et al (2021) Coproduction of hydrogen and volatile fatty acids via integrated two-step fermentation of sweet sorghum stalks by alkaline and enzymatic treatment. *Biomass Bioenergy* 145:105923. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105923>

2. Chen J, Huang S, Kamran HW (2023) Empowering sustainability practices through energy transition for sustainable development goal 7: the role of energy patents and natural resources among European Union economies through advanced panel. *Energy Policy* 176:113499. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113499>
3. Agrawal R, Verma A, Singhania RR et al (2021) Current understanding of the inhibition factors and their mechanism of action for the lignocellulosic biomass hydrolysis. *Bioresour Technol* 332:125042. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125042>
4. Liu Z, Li H, Gao X et al (2022) Rational highly dispersed ruthenium for reductive catalytic fractionation of lignocellulose. *Nat Commun* 13:4716. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32451-5>
5. Basak B, Kumar R, Bharadwaj AVSLS et al (2023) Advances in physicochemical pretreatment strategies for lignocellulose biomass and their effectiveness in bioconversion for biofuel production. *Bioresour Technol* 369:128413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128413>
6. Sampath P, Brijesh RKR et al (2020) Biohydrogen production from organic waste – a review. *Chem Eng Technol* 43:1240–1248. <https://doi.org/10.1002/ceat.201900400>
7. Sillero L, Sganzerla WG, Forster-Carneiro T et al (2022) A bibliometric analysis of the hydrogen production from dark fermentation. *Int J Hydrog Energy* 47:27397–27420. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.06.083>
8. Fuess LT, Dos Santos GM, Delforno TP et al (2020) Biochemical butyrate production via dark fermentation as an energetically efficient alternative management approach for vinasse in sugarcane biorefineries. *Renew Energy* 158:3–12. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.063>
9. Parvathy Eswari A, Ravi YK, Kavitha S, Rajesh Banu J (2023) Recent insight into anaerobic digestion of lignocellulosic biomass for cost effective bioenergy generation. *E-Prime - Adv Electr Eng Electron Energy* 3:100119. <https://doi.org/10.1016/j.prime.2023.100119>
10. Awogbemi O, Kallon DVV (2022) Pretreatment techniques for agricultural waste. *Case Stud Chem Environ Eng* 6:100229. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100229>
11. Timofeeva SS, Karaeva JV, Kovalev AA et al (2023) Steam gasification of digestate after anaerobic digestion and dark fermentation of lignocellulosic biomass to produce syngas with high hydrogen content. *Int J Hydrog Energy* 48:7559–7568. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.11.260>
12. Hamadou B, Djomdi D, Zieba Falama R et al (2023) Optimization of energy recovery efficiency from sweet sorghum stems by ethanol and methane fermentation processes coupling. *Bioengineered* 14:228–244. <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2234135>
13. Tang W, Wu X, Huang C et al (2021) Natural surfactant-aided dilute sulfuric acid pretreatment of waste wheat straw to enhance enzymatic hydrolysis efficiency. *Bioresour Technol* 324:124651. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124651>
14. Haldar D, Purkait MK (2021) A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: mechanistic insight and advancements. *Chemosphere* 264:128523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128523>
15. Wong JL, Khadaroo SNBA, Cheng JLY et al (2023) Green solvent for lignocellulosic biomass pretreatment: an overview of the performance of low transition temperature mixtures for enhanced bio-conversion. *Mater* 1:100012. <https://doi.org/10.1016/j.nxmate.2023.100012>
16. Bakari H, Djomdi, Falama Ruben Z, et al (2023) Optimization of bioethanol production after enzymatic treatment of sweet sorghum stalks. *Waste Biomass Valorization* <https://doi.org/10.1007/s12649-022-02026-y>
17. Paramasivan S, Sankar S, Senthil Velavan R et al (2021) Assessing the potential of lignocellulosic energy crops as an alternative resource for bioethanol production using ultrasound assisted dilute acid pretreatment. *Mater Today Proc* 45:3279–3285. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.470>
18. Wang R, Wang K, Zhou M et al (2021) Efficient fractionation of moso bamboo by synergistic hydrothermal-deep eutectic solvents pretreatment. *Bioresour Technol* 328:124873. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124873>
19. Ling R, Wu W, Yuan Y et al (2021) Investigation of choline chloride-formic acid pretreatment and Tween 80 to enhance sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis. *Bioresour Technol* 326:124748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124748>
20. Li W, Shen Y, Liu H et al (2023) Bioconversion of lignocellulosic biomass into bacterial nanocellulose: challenges and perspectives. *Green Chem Eng* 4:160–172. <https://doi.org/10.1016/j.gce.2022.04.007>
21. Noblecourt A, Christophe G, Larroche C et al (2017) High hydrogen production rate in a submerged membrane anaerobic bioreactor. *Int J Hydrog Energy* 42:24656–24666. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.08.037>
22. Ribeiro T, Cresson R, Pommier S et al (2020) Measurement of biochemical methane potential of heterogeneous solid substrates: results of a two-phase French inter-laboratory study. *Water* 12:2814. <https://doi.org/10.3390/w12102814>
23. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK et al (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28:350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
24. Latimer GW (2023) Official methods of analysis of AOAC International, 22nd ed. Oxford University Press New York. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001>
25. Soest PJV (1963) Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A Rapid Method for the Determination of Fiber and Lignin. *J AOAC Int* 46:829–835. <https://doi.org/10.1093/jaoac/46.5.829>
26. Segal L, Creely JJ, Martin AE, Conrad CM (1959) An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the x-ray diffractometer. *Text Res J* 29:786–794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
27. Feng Y (2022) Effects of different concentrations of sorghum straw on hydrogen production by oscillating photosynthetic organisms. In *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC. Xi'an, China, 2474:020020. <https://doi.org/10.1063/5.0079072>
28. Ntaikou I, Gavala HN, Kornaros M, Lyberatos G (2008) Hydrogen production from sugars and sweet sorghum biomass using *Ruminococcus albus*. *Int J Hydrog Energy* 33:1153–1163. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.10.053>
29. Noblecourt A, Christophe G, Larroche C, Fontanille P (2018) Hydrogen production by dark fermentation from pre-fermented de-packaging food wastes. *Bioresour Technol* 247:864–870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.199>
30. Antonopoulou G, Gavala HN, Skiadas IV, Lyberatos G (2010) Influence of pH on fermentative hydrogen production from sweet sorghum extract. *Int J Hydrog Energy* 35:1921–1928. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.12.175>
31. Panagiotopoulos IA, Bakker RR, De Vrije T et al (2010) Pretreatment of sweet sorghum bagasse for hydrogen production by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Int J Hydrog Energy* 35:7738–7747. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.05.075>
32. Wu Q, Bao X, Guo W et al (2019) Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: current advances and perspectives. *Biotechnol Adv* 37:599–615. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.003>
33. Fontanille P, Kumar V, Christophe G et al (2012) Bioconversion of volatile fatty acids into lipids by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Bioresour Technol* 114:443–449. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.091>
34. Antonopoulou G, Gavala HN, Skiadas IV et al (2008) Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresour*

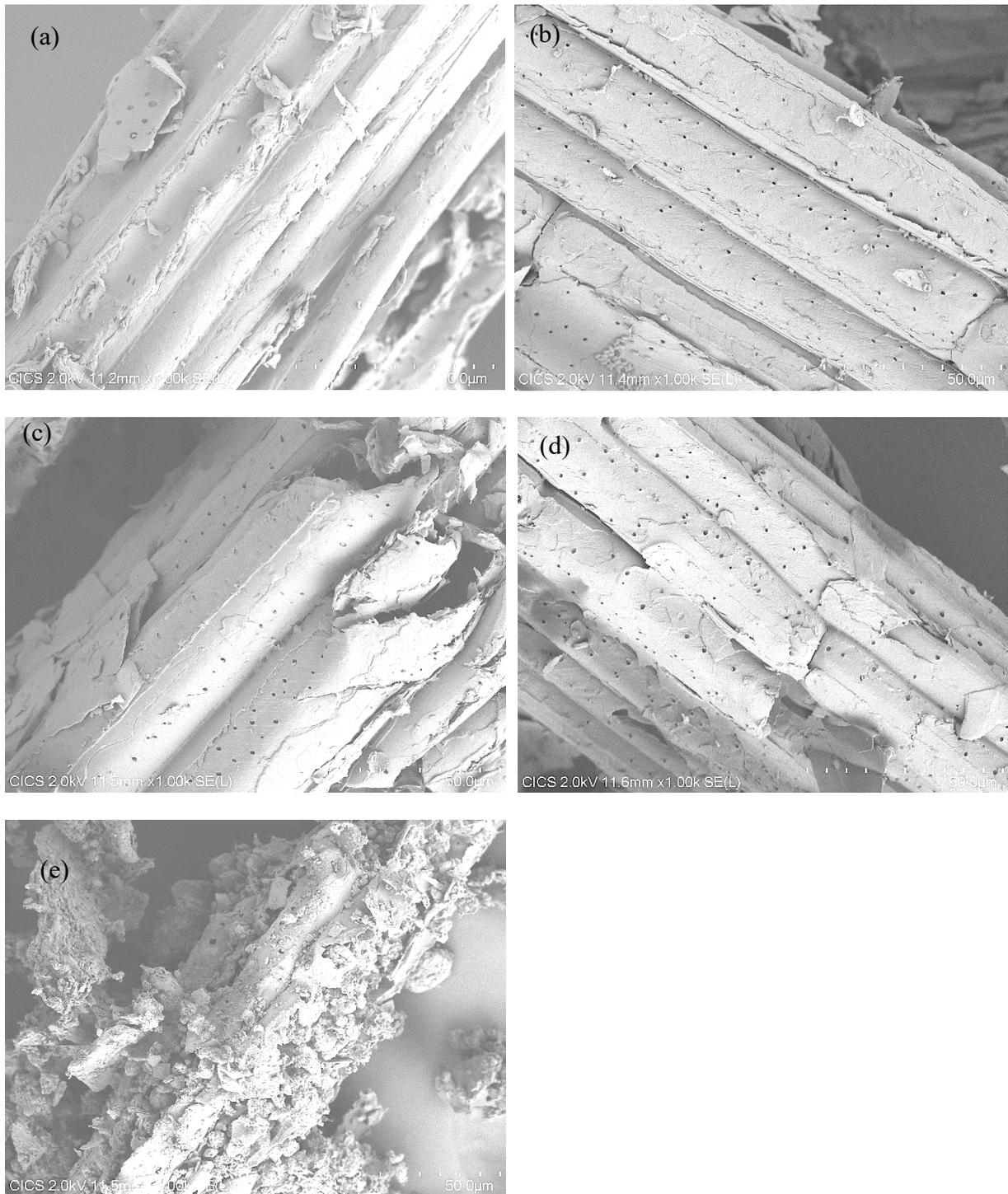
- Technol 99:110–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.048>
35. Nurika I, Shabrina EN, Azizah N et al (2022) Application of ligninolytic bacteria to the enhancement of lignocellulose breakdown and methane production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). *Bioresour Technol Rep* 17:100951. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100951>
 36. Tsegaye B, Balomajumder C, Roy P (2018) Biodegradation of wheat straw by *Ochrobactrum oryzae* BMP03 and *Bacillus* sp. BMP01 bacteria to enhance biofuel production by increasing total reducing sugars yield. *Environ Sci Pollut Res* 25:30585–30596. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3056-1>
 37. Singh JK, Chaurasia B, Dubey A et al (2020) Biological characterization and instrumental analytical comparison of two biorefining pretreatments for water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) biomass hydrolysis. *Sustainability* 13:245. <https://doi.org/10.3390/su13010245>
 38. Tang Z, Wu C, Tang W et al (2023) Enhancing enzymatic saccharification of sunflower straw through optimal tartaric acid hydrothermal pretreatment. *Bioresour Technol* 385:129279. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129279>
 39. Jamaltheen SB, Sharma K, Rani A et al (2018) Comparative analysis of pretreatment methods on sorghum (*Sorghum durra*) stalk agrowaste for holocellulose content. *Prep Biochem Biotechnol* 48:457–464. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1466148>
 40. Nlandu H, Belkacemi K, Chorfa N et al (2020) Flax nanofibrils production via supercritical carbon dioxide pre-treatment and enzymatic hydrolysis. *Can J Chem Eng* 98:84–95. <https://doi.org/10.1002/cjce.23596>
 41. Narayanaswamy N, Faik A, Goetz DJ, Gu T (2011) Supercritical carbon dioxide pretreatment of corn stover and switchgrass for lignocellulosic ethanol production. *Bioresour Technol* 102:6995–7000. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.052>
 42. Zheng Y, Lin H-M, Tsao GT (1998) Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnol Prog* 14:890–896. <https://doi.org/10.1021/bp980087g>
 43. Głab L, Sowiński J, Chmielewska J et al (2019) Comparison of the energy efficiency of methane and ethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) with a variety of feedstock management technologies. *Biomass Bioenergy* 129:105332. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105332>
 44. Herrmann C, Heiermann M, Idler C (2011) Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresour Technol* 102:5153–5161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.012>
 45. Ostovareh S, Karimi K, Zamani A (2015) Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. *Ind Crops Prod* 66:170–177. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.023>
 46. Brown RC, Brown TR (2014) *Biorenewable resources: engineering new products from agriculture*. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, NJ, USA. <https://doi.org/10.1002/9781118524985>
 47. Ruggeri B, Tommasi T, Sassi G (2010) Energy balance of dark anaerobic fermentation as a tool for sustainability analysis. *Int J Hydrog Energy* 35:10202–10211. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.08.014>
 48. Perera KRJ, Ketheesan B, Gadhamshetty V, Nirmalakhandan N (2010) Fermentative biohydrogen production: Evaluation of net energy gain. *Int J Hydrog Energy* 35:12224–12233. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.08.037>
 49. Ghimire A, Frunzo L, Pirozzi F et al (2015) A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. *Appl Energy* 144:73–95. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.01.045>
 50. Singh N, Singhanian RR, Nigam PS et al (2022) Global status of lignocellulosic biorefinery: challenges and perspectives. *Bioresour Technol* 344:126415. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126415>
 51. Yang E, Chon K, Kim K-Y et al (2023) Pretreatments of lignocellulosic and algal biomasses for sustainable biohydrogen production: recent progress, carbon neutrality, and circular economy. *Bioresour Technol* 369:128380. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128380>
 52. Soares JF, Confortin TC, Todero I et al (2020) Dark fermentative biohydrogen production from lignocellulosic biomass: technological challenges and future prospects. *Renew Sustain Energy Rev* 117:109484. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109484>
 53. Rorke D, Gueguim Kana EB (2016) Biohydrogen process development on waste sorghum (*Sorghum bicolor*) leaves: optimization of saccharification, hydrogen production and preliminary scale up. *Int J Hydrog Energy* 41:12941–12952. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.112>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

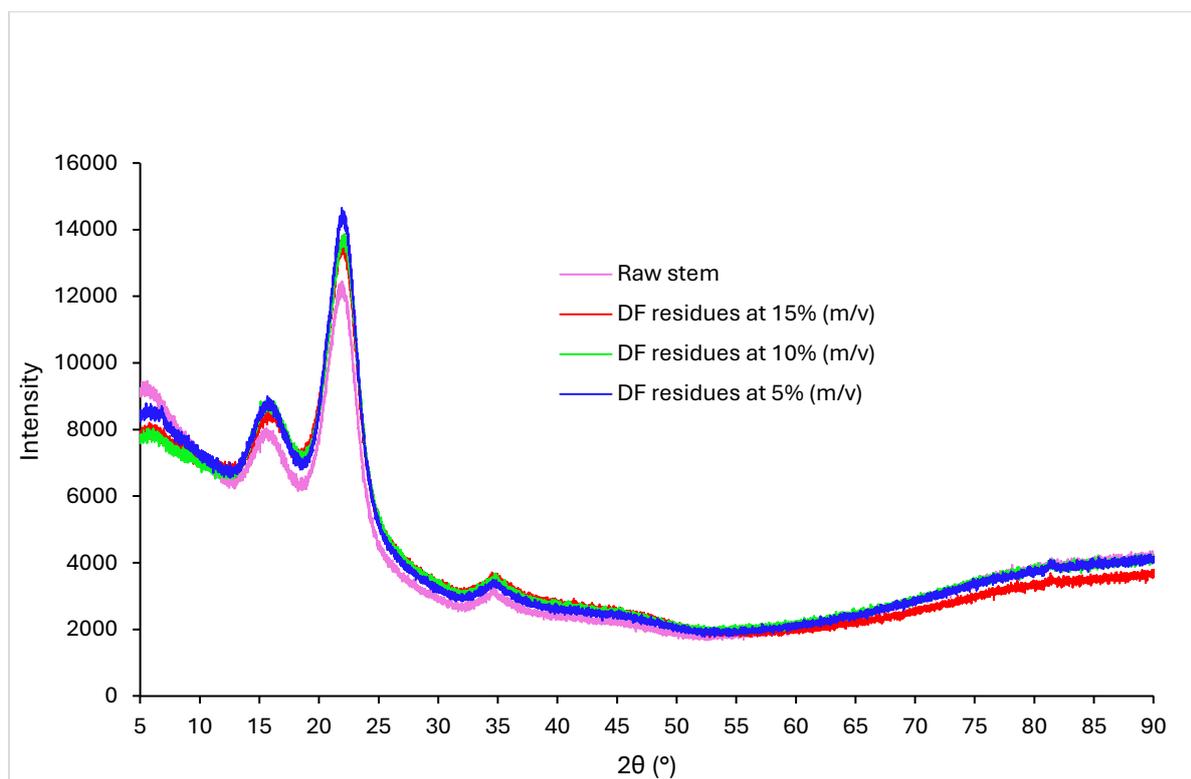
Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.



Supplementary Fig. 1 Kinetics of hydrogen production for glucose control: (a) cumulative hydrogen production and flow rate; (b) hydrogen productivity; and (c) VFAs production



Supplementary Fig. 2 Most recalcitrant fiber fractions (stems bark) FESEM images for raw stem fibers (a); DF solid residues at different stem biomass loadings: (b) 5% w/v; (c) 10% w/v; and (d) 15% w/v biomass; and solid residues from methanization process (e)



Supplementary Fig. 3 X-ray analysis diffractogram for different biomass fractions

3.3. Discussion

La coproduction d'hydrogène, d'acides gras volatils et de méthane à partir de tiges de sorgho sucré en utilisant un consortium bactérien a été étudiée comme stratégie de prétraitement efficace et durable pour l'optimisation de leur bioconversion énergétique. Ce couplage des procédés fermentaires (fermentation sombre – méthanisation) visait d'une part à réduire les étapes de fractionnement et de prétraitement et d'autre part à améliorer la performance et la rentabilité des procédés de bioconversion énergétique des tiges.

Les rendements de production d'hydrogène étaient de 126,66 ; 123,03 et 124,09 LH₂/kg MS de tiges de sorgho, respectivement, pour 5, 10 et 15% (m/v) de biomasse. Ces rendements sont comparables à ceux rapportés par [Zhang *et al.* \(2020\)](#) (168,9 LH₂/kg) avec l'hydrolysate de tige de maïs prétraité avec une solution de Ca(OH)₂ et [Medina-Morales *et al.* \(2021\)](#) (134,7 LH₂/kg) avec l'hydrolysate d'épis de maïs prétraités par procédé thermochimique (H₂SO₄ 2%, 160°C). Cependant, ils sont inférieurs à ceux obtenus par [Shanmugam *et al.* \(2018\)](#) (402,01 LH₂/kg) après la photo-fermentation de l'hydrolysate issu de la saccharification enzymatique de tige de sorgho sucré, [Mirza *et al.* \(2019\)](#) (513 LH₂/kg) après la photo-fermentation de l'hydrolysate de bagasse de canne à sucre ou encore [Zhang *et al.* \(2020\)](#) (357,6 LH₂/kg) après la photo-fermentation de l'hydrolysate de tige de maïs et (424,3 LH₂/kg) par couplage des procédés fermentation sombre/photo-fermentation avec ce même substrat. La productivité des acides gras volatils totaux (butyrate et acétate) était de 251,24 ; 240,85 et 247,87 g_{AGVs}/kg MS de tiges de sorgho, respectivement pour 5, 10 et 15% (m/v) de biomasse. Les concentrations maximales en acides gras volatils totaux étaient de 11,82 ; 19,23 ; et 29,77 g_{AGVs}/L, respectivement pour 5, 10 et 15% (m/v) de biomasse. Ces résultats montrent que des fortes concentrations en biomasse n'étaient ni facteur limitant, ni inhibiteur pour la production d'hydrogène et d'acides gras volatils. La production d'hydrogène et d'acides gras volatils augmentait en effet proportionnellement avec la charge en biomasse. Ce résultat corrobore les observations rapportées par [Noblecourt *et al.* \(2018\)](#) après avoir utilisé le même consortium bactérien pour la production d'hydrogène à partir des déchets alimentaires. Ce sont également les mêmes conclusions auxquelles sont arrivés [Ntaikou *et al.* \(2008\)](#) en utilisant des cultures pures de *Ruminococcus albus* pour la production d'hydrogène à partir de tiges de sorgho sucré ou encore [Feng \(2022\)](#) avec des organismes photosynthétiques.

Dans les conditions expérimentales de cette étude, les tiges de sorgho présentaient une meilleure productivité (vitesse et débit de production) par rapport au témoin glucose. Par ailleurs, aucun effet d'inhibition de la quantité d'hydrogène produit et de sa vitesse de production n'ont été

observés avant épuisement des sucres, malgré de fortes concentrations en acides gras volatiles totaux produits dans le milieu de culture. Ces résultats sont contraires aux observations rapportées par [Noblecourt *et al.* \(2017\)](#) qui ont utilisé le même consortium bactérien et ont indiqué que l'accumulation des acides gras volatils au-delà de 12,5 g/L entraînait une forte diminution de la production d'hydrogène. Cette adaptabilité et résilience du consortium bactérien étudié à des teneurs élevées d'acides gras volatils est un atout majeur permettant d'effectuer une coproduction efficace d'hydrogène et d'acides gras volatils afin de rentabiliser davantage le procédé. Ces résultats ouvrent une importante piste de recherche pour mieux comprendre le phénomène d'inhibition de la production d'hydrogène lié à de forte concentration en acides gras volatils. De ce fait, la détermination de liens potentiels entre la composition élémentaire des tiges de sorgho, les mécanismes réactionnels et les causes de la neutralisation du phénomène d'inhibition lié à l'accumulation d'acides gras volatils pourrait s'avérer pertinente. La détermination des causes de ce phénomène impactera significativement le procédé de production d'hydrogène par voie fermentaire sombre.

L'observation microscopique (**Fig. 4** et **Supplementary Fig. 2**) de la texture des fibres résiduelles a révélé une forte destruction morphologique marquée par une augmentation significative de la porosité (0,96 à 1,39 μm de diamètre) et la présence de fissures, comparé à celle des fibres brutes. Cette dégradation bactérienne des fibres résiduelles a exposé certaines parties internes et constitue un moyen de prétraitement efficace pour l'amélioration de leur bioconversion par méthanisation. Une augmentation significative de l'indice de cristallinité (51,4%) a été également observée pour les fractions fibreuses résiduelles comparativement aux fibres brutes. Cela pourrait s'expliquer par la dégradation bactérienne de la couverture complexe lignine-hémicellulose ayant conduit à l'exposition de la fraction cellulosique cristalline des fibres conformément aux observations rapportées par certains auteurs ([Jamaldheen *et al.*, 2018](#) ; [Nlandu *et al.*, 2020](#) ; [Tang *et al.*, 2023](#)). Cette dégradation morphologique de texture a entraîné une amélioration significative du potentiel méthanogène de ces fibres résiduelles. Les potentiels méthanogènes étaient de (279 ± 10) et (368 ± 20) $\text{L}_{\text{CH}_4}/\text{kg}$ de biomasse, respectivement pour les tiges brutes et les résidus de fermentation sombre, soit une augmentation de 31,9%. Une observation similaire a également été rapportée par [Mosquera-Toscano *et al.* \(2023\)](#) avec la fraction organique des déchets solides municipaux. Ces auteurs ont observé une augmentation du potentiel méthanogène de (329 ± 5) à (464 ± 2) $\text{L}_{\text{CH}_4}/\text{kg}_{\text{VS}}$ respectivement pour les fractions des déchets brutes et les résidus de fermentation. Les pouvoirs calorifiques étaient de $(17,15 \pm 0,47)$ et $(16,36 \pm 0,25)$ MJ/kg , respectivement

pour les tiges brutes et les résidus de la fermentation sombre. Le rendement de bioconversion énergétique des tiges brutes par fermentation sombre était de 7,07 MJ/kg MS, soit 41,22% du potentiel énergétique initial. La méthanisation des résidus solides a permis d'obtenir un rendement de 13,21 MJ/kg MS, soit une augmentation de 31,96% par rapport à la méthanisation des tiges brutes (10,01 MJ/kg MS). Un rendement de 16,91 MJ/kg MS a été atteint par couplage des procédés fermentaires (fermentation sombre – méthanisation). Ce qui représente un taux de récupération énergétique net de 88,74%, soit respectivement 57,38% et 40,23% de plus que les procédés de fermentation et méthanisation simples. Au-delà de la production d'hydrogène et d'acides gras volatils, ces résultats montrent que le consortium bactérien a efficacement prétraité les fibres de tiges, conduisant à une augmentation considérable du rendement de bioconversion énergétique après leur méthanisation. Cette approche (couplage fermentation sombre – méthanisation) présente une meilleure performance énergétique (88,74% nette) par rapport au procédé de couplage fermentation alcoolique – méthanisation (77,63%) étudié précédemment.

La production de biohydrogène par procédé de fermentation sombre des tiges de sorgho sucré est l'une des voies de bioconversion innovantes et prometteuses potentiellement compétitives et durables en raison de l'abondance et des faibles coûts de cette biomasse. L'utilisation du consortium bactérien proposé par cette étude a permis d'obtenir une coproduction d'hydrogène et d'acide gras volatils couplée à un prétraitement efficace et rentable des fibres en vue de leur méthanisation. Une amélioration significative du rendement de méthanisation avec 31,9% de taux d'augmentation du potentiel méthanogène a été obtenue par cette approche tout en évitant les coûts de prétraitement. Ce type de bioconversion a permis d'optimiser la performance énergétique et la rentabilité économique du procédé. Toutefois, il serait également pertinent de valoriser ces acides gras volatils sous forme d'autres produits à haute valeur ajoutée afin de rentabiliser davantage la conversion énergétique de cette biomasse. Les acides gras volatils se positionnent comme une matière première originale pour la production d'acides carboxyliques à chaîne moyenne par réaction d'élongation de chaîne (Wu *et al.*, 2019). La valorisation des acides gras volatils pour la production de biolipides par des levures oléagineuses à l'instar de *Yarrowia lipolytica*, *Cryptococcus curvatus*, a été également identifiée comme un moyen efficace de leur bioconversion (Fontanille *et al.*, 2012 ; Béligon *et al.*, 2015).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Le contexte actuel marqué par la diminution des ressources fossiles, l'inquiétude vis à vis du réchauffement climatique et la sécurité énergétique, impose de trouver des sources d'énergies alternatives. Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet de valorisation énergétique des tiges de sorgho sucré, un sous-produit agricole fortement présent à travers tous les continents du monde, et particulièrement dans la zone soudano-sahélienne d'Afrique. Ces tiges, composées des sucres fermentescibles et des sucres structuraux constituent d'importantes sources d'énergie alternative avec un avantage technologique particulièrement intéressant. Ce travail a permis la production de vecteurs énergétiques tels que le bioéthanol, le biohydrogène et le biométhane par bioconversion selon différents schémas de procédés. L'objectif était de contribuer à l'optimisation de la performance, de l'efficacité et de la rentabilité des procédés de bioconversion énergétique.

La caractérisation physico-chimique des tiges de sorgho sucré étudiées (31,74% de MS) a révélé la présence de fibres (63,50%), d'hémicelluloses (16,96%), de celluloses (18,25%) et de lignines (28,60%). Les teneurs en sucres totaux, solubles et réducteurs étaient respectivement de 731,69 ; 538,22 et 377,68 g/kg MS. Les sucres hydrosolubles étaient composés de saccharose (79,29 g/kg MS), glucose (199,22 g/kg MS) et fructose (196,08 g/kg MS). L'hydrolyse acide de la fraction lignocellulosique des tiges a révélé que les sucres structuraux non hydrosolubles étaient composés principalement de xylose (142,64 g/kg MS), glucose (103,61 g/kg MS), arabinose (17,32 g/kg MS) et de quelques traces de galactose (5,17 g/kg MS). Le pouvoir calorifique des tiges brutes était de 17144,17 kJ/kg MS. La teneur en composés phénoliques totaux était de 5,2 g/kg MS. Cette composition biochimique des tiges, très adaptée à divers procédés de bioconversion énergétique par voies fermentaires, a suscité l'intérêt et la nécessité d'explorer et de définir la voie la plus efficace et rentable. Différents schémas de procédé de bioconversion ayant conduit à une coproduction de plusieurs vecteurs énergétiques ont été développés séparément et/ou en association.

Les essais préliminaires de fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae* effectués sur différentes fractions de tiges (broyat des tiges entières, broyat de moelle et extrait du jus) ont montré que la présence des particules fibreuses dans le milieu réactionnel n'impacte pas le rendement de fermentation. Aucune différence notable n'a été observée entre les rendements de fermentation des différentes fractions testées (0,45 ; 0,50 et 0,49 g Eth/g de sucres consommés, respectivement pour le jus, la moelle et la tige entière). Ce résultat montre qu'il est possible

d'éviter l'étape d'extraction et de co-fermenter les sucres libres et les sucres structuraux afin d'obtenir de meilleures performances. Des meilleurs rendements de bioconversion ont été également obtenus avec les broyats des tiges entières (184,87 g Eth/kg MS) comparés au jus (165,44 g Eth/kg MS). Ces résultats montrent que la fermentation directe de broyats de tiges entières permet d'éliminer l'étape d'extraction du jus, très consommatrice d'eau et d'énergie et d'améliorer ainsi la performance, l'efficacité et la rentabilité de procédé de bioconversion énergétique. Par ailleurs, une étape d'hydrolyse enzymatique (Viscozyme L) appliquée aux broyats des tiges entières avant l'étape de fermentation, a permis d'obtenir une augmentation significative (27,50%) des rendements de bioconversion énergétique. Les rendements de bioconversion étaient de 212,01 et 270,32 g Eth/kg MS respectivement pour les fractions de tiges entières avant et après prétraitement. Ces rendements ont été obtenus après 24 heures d'hydrolyse avec le Viscozyme à 45 FBGU/g MS de charge enzymatique et 10% (m/v) de charge en biomasse. Certes ces conditions ont permis d'obtenir des meilleurs rendements de saccharification, cependant l'utilisation de *S. cerevisiae* ne permet pas de fermenter des pentoses à l'instar de xylose qui est l'un des sucres majoritaires issus de l'hydrolyse de la fraction hemicellulosiques des tiges. Une autre amélioration est envisageable notamment par l'utilisation d'une culture mixte entre *S. cerevisiae* et *Z. mobilis*, ou d'autres souches (*Pachysolen tannophilus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *S. tanninophilus*, etc.), afin de fermenter la totalité des sucres de l'hydrolysate et optimiser le rendement de bioconversion en éthanol.

L'hydrolyse enzymatique expérimentée dans le cadre de cette étude a démontré son efficacité de prétraitement à l'échelle du laboratoire, toutefois les coûts des enzymes seraient les principaux facteurs limitants pour son implémentation à l'échelle industrielle. Une autre approche par couplage des procédés fermentaires (fermentation alcoolique – méthanisation) visant à éviter ces coûts de prétraitement tout en optimisant l'efficacité de bioconversion énergétique a été expérimentée. La fermentation directe de broyats de tiges entières a été couplée à la méthanisation des résidus solides afin d'augmenter le rendement global de bioconversion énergétique et la rentabilité du procédé. Le rendement de bioconversion des tiges par procédé de fermentation alcoolique simple, était de 261,18 g Eth/kg MS, correspondant à un rendement énergétique de 6921,27 kJ/kg MS, soit 40,37% du potentiel énergétique initial des tiges brutes. Les potentiels méthanogènes étaient de 279 ± 10 et 256 ± 20 L_{CH₄}/kg de biomasse respectivement pour les broyats des tiges brutes et les résidus de la fermentation, ce qui correspond respectivement à des rendements énergétiques de 10013,31 et 9187,84 kJ/kg de

tiges. Ces rendements correspondent respectivement à 58,40%, et 50,71% des teneurs énergétiques initiales des biomasses. Le couplage des procédés fermentation – méthanisation a permis d'atteindre 13309,57 kJ/kg MS, soit 77,63% du potentiel énergétique des tiges brutes, contre 40,37% et 58,40% respectivement pour les procédés de fermentation et méthanisation simples. Cette approche a significativement amélioré le rendement de bioconversion énergétique en évitant des coûts liés à des opérations de prétraitement. Toutefois, la valorisation des métabolites secondaires liquides particulièrement les acides organiques issus de procédé de fermentation alcoolique constitue également un moyen prometteur pour l'optimisation de rendement global de bioconversion suivant cette approche étudiée.

La fermentation sombre de broyats de tiges entières en utilisant un consortium bactérien (majoritairement constitué de *Clostridium sp.*) a été également développée comme stratégie de prétraitement pour l'optimisation de la méthanisation des fractions fibreuses. L'approche visait à capitaliser la capacité hydrolytique du consortium bactérien pour une coproduction optimale d'hydrogène et d'acides gras volatils à partir des sucres libres, couplée à un prétraitement efficace et économique de la fraction lignocellulosique. La fermentation sombre a été couplée à la méthanisation des résidus solides afin d'optimiser les performances et la rentabilité de procédé de bioconversion des tiges via une coproduction de vecteurs énergétiques (H_2 et CH_4). Les rendements maximums de production d'hydrogène (124,09 LH_2/kg MS de tiges) et d'acides gras volatils (247,87 g_{AGVs}/kg MS) ont été obtenus à 15% (m/v) de charge en biomasse pour laquelle une concentration maximale (29,77 g_{AGVs}/L) en acides gras volatils a été atteinte. Aucun phénomène d'inhibition de la production d'hydrogène ni de diminution de la vitesse de production n'ont été observés avant épuisement des sucres, malgré ces fortes concentrations en acides gras volatiles dans le milieu réactionnel. Ce résultat est en contradiction avec d'autres études qui ont rapporté que l'accumulation d'acides gras volatiles au-delà de 12,5 g/L entraînait un phénomène d'inhibition de la production d'hydrogène. De ce fait, la détermination de liens potentiels entre la composition élémentaire des tiges de sorgho et les causes de la neutralisation du phénomène d'inhibition lié à l'accumulation d'acides gras volatils pourrait s'avérer de première importance. Au-delà de cette coproduction efficace d'hydrogène et d'acides gras volatils, les résultats montrent que le consortium bactérien a efficacement prétraité les fibres des tiges ce qui a entraîné une amélioration significative de leur potentiel méthanogène. Les potentiels méthanogènes étaient de (279 ± 10) et (368 ± 20) L_{CH_4}/kg de biomasse, respectivement pour les tiges brutes et les résidus de fermentation sombre, soit une augmentation de 31,9%. Le rendement de bioconversion énergétique des tiges brutes par

procédé de fermentation sombre uniquement était de 7,07 MJ/kg MS, soit 41,22% du potentiel énergétique initial. Le couplage des procédés fermentaires (fermentation sombre – méthanisation) a permis d'atteindre un rendement de 16,91 MJ/kg MS ce qui représente un taux de récupération énergétique net de 88,74% soit respectivement 57,38% et 40,23% de gain par rapport aux procédés de fermentation et méthanisation simples. Ce couplage (fermentation sombre – méthanisation) présente une meilleure performance énergétique (88,74% nette) comparé au couplage des procédés fermentation alcoolique – méthanisation (77,63%). En plus de l'optimisation des performances énergétiques, cette approche a permis d'éliminer l'étape de prétraitement et donc de diminuer les coûts opérationnels et la rentabilité économique du procédé de bioconversion énergétique. La coproduction d'importantes quantités d'acides gras volatils, ouvre également une autre piste d'optimisation des performances et de rentabilité de la bioconversion. La valorisation des acides gras volatils pour la production de nouvelles biomolécules à haute teneur énergétique à l'instar de la production de biolipides par des levures oléagineuses, ou la production d'acides carboxyliques à chaîne moyenne par réaction d'élongation de chaînes, ont été identifiées comme des techniques innovantes et prometteuses.

Cette étude montre que les tiges de sorgho sucré constituent une source viable et durable de matière première pour la coproduction des vecteurs énergétiques dont l'implémentation à l'échelle industrielle pourrait apporter une contribution significative pour relever les défis actuels de transition énergétique. Toutes les voies étudiées ont contribué à l'amélioration significative des performances et rentabilité du procédé de bioconversion des tiges. Toutefois, avant l'implémentation industrielle, une étude technico-économique approfondie de l'ensemble de la chaîne de valeur s'avère nécessaire pour déterminer la voie la plus rentable, économiquement, soutenable et durable et écologiquement viable. Par ailleurs, de par la composition physico-chimique et biochimique des tiges, il est envisageable d'étudier la bioconversion directe des tiges brutes en biolipides par des levures oléagineuses (*Yarrowia lipolytica*, *Cryptococcus curvatus*, etc.) ou une conversion thermochimique par pyrolyse.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abubakar, M., Doma, U.D., Kalla, D.J.U., Ngele, M.B., Augustine, C.L.D., 2006. Effects of dietary replacement of maize with malted and unmalted sorghum on performance of weaner rabbits. *Livest. Res. Rur. Dev.* 18, 65.
- Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O., 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry* 152, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Adebiyi, A.O., Adebiyi, A.P., Olaniyi, E.O., 2005. Nutritional composition of Sorghum bicolor starch hydrolysed with amylase from *Rhizopus* sp. *Afr. J. Biotechnol.* 4, 1089–1094.
- Adebo, O.A., 2020. African Sorghum-Based Fermented Foods: Past, Current and Future Prospects. *Nutrients* 12, 1111. <https://doi.org/10.3390/nu12041111>
- Agbor, V.B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., Levin, D.B., 2011. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances* 29, 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
- Agrawal, R., Verma, A., Singhanian, R.R., Varjani, S., Di Dong, C., Kumar Patel, A., 2021. Current understanding of the inhibition factors and their mechanism of action for the lignocellulosic biomass hydrolysis. *Bioresource Technology* 332, 125042. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125042>
- Ajayan, P.M., Zhou, O.Z., 2001. Applications of Carbon Nanotubes, in: Dresselhaus, M.S., Dresselhaus, G., Avouris, P. (Eds.), *Carbon Nanotubes, Topics in Applied Physics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 391–425. https://doi.org/10.1007/3-540-39947-X_14
- Akobi, C., Yeo, H., Hafez, H., Nakhla, G., 2016. Single-stage and two-stage anaerobic digestion of extruded lignocellulosic biomass. *Applied Energy* 184, 548–559. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.10.039>
- Akter, S., Zabed, H.M., Sahu, J.N., Chowdhury, F.I., Faruq, G., Boyce, A.N., Qi, X., 2020. Bioethanol production from water-soluble and structural carbohydrates of normal and high sugary corn stovers harvested at three growth stages. *Energy Conversion and Management* 221, 113104. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113104>
- Alayoubi, R., 2019. Production de bioéthanol à partir d'hydrolysats enzymatiques de substrats (ligno)cellulosiques prétraités par des liquides ioniques. (Thèse de doctorat. Sciences agricoles). Université de Picardie Jules Verne ; Université libanaise, France, p. 315.
- Aljerf, L., 2015. Fabrication et test d'un catalyseur d'acide sulfonique approprié pour la réaction de production des biocarburants. *Afrique Sci.* 11, 349–358.

- Almodares, A., Hadi, M.R., 2009. Production of bioethanol from sweet sorghum: a review. *African journal of agricultural research*. 4, 772–780.
- Al-Salihi, Z.A., Kamel, A.H., Abdulhameed, I.M., 2024. Effect of climate changes on water resources in Iraq: A review study. Presented at the 2ND INTERNATIONAL CONFERENCE FOR ENGINEERING SCIENCES AND INFORMATION TECHNOLOGY (ESIT 2022): ESIT2022 Conference Proceedings, Al Anbar, Iraq, p. 030079. <https://doi.org/10.1063/5.0190474>
- Althwab, S., Carr, T.P., Weller, C.L., Dweikat, I.M., Schlegel, V., 2015. Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system. *Food Research International* 77, 349–359. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.011>
- Amaducci, S., Colauzzi, M., Battini, F., Fracasso, A., Perego, A., 2016. Effect of irrigation and nitrogen fertilization on the production of biogas from maize and sorghum in a water limited environment. *European Journal of Agronomy* 76, 54–65. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.01.019>
- Ameen, A., Yang, X., Chen, F., Tang, C., Du, F., Fahad, S., Xie, G.H., 2017. Biomass Yield and Nutrient Uptake of Energy Sorghum in Response to Nitrogen Fertilizer Rate on Marginal Land in a Semi-Arid Region. *Bioenerg. Res.* 10, 363–376. <https://doi.org/10.1007/s12155-016-9804-5>
- Amélia, D.P.B., 2012. Rendement en biomasse et en sucres et valeur nutritive du millet perlé sucré et du sorgho sucré en fonction de la date de récolte et du délai entre le hachage et le pressage du fourrage. (Mémoire. Maîtrise en biologie végétale). Université Laval, Québec. p. 114.
- Amer, S.M.M., 2011. Evaluation of high water soluble carbohydrates annual forages for dairy cattle. (Master of Science). McGill University, Montreal, Quebec, Canada. pp. 32–87.
- Amin, S., 2009. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Conversion and Management* 50, 1834–1840. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2009.03.001>
- Ansoumane, D., 2017. Etude hydrodynamique et valorisation énergétique par transformation thermochimique de déchets de biomasse pour l'alimentation d'une briqueterie. (Thèse de doctorat. Génie des procédés industriels). Université Assane Seck de Ziguinchor (UASZ) et Université de Technologie de Compiègne (UTC), p. 193.
- Antonopoulou, G., Gavala, H.N., Skiadas, I.V., Angelopoulos, K., Lyberatos, G., 2008. Biofuels generation from sweet sorghum: Fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresource Technology* 99, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.048>

- Anunciação, P.C., Cardoso, L.D.M., Gomes, J.V.P., Della Lucia, C.M., Carvalho, C.W.P., Galdeano, M.C., Queiroz, V.A.V., Alfenas, R.D.C.G., Martino, H.S.D., Pinheiro-Sant'Ana, H.M., 2017. Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. *Food Chemistry* 221, 984–989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.065>
- Ape, D.I., Nwogu, N.A., Uwakwe, E.I., Ikedinobi, C.S., 2016. Comparative Proximate Analysis of Maize and Sorghum Bought from Ogbete Main Market of Enugu State, Nigeria. *GJAS* 6, 272–275. <https://doi.org/10.15580/GJAS.2016.9.101516167>
- Appiah-Nkansah, N.B., Saul, K., Rooney, W., Wang, D., 2015. Adding sweet sorghum juice into the current dry-grind ethanol process for improving ethanol yields and water efficiency. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 8, 97–103.
- Appiah-Nkansah, N.B., Zhang, K., Rooney, W., Wang, D., 2016. Model study on extraction of fermentable sugars and nonstructural carbohydrate from sweet sorghum using diffusion process. *Industrial Crops and Products* 83, 654–662. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.056>
- Asada, Y., Miyake, J., 1999. Photobiological hydrogen production. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 88, 1–6. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80166-2](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80166-2)
- Atif, A., Fakhrulrazi, A., Ngan, M., Morimoto, M., Iyuke, S., Veziroglu, N., 2005. Fed batch production of hydrogen from palm oil mill effluent using anaerobic microflora. *International Journal of Hydrogen Energy* 30, 1393–1397. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2004.10.002>
- Awadelkareem, A.M., Hassan, E.G., Fageer, A.S.M., Sulieman, A.M., Mustafa, A.M.I., 2015. The nutritive value of two sorghum cultivar. *Int. J. Food Nutr. Sci.* 4, 1–7.
- Awasthi, M.K., Sindhu, R., Sirohi, R., Kumar, V., Ahluwalia, V., Binod, P., Juneja, A., Kumar, D., Yan, B., Sarsaiya, S., Zhang, Z., Pandey, A., Taherzadeh, M.J., 2022. Agricultural waste biorefinery development towards circular bioeconomy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 158, 112122. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112122>
- Awika, J.M., 2017. Sorghum: its unique nutritional and health-promoting attributes. In: Taylor, J.R.N., Awika, J.M. (eds.) *Gluten free ancient grains*. Woodhead Publishing. Cambridge. pp. 21–54.
- Awogbemi, O., Kallon, D.V.V., 2022a. Pretreatment techniques for agricultural waste. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 6, 100229. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100229>
- Awogbemi, O., Kallon, D.V.V., 2022b. Pretreatment techniques for agricultural waste. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 6, 100229. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100229>

- Backreedy, R.I., Fletcher, L.M., Jones, J.M., Ma, L., Pourkashanian, M., Williams, A., 2005. Co-firing pulverised coal and biomass: a modeling approach. *Proceedings of the Combustion Institute* 30, 2955–2964. <https://doi.org/10.1016/j.proci.2004.08.085>
- Badalov, A., 2008. Processing of sweet sorghum for bioethanol production. WIPO Publication Number, WO 2008/029163.
- Badigannavar, A., Teme, N., De Oliveira, A.C., Li, G., Vaksmann, M., Viana, V.E., Ganapathi, T.R., Sarsu, F., 2018. Physiological, genetic and molecular basis of drought resilience in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Ind J Plant Physiol.* 23, 670–688. <https://doi.org/10.1007/s40502-018-0416-2>
- Bahry, H., 2017. Valorisation de la mélasse de caroube par une approche bioraffinerie. (Thèse de doctorat. Génie des procédés). Université libanaise, Beyrouth, p. 215.
- Bahry, H., Pons, A., Abdallah, R., Pierre, G., Delattre, C., Fayad, N., Taha, S., Vial, C., 2017. Valorization of carob waste: Definition of a second-generation bioethanol production process. *Bioresource Technology* 235, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.056>
- Balat, M., Balat, H., Öz, C., 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science* 34, 551–573. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>
- Balole, T.V., Legwaila, G.M., 2006. *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l’Afrique tropicale). Wageningen.
- Banerjee, S., Mudliar, S., Sen, R., Giri, B., Satpute, D., Chakrabarti, T., Pandey, R.A., 2010. Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies. *Biofuels Bioprod Bioref* 4, 77–93. <https://doi.org/10.1002/bbb.188>
- Barro-kondombo, C.P., 2010. Diversités agro-morphologique et génétique de variétés locales de sorgho (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) du Burkina Faso. Eléments pour la valorisation des ressources génétiques locales. (Thèse de doctorat. Sciences Biologiques Appliquées). Université de Ouagadougou, Burkina Fasso, p. 113.
- Basak, B., Kumar, R., Bharadwaj, A.V.S.L.S., Kim, T.H., Kim, J.R., Jang, M., Oh, S.-E., Roh, H.-S., Jeon, B.-H., 2023. Advances in physicochemical pretreatment strategies for lignocellulose biomass and their effectiveness in bioconversion for biofuel production. *Bioresource Technology* 369, 128413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128413>
- Basavaraj, G., Parthasarathy Rao, P., Basu, K., Reddy, C.R., Kumar, A.A., Srinivasa Rao, P., Reddy, B.V.S., 2013. Assessing viability of bio-ethanol production from sweet sorghum in India. *Energy Policy* 56, 501–508. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2013.01.012>

- Batog, J., Frankowski, J., Wawro, A., Łacka, A., 2020. Bioethanol Production from Biomass of Selected Sorghum Varieties Cultivated as Main and Second Crop. *Energies* 13, 6291. <https://doi.org/10.3390/en13236291>
- Béligon, V., Poughon, L., Christophe, G., Lebert, A., Larroche, C., Fontanille, P., 2015. Improvement and modeling of culture parameters to enhance biomass and lipid production by the oleaginous yeast *Cryptococcus curvatus* grown on acetate. *Bioresource Technology* 192, 582–591. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.041>
- Bellmer, D., Huhnke, R., Whiteley, R., Godsey, C., 2010. The untapped potential of sweet sorghum as a bioenergy feedstock. *Biofuels* 1, 563–573. <https://doi.org/10.4155/bfs.10.34>
- Bennett, A.S., Anex, R.P., 2009. Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. *Bioresource Technology* 100, 1595–1607. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.023>
- Berenguer, M.J., Faci, J.M., 2001. Sorghum (*Sorghum Bicolor* L. Moench) yield compensation processes under different plant densities and variable water supply. *European Journal of Agronomy* 15, 43–55. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(01\)00095-8](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00095-8)
- Beta, T., Corke, H., Taylor, J.R.N., 2000. Starch Properties of Barnard Red, a South African Red Sorghum Variety of Significance in Traditional African Brewing. *Starch/Stärke* 52, 467–470. [https://doi.org/10.1002/1521-379X\(200012\)52:12<467::AID-STAR467>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1521-379X(200012)52:12<467::AID-STAR467>3.0.CO;2-A)
- Beutler, H.O., 1988. D-Fructose. In: Bergmeyer, H.U. (eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd ed., Vol. VI. VCH Publishers (UK) Ltd., Cambridge, UK. pp. 321-327.
- Bi, Z., Zhang, J., Peterson, E., Zhu, Z., Xia, C., Liang, Y., Wiltowski, T., 2017. Biocrude from pretreated sorghum bagasse through catalytic hydrothermal liquefaction. *Fuel* 188, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.10.039>
- Bidlack, J., 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. In *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*. 72, 51–56.
- Billa, E., Koullas, D.P., Monties, B., Koukios, E.G., 1997. Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Industrial Crops and Products* 6, 297–302. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00031-9)
- Black, J.R., Ely, L.O., McCullough, M.E., Sudweeks, E.M., 1980. Effects of Stage of Maturity and Silage Additives upon the Yield of Gross and Digestible Energy in Sorghum Silage. *Journal of Animal Science* 50, 617–624. <https://doi.org/10.2527/jas1980.504617x>

- Blummel, M., Rao, S.S., Palaniswami, S., Shah, L., Reddy, V.S.B., 2009. Evaluation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) used for bio-ethanol production in the context of optimizing whole plant utilization. *Anim. Nutr. Feed Technol.* 9, 1–10.
- Boudries, N., 2017. Caractérisation des amidons de sorgho et de mil perlé cultivés dans le Sahara algérien. (Thèse de doctorat). Université de Liège—Gembloux Agro-Bio Tech, p. 225.
- Bridgwater, A.V., Carson, P., Coulson, M., 2007. A comparison of fast and slow pyrolysis liquids from mallee. *IJGEI* 27, 204. <https://doi.org/10.1504/IJGEI.2007.013655>
- Brown, R.C., Brown, T.R., 2014. *Biorenewable Resources: Engineering New Products from Agriculture*, 1st ed. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118524985>
- Camargo Filho, I., Cortez, D.A.G., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P., 2008. Antiviral activity and mode of action of a peptide isolated from *Sorghum bicolor*. *Phytomedicine* 15, 202–208. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.07.059>
- Cao, Y., Wang, Y., Riley, J.T., Pan, W.-P., 2006. A novel biomass air gasification process for producing tar-free higher heating value fuel gas. *Fuel Processing Technology* 87, 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2005.10.003>
- Caputo, A.C., Palumbo, M., Pelagagge, P.M., Scacchia, F., 2005. Economics of biomass energy utilization in combustion and gasification plants: effects of logistic variables. *Biomass and Bioenergy* 28, 35–51. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2004.04.009>
- Cardoso, L.D.M., Montini, T.A., Pinheiro, S.S., Pinheiro-Sant’Ana, H.M., Martino, H.S.D., Moreira, A.V.B., 2014. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chemistry* 152, 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.106>
- Carrillo, M.A., Staggenborg, S.A., Pineda, J.A., 2014. Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. *Fuel* 116, 427–431. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.08.028>
- Cerazy-Waliszewska, J., Jeżowski, S., Łysakowski, P., Waliszewska, B., Zborowska, M., Sobańska, K., Ślusarkiewicz-Jarzina, A., Białas, W., Pniewski, T., 2019. Potential of bioethanol production from biomass of various *Miscanthus* genotypes cultivated in three-year plantations in west-central Poland. *Industrial Crops and Products* 141, 111790. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111790>
- Chantereau, J., Cruz, J.-F., Ratnadass, A., Trouche, G., Fliedel, G., 2013. *Le sorgho*, 1ère édition. ed, *Agricultures tropicales en poche*. Éditions Quae, CTA, Presses agronomiques de Gembloux, p. 264.

- Chantereau, J., Deu, M., Pham, J.L., Kapran, I., Vigouroux, Y., Bezançon, G., 2010. Evolution des diversités phénotypique et génétique des sorghos et mils cultivés au Niger de 1976 à 2003. *Le Sélectionneur Français*. 61, 33–45.
- Chen, H., Tian, X., Yu, Q., Hu, W., Chen, J., Zhou, L., 2021. Sweet sorghum stalks extract has antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products* 170, 113746. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113746>
- Chen, J., Huang, S., Kamran, H.W., 2023. Empowering sustainability practices through energy transition for sustainable development goal 7: The role of energy patents and natural resources among European Union economies through advanced panel. *Energy Policy* 176, 113499. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113499>
- Cheng, Y., Li, S., Huang, J., Zhang, Q., Wang, X., 2008. Production of acetone and butanol by fermentation of sweet sorghum stalk juice. *Trans. CSAE*. 24, 177–180.
- Cheung, S.W., Anderson, B.C., 1997. Laboratory investigation of ethanol production from municipal primary wastewater solids. *Bioresource Technology* 59, 81–96. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(96\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(96)00109-5)
- Chniti, S., 2015. Optimisation de la bioproduction d'éthanol par valorisation des refus de l'industrie de conditionnement des dattes. (Thèse de doctorat. Chimie). Université Rennes 1, France, p. 210.
- Christakopoulos, P., Li, L.-W., Kekos, D., Macris, B.J., 1993. Direct conversion of sorghum carbohydrates to ethanol by a mixed microbial culture. *Bioresource Technology* 45, 89–92. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90095-S](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90095-S)
- Chupin, L., Ridder, D.D., Clément-Vidal, A., Soutiras, A., Gineau, E., Mouille, G., Arnoult, S., Brancourt-Hulmel, M., Lapierre, C., Pot, D., Vincent, L., Mija, A., Navard, P., 2017. Influence of the radial stem composition on the thermal behaviour of miscanthus and sorghum genotypes. *Carbohydrate Polymers* 167, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.002>
- Clarke, S.J., McLean, J., George-Jaeggli, B., McLean, G., De Voil, P., Eyre, J.X., Rodriguez, D., 2019. Understanding the diversity in yield potential and stability among commercial sorghum hybrids can inform crop designs. *Field Crops Research* 230, 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.10.010>
- Clerget, B., 2004. Le rôle du photopériodisme dans l'élaboration du rendement de trois variétés de sorgho cultivées en Afrique de l'Ouest. (Thèse de doctorat). Institut national agronomique Paris-Grignon, Paris. p. 114.
- Coble, C.G., Egg, R.P., Shmulevich, I., 1984. Processing techniques for ethanol production from sweet sorghum. *Biomass* 6, 111–117. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(84\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0144-4565(84)90014-3)

- Corredor, D.Y., Salazar, J.M., Hohn, K.L., Bean, S., Bean, B., Wang, D., 2009. Evaluation and Characterization of Forage Sorghum as Feedstock for Fermentable Sugar Production. *Appl Biochem Biotechnol* 158, 164–179. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8340-y>
- Cosgrove, C.T., Huhnke, R.L., Bellmer, D.D., 2009. Design of an Improved Laboratory-Scale Sweet Sorghum Press. Presented at the 2009 Reno, Nevada. June 21 - 24, American Society of Agricultural and Biological Engineers. <https://doi.org/10.13031/2013.27446>
- Cotlear, C.B.G., 2004. Sugarcane juice extraction and preservation, and long-term lime pretreatment of bagasse. (Doctoral dissertation. Chemical Engineering). Texas A&M University, Texas. p. 369.
- Cousins, B.W., Tanksley, T.D., Knabe, D.A., Zebrowska, T., 1981. Nutrient Digestibility and Performance of Pigs Fed Sorghums Varying in Tannin Concentration. *Journal of Animal Science* 53, 1524–1537. <https://doi.org/10.2527/jas1982.5361524x>
- Crank, J., McFarlane, N.R., Paterson, G.D., Pedley, J.B., 1981. *Diffusion Processes in Environmental Systems*. Macmillan, London.
- Crépeau, M., 2017. Optimisation de la récolte, de l'entreposage et du pressage du millet perlé sucré et du sorgho sucré cultivés au Québec pour la production de bioéthanol. (Thèse de doctorat. Sols et environnement). Université Laval, Québec. p. 151.
- Crépeau, M., Khelifi, M., Vanasse, A., 2010. Preliminary investigation into the pressing process of sweet pearl millet and sweet sorghum biomass for ethanol production. In: XVIIth World Congress of the International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR).
- Crépeau, M., Khelifi, M., Vanasse, A., Seguin, P., Tremblay, G.F., 2013. Compressive Forces and Harvest Time Effects on Sugars and Juice Extracted from Sweet Pearl Millet and Sweet Sorghum. *Trans. ASABE* 56, 1665–1671. <https://doi.org/10.13031/trans.56.10271>
- Da Silva, A.R.G., Torres Ortega, C.E., Rong, B.-G., 2016. Techno-economic analysis of different pretreatment processes for lignocellulosic-based bioethanol production. *Bioresource Technology* 218, 561–570. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.007>
- Dahlberg, J., Berenji, J., Sikora, V., Latković, D., 2011. Assessing sorghum [*Sorghum bicolor* (L) Moench] germplasm for new traits: food, fuels & unique uses. *Maydica* 56, 165.
- Dahnum, D., Tasum, S.O., Triwahyuni, E., Nurdin, M., Abimanyu, H., 2015. Comparison of SHF and SSF Processes Using Enzyme and Dry Yeast for Optimization of Bioethanol Production from Empty Fruit Bunch. *Energy Procedia* 68, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.03.238>
- De Deken, R.H., 1966. The Crabtree effect: a regulatory system in yeast. *Microbiology*. 44, 149–156.

- De Farias Silva, C.E., Meneghello, D., De Souza Abud, A.K., Bertucco, A., 2020. Pretreatment of microalgal biomass to improve the enzymatic hydrolysis of carbohydrates by ultrasonication: Yield vs energy consumption. *Journal of King Saud University - Science* 32, 606–613. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.09.007>
- Dehaynin, N., 2007. Utilisation du sorgho en alimentation animale. (Thèse de doctorat. Médecine vétérinaire). Université Claude-Bernard— lyon I, Lyon. p. 108.
- Demirbas, A., 2011. Competitive liquid biofuels from biomass. *Applied Energy* 88, 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.07.016>
- Demirbas, A., 2009. Thermochemical Conversion Processes, in: *Biofuels, Green Energy and Technology*. Springer London, London, pp. 261–304. https://doi.org/10.1007/978-1-84882-011-1_6
- Demirbas, A., 2004. Combustion characteristics of different biomass fuels. *Progress in Energy and Combustion Science* 30, 219–230. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2003.10.004>
- Deu, M., Sagnard, F., Chantereau, J., Calatayud, C., Hérault, D., Mariac, C., Pham, J.-L., Vigouroux, Y., Kapran, I., Traore, P.S., Mamadou, A., Gerard, B., Ndjeunga, J., Bezançon, G., 2008. Niger-wide assessment of in situ sorghum genetic diversity with microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 116, 903–913. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0721-7>
- Devi, A., Niazi, A., Ramteke, M., Upadhyayula, S., 2021. Techno-economic analysis of ethanol production from lignocellulosic biomass—a comparison of fermentation, thermo catalytic, and chemocatalytic technologies. *Bioprocess Biosyst Eng* 44, 1093–1107. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02504-4>
- Di Marco, O.N., Ressia, M.A., Arias, S., Aello, M.S., Arzadún, M., 2009. Digestibility of forage silages from grain, sweet and bmr sorghum types: Comparison of in vivo, in situ and in vitro data. *Animal Feed Science and Technology* 153, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.06.003>
- Dicko, M.H., Gruppen, H., Traoré, A.S., Voragen, A.G., Van Berkel, W.J.H., 2006. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *African journal of biotechnology*. 5, 384–395.
- Djomdi, D., Hamadou, B., Klang, M.J., Djoulde, D.R., Christophe, G., Michaud, P., 2019. Extraction performance of juice and bioethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Glob. J. Eng. Sci. Res. Manag.* 6, 57–66.
- Doggett, H., 1988. *Sorghum*. London Harlow (GB). Longman Scientific Technical, (2ème édition). p. 512.

- Du, R., Yan, J., Feng, Q., Li, P., Zhang, L., Chang, S., Li, S., 2014. A Novel Wild-Type *Saccharomyces cerevisiae* Strain TSH1 in Scaling-Up of Solid-State Fermentation of Ethanol from Sweet Sorghum Stalks. *PLoS ONE* 9, e94480. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094480>
- Dubois, Michel., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, Fred., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Eckhoff, S.R., Watson, S.A., 2009. Corn and sorghum starch production. In: BeMiller, J., Whistler, R. (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*, 3rd edn. Elsevier. Amsterdam. pp. 373–439.
- Ekefre, D.E., Mahapatra, A.K., Latimore Jr., M., Bellmer, D.D., Jena, U., Whitehead, G.J., Williams, A.L., 2017. Evaluation of three cultivars of sweet sorghum as feedstocks for ethanol production in the Southeast United States. *Heliyon* 3, e00490. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017.e00490>
- El Belghiti, K., Vorobiev, E., 2004. Mass Transfer of Sugar from Beets Enhanced by Pulsed Electric Field. *Food and Bioprocess Processing* 82, 226–230. <https://doi.org/10.1205/fbio.82.3.226.44187>
- Elliott, D.C., Biller, P., Ross, A.B., Schmidt, A.J., Jones, S.B., 2015. Hydrothermal liquefaction of biomass: Developments from batch to continuous process. *Bioresource Technology* 178, 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.132>
- El-Zawawy, W.K., Ibrahim, M.M., Abdel-Fattah, Y.R., Soliman, N.A., Mahmoud, M.M., 2011. Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydrate Polymers* 84, 865–871. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.022>
- Espitia-Hernández, P., Chávez González, M.L., Ascacio-Valdés, J.A., Dávila-Medina, D., Flores-Naveda, A., Silva, T., Ruelas Chacón, X., Sepúlveda, L., 2022. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) as a potential source of bioactive substances and their biological properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62, 2269–2280. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1852389>
- FAOSTAT, 2024. Données de l'alimentation et de l'agriculture [WWW Document]. URL <http://www.fao.org/faostat/fr/#home> (accessed 2.28.24).
- Faraco, V., 2013. *Lignocellulose Conversion: Enzymatic and Microbial Tools for Bioethanol Production*. Springer Science & Business Media, Berlin.
- Feng, Y., 2022. Effects of different concentrations of sorghum straw on hydrogen production by oscillating photosynthetic organisms. Presented at the MATERIALS SCIENCE,

- Fennouche, I., Khellaf, N., Djelal, H., Amrane, A., 2019. An effective acid pretreatment of agricultural biomass residues for the production of second-generation bioethanol. *SN Appl. Sci.* 1, 1460. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1517-x>
- Filipovici, A., Tucu, D., Bialowiec, A., Bukowski, P., Crisan, G.C., Lica, S., Pulka, J., 2017. Effect of temperature and heating rate on the char yield in sorghum and straw slow pyrolysis. *Rev. Chim.* 68, 576–580.
- Flores, C.-L., Rodríguez, C., Petit, T., Gancedo, C., 2000. Carbohydrate and energy-yielding metabolism in non-conventional yeasts. *FEMS Microbiol Rev* 24, 507–529. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00553.x>
- Font, R., Williams, P.T., 1995. Pyrolysis of biomass with constant heating rate: Influence of the operating conditions. *Thermochimica Acta* 250, 109–123. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(94\)02001-5](https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)02001-5)
- Fontanille, P., Kumar, V., Christophe, G., Nouaille, R., Larroche, C., 2012. Bioconversion of volatile fatty acids into lipids by the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Bioresource Technology* 114, 443–449. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.091>
- Fuess, L.T., Dos Santos, G.M., Delforno, T.P., De Souza Moraes, B., Da Silva, A.J., 2020. Biochemical butyrate production via dark fermentation as an energetically efficient alternative management approach for vinasse in sugarcane biorefineries. *Renewable Energy* 158, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.063>
- Gaballah, E.S., Abomohra, A.E.-F., Xu, C., Elsayed, M., Abdelkader, T.Kh., Lin, J., Yuan, Q., 2020. Enhancement of biogas production from rape straw using different co-pretreatment techniques and anaerobic co-digestion with cattle manure. *Bioresource Technology* 309, 123311. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123311>
- Głąb, L., Sowiński, J., Chmielewska, J., Prask, H., Fugol, M., Szlachta, J., 2019. Comparison of the energy efficiency of methane and ethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) with a variety of feedstock management technologies. *Biomass and Bioenergy* 129, 105332. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105332>
- Gnansounou, E., Dauriat, A., Wyman, C.E., 2005. Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China. *Bioresource Technology* 96, 985–1002. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.015>
- Gollakota, A.R.K., Kishore, N., Gu, S., 2018. A review on hydrothermal liquefaction of biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 81, 1378–1392. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.178>

- Gonçalves, A.L., Simões, M., 2017. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for higher alcohols production: An environmentally friendly alternative to fossil fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 77, 580–589. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.04.047>
- Grohmann, K., Baldwin, E.A., Buslig, B.S., 1994. Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed orange peel by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Biochem Biotechnol* 45–46, 315–327. <https://doi.org/10.1007/BF02941808>
- Guo, Y.Y., Tian, S.S., Liu, S.S., Wang, W.Q., Sui, N., 2018. Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. *Photosynth.* 56, 861–872. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0741-0>
- Gutfinger, T., 1981. Polyphenols in olive oils. *J Americ Oil Chem Soc* 58, 966–968. <https://doi.org/10.1007/BF02659771>
- Gutjahr, S., 2012. Analyse des caractères d'intérêt morphogénétiques et biochimiques pour le développement de sorghos sucrés à double usage « grain-bioalcool ». (Thèse de doctorat. Biologie Intégrative des Plantes (BIP)). Université Montpellier II, Montpellier. p. 118.
- Gutjahr, S., Clément-Vidal, A., Soutiras, A., Sonderegger, N., Braconnier, S., Dingkuhn, M., Luquet, D., 2013. Grain, sugar and biomass accumulation in photoperiod-sensitive sorghums. II. Biochemical processes at internode level and interaction with phenology. *Functional Plant Biol.* 40, 355. <https://doi.org/10.1071/FP12177>
- Haldar, D., Purkait, M.K., 2021a. A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements. *Chemosphere* 264, 128523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128523>
- Haldar, D., Purkait, M.K., 2021b. A review on the environment-friendly emerging techniques for pretreatment of lignocellulosic biomass: Mechanistic insight and advancements. *Chemosphere* 264, 128523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128523>
- Harlan, J.R., De Wet, J.M.J., 1972. A Simplified Classification of Cultivated Sorghum¹. *Crop Science* 12, 172–176. <https://doi.org/10.2135/cropsci1972.0011183X001200020005x>
- Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L., Hussy, I., 2002. Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. *International Journal of Hydrogen Energy* 27, 1339–1347. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(02\)00090-3](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(02)00090-3)
- Hébert, J.P., Griffon, D., 2010. Toutes les bières moussent-elles? 80 clés pour comprendre les bières. Quae, Versailles. p. 223.

- Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C., 2011. Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresource Technology* 102, 5153–5161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.012>
- Hertel, T.W., Tyner, W.E., 2013. Market-mediated environmental impacts of biofuels. *Global Food Security* 2, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2013.05.003>
- Hetényi, K., Gál, K., Németh, Á., Sevela, B., 2010. Use of sweet sorghum juice for lactic acid fermentation: preliminary steps in a process optimization. *J of Chemical Tech & Biotech* 85, 872–877. <https://doi.org/10.1002/jctb.2381>
- Huang, X., Penner, M.H., 1991. Apparent substrate inhibition of the *Trichoderma reesei* cellulase system. *Journal of agricultural and food chemistry* 39, 2096–2100.
- Huber, G.W., Chheda, J.N., Barrett, C.J., Dumesic, J.A., 2005. Production of Liquid Alkanes by Aqueous-Phase Processing of Biomass-Derived Carbohydrates. *Science* 308, 1446–1450. <https://doi.org/10.1126/science.1111166>
- IEA, 2022. World Energy Investment 2022. IEA, Paris. <https://www.iea.org/reports/world-energy-investment-2022>.
- IEA, 2021. World Energy Outlook 2021. IEA, Paris. <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2021>.
- Jamaldheen, S.B., Sharma, K., Rani, A., Moholkar, V.S., Goyal, A., 2018a. Comparative analysis of pretreatment methods on sorghum (*Sorghum durra*) stalk agrowaste for holocellulose content. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 48, 457–464. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1466148>
- Jamaldheen, S.B., Sharma, K., Rani, A., Moholkar, V.S., Goyal, A., 2018b. Comparative analysis of pretreatment methods on sorghum (*Sorghum durra*) stalk agrowaste for holocellulose content. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 48, 457–464. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1466148>
- James, A.M., Yuan, W., Boyette, M.D., Wang, D., 2015. The Effect of Air Flow Rate and Biomass Type on the Performance of an Updraft Biomass Gasifier. *BioResources* 10, 3615–3624. <https://doi.org/10.15376/biores.10.2.3615-3624>
- Jia, F., Chawhuaymak, J., Riley, M.R., Zimmt, W., Ogden, K.L., 2013. Efficient extraction method to collect sugar from sweet sorghum. *J Biol Eng* 7, 1. <https://doi.org/10.1186/1754-1611-7-1>
- Jimoh, W.L.O., Abdullahi, M.S., 2017. Proximate analysis of selected sorghum cultivars. *Bayero J. Pure App. Sci.* 10, 285. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v10i1.43>

- Jin, X., Song, J., Liu, G.-Q., 2020. Bioethanol production from rice straw through an enzymatic route mediated by enzymes developed in-house from *Aspergillus fumigatus*. *Energy* 190, 116395. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116395>
- John, M., Thomas, S., 2008. Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers* 71, 343–364. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.040>
- Kalamaras, S.D., Kotsopoulos, T.A., 2014. Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe. *Bioresource Technology* 172, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.005>
- Kamara, A.Y., Ekeleme, F., Omoigui, L., Menkir, A., Chikoye, D., Dugje, I.Y., 2011. Response of exotic sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) cultivars to planting date under natural infestation of *Striga hermonthica* (Del) Benth. in the Sudan savanna zone of northeast Nigeria. *Archives of Agronomy and Soil Science* 57, 679–692. <https://doi.org/10.1080/03650341003685893>
- Kamath, V., Niketh, S., Chandrashekar, A., Rajini, P.S., 2007. Chymotryptic hydrolysates of α -kafirin, the storage protein of sorghum (*Sorghum bicolor*) exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activity. *Food Chemistry* 100, 306–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.004>
- Kandasamy, M., Hamawand, I., Bowtell, L., Seneweera, S., Chakrabarty, S., Yusaf, T., Shakoor, Z., Algayyim, S., Eberhard, F., 2017. Investigation of Ethanol Production Potential from Lignocellulosic Material without Enzymatic Hydrolysis Using the Ultrasound Technique. *Energies* 10, 62. <https://doi.org/10.3390/en10010062>
- Kapdan, I.K., Kargi, F., 2006. Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology* 38, 569–582. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.09.015>
- Kartawiria, I.S., Syamsu, K., Noor, E., Sa'id, E.G., 2015. Sorghum Stalk Juice Pre-treatment Method for Bioethanol Fermentation Process. *Energy Procedia* 65, 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.01.047>
- Kazmi, B., Sadiq, T., Taqvi, S.A.A., Nasir, S., Khan, M.M., Naqvi, S.R., AlMohamadi, H., 2024. Towards a sustainable future: Bio-hydrogen production from food waste for clean energy generation. *Process Safety and Environmental Protection* 183, 555–567. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.01.045>
- Kevser, M., Tekbaş, M., Doğan, M., Koyluoglu, S., 2022. Nexus among biomass energy consumption, economic growth, and financial development: Evidence from selected 15 countries. *Energy Reports* 8, 8372–8380. <https://doi.org/10.1016/j.egypr.2022.06.033>
- Khalil, S.R.A., Abdelhafez, A.A., Amer, E.A.M., 2015. Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Annals of Agricultural Sciences* 60, 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2015.10.005>

- Kim, E.S., Lee, H.J., Bang, W., Choi, I., Kim, K.H., 2009. Functional characterization of a bacterial expansin from *Bacillus subtilis* for enhanced enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotech & Bioengineering* 102, 1342–1353. <https://doi.org/10.1002/bit.22193>
- Kim, M., Day, D.F., 2011. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *J Ind Microbiol Biotechnol* 38, 803–807. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0812-8>
- Kim, M., Han, K.-J., Jeong, Y., Day, D.F., 2012. Utilization of whole sweet sorghum containing juice, leaves, and bagasse for bio-ethanol production. *Food Sci Biotechnol* 21, 1075–1080. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0139-5>
- Klein-Marcuschamer, D., Oleskiewicz-Popiel, P., Simmons, B.A., Blanch, H.W., 2012. The challenge of enzyme cost in the production of lignocellulosic biofuels. *Biotech & Bioengineering* 109, 1083–1087. <https://doi.org/10.1002/bit.24370>
- Kotaiah Naik, D., Monika, K., Prabhakar, S., Parthasarathy, R., Satyavathi, B., 2017. Pyrolysis of sorghum bagasse biomass into bio-char and bio-oil products: A thorough physicochemical characterization. *J Therm Anal Calorim* 127, 1277–1289. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-6061-y>
- Kristiansen, B., 1994. Integrated design of a fermentation plant: the production of baker's yeast. VCH, New York.
- Kumar, A., Singh, L.K., Ghosh, S., 2009. Bioconversion of lignocellulosic fraction of water-hyacinth (*Eichhornia crassipes*) hemicellulose acid hydrolysate to ethanol by *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology* 100, 3293–3297. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.023>
- Kumar, G., Sivagurunathan, P., Sen, B., Mudhoo, A., Davila-Vazquez, G., Wang, G., Kim, S.-H., 2017. Research and development perspectives of lignocellulose-based biohydrogen production. *International Biodeterioration & Biodegradation* 119, 225–238. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.030>
- Kunst, A., Draeger, B., Ziegenhorn, J., 1988. D-Glucose. In: Bergmeyer, H.U. (eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd ed., Vol. VI. VCH Publishers (UK) Ltd., Cambridge, UK. pp. 163-172.
- Latimer, G.W. (Ed.), 2023. *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, 22nd ed. Oxford University Press New York. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001>
- Lezinou, V., Christakopoulos, P., Kekos, D., Macris, B.J., 1994. Simultaneous saccharification and fermentation of sweet sorghum carbohydrates to ethanol in a fed-batch process. *Biotechnol Lett* 16, 983–988. <https://doi.org/10.1007/BF00128638>

- Lezinou, V., Christokopoulos, P., Li, L.W., Kekos, D., Macris, B.J., 1995. Study of a single and mixed culture for the direct bio-conversion of sorghum carbohydrates to ethanol. *Appl Microbiol Biotechnol* 43, 412–415. <https://doi.org/10.1007/BF00218442>
- Li, D., 2003. Ethanol fuel from sweet sorghum desiderates development. *J. Agric. Sci. Technol. Iran.* 4, 48–51.
- Li, J., Li, S., Han, B., Yu, M., Li, G., Jiang, Y., 2013. A novel cost-effective technology to convert sucrose and homocelluloses in sweet sorghum stalks into ethanol. *Biotechnol Biofuels* 6, 174. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-174>
- Li, S., Li, G., Zhang, L., Zhou, Z., Han, B., Hou, W., Wang, J., Li, T., 2013. A demonstration study of ethanol production from sweet sorghum stems with advanced solid state fermentation technology. *Applied Energy* 102, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.09.060>
- Li, W., Shen, Y., Liu, H., Huang, X., Xu, B., Zhong, C., Jia, S., 2023. Bioconversion of lignocellulosic biomass into bacterial nanocellulose: challenges and perspectives. *Green Chemical Engineering* 4, 160–172. <https://doi.org/10.1016/j.gce.2022.04.007>
- Lin, P., Wong, J.H., Ng, T.B., Ho, V.S.M., Xia, L., 2013. A sorghum xylanase inhibitor-like protein with highly potent antifungal, antitumor and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities. *Food Chemistry* 141, 2916–2922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.013>
- Ling, R., Wu, W., Yuan, Y., Wei, W., Jin, Y., 2021. Investigation of choline chloride-formic acid pretreatment and Tween 80 to enhance sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* 326, 124748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124748>
- Liu, X., 2015. Valorisation énergétique de la biomasse lignocellulosique par digestion anaérobie : Pré-traitement fongique aérobie. (Thèse de doctorat). INSA de Lyon, Lyon, France. p. 247.
- Liu, Z., Li, H., Gao, X., Guo, X., Wang, S., Fang, Y., Song, G., 2022. Rational highly dispersed ruthenium for reductive catalytic fractionation of lignocellulose. *Nat Commun* 13, 4716. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32451-5>
- Lopez, N., Tique, M., Perez, L., 2011. Contribution to the study of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] for human nutrition. *Perspect. Hum. Nutr.* 13, 33–44.
- Mabelebele, M., Siwela, M., Gous, R., Iji, P., 2015. Chemical Composition and Nutritive Value of South African Sorghum Varieties as Feed for Broiler Chickens. *SA J. An. Sci.* 45, 206. <https://doi.org/10.4314/sajas.v45i2.12>
- Mahapatra, A.K., Latimore, M., Bellmer, D.D., Singh, B.P., 2011. Utilization of Sweet Sorghum for Ethanol Production- A Review. Presented at the 2011 ASABE Annual international

- Meeting. Louisville. Kentucky. August 7-10., American Society of Agricultural and Biological Engineers. 1111567. <https://doi.org/10.13031/2013.38984>
- Mamma, D., Christakopoulos, P., Koullas, D., Kekos, D., Macris, B.J., Koukios, E., 1995. An alternative approach to the bioconversion of sweet sorghum carbohydrates to ethanol. *Biomass and Bioenergy* 8, 99–103. [https://doi.org/10.1016/0961-9534\(95\)00006-S](https://doi.org/10.1016/0961-9534(95)00006-S)
- Mamma, D., Koullas, D., Fountoukidis, G., Kekos, D., Macris, B.J., Koukios, E., 1996. Bioethanol from sweet sorghum: Simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates by a mixed microbial culture. *Process Biochemistry* 31, 377–381. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(95\)00075-5](https://doi.org/10.1016/0032-9592(95)00075-5)
- Manikandan, S., Vickram, S., Sirohi, R., Subbaiya, R., Krishnan, R.Y., Karmegam, N., Sumathijones, C., Rajagopal, R., Chang, S.W., Ravindran, B., Awasthi, M.K., 2023. Critical review of biochemical pathways to transformation of waste and biomass into bioenergy. *Bioresource Technology* 372, 128679. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128679>
- Mask, P.L., Morris, W.C., 1991. Sweet sorghum culture and syrup production. Circular ANR-Alabama Cooperative Extension Service. Auburn University (USA). ACES publication No AR-625.
- McCormick, M.E., Morris, D.R., Ackerson, B.A., Blouin, D.C., 1995. Ratoon Cropping Forage Sorghum for Silage: Yield, Fermentation, and Nutrition. *Agronomy Journal* 87, 952–957. <https://doi.org/10.2134/agronj1995.00021962008700050030x>
- Medeiros, D., Vazquez-Araujo, L., Chambers, E., 2011. Sorghum: the forgotten grain. *Food technology (Chicago)*. 65, 52–60.
- Medina-Morales, M.A., De La Cruz-Andrade, L.E., Paredes-Peña, L.A., Morales-Martínez, T.K., Rodríguez-De La Garza, J.A., Moreno-Dávila, I.M., Tamayo-Ordóñez, M.C., Rios-González, L.J., 2021. Biohydrogen production from thermochemically pretreated corn cob using a mixed culture bioaugmented with *Clostridium acetobutylicum*. *International Journal of Hydrogen Energy* 46, 25974–25984. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.04.046>
- Miron, J., Zuckerman, E., Sadeh, D., Adin, G., Nikbachat, M., Yosef, E., Ben-Ghedalia, D., Carmi, A., Kipnis, T., Solomon, R., 2005. Yield, composition and in vitro digestibility of new forage sorghum varieties and their ensilage characteristics. *Animal Feed Science and Technology* 120, 17–32. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.01.008>
- Mirza, S.S., Qazi, J.I., Liang, Y., Chen, S., 2019. Growth characteristics and photofermentative biohydrogen production potential of purple non sulfur bacteria from sugar cane bagasse. *Fuel* 255, 115805. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115805>

- Missaoui, A., 2018. Etude de la conversion de la biomasse en energie par un procédé hydrothermal de carbonisation - Caractérisation des produits issus des grignons d'olive. (Thèse de doctorat. Génie des procédés). Université d'Orléans, France, p. 209.
- Mohammed, Z.S., Mabudi, A.H., Murtala, Y., Jibrin, S., Sulaiman, S., Salihu, J., 2019. Nutritional Analysis of Three Commonly Consumed Varieties of Sorghum (*Sorghum bicolor L.*) in Bauchi State, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 23, 1329. <https://doi.org/10.4314/jasem.v23i7.21>
- Mohd Azhar, S.H., Abdulla, R., Jambo, S.A., Marbawi, H., Gansau, J.A., Mohd Faik, A.A., Rodrigues, K.F., 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports* 10, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003>
- Moletta, R., 1990. La digestion anaérobie appliquée à la protection de l'environnement. *COURRIER DE LA CELLULE ENVIRONNEMENT INRA*. 10, 19–22.
- Morimoto, M., 2002. Why is the anaerobic fermentation in the production of the biohydrogen attractive? In: *The Proceedings of Conversion of Biomass into Bioenergy*. Organized by New energy and Industrial Technology Development Organization (NEPO), Japan and Malaysian Palm oil Board (MPOP).
- Mosquera-Toscano, H.G., González-Barceló, O., Valdez-Vazquez, I., Durán-Moreno, A., 2023. Ethanol and Methane Production from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste in a Two-Stage Process. *Bioenerg. Res.* 17, 634–645. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10610-w>
- Motlhaodi, T., Bryngelsson, T., Chite, S., Fatih, M., Ortiz, R., Geleta, M., 2018. Nutritional variation in sorghum [*Sorghum bicolor (L.) Moench*] accessions from southern Africa revealed by protein and mineral composition. *Journal of Cereal Science* 83, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.010>
- Mundia, C.W., Secchi, S., Akamani, K., Wang, G., 2019. A Regional Comparison of Factors Affecting Global Sorghum Production: The Case of North America, Asia and Africa's Sahel. *Sustainability* 11, 2135. <https://doi.org/10.3390/su11072135>
- Murray, S.C., Rooney, W.L., Hamblin, M.T., Mitchell, S.E., Kresovich, S., 2009. Sweet Sorghum Genetic Diversity and Association Mapping for Brix and Height. *The Plant Genome* 2, [plantgenome2008.10.0011](https://doi.org/10.3835/plantgenome2008.10.0011). <https://doi.org/10.3835/plantgenome2008.10.0011>
- Mwithiga, G., Sifuna, M.M., 2006. Effect of moisture content on the physical properties of three varieties of sorghum seeds. *Journal of Food Engineering* 75, 480–486. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.053>

- Nandi, R., Sengupta, S., 1998. Microbial Production of Hydrogen: An Overview. *Critical Reviews in Microbiology* 24, 61–84. <https://doi.org/10.1080/10408419891294181>
- Nasidi, M., Agu, R., Deeni, Y., Walker, G., 2016. Utilization of whole sorghum crop residues for bioethanol production: Ethanol from sorghum bagasse. *J. Inst. Brew.* 122, 268–277. <https://doi.org/10.1002/jib.324>
- Nasidi, M., Agu, R., Deeni, Y., Walker, G., 2015. Improved production of ethanol using bagasse from different sorghum cultivars. *Biomass and Bioenergy* 72, 288–299. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.016>
- Navarro, R.R., Otsuka, Y., Matsuo, K., Sasaki, Kei, Sasaki, Ken, Hori, T., Habe, H., Nakamura, M., Nakashimada, Y., Kimbara, K., Kato, J., 2020. Combined simultaneous enzymatic saccharification and comminution (SESC) and anaerobic digestion for sustainable biomethane generation from wood lignocellulose and the biochemical characterization of residual sludge solid. *Bioresource Technology* 300, 122622. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122622>
- Nebié, B., 2014. Diversité génétique des sorghos à tige sucrée [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] du Burkina Faso. (Thèse de doctorat). University of Ouagadougou, Burkina Faso. p. 118.
- Negro, M., 1999. Composting of sweet sorghum bagasse with other wastes. *Bioresource Technology* 67, 89–92. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00100-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00100-5)
- Nghiem, N., Montanti, J., B. Johnston, D., Eastern Regional Research Center, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Wyndmoor, Pennsylvania, 19038 USA, 2016. Sorghum as a renewable feedstock for production of fuels and industrial chemicals. *AIMS Bioengineering* 3, 75–91. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2016.1.75>
- Nlandu, H., Belkacemi, K., Chorfa, N., Elkoun, S., Robert, M., Hamoudi, S., 2020. Flax nanofibrils production via supercritical carbon dioxide pre-treatment and enzymatic hydrolysis. *Can J Chem Eng* 98, 84–95. <https://doi.org/10.1002/cjce.23596>
- Noblecourt, A., 2018. Etude sur l'effet de l'accumulation d'acides gras volatils au cours d'un procédé de production d'hydrogène par voie biologique anaérobie, mise au point et utilisation d'un bioréacteur à membrane immergée. (Thèse de doctorat. Microbiologie). Université Clermont Auvergne, France, p. 260.
- Noblecourt, A., Christophe, G., Larroche, C., Fontanille, P., 2018a. Hydrogen production by dark fermentation from pre-fermented depackaging food wastes. *Bioresource Technology* 247, 864–870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.199>
- Noblecourt, A., Christophe, G., Larroche, C., Fontanille, P., 2018b. Hydrogen production by dark fermentation from pre-fermented depackaging food wastes. *Bioresource Technology* 247, 864–870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.199>

- Noblecourt, A., Christophe, G., Larroche, C., Santa-Catalina, G., Trably, E., Fontanille, P., 2017. High hydrogen production rate in a submerged membrane anaerobic bioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy* 42, 24656–24666. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.08.037>
- Noike, T., Mizuno, O., 2000. Hydrogen fermentation of organic municipal wastes. *Water Science and Technology* 42, 155–162. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0261>
- Norman, M.J.T., Pearson, C.J., Searle, P.G.E., 1995. *Tropical Food Crops in their Environment*. 2nd edn. University Press, Cambridge.
- Ntaikou, I., Gavala, H.N., Kornaros, M., Lyberatos, G., 2008. Hydrogen production from sugars and sweet sorghum biomass using *Ruminococcus albus*. *International Journal of Hydrogen Energy* 33, 1153–1163.
- Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B.K., 2017. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *South African Journal of Botany* 108, 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003>
- Ogier, J.C., Leygue, J.P., Ballerini, D., Pourquoi, J., Rigal, L., 1999. Production d'éthanol a partir de biomasse lignocellulosique. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP* 54, 67–94. <https://doi.org/10.2516/ogst:1999004>
- Oo, A., Muntasir, N., Poon, K., Weersink, A., Thimmanagari, M., 2016. Development of an Agricultural Biomaterial Industry in Ontario. Technical report. University of Guelph. No. 241708. p. 64.
- Ortíz Cruz, R.A., Cárdenas López, J.L., González Aguilar, G.A., Astiazarán García, H., Gorinstein, S., Canett Romero, R., Robles Sánchez, M., 2015. Influence of Sorghum Kafirin on Serum Lipid Profile and Antioxidant Activity in Hyperlipidemic Rats (*In Vitro* and *In Vivo* Studies). *BioMed Research International* 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/164725>
- Ostovareh, S., Karimi, K., Zamani, A., 2015. Efficient conversion of sweet sorghum stalks to biogas and ethanol using organosolv pretreatment. *Industrial Crops and Products* 66, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.023>
- Outlaw, W.H., Mitchell, C.T., 1988. Sucrose. In: Bergmeyer, H.U. (eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd ed., Vol. VI. VCH Publishers (UK) Ltd., Cambridge, UK. pp. 96-103.
- Pagliardini, J., 2010. Optimisation du rendement de production de bioéthanol chez *Saccharomyces cerevisiae* par minimisation de la synthèse du glycérol : Approche intégrée de génie métabolique et microbiologique (Thèse de doctorat. Ingénierie Microbienne et Enzymatique). Université de Toulouse, France, p. 236.

- Paillet, F., 2017. Optimisation d'un procédé à deux étapes pour la production d'un mélange H₂/CH₄ (biohythane) à partir de la fraction fermentaiscible des ordures ménagères. (Thèse de doctorat). Université de Montpellier, Montpellier, France. p. 265.
- Paramasivan, S., Sankar, S., Senthil Velavan, R., Krishnakumar, T., Batcha, R.S.I., Muthuvelu, K.S., 2021. Assessing the potential of lignocellulosic energy crops as an alternative resource for bioethanol production using ultrasound assisted dilute acid pretreatment. *Materials Today: Proceedings* 45, 3279–3285. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.470>
- Parvathy Eswari, A., Ravi, Y.K., Kavitha, S., Rajesh Banu, J., 2023. Recent insight into anaerobic digestion of lignocellulosic biomass for cost effective bioenergy generation. *e-Prime - Advances in Electrical Engineering, Electronics and Energy* 3, 100119. <https://doi.org/10.1016/j.prime.2023.100119>
- Patil, R., Cimon, C., Eskicioglu, C., Goud, V., 2021. Effect of ozonolysis and thermal pretreatment on rice straw hydrolysis for the enhancement of biomethane production. *Renewable Energy* 179, 467–474. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.07.048>
- Penner, M.H., Liaw, E.-T., 1994. Kinetic consequences of high ratios of substrate to enzyme saccharification systems based on *Trichoderma cellulase*. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Eds.) *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 363–371.
- Peterson, A.A., Vogel, F., Lachance, R.P., Fröling, M., Antal, Jr., M.J., Tester, J.W., 2008. Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: A review of sub- and supercritical water technologies. *Energy Environ. Sci.* 1, 32. <https://doi.org/10.1039/b810100k>
- Phutela, U.G., Kaur, J., 2014. Process Optimization for Ethanol Production from Sweet Sorghum Juice Using *Saccharomyces cerevisiae* Strain NRRL Y-2034 by Response Surface Methodology. *Sugar Tech* 16, 411–421. <https://doi.org/10.1007/s12355-013-0283-0>
- Phwan, C.K., Ong, H.C., Chen, W.-H., Ling, T.C., Ng, E.P., Show, P.L., 2018. Overview: Comparison of pretreatment technologies and fermentation processes of bioethanol from microalgae. *Energy Conversion and Management* 173, 81–94. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.07.054>
- Poilpré, E., 2002. Mécanisme d'adaptation rapide de *Saccharomyces cerevisiae* en métabolisme oxydatif: implication des sucres de réserve et de la capacité respiratoire. (Thèse de doctorat). INSA Toulouse, Toulouse, France. p. 163.
- Pontieri, P., Del Giudice, L., 2016. Sorghum: A Novel and Healthy Food, in: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 33–42. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00637-1>

- Qian, K., Kumar, A., Patil, K., Bellmer, D., Wang, D., Yuan, W., Huhnke, R., 2013. Effects of Biomass Feedstocks and Gasification Conditions on the Physiochemical Properties of Char. *Energies* 6, 3972–3986. <https://doi.org/10.3390/en6083972>
- Qiu, J., Ma, L., Shen, F., Yang, G., Zhang, Y., Deng, S., Zhang, J., Zeng, Y., Hu, Y., 2017. Pretreating wheat straw by phosphoric acid plus hydrogen peroxide for enzymatic saccharification and ethanol production at high solid loading. *Bioresource Technology* 238, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.040>
- Rabemanolontsoa, H., Saka, S., 2016. Various pretreatments of lignocellulosics. *Bioresource Technology* 199, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.029>
- Rains, G.C., Cundiff, J.S., Welbaum, G.E., 1993. Sweet sorghum for a piedmont ethanol industry. In: Janick, J., Simon, J.E. (eds.) *New Crops*. Wiley, New York. pp. 394–399.
- Rajagopal, D., Zilberman, D., 2008. Environmental, Economic and Policy Aspects of Biofuels. *FNT in Microeconomics* 4, 353–468. <https://doi.org/10.1561/07000000029>
- Ramachandran, R., 1998. An overview of industrial uses of hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy* 23, 593–598. [https://doi.org/10.1016/S0360-3199\(97\)00112-2](https://doi.org/10.1016/S0360-3199(97)00112-2)
- Rao, P.S., Umakanth, A.V., Reddy, B.V.S., Dweikat, I., Bhargava, S., Kumar, C.G., Braconnier, S., Patil, J.V., 2013a. Sweet Sorghum: genetics, breeding and commercialization. In: Singh, B.P. (ed.) *Biofuel Crops: Production, Physiology and Genetics*. CABI, Fort Valley. pp. 172–198.
- Rao, S.P., Ganesh, K.C., Reddy, B.V.S., 2013. Sweet Sorghum: From Theory to Practice, in: Rao, P.S., Kumar, C.G. (Eds.), *Characterization of Improved Sweet Sorghum Cultivars*, SpringerBriefs in Agriculture. Springer India, India, pp. 1–15. https://doi.org/10.1007/978-81-322-0783-2_1
- Rapagnà, S., 2000. Steam-gasification of biomass in a fluidised-bed of olivine particles. *Biomass and Bioenergy* 19, 187–197. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00031-3)
- Reddy, B.V.S., Kumar, A.A., Ramesh, S., 2007. Sweet sorghum: A Water Saving Bio-Energy Crop. In: *International conference on Linkages between Energy and Water Management for Agriculture in Developing Countries*. 29-30 January. ICRISAT. Patancheru, India.
- Regassa, T.H., Wortmann, C.S., 2014. Sweet sorghum as a bioenergy crop: Literature review. *Biomass and Bioenergy* 64, 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.03.052>
- Rein, P., Attard, R.G., 2007. *Sugar Cane Engineering*. Verlag Albert Bartens KG, Berlin. 113.
- Rein, P.W., 1995. A comparison of cane diffusion and milling. In: *Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association*. 69, 196–200.

- Ribeiro, T., Cresson, R., Pommier, S., Preys, S., André, L., Béline, F., Bouchez, T., Bougrier, C., Buffière, P., Cacho, J., Camacho, P., Mazéas, L., Pauss, A., Pouech, P., Rouez, M., Torrijos, M., 2020. Measurement of Biochemical Methane Potential of Heterogeneous Solid Substrates: Results of a Two-Phase French Inter-Laboratory Study. *Water* 12, 2814. <https://doi.org/10.3390/w12102814>
- Ritter, K.B., Jordan, D.R., Chapman, S.C., Godwin, I.D., Mace, E.S., Lynne McIntyre, C., 2008. Identification of QTL for sugar-related traits in a sweet × grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) recombinant inbred population. *Mol Breeding* 22, 367–384. <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9182-6>
- Rohowsky, B., Häßler, T., Gladis, A., Remmele, E., Schieder, D., Faulstich, M., 2013. Feasibility of simultaneous saccharification and juice co-fermentation on hydrothermal pretreated sweet sorghum bagasse for ethanol production. *Applied Energy* 102, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.03.039>
- Rooney, L., Waniska, R., 2000. Sorghum food and industrial utilization. In: Smith et al. (ed.) *Sorghum: Origin, History, Technology and Production*. Wiley, New York. pp. 689–731.
- Rooney, L.W., Pflugfelder, R.L., 1986. Factors Affecting Starch Digestibility with Special Emphasis on Sorghum and Corn1. *Journal of Animal Science* 63, 1607–1623. <https://doi.org/10.2527/jas1986.6351607x>
- Saballos, A., 2008. Development and Utilization of Sorghum as a Bioenergy Crop, in: Vermerris, W. (Ed.), *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*. Springer New York, New York, NY, pp. 211–248. https://doi.org/10.1007/978-0-387-70805-8_8
- Sagnard, F., Deu, M., Dembélé, D., Leblois, R., Touré, L., Diakité, M., Calatayud, C., Vaksman, M., Bouchet, S., Malle, Y., Togola, S., Traoré, P.C.S., 2011. Genetic diversity, structure, gene flow and evolutionary relationships within the Sorghum bicolor wild–weedy–crop complex in a western African region. *Theor Appl Genet* 123, 1231–1246. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1662-0>
- Saidi, S., Gazull, L., Burnod, P., Fallot, A., 2010. Atlas mondial du potentiel de mise en place de cultures dédiées à la production de biocarburants de seconde génération: “Un état des lieux pour 10 genres végétaux à fort potentiel lignocellulosique”. Rapport, Cirad & Total, Montpellier, p. 63.
- Saïed, N., 2016. Amélioration de l’extraction des sucres de la biomasse du millet perlé sucré et du sorgho sucré pour une éventuelle production de bioéthanol. (Mémoire, Maîtrise en sols et environnement). Université Laval, Québec. p. 2015.
- Salas Fernandez, M.G., Becraft, P.W., Yin, Y., Lübberstedt, T., 2009. From dwarves to giants? Plant height manipulation for biomass yield. *Trends in Plant Science* 14, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.06.005>

- Sambusiti, C., Ficara, E., Malpei, F., Steyer, J.P., Carrère, H., 2013. Effect of sodium hydroxide pretreatment on physical, chemical characteristics and methane production of five varieties of sorghum. *Energy* 55, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.04.025>
- Sampath, P., Brijesh, Reddy, K.R., Reddy, C.V., Shetti, N.P., Kulkarni, R.V., Raghu, A.V., 2020. Biohydrogen Production from Organic Waste – A Review. *Chem. Eng. Technol.* 43, 1240–1248. <https://doi.org/10.1002/ceat.201900400>
- Schaffer, R.E., Gourley, L.M., 1982. Sorghum as an energy source. In: House, L.R., Mughogho, L.K., Peack, J.M. (eds.) *Sorghum in the Eighties*. ICRISAT, Patancheru. pp. 477–783.
- Schober, T.J., Bean, S.R., 2008. Sorghum and maize. In: Arendt, E.K., Bello, F.D. (eds.) *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Elsevier, Amsterdam. pp. 101–118.
- Segal, L., Creely, J.J., Martin, A.E., Conrad, C.M., 1959. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Textile Research Journal* 29, 786–794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
- Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández, C., Pérez-Carrillo, E., Heredia-Olea, E., 2012. Sorghum as a multifunctional crop for the production of fuel ethanol: current status and future trends. In: Lima MAP, Natalense APP Bioethanol (eds.), *InTech*. pp. 51–74.
- Serra, P., Colauzzi, M., Amaducci, S., 2017a. Biomass sorghum production risk assessment analysis: A case study on electricity production in the Po Valley. *Biomass and Bioenergy* 96, 75–86. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.10.016>
- Serra, P., Giuntoli, J., Agostini, A., Colauzzi, M., Amaducci, S., 2017b. Coupling sorghum biomass and wheat straw to minimise the environmental impact of bioenergy production. *Journal of Cleaner Production* 154, 242–254. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.208>
- Shah, R.B., Clausen, E.C., Gaddy, J.L., 1984. Production of chemical feedstocks from biomass. *CEP Newsl.*; (United States) 80.
- Shahidi, F., Peng, H., 2018. Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds. *JFB* 4. <https://doi.org/10.31665/JFB.2018.4162>
- Shanmugam, S., Hari, A., Ulaganathan, P., Yang, F., Krishnaswamy, S., Wu, Y.-R., 2018. Potential of biohydrogen generation using the delignified lignocellulosic biomass by a newly identified thermostable laccase from *Trichoderma asperellum* strain BPLMBT1. *International Journal of Hydrogen Energy* 43, 3618–3628. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.01.016>
- Sheikh, Z., Nia, A.M., Ganjali, M., 2024. Climate change and anthropogenic effects on the drying of a saline lake in an arid region (Namak Lake, Iran). *Theor Appl Climatol* 155, 715–734. <https://doi.org/10.1007/s00704-023-04622-x>

- Shobana, S., Saratale, G.D., Pugazhendhi, A., Arvindnarayan, S., Periyasamy, S., Kumar, G., Kim, S.-H., 2017. Fermentative hydrogen production from mixed and pure microalgae biomass: Key challenges and possible opportunities. *International Journal of Hydrogen Energy* 42, 26440–26453. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.07.050>
- Sillero, L., Sganzerla, W.G., Forster-Carneiro, T., Solera, R., Perez, M., 2022. A bibliometric analysis of the hydrogen production from dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy* 47, 27397–27420. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.06.083>
- Sipos, B., Réczey, J., Somorai, Z., Kádár, Z., Dienes, D., Réczey, K., 2009. Sweet Sorghum as Feedstock for Ethanol Production: Enzymatic Hydrolysis of Steam-Pretreated Bagasse. *Appl Biochem Biotechnol* 153, 151–162. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8423-9>
- Sjöblom, M., Matsakas, L., Krige, A., Rova, U., Christakopoulos, P., 2017. Direct electricity generation from sweet sorghum stalks and anaerobic sludge. *Industrial Crops and Products* 108, 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.062>
- Snowden, J.D., 1936. *The cultivated races of sorghum*. London. Adlard. p. 274.
- Stamenković, O.S., Siliveru, K., Veljković, V.B., Banković-Ilić, I.B., Tasić, M.B., Ciampitti, I.A., Đalović, I.G., Mitrović, P.M., Sikora, V.Š., Prasad, P.V.V., 2020. Production of biofuels from sorghum. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 124, 109769. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109769>
- Steduto, P., Katerji, N., Puertos-Molina, H., Uñlu, M., Mastrorilli, M., Rana, G., 1997. Water-use efficiency of sweet sorghum under water stress conditions Gas-exchange investigations at leaf and canopy scales. *Field Crops Research* 54, 221–234. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00050-6)
- Stevens, G., Holou, R.A., 2010. Sweet sorghum as a biofuel crop. In: Halford, N.G., Karp, A. (eds.) *Energy Crops*. The Royal Society of Chemistry, London. pp. 56–76.
- Subramanian, V., Metta, V.C., 2000. Sorghum grain for poultry feed. In: Chandrasher, A., Bandyopadhyai, R., Hall, A.J. (eds.) *Technical and Institution Options for Sorghum Grain Mold Management*. Proc. International Consultation. International Crop Research for the Semi Arid Tropics (ICRISAT). Patacheru 502–504. Andhra Pradesh, India. pp. 242–247.
- Sudiyani, Y., Triwahyuni, E., Muryanto, M., Burhani, D., Waluyo, J., Sulaswaty, A., Abimanyu, H., 2016. Alkaline Pretreatment of Sweet Sorghum Bagasse for Bioethanol Production. *Int. J. Renew. Energy Dev.* 5, 113–118. <https://doi.org/10.14710/ijred.5.2.113-118>
- Sun, J., Deng, Y., Li, S., Xu, W., Liu, G., 2022. Enhanced efficiency of enzymatic hydrolysis of wheat straw via freeze–thaw pretreatment. *Environ Sci Pollut Res* 29, 56696–56704. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-18893-w>

- Szambelan, K., Nowak, J., Frankowski, J., Szwengiel, A., Jeleń, H., Burczyk, H., 2018. The comprehensive analysis of sorghum cultivated in Poland for energy purposes: Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods and their impact on bioethanol effectiveness and volatile by-products from the grain and the energy potential of sorghum straw. *Bioresource Technology* 250, 750–757. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.096>
- Tang, W., Wu, X., Huang, C., Ling, Z., Lai, C., Yong, Q., 2021. Natural surfactant-aided dilute sulfuric acid pretreatment of waste wheat straw to enhance enzymatic hydrolysis efficiency. *Bioresource Technology* 324, 124651. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124651>
- Tang, Z., Wu, C., Tang, W., Huang, M., Ma, C., He, Y.-C., 2023. Enhancing enzymatic saccharification of sunflower straw through optimal tartaric acid hydrothermal pretreatment. *Bioresource Technology* 385, 129279. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129279>
- Taylor, J.R.N., Emmambux, M.N., 2018. Gluten-free cereal products and beverages. In: Arendt, E.K., Bello, F.D. (eds.) *Gluten Free Foods and Beverages from Millets*. Elsevier, Amsterdam. pp. 119–148.
- Teetor, V.H., Duclos, D.V., Wittenberg, E.T., Young, K.M., Chawhuaymak, J., Riley, M.R., Ray, D.T., 2011. Effects of planting date on sugar and ethanol yield of sweet sorghum grown in Arizona. *Industrial Crops and Products* 34, 1293–1300. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.09.010>
- Temple, L., Levesque, A., Lamour, A., Charles, D., Braconnier, S., 2017. Complémentarité des filières sorgho sucré et canne à sucre en Haïti: évaluation des conditions de développement sectoriel d'une innovation. *Cah. Agric.* 26, 55006. <https://doi.org/10.1051/cagri/2017046>
- Thomas, A., Alpha, A., Barczak, A., Zakhia-Rozis, N., 2024. Durabilité des systèmes pour la sécurité alimentaire. Combiner les approches locales et globales. Quæ. ed, Synthèses. Versailles. p. 246.
- Thomas, H., 2019. Etude de l'impact des pré-traitements alcalins sur la digestion anaérobie du sorgho et du miscanthus. (Thèse de doctorat). Université de Montpellier, Montpellier, France. p. 217.
- Thomas, H.L., Pot, D., Latrille, E., Trouche, G., Bonnal, L., Bastianelli, D., Carrère, H., 2019. Sorghum Biomethane Potential Varies with the Genotype and the Cultivation Site. *Waste Biomass Valor* 10, 783–788. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0099-3>
- Tidze, V., Ibrahim, M., Issac, T., 2016. Dynamics of Household Energy and Cooking Stoves in Maroua, Far North Region of Cameroon. *JSRR* 9, 1–13. <https://doi.org/10.9734/JSRR/2016/21548>

- Timofeeva, S.S., Karaeva, J.V., Kovalev, A.A., Kovalev, D.A., Litti, Yu.V., 2023. Steam gasification of digestate after anaerobic digestion and dark fermentation of lignocellulosic biomass to produce syngas with high hydrogen content. *International Journal of Hydrogen Energy* 48, 7559–7568. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.11.260>
- Toda, T.A., Sawada, M.M., Rodrigues, C.E.C., 2016. Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: Experimental data and modeling. *Food and Bioprocess Technology* 98, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.12.003>
- Topping, D.L., 2009. Soluble Fiber Polysaccharides: Effects on Plasma Cholesterol and Colonic Fermentation. *Nutrition Reviews* 49, 195–203. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1991.tb03021.x>
- Totouom, A., 2024. Women’s decision-making power and the adoption of liquefied petroleum gas for cooking in Cameroon. *Energy Policy* 184, 113912. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2023.113912>
- Trably, E., Christophe, G., Latrille, E., Larroche, C., 2018. Production de biohydrogène – Voie fermentaire sombre. *Techniques de l’ingénieur. Bioprocédés*, BIO3351, 1–18.
- Trappey, E.F., Khouryieh, H., Aramouni, F., Herald, T., 2015. Effect of sorghum flour composition and particle size on quality properties of gluten-free bread. *Food sci. technol. int.* 21, 188–202. <https://doi.org/10.1177/1082013214523632>
- Tremblay, G.F., Lefebvre, D., Petit, H., Lafrenière, C., 2005. La valeur nutritive des fourrages. In: G. Bélanger, L. Couture et G. Tremblay (eds.), *Les plantes fourragères*. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec. p. 189.
- Tumuluru, J., Sokhansanj, S., Wright, C., Hess, J., Boardman, R., 2011. A review on biomass torrefaction process and product properties. Idaho National Laboratory. INL/CON-11–22634.
- Udachan, I.S., Sahoo, A.K., Hend, G.M., 2012. Extraction and characterization of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) starch. *Int. Food Res. J.* 19, 315–319.
- Van Soest, P.J., 1963. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. II. A Rapid Method for the Determination of Fiber and Lignin. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 46, 829–835. <https://doi.org/10.1093/jaoac/46.5.829>
- Vasilakoglou, I., Dhima, K., Karagiannidis, N., Gatsis, T., 2011. Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. *Field Crops Research* 120, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.08.011>

- Venkata, S.C., Ramana, R.Y., Nagalakshmi, D., Jagadeeswara, R.S., 2012. Evaluation of sweet (Sorghum bicolor (L.) moench) bagasse by chemical, in sacco and in vivo techniques in graded murrah buffalo bulls. *J. Vet. Adv.* 2, 418–423.
- Venturin, B., Frumi Camargo, A., Scapini, T., Mulinari, J., Bonatto, C., Bazoti, S., Pereira Siqueira, D., Maria Colla, L., Alves, S.L., Paulo Bender, J., Luís Radis Steinmetz, R., Kunz, A., Fongaro, G., Treichel, H., 2018. Effect of pretreatments on corn stalk chemical properties for biogas production purposes. *Bioresource Technology* 266, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.069>
- Viikari, L., Vehmaanperä, J., Koivula, A., 2012. Lignocellulosic ethanol: From science to industry. *Biomass and Bioenergy* 46, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.008>
- Waffenschmidt, S., Jaenicke, L., 1987. Assay of reducing sugars in the nanomole range with 2,2'-bicinchoninate. *Analytical Biochemistry* 165, 337–340. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90278-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90278-8)
- Wang, J.C., Dai, L., Tian, Y.S., Qin, S.P., 2007. Analysis of the development status and trends of biomass energy industry in China. *Trans. Chin. Soc. Agric. Eng.* 23, 276–282.
- Wang, L., Jiao, S., Jiang, Y., Yan, H., Su, D., Sun, G., Yan, X., Sun, L., 2013. Genetic diversity in parent lines of sweet sorghum based on agronomical traits and SSR markers. *Field Crops Research* 149, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.013>
- Wang, R., Wang, K., Zhou, M., Xu, J., Jiang, J., 2021. Efficient fractionation of moso bamboo by synergistic hydrothermal-deep eutectic solvents pretreatment. *Bioresource Technology* 328, 124873. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124873>
- Wang, Y., Chang, J., Cai, D., Wang, Z., Qin, P., Tan, T., 2017. Repeated-batch fermentation of L-lactic acid from acid hydrolysate of sweet sorghum juice using mixed neutralizing agent under unsterilized conditions: Repeated-batch fermentation of L-lactic acid from acid hydrolysate. *J. Chem. Technol. Biotechnol* 92, 1848–1854. <https://doi.org/10.1002/jctb.5195>
- Warrand, J., 2006. Healthy polysaccharides the next chapter in food products. *Food Technol. Biotechnol.* 44, 355–370.
- Wei, S., 2016. The application of biotechnology on the enhancing of biogas production from lignocellulosic waste. *Appl Microbiol Biotechnol* 100, 9821–9836. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7926-5>
- Wendorf, F., Close, A.E., Schild, R., Wasylikowa, K., Housley, R.A., Harlan, J.R., Królik, H., 1992. Saharan exploitation of plants 8,000 years BP. *Nature* 359, 721–724. <https://doi.org/10.1038/359721a0>

- Whitfield, M.B., Chinn, M.S., Veal, M.W., 2012. Processing of materials derived from sweet sorghum for biobased products. *Industrial Crops and Products* 37, 362–375. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.12.011>
- Wong, J.L., Khadaroo, S.N.B.A., Cheng, J.L.Y., Chew, J.J., Khaerudini, D.S., Sunarso, J., 2023. Green solvent for lignocellulosic biomass pretreatment: An overview of the performance of low transition temperature mixtures for enhanced bio-conversion. *Next Materials* 1, 100012. <https://doi.org/10.1016/j.nxmate.2023.100012>
- Worley, J.W., Vaughan, D.H., Cundiff, J.S., 1992. Energy analysis of ethanol production from sweet sorghum. *Bioresource Technology* 40, 263–273. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(92\)90153-O](https://doi.org/10.1016/0960-8524(92)90153-O)
- Wu, Q., Bao, X., Guo, W., Wang, B., Li, Y., Luo, H., Wang, H., Ren, N., 2019a. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: Current advances and perspectives. *Biotechnology Advances* 37, 599–615. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.003>
- Wu, Q., Bao, X., Guo, W., Wang, B., Li, Y., Luo, H., Wang, H., Ren, N., 2019b. Medium chain carboxylic acids production from waste biomass: Current advances and perspectives. *Biotechnology Advances* 37, 599–615. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.003>
- Wu, X., Staggenborg, S., Propheter, J.L., Rooney, W.L., Yu, J., Wang, D., 2010. Features of sweet sorghum juice and their performance in ethanol fermentation. *Industrial Crops and Products* 31, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.10.006>
- Wu, X.J., Huang, W.W., Chia-An Tsai, J., Klein, G., Jiang, J.J., 2020. Differentiation and dynamism within the IT development program. *Journal of Management Science and Engineering* 5, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.jmse.2020.08.002>
- Xiong, Y., Zhang, P., Luo, J., Johnson, S., Fang, Z., 2019. Effect of processing on the phenolic contents, antioxidant activity and volatile compounds of sorghum grain tea. *Journal of Cereal Science* 85, 6–14. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.10.012>
- Yang, E., Chon, K., Kim, K.-Y., Le, G.T.H., Nguyen, H.Y., Le, T.T.Q., Nguyen, H.T.T., Jae, M.-R., Ahmad, I., Oh, S.-E., Chae, K.-J., 2023. Pretreatments of lignocellulosic and algal biomasses for sustainable biohydrogen production: Recent progress, carbon neutrality, and circular economy. *Bioresource Technology* 369, 128380. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128380>
- Yevich, R., Logan, J.A., 2003. An assessment of biofuel use and burning of agricultural waste in the developing world. *Global Biogeochemical Cycles* 17, 2002GB001952. <https://doi.org/10.1029/2002GB001952>

- Yuan, J.S., Tiller, K.H., Al-Ahmad, H., Stewart, N.R., Stewart, C.N., 2008. Plants to power: bioenergy to fuel the future. *Trends in Plant Science* 13, 421–429. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.06.001>
- Yue, Y., Singh, H., Singh, B., Mani, S., 2017. Torrefaction of sorghum biomass to improve fuel properties. *Bioresource Technology* 232, 372–379. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.060>
- Zabed, H.M., Akter, S., Yun, J., Zhang, G., Awad, F.N., Qi, X., Sahu, J.N., 2019. Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass for biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 105, 105–128. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.048>
- Zaldivar, J., Nielsen, J., Olsson, L., 2001. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56, 17–34. <https://doi.org/10.1007/s002530100624>
- Zeghlouli, J., Christophe, G., Guendouz, A., El Modafar, C., Belkamel, A., Michaud, P., Delattre, C., 2021. Optimization of Bioethanol Production from Enzymatic Treatment of Argan Pulp Feedstock. *Molecules* 26, 2516. <https://doi.org/10.3390/molecules26092516>
- Zhang, C., Wen, H., Zheng, J., Fu, C., Chen, C., Cai, D., Qin, P., Wang, Z., 2018. A combination of evaporation and chemical preservation for long-term storage of fresh sweet sorghum juice and subsequent bioethanol production. *J Food Process Preserv* 42, e13825. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13825>
- Zhang, Y., Eberhardt, T.L., Cai, B., Wu, M., Xu, X., Feng, J., Pan, H., 2022. Organosolv fractionation of a lignocellulosic biomass feedstock using a pilot scale microwave-heating reactor. *Industrial Crops and Products* 180, 114700. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114700>
- Zhang, Y., Yuan, J., Guo, L., 2020. Enhanced bio-hydrogen production from cornstalk hydrolysate pretreated by alkaline-enzymolysis with orthogonal design method. *International Journal of Hydrogen Energy* 45, 3750–3759. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.234>
- Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., Li, C., Xu, G., 2016. Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal of Hydrogen Energy* 41, 9153–9158. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.02.042>
- Zhao, Y.L., Dolat, A., Steinberger, Y., Wang, X., Osman, A., Xie, G.H., 2009. Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crops Research* 111, 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.10.006>

Zhao, Z.-T., Ding, J., Wang, B.-Y., Bao, M.-Y., Liu, B.-F., Pang, J.-W., Ren, N.-Q., Yang, S.-S., 2024. Advances in the biomass valorization in dark fermentation systems: A sustainable approach for biohydrogen production. *Chemical Engineering Journal* 481, 148444. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.148444>

Zieba Falama, R., Hamadou, B., Sali, I., Saidi, A.S., Dawoua Kaoutoing, M., Dumbrava, V., Malwé Boudoué, H., Doka, S.Y., 2024. Investigating sustainable biofuel cookstove adoption in Sub-Saharan Africa: An integrated analysis of clean cooking transitions. *Energy Research & Social Science* 109, 103430. <https://doi.org/10.1016/j.erss.2024.103430>

Annexes

Annexe 1 : Liste des publications

- Bakari, H., Djomdi, D., Falama, R.Z., Gardarin, C., Blavignac, C., Audonnet, F., Delattre, C., Pierre, G., Dubessay, P., Darnan, R.D., Michaud, P., Christophe, G., 2024. Hydrogen and Fatty Acid Production by Dark Fermentation of Sweet Sorghum Stalks as an Efficient Pre-treatment for Energy Recovery Before Their Bioconversion into Methane. *Bioenerg. Res.* 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12155-024-10724-9>
- Bakari, H., Djomdi, D., Zieba Falama, R., Djouldé Darnan, R., Audonnet, F., Fontanille, P., Delattre, C., Pierre, G., Dubessay, P., Michaud, P., Christophe, G., 2023. Optimization of energy recovery efficiency from sweet sorghum stems by ethanol and methane fermentation processes coupling. *Bioengineered* 14, 228–244. <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2234135>
- Bakari, H., Djomdi, Falama Ruben, Z., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M., Gwendoline, C., 2023. Optimization of Bioethanol Production after Enzymatic Treatment of Sweet Sorghum Stalks. *Waste Biomass Valor* 14, 2531–2545. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-02026-y>
- Bakari, H., Djomdi, Ruben, Z.F., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M., Gwendoline, C., 2023. Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and Its Main Parts (By-Products) as Promising Sustainable Sources of Value-Added Ingredients. *Waste Biomass Valor* 14, 1023–1044. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01992-7>

Annexe 2 : Liste des communications scientifiques

- Bakari, H., Djomdi, D., Ruben, Z.F., Roger, D.D., Fabrice, A., Pierre, F., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M. Gwendoline, C., 14-17 May 2023. Optimization of Energy Bioconversion Yield from Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Stalks. 4th International Conference of Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts & Environmental Sustainability, BIORESTEC 2023, Lake Garda, Italy.
- Bakari, H., Djomdi, D., Ruben, Z.F., Roger, D.D., Pierre, F., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M. Gwendoline, C., 17-18 September 2022. Optimization of Energy Recovery Efficiency from Sweet Sorghum Stems by Ethanol and Methane Fermentation Processes Coupling. International Symposium of Chemical Engineering and Materials, SICHEM 2022, ISSN 2537-2254, Bucharest, Romania.
- Bakari, H., Djomdi, D., Ruben, Z.F., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M. Gwendoline, C., 24 Novembre 2022. Optimisation de procédés de bioconversion énergétique des tiges de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sucré. Journée Scientifique du Comité de Développement du Génie des Procédés en Rhône-Alpes Auvergne, CODEGEPRA – SFGP Sud-Est, Bourget du Lac, France.
- Bakari, H., Djomdi, D., Ruben, Z.F., Roger, D.D., Cedric, D., Guillaume, P., Pascal, D., Philippe, M. Gwendoline, C., 18-19 May 2022. Production of 2G Bioethanol from Northern Cameroon's Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Stalks. Journée des Ecoles Doctorales SVSAE, JED SVSAE 2022, Clermont – Ferrand, France.

Annexe 3 : Publication revue de synthèse bibliographique



Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and Its Main Parts (By-Products) as Promising Sustainable Sources of Value-Added Ingredients

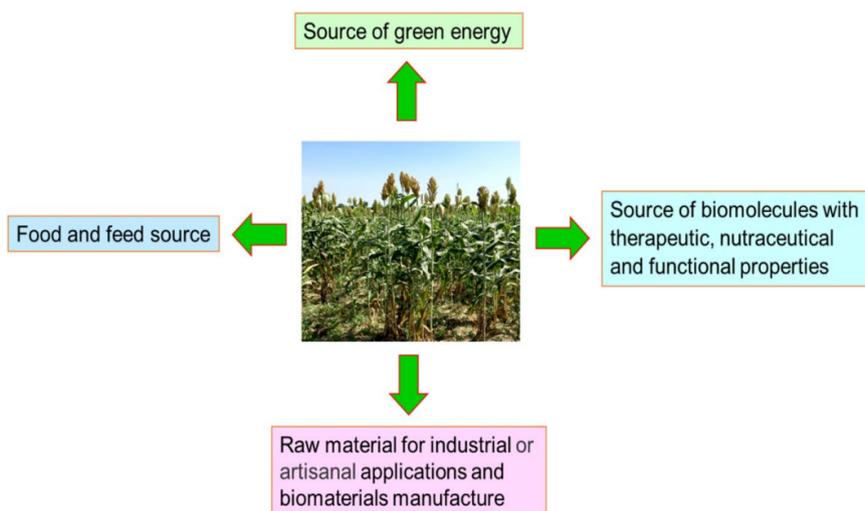
Hamadou Bakari^{1,2,3} · Djomdi² · Zieba Falama Ruben^{1,4} · Djouldé Darnan Roger² · Delattre Cedric³ · Pierre Guillaume³ · Dubessay Pascal³ · Michaud Philippe³ · Christophe Gwendoline³

Received: 29 July 2022 / Accepted: 20 November 2022
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

Abstract

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is a flowering plant in the grass family (Poaceae) characterized by a great genotypic and phenotypic diversity, making it a cereal species of major interest cultivated in warm climate worldwide. Fifth most cultivated cereal in the world and second in Africa, sorghum is the main cultivated species in the Sahelian zone. In 2020, its world and African estimated production were 58.7 and 27.5 million tonnes over an area of 40.3 and 27.3 million hectares, respectively. Primarily cultivated for its seeds, fodder, sugar and fiber, or for bioenergy production, sorghum is a staple food for millions of people. Its polymorphism gives it a versatile, multifunctional character and allows it to combine different food, energy and industrial uses. Mainly studied as a feedstock for the production of several chemicals and biofuels including bioethanol, biomethane, biohydrogen, biolipids, butyric and lactic acids, 1-butanol, acetone-butanol etc. and for electrical energy production in microbial fuel cells. The processes for exploiting the various components (starchy grains, lignocellulosic biomass and sweet juice extracted from the stem) of this plant generate a large quantity of by-products which are valued in many fields of application. Mainly as source of food and feed, biomolecules with therapeutic, nutraceutical and functional properties and for industrial or artisanal applications and biomaterials. The world population increasing combined with the decrease of biomass resources, due to the effects of climate change, imposed a reconsideration of the potential of the entire value chain of this crop. The present review focused on the biochemical composition of sorghum and its use as food but also as a source of valuable by-products.

Graphical Abstract



Keywords Sorghum · By-products · Food · Energy recovery

Extended author information available on the last page of the article

Statement of Novelty

This review demonstrates the resilient potential of sorghum for multiple uses in a current context marked by the natural resources depletion, concern about global warming and food and energy security. The relevance of exploring and exploiting the sorghum genetic diversity is related to the fact that it combines both the starch storage in the seeds and a large quantity of carbohydrate's accumulation in their juicy stems as well its resistance to extreme agronomic conditions. The production and exploitation value chain of sorghum around the world generates enormous quantities of by-products with various compositions. The recovery of this biomass makes the sector economically and ecologically more profitable and much more attractive compared to other crops. It is assumed that, sorghum currently ranks fifth among cereals after wheat, maize, rice and barley, but its versatility and multifunctional character places it as a crop that will prosper in the near future for sustainable development.

Introduction

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is an important cereal grass used as a staple food for humans and animals in Africa, Asia, Australia and Central America [1]. Sorghum is an important resource of minerals, vitamins, proteins, antioxidants and starch [2]. In terms of production and plantation area, sorghum grain is considered the fifth most important cereal after wheat, maize, rice and barley [3]. Grown on an average area of 43.2 million hectares worldwide (period 1998–2020), the global production of sorghum varies between 58 and 64 million tonnes per year [4, 5]. In sub-Saharan Africa, it ranks second after maize, with an estimated production of 27.5 million tonnes in 2020, over an area of 27.3 million hectares, i.e. 67.8% of the world's average planted area [5]. This popularity of sorghum is due to its resistance to drought, its low input requirement, its hardiness [6–8], its high yield in biomass [9, 10] and various applications in the economy. Its culture and production system are also well understood. Sorghum also has a very high genetic diversity characterized by adaptability to a wide range of environmental conditions with the ability to grow in temperate and tropical climates and to resist saline and alkaline soils, thus offering the possibility to be grown in marginal or semi-arid areas. Global population growth combined with the policy of some developing countries to develop the industrial exploitation of sorghum grains (brewing) have led to an increase in demand for sorghum throughout the world and particularly in Africa. Moreover, the reduction of natural

resources imposes the absolute necessity of valuing agricultural by-products in order to improve the global economy. To this end, sorghum combining both starchy grains and high sugar contents stems has interesting potential making it a top candidate feedstock source. Indeed, sorghum has a very high green biomass yield estimated between 20 and 120 tonnes/ha, depending on the growing conditions and the botanical characteristics of the plant material [11]. The primary valorization of this biomass presents a significant by-product potential, still recoverable in various forms of value-added products. Compared to plants that produce lignocellulosic biomass, sorghum, which photosynthesizes in C₄, is notoriously interesting for the size and speed of its vegetative growth [12]. This unique resilient and versatile plant offers a wide range of food and feed applications [13–15], industrial or artisanal [16, 17] and energy [18, 19] applications as well as for biomaterials manufacture. Traditionally, sorghum has a multitude variety of uses. In human food all parts of sorghum (grains, sweet and juicy stems) are used in the composition of various forms of food including couscous, porridge, donuts, pasta, cakes, breads, alcoholic drinks, food syrups or crystallisable sugar etc. [20, 21]. Regular consumption of sorghum grains has many health benefits due to its strong antioxidant activity, cholesterol-lowering, anti-inflammatory and anticancer properties, its potential to reduce the risk of cardiovascular disease, certain types of cancer and type II diabetes [22]. Its low gluten content makes it a particularly interesting food for people who are allergic to it [23, 24]. Sorghum stems, leaves and rachis are also used as a material for dwellings and broom making. In animal feed sorghum is a source of starch, carbohydrates, polyunsaturated fats (PUFAs), amino acids, minerals, vitamins and certain essential amino acids [25–27]. Sorghum and its co-products have been also considered as a source of nutraceuticals and functional, due to the phenolic properties of their compounds [28], which also act as antioxidants and chemopreventive agents [29]. Sorghum stems are lignocellulosic biomass mainly composed of cellulose, hemicelluloses and lignin [30, 31]. It can be used as feedstock for high added-value products manufacturing such as bioplastics and bio-composites [32, 33], biodegradable films [34, 35] or for manufacturing of furfuraldehyde, used in lubricants, adhesives, and nylon [8, 36]. The main free and water-soluble sugars contained sorghum stems are sucrose, glucose and fructose, in varying proportions depending on the sorghum varieties [37, 38]. These soluble sugars are often recovered for the production of energy vector biomolecules such as bioethanol, biomethane, biohydrogen, biolipids, and for electrical energy production in microbial fuel cells. The food exploitation (of the seeds) of this cereal grass generates important by-products which are valued in various forms and presenting innovative and best perspectives for future sustainable development that the present work strives to identify.

Sorghum Resource

Morphology

Sorghum is an annual plant that is characterized by a cylindrical, straight, sturdy, full stem that ends in a large, branched or compact inflorescence called a panicle. The general morphology of a mature cultivated sorghum plant is shown in Fig. 1. The plant has a main stem. This can have a number of secondary stems starting from its base, called basal tillers. Each stem is made up of a stack of identical morphological units called a phytomer [39]. The phytomer consists of a leaf, a node with an axillary bud and an internode developed below the node. For a given stem, the phytomers are emitted successively by the apical meristem, a zone of cell division and differentiation located at the tip of the stem. Sorghum typically consists of around 75% stem, 10% leaves, 5% seeds and 10% roots by weight [40]. This composition varies according to varieties, cultivars and growing conditions. The raw composition of sorghum has been reported as 37.28% juice, 36.01% bagasse, 19.14% leaves and 7.58% tassel on a wet basis [41]. The height of the stem in cultivated sorghum varieties ranges from 50 cm at maturity for the shortest up to 5 to 7 m with 4 cm in diameter for the tallest [39, 42]. The size of the leaves increases with their row on the stem to a maximum and then decreases steadily for the 4 to 6 terminal leaves. Leaf's size also varies depending on the variety and growing

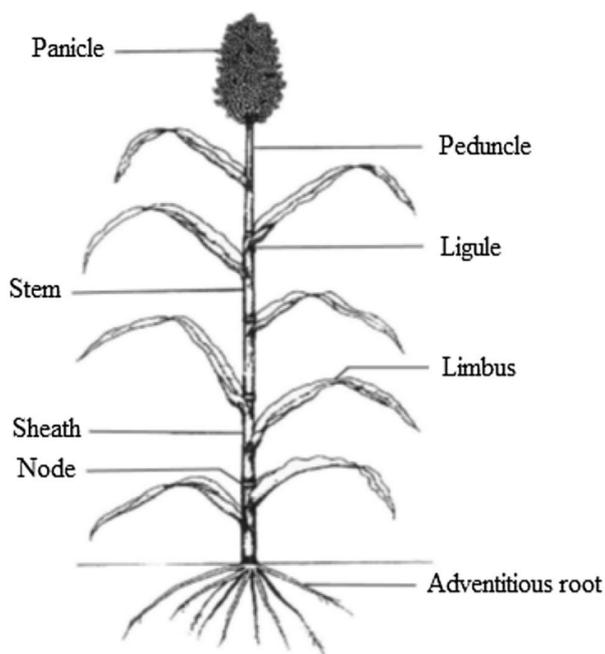


Fig. 1 Diagram of a sorghum plant with a single main stem [44]

conditions. Thus, the length of the leaves varies from 30 to 135 cm and the width from 1.5 to 13 cm [39]. The roots are adventitious fasciculate and originate on the very short internodes at the base of the stems. They are 25 to 30 cm long and form a very important hair. Some of them are able to quickly descend to a depth of 2 cm to extract water and minerals. This characteristic gives to sorghum its quality of hardness and drought resistance. This architectural description was also made in 2012 by Whitfield and some authors [43] who grouped sorghum into three important varieties. The first variety is grain sorghum which is three to six feet in height (0.9 to 1.8 m) and which produces large ears used primarily for food. The second variety is sweet sorghum having a height which generally ranges from eight to twenty feet (2.4 to 6 m). This variety has thicker and fleshier stems than those of grain sorghum but with smaller ears. The third variety is forage type and is similar to the sweet variety, but the plants are generally smaller and have lower levels of water and sugars [43].

Origin and Distribution

Common sorghum (*Sorghum bicolor*) is a cereal and fodder grass of African origin [42, 45, 46]. More precisely, it would come from the border region between the Ethiopia and Sudan [47, 48]. It is one of the oldest cultivated species in the world even if the time of its domestication remains unclear. It would have been domesticated about 6000 years before Jesus Christ, in North-East Africa, between Sudan and Ethiopia, on the Southern edge of the Sahara, where the oldest archaeological remains have been found [49]. It is currently cultivated almost everywhere in the world thanks to genetic advances. Sorghum is assumed to have reached Asia around the third millennium BC with inter-continental migrations. It reached Europe in Roman times (753 BC), then America in the sixteenth century [50]. In addition, sorghum has agronomic characteristics suitable for hot and dry climates as well as tropical and temperate climates. Sorghum is cultivated in all continents as shown in Fig. 2.

Taxonomy

From its scientific name *Sorghum bicolor* L. Moench, sorghum is a cereal grass belonging to the family of *Poaceae* (formerly Grasses), subfamily of *Panicoideae*, tribe of *Andropogoneae* and of *Sorghum* genus [48]. Sorghum is a monoecious species which is preferentially self-pollinating. The *Sorghum* genus comprises 20 to 30 species [52] and most cultivated sorghum varieties belong to the *sorghum bicolor* species. This species exhibits very high genotypic and phenotypic variability [42, 53]. In addition to the variations in size at maturity, the *Sorghum* genus is characterized by an extraordinary polymorphism. The color of the

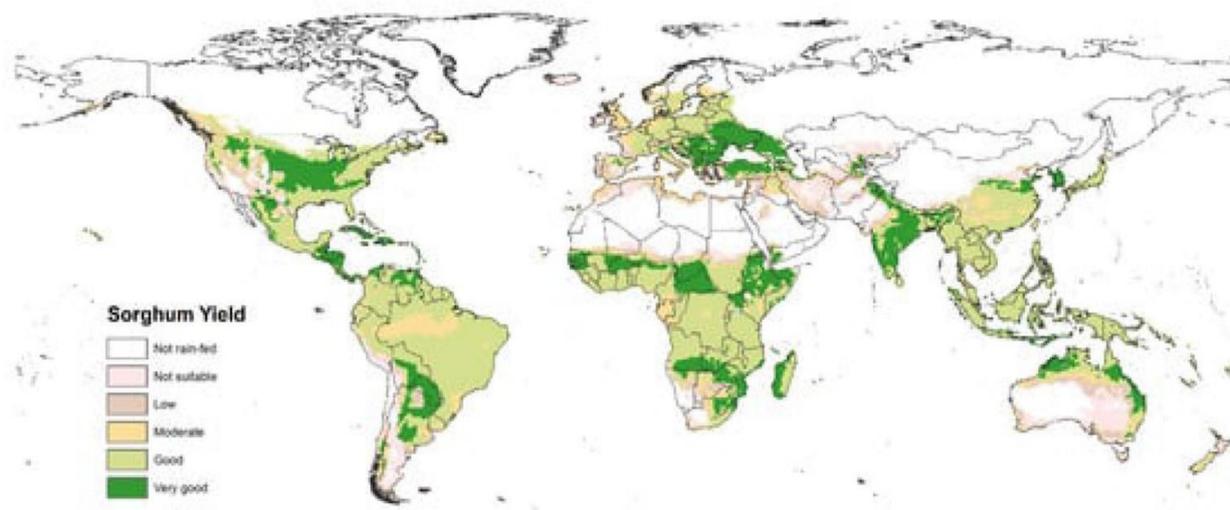


Fig. 2 Spatial distribution of the sorghum cultivation area [51]

sorghum grain varies from white, pale yellow or pale orange, beige, red, to deep red-brown, passing through different shades of red and brown [54–57]. Figure 3 illustrates this phenotypic and genotypic diversity of sorghum grains.

Cultivated sorghum presents a great diversity of forms described by different botanical classifications. The first classification taking into account all wild and cultivated sorghums of the *Sorghum* genus was established by Snowden [58]. It defines two sub-genera or sections including a total of 52 species: 28 cultivated and 24 wild. According to the classification of Doggett [48], the *Sorghum* genus is divided into five sections. Among them is the Sorghum section, composed of two wild and perennial species, *S. pro-pinquum* and *S. halepense* as well as an annual species, *S.*

bicolor. The species *S. bicolor* is itself divided into three subspecies. The subspecies *S. bicolor* spp. *bicolor*, which includes cultivated sorghum in which five main races are distinguished, the subspecies *S. bicolor* spp. *drummondii* (weed sorghum) and the subspecies *S. bicolor* spp. *verticilliflorum* (wild sorghum). The most recent and widely used classification is that of Harlan and de Wet [47]. It is based on characteristics of the spikelets (glume and grain) and the shape of the panicles. Five basic breeds are distinguished, namely the *bicolor*, *guinea*, *caudatum*, *durra* and *kafir* races, as well as the 10 two-by-two combinations of these basic races (such as *durra-caudatum*, *kafir-caudatum* or *guinea-kafir* sorghums...). Table 1 presents the main identity characteristics of the basic sorghum breeds. *Bicolor* sorghum



Fig. 3 Illustration of the genotypic and phenotypic diversity of mature sorghum panicles (A) black (left), white (middle), and red (right) [57], Adapted from [25]; and different pigmentations of sorghum grains (B) [56]

Table 1 Main identity characteristics of sorghum breeds

Race	Glumes [39]	Grains [39]	Panicles [39]	Area of dominance [47, 65]
<i>Bicolor</i>	Long glumes covering $\frac{3}{4}$ or all of the grain	Weight of 1000 grains from 15 to 25 g	Loose panicles	African savannah, South East Asia
<i>Guinea</i>	Glumes usually long, open	Elliptical grains, more or less flattened dorso-ventrally, of variable size	Loose panicles semi-loose, often long with drooping part	West Africa Savannah, India, South East Asia
<i>Caudatum</i>	Short glumes adhering to the grain by covering it partially	Unsymmetrical grains, medium to large	Compact panicles semi-compact, trendy shape fusoid	Tropical Africa
<i>Durra</i>	Short glumes adhering to the grain by covering it partially	Grains more or less spherical, sized variable but most often fat to very big	Compact panicles to semi-compact often worn by a crossed peduncle	Near East and India
<i>Kafir</i>	Short glumes adhering to the grain by covering it partially	Elliptical grains, medium sized, 1000 grain weight from 20 to 35 g	Panicles moderately compact, often long and cylindrical	Africa, South of Equator

varieties often have a sweet stalk. In addition, these present specific types such as broom, paper or fodder sorghums [39]. For this, another fully functional classification exists, it classifies the varieties according to their main use (grain, fodder, sweet or biomass sorghum). Sweet-stemmed sorghum varieties, mainly of the *bicolor* race [47, 59–61], group together different ecotypes whose common characteristic is accumulation of significant amounts of carbohydrates in their juicy stems [62, 63]. These varieties, called sweet sorghums, were historically determined respectively as *Holcus saccharatus* (L.), *Andropogon saccharatus* (R.) and *Sorghum saccharatum* (Pers.) at the end of the nineteenth century, before finally being classified within *S. bicolor* [64]. There are approximately 4000 cultivars of sweet sorghum distributed throughout the world.

Production and Cultivation Requirements

Sorghum has an African origin but its great genetic and phenotypic diversity makes it a species of major interest cultivated around the world [64]. Indeed, common sorghum (*Sorghum bicolor*) ranks fifth in the world among cereals after wheat, rice, maize and barley with a production varying between 58 and 64 million tonnes per year [4, 5] on an average area of 43.2 million hectares (period 1998–2020), that is 6.4% of total cereal area and 2.7% of cereal production. In sub-Saharan Africa, it ranks second after maize, with an estimated production of 27.5 million tonnes in 2020, on an area of 27.3 million hectares, that is 67.8% of global average areas devoted to this cereal [5] and it is the most cultivated species in the Sahelian zone. In Africa, the areas of significant cultivation are in the belt stretching from the Atlantic to Ethiopia and Somalia [50]. The production yields in 2020 were estimated at 1458.5 kg/ha and 1006.4 kg/ha respectively in the world and in Africa [5]. These figures cover significant disparities between the different producing

countries. For example, in 2020, the yields were: 4594.6 kg/ha for the United States, 989.1 kg/ha for Bourkina Fasso, 3150.1 kg/ha for Brazil, 1690.2 kg/ha for Cameroon and 4579.2 kg/ha for France. These differences are mainly linked to agro-ecological constraints, levels of intensification, and the botanical characteristics of the plant material in the different growing areas. Sorghum has a very high yield of green biomass estimated between 20 and 120 tonnes/ha depending on the growing conditions and the botanical characteristics of the plant material [11]. For the sweet sorghum variety, for example, yields vary from 32 to 112 tonnes/ha (fresh biomass) and from 15 to 25 tonnes/ha (dry biomass), depending on the cultivar, climate, locality and cultivation practices [66]. In Africa sorghum is grown in a diverse range of environments from the north to the south of the continent. Sorghum, however, is grown mainly in West Africa, Northern Central Africa and East Africa. Table 2 presents the productions and production yields of sorghum in certain regions of the world.

Sorghums are drought and heat resistant [67–70]. They require few inputs and have relatively short cultivation cycles (3–4 months) compared to sugar cane (>9 months). They present a very important genetic diversity offering possibilities of adaptation to temperate and tropical climates. Sorghum requires less fertilizers, the necessary inputs of nitrogen (N) for example are much lower than those of most intensive crops such as maize for an equivalent yield [71, 72]. Given its short cycle (4 months), it is quite possible in areas where rainfall and meteorological conditions allow it, to carry out two harvests per year [73]. Sorghum requires much less water, its consumption is around 8000 m³/ha harvested, that is about a quarter of the water used by sugar cane and almost half of the water used by maize for an equivalent yield [42, 71, 74, 75]. The optimum ranges of rainfall for growing sorghum vary from 400 to 800 mm and those for relative humidity from 15 to 50% [39, 76]. Sorghum can be

Table 2 Sorghum production, cultivated areas and production yields in the world. Source [5, 51]

Region	Years														
	1990			2000			2010			2015			2020		
	P	A	Y	P	A	Y	P	A	Y	P	A	Y	P	A	Y
World	56.8	41.6	1.4	55.8	41.1	1.3	60.2	42.2	1.4	66.0	41.6	1.6	58.7	40.3	1.5
Africa	11.9	16.4	0.7	18.4	21.1	0.9	25.0	26.1	0.9	26.2	25.8	1.0	27.5	27.3	1.0
Americas	22.6	7.3	3.4	23.2	7.0	3.3	22.5	5.9	3.8	27.4	7.0	3.9	20.3	5.5	3.7
Asia	18.6	17.2	1.0	11.3	11.9	0.9	10.4	9.4	1.0	9.2	7.7	1.2	9.2	6.9	1.3
Europe	0.6	0.3	2.5	0.8	0.2	3.3	0.7	0.1	4.5	1.1	0.3	3.2	1.3	0.3	4.0
Australia & New Zealand	0.9	0.4	2.5	2.1	0.6	3.4	1.5	0.5	3.0	2.2	0.7	3.0	0.4	0.2	1.9

With, *P* production in millions of tonnes, *A* area in million hectares, *Y* yield in tonnes/ha

grown in a temperature ranging from 11 to 42 °C with an optimum temperature for growth and photosynthesis of 32 to 34 °C. Sorghum does not have any particular requirement in terms of soils. However, the best yields are obtained on deep or sandy clay soils, a little humus, with a slightly acidic pH and containing nitrogen and potash [46, 77].

Operating Processes and Associated By-Products

Sorghum has a wide variety of uses, whether in human food (flour, semolina, drinks, etc.), in animal feed (grain sorghum, fodder sorghum, silage), in agro-energy (sweet sorghum, biomass sorghum) or even in agromaterials (sorghum fiber) [39, 77, 78].

Harvesting sorghum is one of the operating processes that generates significant by-products, the importance of which varies depending on the sorghum breed, variety and growing conditions. Leaves, stems, shelled panicles and regrowth are the main post-harvest residues of sorghum cultivation. In Africa, they are little or even not valued, most often left on the plot, and are generally used as fruitless pasture in situ, for cattle, goats and horses. This, therefore results in a loss of resources by trampling, because the uncrushed dry stems have a low palatability and are little valued [79]. They are often burnt during the soil preparation for the next sowing and contribute to its organic fertilization. The stems and leaves are also used as a material for dwellings; the very long and loose rachis of broom sorghum is used for broom making. For example, sorghum crop residues generate 2–3 million tonnes of lignocellulosic biomass waste every year in Nigeria. Less than 40% of this biomass is used as feed for livestock and as a thatch cover, while more than 60% is abandoned and burnt in the fields, which accentuates environmental degradation and health risks [80, 81].

The high phenotypic and genotypic variability in sorghum allows its use in various fields. Thus, varieties with

sweet stems are used as a candy where they are chewed after removing the lignified epidermis [48, 82]. The stalks of these same varieties are also used to extract sorghum juice, which can be used for the production of bio-fuels, food syrups or crystallisable sugar, depending on the juice sugar content [20]. The fiber residues obtained after pressing constitute the bagasse which can potentially be upgraded in several ways, in particular for the production of energy vectors such as bioethanol [83], hydrogen and methane [84], steam or electricity [85]. It can also be used as fodder, green fertilizer or to manufacture biodegradable food packaging [64]. The process of producing crystallized sugar from the filtered and concentrated juice also generates a by-product called molasses, whose fermentation by yeasts, then distillation and dehydration lead to the production of ethanol.

Sorghum is the staple cereal for many populations in the dry tropics of Africa, Asia and Central America where most of the production is self-consumed [20]. Its low gluten content makes it a particularly interesting food for people who are allergic to it [23, 24]. In Sudano-Sahelian Africa, sorghum seeds are used in preparations in whole form or, more often, after dehulling and milling operations. The flour obtained is used in the composition of various forms of food, including thick pasta, thick porridge such as *tô* from West Africa (Burkina Faso and Mali), fermented cakes such as *kisra* from Sudan and the Chad *kissar*, unleavened breads, couscous, donuts, etc. [20, 21]. Sorghum is sometimes used in the manufacture of infant flours, foods given to children from the age of four to six months in addition to breast milk. These flours are made from roasted grains such as corn (46%), sorghum (21%), soy (18%) to which 8% sugar and 7% powdered milk are added [39]. The sorghum grain transformation processes (shelling, milling, sifting, etc.) for human consumption also generate valuable by-products, mainly bran and residues from shelling and sifting operations.

Sorghum flour can also be used in the composition of beverages, mainly craft beers in Africa and a kind of wine (*baijiu*) in China. Making beers from sorghum is a common

tradition in most producing regions. In Africa, we find *dolo* from Burkina Faso, *tchapalo* from Benin, *bilbil* from Cameroon, *ikigage* from Rwanda, *impeke* from Burundi, *pito* from Nigeria or *kaffir* beer from South Africa [39]. After distillation, the residue from processing sorghum into beer is in the form of dry seeds, called spent grains. These can be used as feed for livestock.

In urban areas, industries use sorghum grain base products (flour and semolina) in simple form or mixed with other cereals, for the manufacture of various products: breads, cookies, pasta, beers, etc.

Biochemical Composition of By-Products and Their Food, Technological and Functional Interests: Valuation in Human Food

Biochemical Composition of the Stems

Sorghum stems are lignocellulosic biomass made up of a central part of medullary parenchyma often called the pith, and a peripheral lignin-rich area called the bark. The dry matter content of the stem represents on average 30% of its fresh mass [69, 86]. The moisture content is higher in the pith (77%) than in the bark (56%) on a wet basis [87, 88]. It is mainly composed of cellulose (30 to 45% dry mass), hemicelluloses (16 to 30% dry mass) and lignin (15 to 20% dry

mass) [30, 31]. Cellulose and hemicelluloses are complex structural sugars made up of β -(1,4)-D-glucans chains and are much more concentrated in the marrow. Hemicellulose consists of polysaccharides chains known as xylans which are made up of xylose units linked together by a β -(1,4) bond. It can be used as raw material for high added-value products manufacturing such as biodegradable films [34, 35]. When hydrolyzed, xylans result in xylose oligomers called xylooligosaccharides [89] which can be valued in human and animal food, for ethanol production or for manufacturing of furfuraldehyde, used in lubricants, adhesives, and nylon [8, 36]. Lignin, a phenolic polymer, concentrates in the bark and forms a matrix around celluloses and hemicelluloses and increases the resistance of the stem (Fig. 4). It is an amorphous polymer formed mainly of phenylpropane units linked by C–O–C and C–C bonds. Unlike cellulose, lignin does not consist of a single repeating monomer, but has several substituted phenolic units.

Soluble sugars, mainly hexoses (glucose, fructose) and sucrose are stored in the marrow and represent another important part of the content of an internode (5 to 50% of its dry biomass depending on the genotype and the environment). These free and soluble sugars, contained in the stem in the form of juice, often in large quantities for sweet sorghum varieties, are easily extractable. The main sugars contained in this juice are sucrose, glucose and fructose, in varying proportions depending on the agronomic conditions and sorghum varieties [37, 38]. The chemical composition

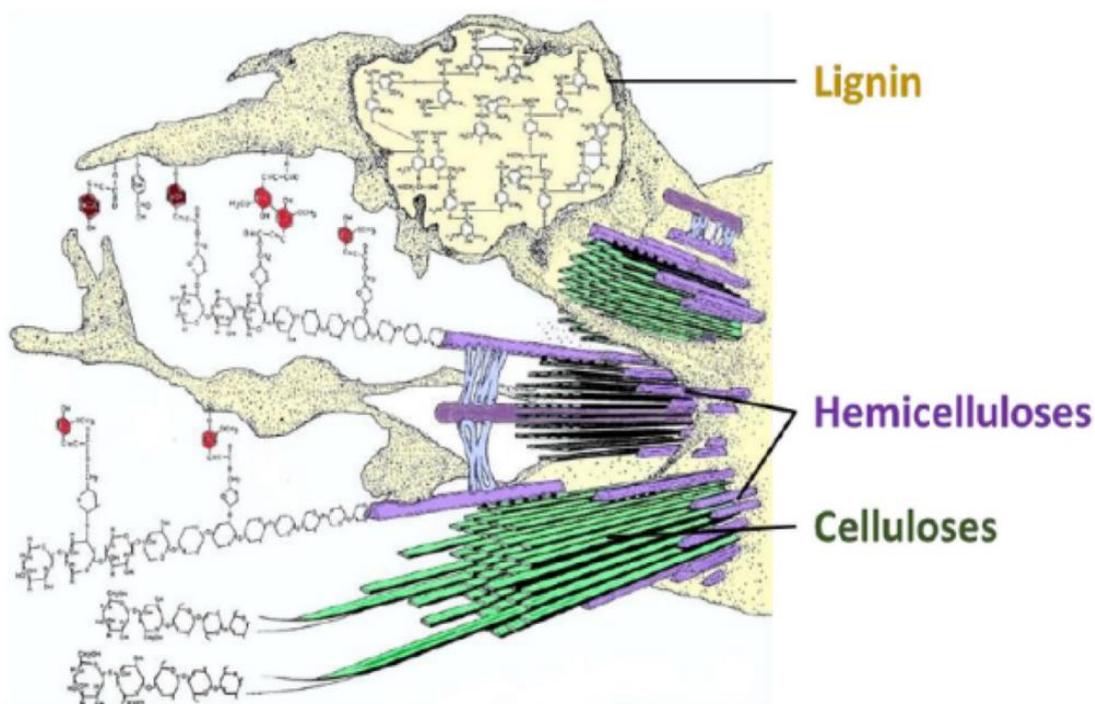


Fig. 4 Illustration of the molecular structure of the structural sugar fibers encompassed by the lignin polymer [90]

of sweet sorghum (leafless) stalk, bark and pith is shown in Table 3.

Techniques and Technologies for Extracting Juice from the Stems

Mechanical pressing and diffusion are the techniques used to extract free sugars from the stem of sweet sorghum. However, before the extraction operation, a biomass pretreatment is necessary in order to improve the sap extraction efficiency. The way the stems are chopped, cut, with or without the leaves, the separation of the pith and bark, as well as the time between harvesting and pressing have an impact on the juice extraction yield [95, 96]. Pressing only the pith contained in the stem of sweet sorghum is more efficient in terms of sap extraction than pressing the entire stem [97]. However, the separation of the stem from the leaves brings one more step that can compromise energy yield in addition to taking more time [98]. The standard process for extracting sugar from sorghum can be likened to that of cane and beet sugar. In the literature, it is possible to distinguish four main types of presses used for pressing sweet sorghum, namely screw presses, roller presses, belt presses and hydraulic presses [94]. Hydraulic roller press technology or cylindrical mills, used in the sugar industries, is often used to extract sugar from sorghum. The percentage of sap extracted depends on the speed of the press, the moisture content of the biomass as well as the various adjustments of the press. But this

process is slow, laborious, and less efficient, with sap extraction yields ranging from 30 to 60% of the initial mass [18, 43, 99, 100]. This low juice extraction yield could be attributed to the relatively high fiber content of the stems of sweet sorghum compared to sugar cane [101]. Another disadvantage associated with the grinding process is the loss of sugar due to microbial activities [43, 74]. For this reason, several research works have been carried out to further improve this technology and make it more economical. The development of a series of roller mills in tandem with a counter-current flow of the juice to leach the soluble materials has made it possible to achieve a sugar extraction yield of around 87% [101]. The development of an extraction method (Fig. 5) with double chopping which made it possible to obtain a juice containing more than 80% of sugars initially present in the sorghum stems with a bagasse containing 40% moisture [102]. A comparative study between screw and hydraulic press was also carried out by Crépeau et al. [103]. To this end, the screw press was more efficient than the hydraulic one from the point of view of the juice extraction rate but nevertheless required a stage of filtration of the juice, since it contains more residues than that obtained with the hydraulic press. Other experiments have also been carried out to improve the extraction of sugars from the sweet sorghum stems by adding water to bagasse. For this purpose, several parameters were taken into consideration, namely the size of the rods, the solid/liquid ratio (g of rods/mL of water added) and the incubation temperature with stirring after adding

Table 3 Chemical composition of sweet sorghum stalk (without leaves), pith and bark

References	Structural composition of biomass in (%) DM				
	Stem stripped			Marrow	Bark
	[78]	[91]	[92]		
Cellulose	12.4	20.1–26.1	21.9–35.6	8.7	19.2
Hemicellulose	10.2	11.7–17.2	21.2–41.2	6.3	17.5
Lignin	4.8	5.1–11.3	18.2–21.5	0.6	8.8
Sucrose	55	9.6–17.6	–	67.4	32.2
Glucose	3.2	0.6–1.6	–	3.7	2.4
Fructose	–	0.3–1.0	–	–	–
Ash	0.3	–	–	0.2	0.5
	Biomass sugar content (g/kg DM)				
	[88]	[93, 94]	[46]	[88]	
Total sugars	497.8	56.4–104.7	249.3–256.1	376.3	
Soluble sugars	176.5	–	–	228.7	
Reducing sugars	41.9	–	–	55.4	
Fructose	–	20.4–32.1	70.7–76.4	–	
Glucose	–	25.2–39.1	65.4–71.8	–	
Sucrose	–	2.4–34.9	107.9–107.9	–	

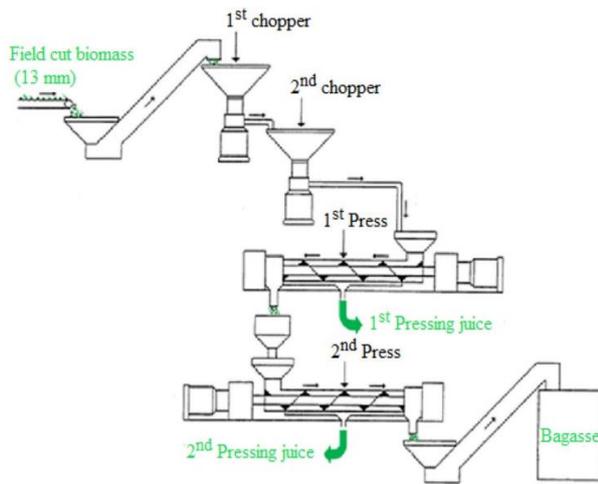


Fig. 5 Process of extracting juice from sweet sorghum [102]

water [104]. The results showed that very fine grinding, an incubation temperature of 30 °C and a solid/liquid ratio of 0.6 g/mL are the most favourable conditions for extracting the maximum amount of sugars. Under these conditions, the first pressing cycle extracts up to 90% of the sugars while after the second pressing, 99% of the sugars are extracted [104]. A similar study was also carried out by Djomdi et al. [88]. They indicated that a solid/liquid ratio of 1/1, a temperature of 45 °C and a duration of 30 min of bagasse impregnation, were the most optimal conditions for maximum and efficient extraction for both soluble and reducing sugars. These conditions made it possible to obtain extraction rates evaluated on average at 59.54 and 82.42%, respectively for the soluble sugars and the residual reducing sugars contained in the bagasse from the first pressing.

Diffusion is also one of the techniques used to extract juice from sorghum stems. It is an operation of transferring soluble compounds from the raw material to a solvent, mainly water. It is defined as “the net transfer of matter from a region of high concentration to one of low concentration” which is due to thermal molecular movement until a state of equilibrium is reached [105]. In order to facilitate the extraction of the juice, the biomass is cut and crushed into fine particles of uniform sizes, then crossed by hot water (70–80 °C) counter-current circulating, where the soluble matter of the juice of the rod passes in solution through the wall of the particles according to the laws of diffusion [106]. Sugar are driven (transfer) by the concentration gradient from the high concentration region to the low concentration one according to Fick's diffusion law [105, 107, 108].

Diffusion, which is a natural phenomenon tending to re-establish equilibrium as soon as there is a concentration gradient, obeys to Fick's law [Eqs. (1) and (2)] according to which the quantity of substance which diffuses per unit time

is proportional to the concentration gradient, direction and diffusion direction [109].

$$\frac{d_q}{dt} = -D \cdot S \cdot \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

where $\frac{d_q}{dt}$ is the mass of the matter which diffuses per unit of time; D the diffusion coefficient; S the surface through which the diffusion takes place and dC , the concentration gradient.

If C_1 is the concentration inside the cell, C_2 the concentration of the water surrounding the biomass particle, and K_e the extraction coefficient (which includes diffusion, surface area and particle thickness), the extraction rate is expressed (variation of concentration as a function of time) by:

$$\frac{dC_1}{dt} = -K_e \cdot (C_1 - C_2) \quad (2)$$

The extraction progress η_L is obtained by integrating Eq. (2). It is given by:

$$\eta_L = \frac{C_1 - C_{2,0}}{C_i - C_{2,0}} = \exp(-K_e \cdot t) \quad (3)$$

With, C_i the initial sugar concentration of the biomass and $C_{2,0}$ that of the extraction water.

There are four types of diffusers: the horizontal rotating tube diffuser, the carpet diffuser, the screw diffuser and the tower diffuser. In general, the diffusion method is the more efficient because it provides a very high extraction yield, estimated at around 98.8% [106]. The diffusion system is also more energy efficient and requires less maintenance and low capital costs due to the lack of excessive pressure and the shear forces of the roller mills [110]. Diffusion plants typically include dewatering mills that use about half the power required in an energy-intensive hammer mill [111].

Dietary Benefits of Biochemical Elements: Valuation in Human Food

The food valuation of sorghum stalks mainly concerns sweet sorghum varieties. This variety, grouping together different ecotypes, is characterized by the accumulation of large amounts of non-structural free sugars in their juicy stems [62, 63]. These free sugars are extracted in the form of juice and consumed in various forms (used to produce sugar, syrup or fermented into food ethanol). The main sugars contained in this juice are sucrose, glucose and fructose, in varying proportions depending on the sorghum varieties [37, 38]. The average composition of the fermentable juice of sweet sorghum is 53–58% sucrose, 9–33% glucose and 6–21% fructose [112]. According to Saballos [11], the juice extracted from the stems is composed of 89% sucrose, 8% simple sugar (glucose and fructose) and 3% starch. Table 4

Table 4 Sweet sorghum stem juice sugar content

Concentration of sugars in g/L					
	[93]	[113]	[94]	[46]	[88]
Sucrose	1.36–66.55	2.2	66.6–79.8	30.54	71.40
Glucose	24.66–32.73	61.2	20.0–21.0	21.54	–
Fructose	19.91–26.80	36.9	16.1–17.9	15.99	–
Total soluble sugars	60.89–111.10	100.3	103.2–118.7	67.34	98.85

shows the concentrations of the different sugars in the juice extracted from the sweet sorghum varieties.

The juice rich in sugars obtained after pressing the stems successively undergoes filtration and concentration operations by boiling and gives a thick and viscous syrup that is consumed today to replace corn syrup, honey or maple syrup (Fig. 6) [11, 114]. This filtered juice, after concentration is also used for granulated sugar production. This operation also generates another by-product called molasses, whose fermentation by yeasts, then distillation and dehydration lead to the production of food ethanol [39]. The juice can also be fermented directly into food ethanol.

Chemical Composition of By-Products and Their Food Interests: Valuation in Animal Feed

Chemical Composition and Nutritional Value of Sorghum Grain Exploitation Residues

Sorghum grain residues from husking, milling and sieving operations (bran and semolina) have a chemical composition similar to that of grains. Several authors have studied the sorghum grain composition and its co-products and have indicated that it is a good source of energy, carbohydrates, polyunsaturated fats (PUFAs), amino acids, minerals, vitamins and certain essential amino acids [25–27]. The contents vary from 6.2 to 14.9% in proteins, 54.6% to 85.2% in carbohydrates, 1.3% to 10.5% in lipids, 0.9% to 4.2% in ash and 1.4% to 26.1% fiber. These variations would be related to grain genotypes, agronomic conditions, as well as certain characteristics specific to cultivars [57, 115]. As in all cereals, starch is the main storage form of carbohydrates in sorghum grain. Starch contents vary between 55.6 and 75.2%, with an average value of 69.5% [25, 39, 116]. The starch of albumen consists of 70–80% amylopectin and 30–20% amylose. The presence of non-starch polysaccharides (NSPs) in sorghum grains could suggest their potential ability to improve bowel function and lower cholesterol levels [117, 118]. Table 5 shows the chemical composition of sorghum grain. Sorghum also contains some of the essential and non-essential amino acids, mainly alanine (7.34–9.62 g/100 g), aspartic acid (4.83–7.06 g/100 g), glutamic acid (17.5–28.12 g/100 g), leucine (12.02–14.48 g/100 g), phenylalanine

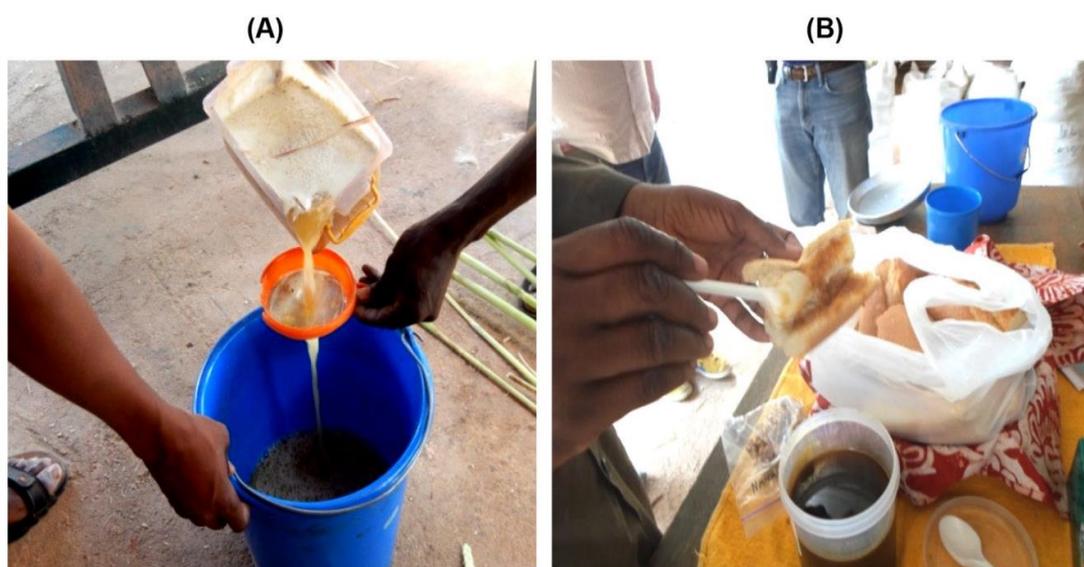
**Fig. 6** Sweet Stem Sorghum Juice extraction and filtration (A) and sorghum Syrup (B) [114]

Table 5 Chemical composition of sorghum grain

	Proximate composition (% DM)								
	[53]	[127]	[128]	[129]	[130]	[131]	[132]	[133]	[134]
Protein	4.4–21.1	9.10	9.35	8.90–11.02	10.21–13.45	6.23–13.81	10.48	8.9	4.27–6.06
Fat	2.1–7.6	3.10	3.35	2.30–2.80	2.84–3.02	5.12–10.54	2.97	3.7	6.72–9.26
Ashes	1.3–3.3	2.07	1.98	0.92–1.75	1.28–1.78	1.12–1.68	6.94	1.7	1.67–2.32
Crude fibers	1.0–3.4	2.86	2.25	1.40–2.70	1.72–2.02	1.65–7.94	2.01	1.2	1.45–2.41
Starch	55.6–75.2	76.51	72.41	70.65–76.20	72.44–77.28	65.16–76.28	61.24	73.50	70.55–73.53
amylose	21.2–30.2	–	–	–	–	–	–	–	–
Soluble sugars	0.7–4.2	–	–	–	–	–	–	–	–
Reducing sugars	0.05–0.53	–	–	–	–	–	–	–	–
Moisture	–	6.36	10.66	8.10–9.99	6.67–7.29	1.39–19.02	6.69	–	10.23 – 11.9
Energy (kcal/kg)	–	–	–	–	–	–	–	4120	4020 – 4275

(4.03–5.62 g/100 g), proline (6.66–12.34 g/100 g) and valine (4.22–6.86 g/100 g), but limited in lysine and tryptophan. It does, however, have benefits of bioactive peptides and protein fractions as well as cationic peroxidase, which exerts anti-cancer, antiviral, antioxidant, cholesterol-lowering and antihypertensive effects [119–122]. Sorghum contains fairly high levels of potassium (K) (900–6957.67 mg/kg), and phosphorus (P) (1498–3787.25 mg/kg), minerals known to aid muscle movement, keeping healthy nervous system and building strong bones and teeth. Sorghum is also a source of minerals such as Ca, Fe, Mg, Zn [123] and of B complex vitamins, fat soluble vitamins [124]. Sorghum and its co-products have been considered a source of nutraceuticals and functional due to the phenolic properties of their compounds [28], these compounds constitute one of the most important groups of natural antioxidants and chemopreventive agents [29]. Besides its strong antioxidant activity, sorghum grain also has good cholesterol-lowering, anti-inflammatory and anticancer properties. Regular consumption of sorghum grain is linked to the potential for reduced risk of cardiovascular disease, certain types of cancer and type II diabetes [22].

As with all cereals, the digestibility of sorghum grain varies enormously depending on the genetic makeup. Sorghum grain starch has the lowest digestibility among cereals, due to resistance to digestive enzymes in the hard peripheral layer of the endosperm [125]. However, low tannin varieties and cultivars appear to have the same digestibility as corn [126].

Nutritional Value of Sorghum Fodder and Silage

The nutritional value of forages and silages depends on the content and form of nutrients such as nitrogenous matter, neutral detergent insoluble fiber (NDF), acid detergent insoluble fiber (ADF), non-structural carbohydrate (NSC), fats and minerals [135]. The chemical composition

and nutritional value of sorghum forages and silages can vary depending on the sorghum variety, the agronomic conditions and the stage of development at harvest. Sorghum forages and silages are characterized by high sugar content, which could improve nitrogen use efficiency and increase production in cows [136]. The total nitrogen contents of forage sorghum vary from 6.2 to 13 g kg⁻¹ DM, relatively lower values compared to those of corn and alfalfa forages [137–139]. However, it has high NDF fiber contents which vary between 505 and 704 g kg⁻¹ DM, as well as ADF fibers which vary from 297 to 458 g kg⁻¹ DM [140]. Another essential indicator for assessing nutritional value is the estimation of the digestibility of nutrients in forages, such as in vitro digestibility of dry matter (IVDDM) and NDF fiber (IVDADF). Digestibility is often considered to be the best parameter for estimating the nutritional value of forage, since it is closely related to the proportion of energy available to the animal and therefore to animal performance [136]. The in vitro digestibility of the dry matter (IVDDM) of forage sorghum varies from 542 to 730 g kg⁻¹ DM and it is similar to that of sweet sorghum evaluated at 589 g kg⁻¹ DM [138, 140, 141]. The fiber contents of forage sorghum silage, estimated on average at 373 g kg⁻¹ DM and 626 g kg⁻¹ DM respectively for ADF and NDF are similar to those of sweet sorghum silage [140]. However, sweet sorghum silage exhibits lower lignin content, higher in vivo digestibility of NDF, and higher IVDDM than grain sorghum and brown vein sorghum silages [142]. The digestibility of the cellulose of fodder sorghum goes from 72% during bolting to 48% during flowering, then rises a little and stabilizes. The energy value of sorghum fodder varies from 4200 to 4300 kcal/kg DM and its protein intake varies between 58 and 67 g/kg DM [20]. Sorghum fodder is also a source of minerals such as Ca, P, in sufficient quantity to meet the ruminant needs and variable according to the sorghum varieties.

Food Interests of By-Products: Valuation in Animal Feed

This valuation covers all varieties of sorghum and concerns both by-products from the first processing of seeds and stems. In animal feed, because of their nutritional value and digestibility, fodder and silage are the staple food for their growth, metabolism and milk or meat production [135]. In addition to fodder varieties, grain sorghum crop residues such as stems, leaves, regrowths and shelled panicles, are crushed and often mixed with grain brans to serve as fodder, used in ruminant feed, especially cattle, sheep or goats [20, 79]. Bagasse, a residue resulting from the processes of extracting sugars from sorghum stems is also used as fodder (simple or mixed with bran) for feeding ruminants, having a higher biological value for animals than bagasse from sugar cane [74, 143]. For every 10 tonnes of crushed sweet sorghum, 5 to 6 tonnes of wet bagasse can be obtained [144]. The solid residue obtained from the fermenters after the production of ethanol is also a by-product, which can be used in animal feed.

The by-products of the first grain processing of sorghum (brans, semolina, grains) have better nutritional value, and are also used in animal feed, especially for monogastrics such as pigs and poultry feed [20, 39, 79]. Indeed, the bran of sorghum, the grain hulling operation by-product, mainly consists of the husks (pericarp and testa) rich in fiber, protein and minerals and germs (embryo and cotyledon or scutellum), rich in proteins, lipids, minerals and vitamins and representing 10 to 12% of the grain [39]. The major mineral elements in sorghum are P and K and are mostly concentrated in the peripheral layers of the grain and in the germ. According to Boudries Nadia [53], sorghum bran is low in protein and ash and high in fiber and the germ is high in ash, protein, oil and B-complex vitamins, but very low in starch. It also indicates that more than 68% of the total mineral matter and 75% of the oil of the whole grain is in the germ, of which the contribution to the protein content of the grain is only 15%.

Energy Recovery Techniques

Biochemical Process Energy Recovery of Sorghum Stems

Sorghum, a C₄ plant, is a unique and versatile sugar crop that can be separated into starchy grains, soluble sugar in the juice extracted from the stem and lignocellulosic biomass [12, 145]. All these components can be converted into ethanol with three main strategies [84, 101, 146].

Sweet sorghum stems are one of the most attractive biomasses used as a raw material for the production of 2G

bioethanol, an alternative source to 1G bioethanol produced from starch. The non-structural sugars contained in sorghum juice can be directly converted into bioethanol by anaerobic fermentation under the action of certain micro-organisms, such as *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* [74, 147–149]. The production yield of bioethanol from sweet sorghum juice varies from 85 to 93% [112, 148, 150]. To this end, several studies have been carried out with a view to improving the yield of ethanol production. For example, the co-fermentation of juice and starch from sorghum grains, improves ethanol yields by almost 30% while reducing the enzymatic hydrolysis time of starch by 30 min compared to the conventional method [150]. In addition, the bagasse obtained after juice extraction is also the raw material for the production of lignocellulosic bioethanol [39, 151, 152]. However, the conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol requires a preliminary delignification pretreatment to expose the cellulose and hemicellulose to hydrolysis. The main methods used can be classified into physical, chemical, physicochemical, thermal and biological pretreatments [153]. In general, the yield of bioethanol production from the stems of sweet sorghum, estimated on average at 6106 L/ha, is much higher than that of sugar cane (4680 L/ha) [154]. Several authors have also reported that the yield of bioethanol production from the stems of sweet sorghum evaluated between 1250 to 5625 L/ha, is equivalent to that obtained from 9000 to 11,250 kg of sorghum grain [155, 156]. The energy yield of upgrading sorghum stalks to ethanol is between 6500 to 8900 kJ/kg and 1400 to 2700 kJ/kg of dry and fresh sorghum biomass respectively (assuming the energy yield of ethanol is 26,500 kJ/kg) [157–159]. The major advantage of the valorization of sorghum stalks for the 2G bioethanol production, is that it does not or little compete for the food use of the grains, and moreover, it contributes to a greater reduction in greenhouse gas emissions (– 50% compared to conventional fuel and – 10% compared to 1G biofuel) [160, 161]. However, the short harvest period of the stems, combined with the extreme instability of the juice after extraction, constitute the greatest challenges to his use [150].

Biological Process Energy Recovery of Sorghum Stems

The energy recovery of lignocellulosic biomass by biological process has economic and environmental advantages over other technologies. Biomass can be converted into fuel gases, such as methane and hydrogen, which has recently been characterized as the fuel of the future [162]. However, a pretreatment step is also necessary to delignify the biomass before the production of CH₄ by anaerobic digestion or of H₂ during dark fermentation [163]. Chemical, physicochemical and biochemical conversions are the most promising

technologies for depolymerizing lignocellulosic biomass into fermentable sugars [164].

The anaerobic digestion process is based on the natural anaerobic degradation of biomass by micro-organisms, leading to the production of biogas with biomass gas yields of around 14,000 to 16,000 m³/ha for ensiled sorghum [39]. The methanogenic potential of sorghum stem varies according to its biochemical composition and its structure, and therefore its variety, its period or time of harvest, its growing conditions, etc. In a study involving 4 genotypes cultivated on 3 sites, it was shown that the impact of the genotype was 36% and that of the growing environment 34% on the methanogenic potential of sorghum [9]. With a C/N ratio estimated at 27.625 [165], the methanogenic potential of sorghum stem is estimated between 270 and 335 NmL_{CH₄}·gvs⁻¹ [166]. And that of sweet sorghum bagasse is 78 LCH₄/kg biomass [84]. Several studies have been carried out with a view to improve the yield of biogas production from sorghum stalks, in particular through pH stabilization techniques, adjustment of the C/N ratio, supply of mineral elements (Fe, Ni, Zn, Ca, etc.) by co-digestion. Zhang et al. [167] showed that the adjustment of the C/N ratio to 25 of the sorghum substrate, and its co-digestion with cow manure allows to obtain a production of around 478 L/kgvs, and an increase in biogas yield of around 26% compared to monodigestion of sorghum stalks. On the other hand, Kalamaras and Kotsopoulos [168] showed that the co-digestion of sorghum with bovine manure was similar to that of maize (267 and 241 LCH₄/kgvs, respectively).

Carbohydrates are the main sources of hydrogen during fermentation processes and therefore carbohydrate-rich agricultural residues such as sorghum stems can also be considered as potential sources of hydrogen [169, 170]. Microbial species of the genus *Clostridium sp.* which produce hydrogen by fermentation have a great affinity for the simple sugars (glucose, fructose, sucrose) contained in the stem juice of sorghum as well as for the complex sugars of sorghum bagasse (cellulose and hemicellulose) [171]. Besides the production by biophotolysis of water by cyanobacteria and algae [172], biohydrogen can be produced by so-called photo-sensitive routes (photofermentation, photosynthesis) by photosynthetic and chemosynthetic bacteria, or by so-called dark fermentation by anaerobic bacteria which produce hydrogen without photoenergy. Therefore the cost of hydrogen production is 340 times lower than that of the photosynthetic process [173, 174]. The hydrogen production yield depends on the potential of a substrate for the production of hydrogen, but also on parameters such as the operating mode used (pretreatment, type of reactor, operating conditions) and the final metabolic products [84, 171]. Indeed, the breakdown of sugars during the fermentation process is accompanied by the production of hydrogen and various other metabolic products, mainly volatile fatty acids

(acetic, propionic and butyric acids), lactic acid and ethanol. The production of acetic and butyric acids promotes the production of hydrogen [175, 176]. Fermentation with acetic acid gives the highest theoretical yield of 4 mol H₂/mol of hexose, while low yields of H₂ are associated with more reduced end products that is propionic and lactic acids and ethanol. The yield reported in the literature is around 10.4 L H₂/kg of sweet sorghum biomass, after 12 h of fermentation, which corresponds to an energy yield of 104 kJ/kg of fresh biomass and 400 kJ/kg of dry sorghum [84]. Although dark fermentation processes are less expensive, but only result in partial conversion of organic matter. This is why the technico-economic profitability of this process can only be envisaged by combining the production of hydrogen with a recovery of these metabolic by-products in the form either of additional hydrogen (photofermentation, microbial electrolysis cells), or of methane (methanization), or molecules with higher added values (bioplastics, ethanol, biolipids) by biological transformation, or by simple extraction of these organic acids [171]. On the other hand, one of the main disadvantages of using hydrogen is the difficulty of obtaining a reliable storage system, especially in automobiles. However, this problem could be overcome by the use of metal hydrides and carbon nanotubes, which reversibly adsorb hydrogen at room temperature and low pressures [177–179].

Thermochemical Process Energy Recovery of Sorghum Stems

Thermochemical biomass energy recovery is a dry conversion technique combining several processes based on the degradation of biomass molecules under the effect of heat. We can distinguish direct combustion (which is responsible for more than 97% of global bioenergy production), pyrolysis, gasification and liquefaction [180, 181]. Each of these processes takes place through a succession of operations requiring a whole transfer of heat on a sample of solid biomass to produce energy carriers in liquid (pyrolytic oil), gaseous (H₂, CO, CH₄, CO₂, etc.), and solid (biochar) forms. Low lignin contents are not particularly sought after for thermochemical conversion of biomass.

Direct combustion uses sorghum biomass (stem, bagasse) as solid fuel in furnaces and boilers to generate thermal energy (heat or steam) used for various industrial applications including the production of electricity by cogeneration [182, 183]. However, these power generation systems have low overall efficiency and emit large amounts of pollutants [184]. In addition, there are many operational and environmental challenges associated with biomass combustion technology. We can distinguish the low bulk density of agricultural waste (about 5 to 10 times lower than that of coal), the high moisture content, the low melting point of ash and the high volatiles content. The majority of these problems can

be solved by biomass co-combustion systems [185]. In order to improve the energy efficiency of burning sorghum stems, the densification technique is often applied to biomass to form pellets and briquettes, which are products characterized by high calorific value [186, 187]. On the other hand, combustion is more efficient with more lignified biomass, because lignin increases the amount of potential energy in the biomass [182].

Pyrolysis is the thermal decomposition of biomass under the action of heat, in the total absence or in the presence of a very small amount of oxygen (air). This results in the formation of products such as bio-oil, biochar and synthesis gas, the proportions of which vary according to the operating mode, in particular the temperature conditions of the reactor, the heating rate, the residence time, the nature and size of the sample and the type of experimental pyrolysis tool used [188]. Pyrolysis is divided into conventional (slow) and fast (flash), depending on the operating conditions, (time, heating speed) [189]. Slow pyrolysis takes place at low or moderate temperatures (400–500 °C), with a long residence time (several hours), the product obtained consists mainly of biochar, and low amounts of bio-oil and gas. The flash pyrolysis takes place at high temperature (> 700 °C) with a very high heating rate (> 1000 °C/s) for a residence time of the order of a few seconds, and gives 60% of bio-oil, 20% biochar and 20% syngas [190, 191]. Torrefaction is a special pyrolysis process carried out at low temperatures (200–300 °C) and anoxic conditions [192]. Fast pyrolysis is the most frequently used pyrolytic process due to its high efficiency, but requires a higher investment cost compared to slow pyrolysis. Yields range from 75 to 80% in bio-oil, and 20–30% in biochar, depending on the type of biomass [191]. Studies carried out on the pyrolysis of sweet sorghum stems and its bagasse indicate that the maximum yield of biochar (39.5%) was reached at 400 °C and a heating rate of 10 °C/min. This yield decreased with increasing temperature, due to the degradation of hemicellulose, cellulose and lignin [193, 194]. On the other hand, the bio-oil yield first increased up to 15.94% (at 450 °C) and then decreased due to cellulose degradation and the formation of non-condensable and volatile gases, respectively. Another study conducted on the roasting of sweet sorghum bagasse showed that the yield of roasted products was 51 to 70%, and as the roasting temperature increased from 250 to 300 °C, the yield of biochar decreased while that of liquid and gas increased [195].

Gasification is a thermochemical conversion of biomass into synthesis gas (mixture of CO₂, CO, hydrogen and gaseous hydrocarbons), biochar, ash and tar by partial thermal oxidation [196]. Oxidizing agents can be pure O₂, air, steam, CO₂, or their mixtures. The biomass gasification process includes drying, pyrolysis, oxidation and reduction. The quantity, composition, and properties of the gasification products vary depending on the experimental conditions

[197]. The performance of the gasification process depends mainly on the type of biomass and the air flow [198]. Gasification offers great flexibility in the raw materials and fuels produced, therefore it is considered to be the most promising technology for clean and renewable energy production. According to Stamenkovic et al. [191], synthesis gas has a low calorific value (around 4 to 6 MJ/Nm³) and can be burned directly or used as fuel for gas engines and turbines or as a raw material for chemicals production [199]. Experiments carried out on the gasification of sorghum stalks gave a tar content of 2.2 to 3.0 g/m³ and synthesis gas composed of 7.9 to 8.8% hydrogen, 13.1 to 15.2% CO, 15.0 to 18.9% CO₂ and 2.2 to 2.8% methane and low calorific value (3.53 to 3.90 MJ/m³). The yield of biochar was approximately 12% and its calorific value was 4.2–9.4 MJ/kg, depending on air flow [200].

The conversion of biomass by thermal liquefaction occurs at lower temperatures (200 to 400 °C) and higher pressures (5 to 20 MPa) and in the absence of oxygen, often resulting in high yields of bio-oil and low yields of biochar compared to pyrolysis [191, 201]. The process of liquefaction includes depolymerization, decomposition and recombination reactions [202]. Temperature and reaction time are major parameters that influence biomass conversion and product yields [201]. The main products of the conversion of biomass by liquefaction are an oily and viscous liquid known as bio-oil or heavy oil, an aqueous product called light oil, a solid residue (biochar) and gases [203]. Heavy oil can be used as a raw material for fuels and polymeric, aromatic, lubricant and asphaltic products [204]. However it must be improved before use as a liquid fuel [205]. Light oil is used successfully for the conversion of water soluble carbohydrates from liquefied biomass to liquid alkanes and hydrogen [206]. Bi et al. [207] studied the production of bio-oil and biochar via sweet sorghum bagasse liquefaction previously pre-treated using both homogeneous and heterogeneous catalysts. They indicate that the best catalyst (K₂CO₃) provided a bio-oil with a higher calorific value of the order of 33.1 MJ/kg, with a high carbon content (73.2%) and low nitrogen and sulfur contents (7.7 and 0.2%, respectively). The yield of bio-oil from the sweet sorghum stalk was about 10% higher than that obtained from the stalk of corn or poplar and the yield of gaseous product increases with increasing liquefaction temperature.

Future and Innovative Insights of Sorghum and Its By-Products

In addition to its food and energy use, the lignocellulosic biomass of sorghum is also used for industrial or artisanal purposes, for biomaterials manufacture like bioplastics and bio-composites, widely used in the automotive sector and

in the construction field [32, 33]. The principle is based on the addition of lignocellulosic biomass in a matrix which can be a synthetic polymer (for bioplastics) or cement (for bio-composites) in order to optimize the consistency and the mechanical and thermal resistance of the material [208]. This addition of biomass presents multiple physico-mechanical (resistance, weight, plasticity, porosity, etc.), ecological and economic interests [32]. In addition, the fermentable sugars contained in the sorghum stems juice can also be used as a raw material for the industrial production of lactic acid by *Lactobacillus sp.* [209], acetone-butanol by *Clostridium acetobutylicum* [210], and for other organic acids production [43]. Dried sweet sorghum stems were also valorized as feedstock for direct electricity generation in a two chamber microbial fuel cells (MFCs) using anaerobic sludge as inoculum. The total electrical energy per gram of dried sorghum stalks was 165 J/g and the maximum voltage of 546 mV has been obtained with a maximum power- and current density of 131 mW/m² and 543 mA/m², respectively [211]. There are other industrial uses of sorghum by-products, which require selection of particular varieties. Thus, the variety of sorghum known as paper sorghum, the stalk of which is rich in fiber, is used for the production of paper pulp or construction panels; starchy grain sorghum used to make glues, adhesives or dextrose [20]. Dyeing sorghums, whose stems and leaves are rich in anthocyanin pigments, after grinding and maceration, give a red dye used in tannery or in pottery to tan the skins [60]. These pigments taken from dye sorghums are also used in cosmetics for hair coloring. To this end, there are 659 species of sorghum used as dyes or tannins, with 116 species of which this is the primary use [53].

Conclusion

In the current context marked by climate change, the world population increase, and the reduction of natural resources, developing inclusive and sustainable agricultural system for existing and new crops is one of the most important measures to reduce dependence on fossil resources and to mitigate greenhouse gases emission. Sorghum crops presents interesting profile to meet this challenge and its cultivation is becoming increasingly important around the world due to its rusticity, high potential for biomass production, low input requirement and it is well-adapted in regions where the extreme agronomic and marginal conditions are not suitable for most common crops grow. Sorghum has agronomic characteristics suited to hot and dry climates as well as tropical and temperate climates. This food crop offers better yields in growing environments subject to water and heat stress and requires few inputs, allowing the valorisation of marginal lands to increase its sustainability. Mainly cultivated in Africa (where sorghum by-products are less valued) with 67.8% of the world's average

acreage devoted to this cereal in 2020, sorghum is cultivated in all over the world and offers a great genetic diversity to explore and exploit. It remains one of the most versatile cereal crops used as a source of food and feed; energy source; and raw material in various industrial or artisanal applications as well as for biomaterials manufacture. Unlike other cereal crops, all parts of sorghum (its grain, sweet and juicy stem) are recoverable. This versatility as well as its high phenotypic variability have led to the emergence of new ways of valuing by-products resulting from the exploitation processes of this crop, making sorghum an ideal crop to fight against the decrease in natural resources, climate change and competition between food crops and energy crops. The reconciliation of starchy grains production and a wide variety of valued by-products in several fields of application is a particularity of sorghum which makes it more attractive compared to other cereal crops. Because of its multifunctional character allowing to combine different food, energy, and industrial uses, sorghum has become a primordial crop throughout the world. Its high production yield of lignocellulosic biomass with biochemical composition suitable for various uses, is a major asset in the current context where the challenge of energy transition and environmental preservation is increasingly worrying. Therefore, it would be interesting to reconsider the role of sorghum in the global economic system. Sorghum should be positioned as a viable alternative for sustainable economic development in the future, compared to other large-scale crops such as wheat, rice, maize, sugar cane and beet.

Acknowledgements The authors would like to thank the French government which financed H.B.'s research mobility through its Eiffel scholarship program of excellence.

Author Contributions All authors contributed to the study conception and design. Literature search, and data analysis were performed by HB, and D. The first draft of the manuscript was written by HB and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding Author H.B. has received research support from Campus France (The French agency in charge of promoting French higher education abroad, managing scholarships from French and foreign governments and welcoming international students).

Data Availability Not applicable.

Declarations

Competing Interests The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

References

1. Ramatoulaye, F., Mady, C., Fallou, S.: Production and use sorghum: a literature review. *J.Nutr. Health Food Sci.* **4**, 1–4 (2016)

2. Navnidhi, C., Burale, A., Claudia, M., Ravinder, K., Gurpreet, S., Anil, P.: Exploring the nutritional and phytochemical potential of sorghum in food processing for food security. *Nutr. Food Sci.* **05**, 2018–2149 (2018). <https://doi.org/10.1108/NFS-05-2018-0149>
3. Kamara, A.Y., Ekeleme, F., Omoigui, L., Menkir, A., Chikoye, D., Dugje, I.Y.: Response of exotic sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] moench) cultivars to planting date under natural infestation of striga hermonthica (del) benth. in the Sudan savanna zone of northeast Nigeria. *Arch. Agron. Soil Sci.* **57**, 679–692 (2011)
4. Mwithiga, G., Sifuna, M.M.: Effect of moisture content on the physical properties of three varieties of sorghum seeds. *J. Food Eng.* **75**, 480–486 (2006)
5. FAOSTAT.: Données de l'alimentation et de l'agriculture. <http://www.fao.org/faostat/fr/#home> (2022). Accessed 28 July 2022
6. Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B.K.: Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *S. Afr. J. Bot.* **108**, 261–266 (2017)
7. Guo, Y.Y., Tian, S.S., Liu, S.S., Wang, W.Q., Sui, N.: Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. *Photosynthetica* **56**, 861–872 (2018)
8. Badigannavar, A., Teme, N., de Oliveira, A.C., Li, G., Vaksman, M., Viana, V.E., Sarsu, F.: Physiological, genetic and molecular basis of drought resilience in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Indian J. Plant. Physiol.* **23**, 670–688 (2018)
9. Thomas, H.L., Pot, D., Latrille, E., Trouche, G., Bonnal, L., Bastianelli, D., Carrère, H.: Sorghum biomethane potential varies with the genotype and the cultivation site. *Waste Biomass Valoriz.* (2017). <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0099-3>
10. Clarke, S.J., McLean, J., George-Jaeggli, B., McLean, G., de Voil, P., Eyre, J.X., Rodriguez, D.: Understanding the diversity in yield potential and stability among commercial sorghum hybrids can inform crop designs. *Field Crops Res.* **230**, 84–97 (2019)
11. Saballos A.: Development and utilisation of sorghum as a bio-energy crop. *Genet. Improvement Bioenergy Crops.* 211–248 (2008)
12. Blummel, M., Rao, S.S., Palaniswami, S., Shah, L., Reddy, V.S.B.: Evaluation of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) used for bio-ethanol production in the context of optimizing whole plant utilization. *Anim. Nutr. Feed Technol.* **9**, 1–10 (2009)
13. Trappey, E.F., Khouryieh, H., Aramouni, F., Herald, T.: Effect of sorghum flour composition and particle size on quality properties of gluten-free bread. *Food Sci. Technol. Int.* **21**, 188–202 (2015)
14. Althwab, S., Carr, T.P., Weller, C.L., Dweikat, I.M., Schlegel, V.: Advances in grain sorghum and its co-products as a human health promoting dietary system. *Food Res. Int.* **77**, 349–359 (2015)
15. Anunciação, P.C., de Morais Cardoso, L., Gomes, J.V.P., Della Lucia, C.M., Carvalho, C.W.P., Galdeano, M.C., Pinheiro-Sant'Ana, H.M.: Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: sensorial acceptance and bioactive compound content. *Food Chem.* **221**, 984–989 (2017)
16. Dahlberg, J., Berenji, J., Sikora, V., Latkovic, D.: Assessing sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] germplasm for new traits: food, fuels & unique uses. *Maydica* **56**, 86–92 (2012)
17. Nghiem, N.P., Montanti, J., Johnston, D.B.: Sorghum as a renewable feedstock for production of fuels and industrial chemicals. *AIMS Bioeng.* **3**, 75–91 (2016)
18. Regassa, T.H., Wortmann, C.S.: Sweet sorghum as a bioenergy crop: literature review. *Biomass Bioenergy* **64**, 348–355 (2014)
19. Szambelan, K., Nowak, J., Frankowski, J., Szwengiel, A., Jelen, H., Burczyk, H.: The comprehensive analysis of sorghum cultivated in Poland for energy purposes: separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods and their impact on bioethanol effectiveness and volatile by-products from the grain and the energy potential of sorghum straw. *Bioresour. Technol.* **250**, 750–757 (2018)
20. Dehaynin, N.: Utilisation du sorgho en alimentation animale. Ph. D. Thesis, médecine vétérinaire. Université Claude-Bernard—Lyon I, Lyon, p 108 (2007)
21. Hébert J.P., Griffon D.: Toutes les bières moussent-elles? 80 clés pour comprendre les bières. Quae, Versailles, p 223 (2010)
22. Xiong, Y., Zhang, P., Luo, J., Johnson, S., Fang, Z.: Effect of processing on the phenolic contents, antioxidant activity and volatile compounds of sorghum grain tea. *J. Cereal Sci.* **85**, 6–14 (2019)
23. Dicko, M.H., Gruppen, H., Traoré, A.S., Voragen, A.G.J., van Berkel, W.J.H.: Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *Afr. J. Biotechnol.* **5**, 384–395 (2006)
24. Medeiros, D., Vazquez-Araujo, L., Chambers, E., IV.: Sorghum: the forgotten grain. *Food Technol.* **65**, 52–60 (2011)
25. Awika, J.M.: Sorghum: its unique nutritional and health-promoting attributes. In: Taylor, J.R.N., Awika, J.M. (eds.) *Gluten free ancient grains*, pp. 21–54. Woodhead Publishing, Cambridge (2017)
26. Pontieri, P., Del Giudice, L.: Sorghum: a novel and healthy food. *Encycl. Food Health* 33–43 (2016)
27. Taylor, J.R.N., Emmambux, M.N.: Gluten-free cereal products and beverages. In: Arendt, E.K., Bello, F.D. (eds.) *Gluten Free Foods and Beverages from Millets*, pp. 119–148. Elsevier, Amsterdam (2018)
28. Lopez, N., Tique, M., Perez, L.: Contribution to the study of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] for human nutrition. *Perspect. Hum. Nutr.* **13**, 33–44 (2011)
29. Shahidi, F., Peng, H.: Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds. *J. Food Bioactives* **4**, 11–68 (2018)
30. Kim, M., Day, D.F.: Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 803–807 (2011)
31. Nasidi, M., Agu, R., Deeni, Y., Walker, G.: Improved production of ethanol using bagasse from different sorghum cultivars. *Biomass Bioenergy* **72**, 288–299 (2015)
32. John, M.J., Thomas, S.: Biofibres and biocomposites. *Carbohydr. Polym.* **71**, 343–364 (2008)
33. Oo, A., Muntasir, N., Poon, K., Weersink, A., Thimmanagari, M.: Development of an Agricultural Biomaterial Industry in Ontario. Technical report, University of Guelph, No. 241708, p. 64 (2016)
34. Abe, M.M., Branciforti, M.C., Brienzo, M.: Biodegradation of hemicellulose-cellulose starch-based bioplastics and microbial polyesters. *Recycling* **6**, 22 (2021)
35. Naidu, D.S., Hlangothi, S.P., John, M.J.: Bio-based products from xylan: a review. *Carbohydr. Polym.* **179**, 28–41 (2018)
36. Machado, G., Leon, S., Santos, F., Lourega, R., Dullius, J., Mollmann, M.E., Eichler, P.: Literature review on furfural production from lignocellulosic biomass. *Nat. Resour.* **7**, 115–129 (2016)
37. Schaffer, R.E., Gourley, L.M.: Sorghum as an energy source. In: House, L.R., Mughogho, L.K., Peack, J.M. (eds.) *Sorghum in the Eighties*, pp. 477–783. ICRISAT, Patancheru (1982)
38. Murray, S.C., Rooney, W.L., Hamblin, M.T., Mitchell, S.E., Kresovich, S.: Sweet sorghum genetic diversity and association mapping for brix and height. *Plant Genome* **2**, 15 (2009)
39. Jacques, C., Jean-François, C., Alain, R., et Gilles, T.: *Le sorgho. Agricultures tropicales en poche*. Editions Quae, CTA, Presses agronomiques de Gembloux, p. 245 (2013)
40. Sipos, B., Récey, J., Somorai, Z., Kádár, Z., Dienes, D., Récey, K.: Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: enzymatic hydrolysis of steam-pretreated bagasse. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **153**, 151–162 (2009)
41. Kim, M., Han, K., Jeong, Y., Day, D.F.: Utilization of whole sweet sorghum containing juice, leaves, and bagasse for bioethanol production. *Food Sci. Biotechnol.* **21**, 1075–1080 (2012)

42. Saidi, S., Gazull, L., Burnod, P., Fallot, A.: Atlas mondial du potentiel de mise en place de cultures dédiées à la production de biocarburants de seconde génération: un état des lieux pour 10 genres végétaux à fort potentiel lignocellulosique. Rapport, Cirad & Total, Montpellier, p. 63 (2010)
43. Whitfield, M.B., Chinn, M.S., Veal, M.W.: Processing of materials derived from sweet sorghum for biobased products. *Rev. Ind. Crops Prod.* **37**, 362–375 (2012)
44. Clerget, B.: Le rôle du photopériodisme dans l'élaboration du rendement de trois variétés de sorgho cultivées en Afrique de l'Ouest. Ph. D. Thesis. Ina-PG, p. 103 (2004)
45. Teotor, V.H., Duclos, D.V., Wittenberg, E.T., Young, K.M., Chawhuaymak, J., Riley, M.R., Ray, D.T.: Effects of planting date on sugar and ethanol yield of sweet sorghum grown in Arizona. *Ind. Crops Prod.* **34**, 1293–1300 (2011)
46. Noura, S.: Amélioration de l'extraction des sucres de la biomasse du millet perlé sucré et du sorgho sucré pour une éventuelle production de bioéthanol. Mémoire, Maîtrise en sols et environnement. Université Laval, Québec, p. 2015 (2016)
47. Harland, J.R., De Wet, J.M.J.: A Simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Sci. Soc. Am.* **12**, 172–176 (1972)
48. Doggett, H.: Sorghum. London Harlow (GB), Longman Scientific Technical, (2ème édition), p. 512 (1988)
49. Wendorf, F., Close, A.E., Schild, R., Wasylkova, K., Housley, R.A., Harlan, J.R., Krolik, H.: Saharan exploitation of plants 8000 years BP. *Nature* **359**, 721–724 (1992)
50. Barro-kondombo, C.P.: Diversités agro-morphologique et génétique de variétés locales de sorgho (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) du Burkina Faso. Eléments pour la valorisation des ressources génétiques locales. Ph. D. Thesis, Sciences Biologiques Appliquées. Université de Ouagadougou, Burkina Fasso, p. 113 (2010)
51. Clara, W.M., Silvia, S., Kofi, A., Guangxing, W.: A regional comparison of factors affecting global sorghum production: the case of North America, Asia and Africa's Sahel. *Rev. Sustain.* **11**, 2135 (2019). <https://doi.org/10.3390/su11072135>
52. Balole, T.V., Legwaila, G.M.: *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen (2006)
53. Boudries, N.: Caractérisation des amidons de sorgho et de mil perlé cultivés dans le Sahara algérien. Ph. D. Thesis. Université de Liège—Gembloux Agro-Bio Tech, p. 225 (2017)
54. Schober, T.J., Bean, S.R.: Sorghum and maize. In: Arendt, E.K., Bello, F.D. (eds.) *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*, pp. 101–118. Elsevier, Amsterdam (2008)
55. Eckhoff, S.R., Watson, S.A.: Corn and sorghum starch production. In: BeMiller, J., Whistler, R. (eds.) *Starch: Chemistry and Technology*, 3rd edn., pp. 373–439. Elsevier, Amsterdam (2009)
56. Pilar, E.H., Mónica, L., Chávez, G., Juan, A., Ascacio, V., Desiree, D., Medina, D., Antonio, F.N., Teresinha, S., Xóchitl, R.C., Leonardo, S.: Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) as a potential source of bioactive substances and their biological properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* (2020). <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1852389>
57. Ayodeji, O.A.: African sorghum-based fermented foods: past, current and future prospects. *Rev. Nutr.* **12**, 1111 (2020). <https://doi.org/10.3390/nu12041111>
58. Snowden, J.D.: The cultivated races of sorghum. London, Adlard, p. 274 (1936)
59. Deu, M., Sagnard, F., Chantereau, J., Calatayud, C., Héroult, D., Mariac, C., Pham, J.L., Vigouroux, Y., Kapran, I., Traoré, P.S., Mamadou, A., Gérard, B., Ndjéunga, J., Bezançon, G.: Niger-wide assessment of in situ sorghum genetic diversity with micro-satellite markers. *Theoret. Appl. Genet.* **116**, 903–916 (2008)
60. Chantereau, J., Deu, M., Pham, J.L., Kapran, I., Vigouroux, Y., Bezançon, G.: Evolution des diversités phénotypique et génétique des sorghos et mils cultivés au Niger de 1976 à 2003. *Le Sélectionneur Français* **61**, 33–45 (2010)
61. Sagnard, F., Deu, M., Dembélé, D., Leblois, R., Touré, L., Diakité, M., Calatayud, C., Vaksman, M., Bouchet, S., Mallé, Y., Togola, S., Traoré, P.C.S.: Genetic diversity, structure, gene flow and evolutionary relationships within the *Sorghum bicolor* wild-weedy-crop complex in a western African region. *Theoret. Appl. Genet.* **123**, 1231–1246 (2011)
62. Ritter, K.B., Jordan, D.R., Chapman, S.C., Godwin, I.D., Mace, E.S., McIntyre, C.L.: Identification of QTL for sugar related traits in a sweet x grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) recombinant inbred population. *Mol. Breed.* **22**, 367–384 (2008)
63. Wang, L., Jiao, S., Jiang, Y., Yan, H., Su, D., Sun, G., Yan, X., Sun, L.: Genetic diversity in parent lines of sweet sorghum based on agronomical traits and SSR markers. *Field Crop Res* **149**, 11–19 (2013)
64. Gutjahr, S.: Analyse des caractères d'intérêt morphogénétiques et biochimiques pour le développement de sorghos sucrés à double usage « grain-bioalcol ». Ph. D. Thesis, Biologie Intégrative des Plantes (BIP). Université Montpellier II, Montpellier, p. 118 (2012)
65. Norman, M.J.T., Pearson, C.J., Searle, P.G.E.: *Tropical Food Crops in their Environment*, 2nd edn. University Press, Cambridge (1995)
66. Bellmer, D.D., Huhnke, R.L., Whiteley, R., Godsey, C.: The untapped potential of sweet sorghum as a bioenergy feedstock. *Biofuels* **1**, 563–573 (2010)
67. Steduto, P., Katerji, N., Puertos-Molina, H., Unlu, M., Mastrorilli, M., Rana, G.: Water-use efficiency of sweet sorghum under water stress conditions. Gas exchange investigations at leaf and canopy scales. *Field Crops Res.* **54**, 221–234 (1997)
68. Berenguer, M.J., Faci, J.M.: Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) yield compensation processes under different plant densities and variable water supply. *Eur. J. Agron.* **15**, 43–55 (2001)
69. Almodares, A., Hadi, M.R.: Production of bioethanol from sweet sorghum: a review. *Afr. J. Agric. Res.* **4**, 772–780 (2009)
70. Vasilakoglou, I., Dhima, K., Karagiannidis, N., Gatsis, T.: Sweet sorghum productivity for biofuels under increased soil salinity and reduced irrigation. *Field Crop Res* **120**, 38–46 (2011)
71. Amaducci, S., Colauzzi, M., Battini, F., Fracasso, A., Perego, A.: Effect of irrigation and nitrogen fertilization on the production of biogas from maize and sorghum in a water limited environment. *Eur. J. Agron.* **76**, 54–65 (2016)
72. Ameen, A., Yang, X., Chen, F., Tang, C., Du, F., Fahad, S., Xie, G.H.: Biomass yield and nutrient uptake of energy sorghum in response to nitrogen fertilizer rate on marginal land in a semi-arid region. *BioEnergy Res.* **10**, 363–376 (2017)
73. Reddy, B.V.S., Ashok, Koumar A., Ramesh S.: Sweet sorghum: a water saving bio energy and crop. In: International conference on linkages between Energy and Water Management for agriculture in developing countries, January 29–30, 2007, IWMI, ICRISAT Campus, Hyderabad (2005)
74. Wu, X., Staggenborg, S., Propher, J.L., Rooney, W.L., Yu, J., Wang, D.: Features of sweet sorghum juice and their performance in ethanol fermentation. *Ind. Crops Prod.* **31**, 164–170 (2010)
75. Mahapatra, A.K., Latimore, M., Bellmer, D., Singh, B.P.: Utilization of sweet sorghum for ethanol production—a review. Paper presented at the 2011 ASABE Annual international Meeting, Louisville, Kentucky (2011)
76. Rao, P.S., Kumar, C.G., Reddy, B.V.S.: Sweet sorghum: from theory to practice. In: Rao, P.S., Kumar, C.G. (eds.) *Characterization of Improved Sweet Sorghum Cultivars*, pp. 1–15. Springer Briefs in Agriculture. Springer, New York (2013)

77. Basavaraj, G., Rao, P.P., Basu, K., Reddy, C.R., Kumar, A.A., Rao, P.S., Reddy, B.V.S.: Assessing viability of bio-ethanol production from sweet sorghum in India. *Energy Policy* **56**, 501–508 (2013)
78. Yuan, J.S., Tiller, K.H., Al-Ahmad, H., Stewart, N.R., Stewart, C.N.J.: Plants to power: bioenergy to fuel the future, Review. *Trends Plant Sci.* **13**, 421–429 (2008)
79. Temple, L., Levesque, A., Lamour, A., Charles, D., Braconnier, S.: Complémentarité des filières sorgho sucré et canne à sucre en Haïti : évaluation des conditions de développement sectoriel d'une innovation. *Cah. Agric.* **26**, 55006 (2017)
80. Yevich, R., Logan, J.A.: An assessment of biofuel use and burning of agricultural waste in the developing world. *Global Biogeochem. Cycles* **17**, 1–21 (2003)
81. Muhammad, N., Reginald, A., Yusuf, D., Graeme, W.: Utilisation of whole sorghum crop residues for bioethanol production. *J. Inst. Brew.* (2016). <https://doi.org/10.1002/jib.324>
82. Rooney, L., Waniska, R.: Sorghum food and industrial utilization. In: Smith et al. (ed.) *Sorghum: Origin, History, Technology and Production*, pp. 689–731. Wiley, New York (2000)
83. Zaldivar, J., Nielsen, J., Olsson, L.: Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 17–34 (2001)
84. Antonopoulou, G., Gavalas, H.N., Skiadas, I.V., Angelopoulos, K., Lyberatos, G.: Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresour. Technol.* **99**, 110–119 (2008)
85. Bennett, A.S., Anex, R.P.: Production, transportation and milling costs of sweet sorghum as a feedstock for centralized bioethanol production in the upper Midwest. *Bioresour. Technol.* **100**, 1595–1607 (2009)
86. Gutjahr, S., Clément-Vidal, A., Soutiras, A., Sonderegger, N., Braconnier, S., Dingkuhn, M., Luquet, D.: Grain, sugar and biomass accumulation in photoperiod-sensitive sorghums. II. Biochemical processes at internode level and interaction with phenology. *Funct. Plant Biol.* **40**, 355–368 (2013)
87. Billa, E., Koullas, D.P., Monties, B., Koukios, E.G.: Structure and composition of sweet sorghum stalk components. *Ind. Crops Prod.* **6**, 297–302 (1997)
88. Djomdi, Hamadou B., Klang M.J., Djoulde D.R., Christophe G., Michaud P.: Extraction performance of juice and bioethanol production from sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Glob. J. Eng. Sci. Res. Manag.* **6**, 57–66 (2019)
89. Forsan, C.F., Freitas, C., Masarin, F., Brienzo, M.: Xylooligosaccharide production from sugarcane bagasse and leaf using *Aspergillus versicolor* endoxylanase and diluted acid. *Biomass Convers. Biorefin.* 1–16 (2021)
90. Bidlack, J.: Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proc. Oklahoma Acad. Sci.* **72**, 51–56 (1992)
91. Soha, R.A., Khalil, A.A., Abdelhafez, E.A.M.: Evaluation of bioethanol production from juice and bagasse of some sweet sorghum varieties. *Ann. Agric. Sci.* **60**, 317–324 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.005>
92. Jolanta, B., Jakub, F., Aleksandra, W., Agnieszka, E.: Bioethanol production from biomass of selected sorghum varieties cultivated as main and second crop. *Energies* **13**, 6291 (2020). <https://doi.org/10.3390/en13236291>
93. Crépeau, M., Khelifi, M., Vanasse, A., Seguin, P., Tremblay, G.F.: Compressive forces and harvest time effects on sugars and juice extracted from sweet pearl millet and sweet sorghum. *Trans. ASABE* **56**, 1665–1671 (2013)
94. Crépeau M.: Optimisation de la récolte, de l'entreposage et du pressage du millet perlé sucré et du sorgho sucré cultivés au Québec pour la production de bioéthanol. Ph. D. Thesis, sols et environnement. Université Laval, Québec, p. 151 (2017)
95. Coble, C.G., Egg, R.P., Shmulevich, I.: Processing techniques for ethanol production from sweet sorghum. *Biomass* **6**, 111–117 (1984)
96. Bellmer, D.D., Huhnke, R.L., Kundiyana, D.: Issues with in-field fermentation of sweet sorghum juice. 2008 ASABE annual international meeting. ASABE Paper No 084828. Providence, Rhode Island, 29 June–2 July, (2008)
97. Worley, J.W., Vaughan, D.H., Cundiff, J.S.: Energy analysis of ethanol production from sweet sorghum. *Bioresour. Technol.* **40**, 263–273 (1992)
98. Rains, G.C., Cundiff, J.S., Welbaum, G.E.: Sweet sorghum for a piedmont ethanol industry. In: Janick, J., Simon, J.E. (eds.) *New Crops*, pp. 394–399. Wiley, New York (1993)
99. Mask, P.L., Morris, W.C.: Sweet sorghum culture and syrup production. ACES publication No AR-625. ACES, Alabama (1991)
100. Cosgrove, C.T., Huhnke, R.L., Bellmer, D.D.: Design of an improved laboratory-scale sweet sorghum press. ASABE publication No 095929. ASABE, Reno, Nevada (2009)
101. Gnansounou, E., Dauriat, A., Wyman, C.E.: Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China. *Bioresour. Technol.* **96**, 985–1002 (2005)
102. Badalov, A.: Processing of sweet sorghum for bioethanol production. WIPO Publication Number, WO 2008/029163 (2008)
103. Crépeau, M., Khelifi, M., Vanasse, A.: Preliminary investigation into the pressing process of sweet pearl millet and sweet sorghum biomass for ethanol production. In: XVIIth World Congress of the International Commission of Agricultural and Biosystems Engineering (CIGR) (2010)
104. Jia, F., Chawhuaymak, J., Riley, M.R., Zimmt, W., Ogden, K.L.: Efficient extraction method to collect sugar from sweet sorghum. *J. Biol. Eng.* **7**, 1–9 (2013)
105. Crank, J., McFarlane, N.R., Paterson, G.D., Pedley, J.B.: *Diffusion Processes in Environmental Systems*. Macmillan, London (1981)
106. Rein, P.W.: A comparison of cane diffusion and milling. In: Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association (1995)
107. El Belghiti, K., Vorobiev, E.: Mass transfer of sugar from beets enhanced by pulsed electric field. *Food Bioprod. Process.* **82**, 226–230 (2004)
108. Toda, T.A., Sawada, M.M., Rodrigues, C.E.: Kinetics of soybean oil extraction using ethanol as solvent: experimental data and modeling. *Food Bioprod. Process.* **98**, 1–10 (2016)
109. Grohmann, K., Baldwin, E., Buslig, B.: Production of ethanol from enzymatically hydrolyzed orange peel by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **46**, 315–327 (1994)
110. Cotlear, C.B.G.: Sugarcane juice extraction and preservation, and long-term lime pretreatment of bagasse. Doctoral dissertation, Texas A&M University (2004)
111. Rein, P.: *Sugar Cane Engineering*. Verlag Dr. Albert Bartens KG, Berlin (2007)
112. Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández, C., Pérez-Carrillo, E., Heredia-Olea, E.: Sorghum as a multifunctional crop for the production of fuel ethanol: current status and future trends. In: Lima MAP, Natalense APP Bioethanol (eds.), pp. 51–74. InTech (2012)
113. Daniel, E.E., Ajit, K.M., Mark, L.J., Danielle, D.B., Umakanta, J., Gerald, J.W., Archie, L.W.: Evaluation of three cultivars of sweet sorghum as feedstocks for ethanol production in the Southeast United States. *Heliyon* **3**, e00490 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2017>
114. Nebié, B.: Diversité génétique des sorghos à tige sucrée [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] du Burkina Faso. Doctoral dissertation, University of Ouagadougou (Burkina Faso), p. 118 (2014)

115. Mabelebele, M., Siwela, M., Gous, R.M., Iji, P.A.: Chemical composition and nutritive value of South African sorghum varieties as feed for broiler chickens. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **45**, 206–213 (2015). <https://doi.org/10.4314/sajas.v45i2.12>
116. Beta, T., Corke, H., Taylor, J.R.N.: Starch properties of Barnard red, a South African red sorghum variety of significance in traditional African brewing. *Starch* **52**, 467–470 (2000)
117. Topping, D.L.: Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutr. Rev.* **49**, 195–203 (1991)
118. Warrand, J.: Healthy polysaccharides the next chapter in food products. *Food Technol. Biotechnol.* **44**, 355–370 (2006)
119. Kamath, V., Niketh, S., Chandrashekar, A., Rajini, P.S.: Chymotryptic hydrolysates of α -kafirin, the storage protein of sorghum (*Sorghum bicolor*) exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activity. *Food Chem.* **100**, 306–311 (2007)
120. Camargo-Filho, I., Cortez, D.A.G., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C.V., Dias-Filho, B.P.: Antiviral activity and mode of action of a peptide isolated from *Sorghum bicolor*. *Phytomedicine* **15**, 202–208 (2008)
121. Lin, P., Wong, J.H., Ng, T.B., Ho, V.S., Xia, L.: A sorghum xylanase inhibitor-like protein with highly potent antifungal, antitumor and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities. *Food Chem.* **141**, 2916–2922 (2013)
122. Cruz, R.A.O., López, J.L.C., Aguilar, G.A.G., García, H.A., Gorinstein, S., Romero, R.C., Sánchez, M.R.: Influence of sorghum kafirin on serum lipid profile and antioxidant activity in hyperlipidemic rats (in vitro and in vivo studies). *BioMed Res. Int.* **164725** (2015)
123. Motlhaodi, T., Bryngelsson, T., Chite, S., Fatih, M., Ortiz, R., Geleta, M.: Nutritional variation in sorghum [*Sorghum Bicolor* (L.) Moench] accessions from Southern Africa revealed by protein and mineral composition. *J. Cereal Sci.* **83**, 123–129 (2018)
124. De Moraes, C.L., Montini, T.A., Pinheiro, S.S., Pinheiro Sant'Ana, H.M., Martino, H.S.D., Moreira, A.V.B.: Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chem.* **152**, 210–217 (2014)
125. Rooney, L.W., Pflugfelder, R.L.: Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.* **63**, 1607–1623 (1986)
126. Cousin, B.W., Tanskey, T.D., Knabe, D.A., Zebrowska, Z.: Nutrient digestibility and performance of pigs fed sorghum varying in tannin concentration. *J. Anim. Sci.* **53**, 1524–1537 (1981)
127. Ape, D.I., Nwogu, N.A., Uwakwe, E.I., Ikedinobi, C.S.: Comparative proximate analysis of maize and sorghum bought from Ogbete main market of Enugu state, Nigeria. *Greener J. Agric. Sci.* **6**, 272–275 (2016)
128. Adebisi, A.O., Adebisi, A.P., Olaniyi, E.O.: Nutritional composition of *Sorghum bicolor* starch hydrolysed with amylase from *Rhizopus* sp. *Afr. J. Biotechnol.* **4**, 1089–1094 (2005)
129. Udachan, I.S., Sahoo, A.K., Hend, G.M.: Extraction and characterization of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) starch. *Int. Food Res. J.* **19**, 315–319 (2012)
130. Awadelkareem, A.M., Hassan, E.G., Fageer, A.S.M., Sulieman, A.M., Mustafa, A.M.I.: The nutritive value of two sorghum cultivars. *Int. J. Food Nutr. Sci.* **4**, 1–7 (2015)
131. Jimoh, W.L.O., Abdullahi, M.S.: Proximate analysis of selected sorghum cultivars. *Bayero. J. Pure Appl. Sci.* **10**, 285–288 (2017)
132. Abubakar, M., Doma, U.D., Kalla, D.J.U., Ngele, M.B., Augustine, C.L.D.: Effects of dietary replacement of maize with malted and unmalted sorghum on performance of weaner rabbits. *Livest. Res. Rur. Dev.* **18**, 65 (2006)
133. Subramanian, V., Metta, V.C.: Sorghum grain for poultry feed. In: Chandrasher, A., Bandyopadhyai, R., Hall, A.J. (eds.) *Technical and Institution Options for Sorghum Grain Mold Management*. Proc. International Consultation. International Crop Research for the Semi Arid Tropics (ICRISAT). Patancheru 502–504, Andhra Pradesh, India, pp. 242–247 (2000)
134. Mohammed, Z.S., Mabudi, A.H., Murtala, Y., Jibrin, S., Sulaiman, S., Salihu, J.: Nutritional analysis of three commonly consumed varieties of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) in Bauchi State, Nigeria. *J. Appl. Sci. Environ. Manag.* **23**, 1329–1334 (2019)
135. Amélia, D.P.B.: Rendement en biomasse et en sucres et valeur nutritive du millet perlé sucré et du sorgho sucré en fonction de la date de récolte et du délai entre le hachage et le pressage du fourrage. *Mémoire, Maîtrise en biologie végétale*. Université Laval, Québec, p 114 (2012)
136. Tremblay, G.F., Lefebvre, D., Petit, H., Lafrenière, C.: La valeur nutritive des fourrages. In: G. Bélanger, L. Couture et G. Tremblay (eds.), *Les plantes fourragères*, pp. 189. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (2005)
137. Black, J.R., Ely, L.O., McCullough, M.E., et Sudweeks, E.M.: Effects of stage of maturity and silage additives upon the yield of gross and digestible energy in sorghum silage. *J. Anim. Sci.* **50**, 617–624 (1980)
138. Miron, J., Zuckerman, E., Sadeh, D., Adin, G., Nikbachat, M., Yosef, E., Ben-Ghedalia, D., Carmi, A., Kipnis, T., Solomon, R.: Yield composition and *in vitro* digestibility of new forage sorghum varieties and their ensilage characteristic. *Anim. Feed Sci. Technol.* **120**, 17–32 (2005)
139. Corredor, D.Y., Salazar, J.M., Hohn, K.L., Bean, S., Bean, B., Wang, D.: Evaluation and characterization of forage sorghum as feedstock for fermentable sugar production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **158**, 164–179 (2009)
140. Amer, S.M.M.: Evaluation of high water soluble carbohydrates annual forages for dairy cattle. Thesis. McGill University, pp. 32–87 (2011)
141. McCormick, M.E., Morris, D.R., Ackerson, B.A., Blouin, D.C.: Ratoon cropping forage sorghum for silage: yield, fermentation, and nutrition. *Agron. J.* **87**, 952–957 (1995)
142. Di Marco, O.N., Ressia, M.A., Arias, S., Aello, M.S., Arzadún, M.: Digestibility of forage silages from grain, sweet and bmr sorghum types: comparison of in vivo, in situ and in vitro data. *Anim. Feed Sci. Technol.* **153**, 161–168 (2009)
143. Venkata, S.C., Ramana, R.Y., Nagalakshmi, D., Jagadeeswara, R.S.: Evaluation of sweet (*Sorghum bicolor* (L.) moench) bagasse by chemical, in sacco and in vivo techniques in graded murrah buffalo bulls. *J. Vet. Adv.* **2**, 418–423 (2012)
144. Negro, M.J., Solano, M.L., Ciria, P., Carrasco, J.: Composting of sweet sorghum bagasse with other wastes. *Bioresour. Technol.* **67**, 89–92 (1999)
145. Rao, P.S., Umakanth, A.V., Reddy, B.V.S., Dweikat, I., Bhargava, S., Kumar, C.G., Braconnier, S., Patil, J.V.: Sweet Sorghum: genetics, breeding and commercialization. In: Singh, B.P. (ed.) *Biofuel Crops: Production, Physiology and Genetics*, pp. 172–198. CABI, Fort Valley (2013)
146. Li, J., Li, S., Han, B., Yu, M., Li, G., Jiang, Y.: A novel cost-effective technology to convert sucrose and homocelluloses in sweet sorghum stalks into ethanol. *Biotechnol. Biofuels* **6**, 174 (2013)
147. Faraco, V.: *Lignocellulose Conversion: Enzymatic and Microbial Tools for Bioethanol Production*. Springer, Berlin (2013)
148. Du, R., Yan, J., Feng, Q., Li, P., Zhang, L., Chang, S., Li, S.: A novel wild-type *Saccharomyces cerevisiae* strain TSH1 in scaling-up of solid-state fermentation of ethanol from sweet sorghum stalks. *PLoS ONE* **9**, e94480 (2014)
149. Phutela, U.G., Kaur, J.: Process optimization for ethanol production from sweet sorghum juice using *saccharomyces cerevisiae* strain NRRL Y-2034 by response surface methodology. *Sugar Tech.* **16**, 411–421 (2014)

150. Appiah-Nkansah, N.B., Saul, K., Rooney, W., Wang, D.: Adding sweet sorghum juice into the current dry-grind ethanol process for improving ethanol yields and water efficiency. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* **8**, 97–103 (2015)
151. Stevens, G., Holou, R.A.: Sweet sorghum as a biofuel crop. In: Halford, N.G., Karp, A. (eds.) *Energy Crops*, pp. 56–76. The Royal Society of Chemistry, London (2010)
152. Rohowsky, B., Häßler, T., Gladis, A., Remmele, E., Schieder, D., Faulstich, M.: Feasibility of simultaneous saccharification and juice co-fermentation on hydrothermal pretreated sweet sorghum bagasse for ethanol production. *Appl. Energy* **102**, 211–219 (2013)
153. Mood, S.H., Golfeshan, A.H., Tabatabaei, M., Jouzani, G.S., Najafi, G.H., Gholami, M., Ardjmand, M.: Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **27**, 77–93 (2013)
154. Wang, J.C., Dai, L., Tian, Y.S., Qin, S.P.: Analysis of the development status and trends of biomass energy industry in China. *Trans. Chin. Soc. Agric. Eng.* **23**, 276–282 (2007)
155. Li, D.: Ethanol fuel from sweet sorghum desiderates development. *J. Agric. Sci. Technol. Iran* **4**, 48–51 (2003)
156. Zhao, Y.L., Dolat, A., Steinberger, Y., Wang, X., Osman, A., Xie, G.H.: Biomass yield and changes in chemical composition of sweet sorghum cultivars grown for biofuel. *Field Crop. Res.* **111**, 55–64 (2009)
157. Christakopoulos, P., Li, L.W., Kekos, D., Makris, B.J.: Direct conversion of sorghum carbohydrates to ethanol by a mixed microbial culture. *Bioresour. Technol.* **45**, 89–92 (1993)
158. Lezinou, V., Christakopoulos, P., Li, L.W., Kekos, D., Macris, B.J.: Study of a single and mixed culture for the direct bio-conversion of sorghum carbohydrates to ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**, 412–415 (1995)
159. Mamma, D., Koullas, D., Fountoukidis, G., Kekos, D., Makris, B.J., Koukios, E.: Bioethanol from sweet sorghum: simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates by a mixed microbial culture. *Process Biochem.* **31**, 377–381 (1996)
160. Rajagopal, D., Zilberman, D.: Environmental, economic and policy aspects of biofuels. *Found. Trends Microecon.* **4**, 353–468 (2008)
161. Hertel, T.W., Tyner, W.E.: Market-mediated environmental impacts of biofuels. *Glob. Food Sec.* **2**, 131–137 (2013)
162. Claassen, P.A.M., van Lier, J.B., Contreras, A.M.L., van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., de Vries, S.S., Weusthuis, R.A.: Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52**, 741–755 (1999)
163. Agbor, V.B., Nazim, C., Richard, S., Alex, B., David, B.L.: Biomass pretreatment: fundamentals toward application. *Biotechnol. Adv.* **29**, 675–685 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
164. Rabemanolontsoa, H., Saka, S.: Various pretreatments of lignocellulosics. *Bioresour. Technol.* **199**, 83–91 (2016)
165. Sumitha, B.J., Kedar, S., Aruna, R., Vijayanand, S.M., Arun, G.: Comparative analysis of pretreatment methods on Sorghum (*Sorghum durra*) stalk agrowaste for holocellulose content. *Prep. Biochem. Biotechnol.* (2018). <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1466148>
166. Sambusiti, C., Ficara, E., Malpei, F., Steyer, J.P., Carrère, H.: Effect of sodium hydroxide pretreatment on physical, chemical characteristics and methane production of five varieties of sorghum. *Energy* **55**, 449–456 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.04.025>
167. Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., Li, C., Xu, G.: Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *Int. J. Hydrog. Energy* **41**, 9153–9158 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.02.042>
168. Kalamaras, S.D., Kotsopoulos, T.A.: Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe. *Bioresour. Technol.* **172**, 68–75 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.005>
169. Kapdan, I.K., Kargi, F.: Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzym. Microbiol. Technol.* **38**, 569–582 (2006)
170. Kumar, G., Periyasamy, S., Sen, B., Mudhoo, A., Davila-vazquez, G., Wang, G., Kim, S.H.: Research and development perspectives of lignocellulosebased biohydrogen production. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **119**, 225–238 (2017)
171. Eric, T., Gwendoline, C., Eric, L., Christian, L.: Production de biohydrogène—Voie fermentaire sombre. *Techniques de l'Ingénieur BIO 3(351)*, v2–v1 (2018)
172. Asada, Y., Miyake, J.: Photobiological hydrogen production. *J. Biosci. Bioeng.* **88**(1), 1–6 (1999)
173. Morimoto, M.: Why is the anaerobic fermentation in the production of the biohydrogen attractive? In: *The Proceedings of Conversion of Biomass into Bioenergy. Organized by New energy and Industrial Technology Development Organization (NEPO), Japan and Malaysian Palm oil Board (MPOP)* (2002)
174. Atif, A.A.Y., Fakhru'l-Razi, A., Ngan, M.A., Morimoto, M., Iyuke, S.E., Veziroglou, N.T.: Fed batch production of hydrogen from palm oil mill effluent using anaerobic microflora. *Int. J. Hydrog. Energy* **30**, 1393–1397 (2005)
175. Nandi, R., Sengupta, R.: Microbial production of hydrogen: an overview. *Crit. Rev. Microbiol.* **24**, 61–84 (1998)
176. Hawkes, F.R., Dinsdale, R., Hawkes, D.L., Hussy, I.: Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimisation. *Int. J. Hydrog. Energy* **27**, 1339–1347 (2002)
177. Ramachandran, R., Menon, R.K.: An overview of industrial uses of hydrogen. *Int. J. Hydrog. Energy* **23**, 593–598 (1998)
178. Noike, T., Mizuno, O.: Hydrogen fermentation of organic municipal wastes. *Water Sci. Technol.* **42**, 155–162 (2000)
179. Ajayan, P.M., Zhou, O.Z.: Applications of carbon nanotubes. *Top. Appl. Phys.* **80**, 391–425 (2001)
180. Demirbas A.: Thermochemical conversion processes. In: *Biofuels. Green Energy and Technology*. Springer, London (2009)
181. Demirbas, A.: Combustion characteristics of different biomass fuels. *Prog. Energy Combust. Sci.* **30**, 219–230 (2004)
182. Salas Fernandez, M.G., Becraft, P.W., Yin, Y., Lübberstedt, T.: From dwarves to giants? Plant height manipulation for biomass yield. *Trends Plant Sci.* **14**, 454–461 (2009)
183. Carrillo, M.A., Staggenborg, S.A., Pineda, J.A.: Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. *Fuel* **116**, 427–431 (2014)
184. Caputo, A.C., Palumbo, M., Pelagagge, P.M., Scacchia, F.: Economics of biomass energy utilization in combustion and gasification plants: effects of logistic variables. *Biomass Bioenergy* **28**, 35–51 (2005)
185. Backreedy, R.I., Fletcher, L.M., Jones, J.M., Ma, L., Pourkashanian, M., Williams, A.: Co-firing pulverised coal and biomass: a modelling approach. *Proc. Combust. Inst.* **30**, 2955–2964 (2005)
186. Serra, P., Colauzzi, M., Amaducci, S.: Biomass sorghum production risk assessment analysis: a case study on electricity production in the Po Valley. *Biomass Bioenergy* **96**, 75–86 (2017)
187. Serra, P., Giuntoli, J., Agostini, A., Colauzzi, M., Amaducci, S.: Coupling sorghum biomass and wheat straw to minimise the environmental impact of bioenergy production. *J. Clean. Prod.* **154**, 242–254 (2017)
188. Bridgwater, A.V., Carson, P., Coulson, M.: A comparison of fast and slow pyrolysis liquids from mallee. *Int J Glob. Energy Issues* **27**, 204–216 (2007)
189. Font, R., Williams, P.T.: Pyrolysis of biomass with constant heating rate: influence of the operating conditions. *Thermochim. Acta* **250**, 109–123 (1995)

190. Ansoumane, D.: Etude hydrodynamique et valorisation énergétique par transformation thermo-chimique de déchets de biomasse pour l'alimentation d'une briqueterie. thèse, doctorat en génie des procédés industriels. Université Assane Seck de Ziguinchor (UASZ) et Université de Technologie de Compiègne (UTC), p 193 (2017)
191. Stamenkovic, O.S., Kaliramesh, S., Vlada, B., Veljkovic, V.B., Bankovic-Ilic, I.B., Marija, B., Tasic, M.B., Ciampitti, I.A., Dalovic, I.G., Mitrovic, P.M., Sikora, V.S., Prasad, P.V.: Production of biofuels from sorghum. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **124**, 109769 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109769>
192. Tumuluru, J., Sokhansanj, S., Wright, C., Hess, J., Boardman, R.: A review on biomass torrefaction process and product properties. INL/CON-11-22634. Idaho National Laboratory (2011)
193. Kotaiah, N.D., Monika, K., Prabhakar, S., Parthasarathy, R., Satyavathi, B.: Pyrolysis of sorghum bagasse biomass into bio-char and bio-oil products—a thorough physicochemical characterization. *Therm. Anal. Calorim.* **127**, 1277–1289 (2017)
194. Filipovici, A., Tucu, D., Bialowiec, A., Bukowski, P., Crisan, G.C., Lica, S., Pulka, J.: Effect of temperature and heating rate on the char yield in sorghum and straw slow pyrolysis. *Rev. Chim.* **68**, 576–580 (2017)
195. Yue, Y., Singh, H., Singh, B., Mani, S.: Torrefaction of sorghum biomass to improve fuel properties. *Bioresour. Technol.* **232**, 372–379 (2017)
196. Cao, Y., Wang, Y., Riley, J.T., Pan, W.P.: A novel biomass air gasification process for producing tar-free higher heating value fuel gas. *Fuel Process Technol.* **87**, 343–353 (2006)
197. Rapagna, S., Jand, N., Kiennemann, A., Foscolo, P.U.: Steam gasification of biomass in a fluidised-bed of olivine particles. *Biomass Bioenergy* **19**, 187–197 (2000)
198. James, A.M., Zuan, W., Boyette, M.D., Wang, D.: The effect of air flow rate and biomass type on the performance of an updraft biomass gasifier. *BioResource* **10**, 3615–3624 (2015)
199. Amin, S.: Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. *Energy Convers Manag.* **50**, 1834–1840 (2009)
200. Qian, K., Kumar, A., Patil, K., Bellmer, D., Wang, D., Yuan, W., Huhnke, R.L.: Effects of biomass feedstocks and gasification conditions on the physicochemical properties of char. *Energies* **6**, 3972–3986 (2013)
201. Elliott, C.D., Biller, P., Ross, B.A., Schmidt, J.A., Jones, B.S.: Hydrothermal liquefaction of biomass: developments from batch to continuous process. *Bioresour. Technol.* **178**, 147–156 (2015)
202. Gollakota, A.R.K., Kishoreb, N., Gu, S.: A review on hydrothermal liquefaction of biomass. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **81**, 1378–1392 (2018)
203. Aljerf, L.: Fabrication et test d'un catalyseur d'acide sulfonique approprié pour la réaction de production des biocarburants. *Afrique Sci.* **11**, 349–358 (2015)
204. Peterson, A.A., Vogel, F., Lachance, R.P., Froling, M., Antal, J.M.J., Tester, J.W.: Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: a review of sub-and supercritical water technologies. *Energy Environ. Sci.* **1**, 32–65 (2008)
205. Demirbas, A.: Competitive liquid biofuels from biomass. *Appl. Energy* **88**, 17–28 (2011)
206. Huber, G.W., Chheda, J., Barrett, C., Dumesic, J.A.: Production of liquid alkanes by aqueous-phase processing of biomass-derived carbohydrates. *Science* **308**, 1446–2079 (2005)
207. Bi, Z., Zhang, J., Peterson, E., Zhu, Z., Xia, C., Liang, Y., Wil-towski, T.: Biocrude from pretreated sorghum bagasse through catalytic hydrothermal liquefaction. *Fuel* **188**, 112–120 (2017)
208. Chupin, L., De Ridder, D., Clément-Vidal, A., Soutiras, A., Gineau, E., Mouille, G., Arnoult, S., Brancourt-Hulmel, M., Pot, D., Vincent, L.: Influence of the radial stem composition on the thermal behaviour of miscanthus and sorghum genotypes. *Carbohydr. Polym.* **167**, 12–19 (2017)
209. Hetényi, K., Gál, K., Németh, Á., Sevelia, B.: Use of sweet sorghum juice for lactic acid fermentation: preliminary steps in a process optimization. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **85**, 872–877 (2010)
210. Cheng, Y., Li, S., Huang, J., Zhang, Q., Wang, X.: Production of acetone and butanol by fermentation of sweet sorghum stalk juice. *Trans. CSAE* **24**, 177–180 (2008)
211. Sjöblom, M., Matsakas, L., Krige, A., Rova, U., Christakopoulos, P.: Direct electricity generation from sweet sorghum stalks and anaerobic. *Ind. Crops Prod.* **108**, 505–511 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.062>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Authors and Affiliations

Hamadou Bakari^{1,2,3} · Djomdi² · Zieba Falama Ruben^{1,4} · Djouldé Darnan Roger² · Delattre Cedric³ · Pierre Guillaume³ · Dubessay Pascal³ · Michaud Philippe³ · Christophe Gwendoline³

✉ Michaud Philippe
philippe.michaud@uca.fr

Hamadou Bakari
hamadou.bakari@yahoo.fr

Djomdi
ngdjomdi@yahoo.fr

Zieba Falama Ruben
rubenziefalama@gmail.com

Djouldé Darnan Roger
djoulde@gmail.com

Delattre Cedric
cedric.delattre@uca.fr

Pierre Guillaume
guillaume.pierre@uca.fr

Dubessay Pascal
pascal.dubessay@uca.fr

Christophe Gwendoline
gwendoline.christophe@uca.fr

¹ Energy Research Laboratory, Renewable Energy Section (LRE/SENC), Institute for Geological and Mining Research (IRGM), P.O. Box 4110, Nlongkak Yaounde, Cameroon

² Department of the Renewable Energies, The National Advanced School of Engineering of Maroua, University of Maroua, P.O. Box 46, Maroua, Cameroon

³ Université Clermont Auvergne, CNRS, Clermont Auvergne
INP, Institut Pascal, 63000 Clermont-Ferrand, France

⁴ National Advanced School of Mines and Petroleum
Industries, University of Maroua, P.O Box 46, Maroua,
Cameroon

Résumé

La valorisation énergétique des tiges de sorgho sucré constitue une opportunité pour ce sous-produit agricole dans un contexte de diminution des ressources fossiles et de réchauffement climatique. Le bioéthanol, le biohydrogène et le biométhane sont des vecteurs énergétiques produits à partir de la bioconversion de tige de sorgho sucré. Toutefois, pris séparément, ces procédés de bioconversion ne permettent d'aboutir qu'à une conversion partielle de cette biomasse. De plus, les procédés actuels de production d'éthanol s'avèrent économiquement peu rentables du fait de l'extraction du jus qui est très consommatrice en eau et en énergie. Cette étude expérimente la coproduction des vecteurs énergétiques par fermentation directe de broyats de tiges entières selon différents schémas de procédé. Les résultats ont démontré la possibilité de s'affranchir de l'étape d'extraction du jus et d'améliorer significativement l'efficacité et la rentabilité du procédé. Ces performances ont été renforcées par une étape de saccharification (Celluclast 1.5 L et Viscozyme L) des broyats avant fermentation par *Saccharomyces cerevisiae*. Cette approche a permis d'obtenir une augmentation significative (27,50%) des rendements de conversion énergétique. Le couplage des procédés fermentaires (fermentation alcoolique – méthanisation) a conduit à une performance énergétique de 77,63% du potentiel énergétique des tiges brutes, contre 40,37% et 58,40% respectivement pour les procédés de fermentations alcoolique et de méthanisation simples. Les performances énergétiques obtenues par fermentation sombre en utilisant un consortium bactérien étaient de 41,22%. Des meilleures performances énergétiques (88,74%) ont été obtenues par couplage des procédés fermentation sombre – méthanisation. Cette approche durable présente des avantages économiques et écologiques pour la production d'énergies alternatives.

Mots clés : *Sorghum bicolor* ; Bioconversion ; Hydrolase ; Bioéthanol ; Biométhane ; Biohydrogène.

Abstract

Sweet sorghum stalks energy recovery is an opportunity for this agricultural by-product in a context of decreasing fossil resources and global warming. Bioethanol, biohydrogen and biomethane are energy carriers produced from the bioconversion of sweet sorghum stalks. However, taken separately, these bioconversion processes only lead to a partial conversion of this biomass. In addition, the usual ethanol production processes prove to be economically unprofitable due to the very expensive water and energy consuming juice extraction step. This study experimented with the energy vectors co-production by direct fermentation of crushed whole stems following different process flowsheets. The results revealed that the juice extraction step could be dispensed, significantly improving the efficiency and profitability of sweet sorghum stalks energy bioconversion process. These performances were reinforced by a saccharification step (Celluclast 1.5 L and Viscozyme L) of the crushed stems before their fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. This approach led to a significant increase (27.50%) in energy conversion yield. Ethanol and methane fermentation processes coupling led to an energy performance of 77.63% of raw stems energy potential, compared to 40.37% and 58.40% respectively for single ethanol fermentation and methanization processes. The energy performance of single dark fermentation process using a bacterial consortium was 41.22%. The highest net energy performance (88.74%) was obtained by dark fermentation and methanization processes coupling. This sustainable approach has economic and ecological advantages for alternative energies production.

Key words: *Sorghum bicolor*; Bioconversion; Hydrolase; Bioethanol; Biomethane; Biohydrogen.