

---

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université Akli MOHAND OULHADJ-Bouira**

Faculté des Sciences & des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



**Mémoire**

Présenté par

**HEHAR Hanane**

**BELAICHE Dalila**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER**

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie de l'Environnement



**Prétraitement de la Biomasse  
Lignocellulosiques par  
Electrooxydation**



Soutenue le - / - / --- devant le jury composé de :

Mr. KERNANI R.	MCB, Univ. Bouira	Encadreur
M r. BOUCELKHA A.	MCA, Univ. Bouira	Examineur
Mr. HAMDACHE A.	MCB, Univ. Bouira	Examineur

**Année universitaire 2021/2022**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes parents  
et à toute la famille.*

*Hanane*

---

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes parents*

*À mes frères et surs*

*Et à toute ma famille.*

*Dalila*

---

# *Remerciement*

Nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir donné force et patience, pour mener à terme ce modeste travail.

Nous tenons à remercier Mr. KERNANI Redha, notre encadreur, pour son aide, sa patience, ses conseils et pour sa disponibilité, surtout ses judicieux conseils, qui ont contribués à alimenter notre réflexion et à enrichir nos connaissances.

Nous tenons à témoigner ici notre respectueuse reconnaissance à Mr. BOUCELKHA A., MCB à l'université de Bouira, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail, en acceptant d'examiner ce travail. Il nous est agréable de remercier profondément Mr HAMDACHE A., MCB à l'université de Bouira de nous avoir aussi fait l'honneur de juger ce travail. Qu'ils soient assurés de notre profonde reconnaissance.

Que tous ceux qui nous ont aidée, de pré ou de loin, à mener à bien ce travail, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et notre profonde gratitude.

## Résumé:

Notre étude porte sur l'évaluation de la biomasse forestière pour la production d'éthanol de deuxième génération. Cette biomasse cellulosique peut être transformée de diverses manières pour rompre les lignes celluloseiques puis fermentée avec de la levure de panification dans des conditions appropriées.

L'éthanol de deuxième génération est produit par les étapes suivantes : comme première étape de rupture des lignes celluloseiques, on utilise l'électrooxydation, on utilise différentes quantités de biomasse, puis un traitement enzymatique, et enfin la fermentation d'échantillons de arondo donax après un premier traitement à la boulangère. levure pendant 72 heures, dans des conditions appropriées.

ملخص:

تركز دراستنا حول تقييم الكتلة الحيوية للغابات لإنتاج الإيثانول من الجيل الثاني. يمكن معالجة هذه الكتلة الحيوية السليلوزية بطرق مختلفة لكسر الروابط ثم تخميرها بخميرة الخبز في ظل الظروف المناسب.

يتم إنتاج الإيثانول من الجيل الثاني عبر المراحل التالية: كمرحلة أولية لتفكيك الروابط السليلوز ، نستخدم الأوكسدة الكهربائية ، ونستخدم كميات مختلفة من الكتلة الحيوية ، ثم العلاج بالإنزيم ، وأخيراً تخمير العينات من القصب العملاق بعد المعالجة الأولية بخميرة الخبز لمدة 72 ساعة ، في الظروف المناسبة.

## Abstract

Our study focuses on the evaluation of forest biomass for the production of second generation ethanol. This cellulosic biomass can be transformed in various ways to break the celluloseic lines and then fermented with baker's yeast under appropriate conditions.

Second-generation ethanol is produced by the following steps: as the first step in breaking cellulosic lines, electrooxidation is used, different amounts of biomass are used, then enzymatic treatment, and finally fermentation of arondo donax samples after a first bakery treatment. yeast for 72 hours under appropriate conditions.

# Table des matières

List of Figures	vii
List of Tables	ix
Introduction générale	1
<b>I Etude bibliographique</b>	<b>3</b>
<b>1 Les biomasses lignocellulosiques</b>	<b>4</b>
1.1 La biomasse	4
1.2 La biomasse, une ressource de plus en plus sollicitée	4
1.3 Utilisation de la biomasse pour la production de biocarburants	5
1.4 Structure de la biomasse lignocellulosique	7
1.4.1 Cellulose	8
1.4.2 Hémicelluloses	9
1.4.3 Lignine	10
1.5 <i>Arundo donax</i> comme biomasse lignocellulosique	10
1.5.1 Botanique et physiologie	11
1.5.2 Donax comme culture énergétique	13
1.5.3 Production de bioéthanol à partir d' <i>A. donax</i>	14
1.6 Conclusion	14
<b>2 Pré-traitement et hydrolyse de la biomasse lignocellulosique</b>	<b>15</b>
2.1 Prétraitement Mécaniques	17
2.2 Prétraitement biologique	18
2.3 Prétraitement physico-chimique	19
2.3.1 Prétraitement à la vapeur	19
2.3.2 Explosion à l'ammoniac (AFEX)	20
2.3.3 Prétraitement par voie hydrothermale	20
2.4 Prétraitement chimique	21
2.4.1 Prétraitement acide	21
2.4.2 Prétraitement alcalin	22
2.4.3 Méthodes de solvants organiques	23
2.5 Prétraitement oxydatif	23

2.6 Conclusion . . . . .	24
<b>II Matériels &amp; Méthodes Analytiques</b>	<b>26</b>
<b>3 Matériels</b>	<b>27</b>
3.1 Préparation de matériel végétal . . . . .	27
3.2 Caractérisation de l'échantillon et méthodes analytiques . . . . .	28
3.3 Electrooxydation de la biomasse . . . . .	29
3.3.1 Aperçu mécanistique de l' de la biomasse . . . . .	29
3.3.2 Oxydation de la lignine . . . . .	30
3.4 Tests d'électrooxydation de la biomasse . . . . .	30
3.5 Hydrolyse enzymatique . . . . .	32
3.6 Fermentation alcoolique : production de bioéthanol . . . . .	32
<b>III Résultats &amp; discussion</b>	<b>33</b>
<b>4 Résultats et discussion</b>	<b>34</b>
4.1 Prétraitement de la biomasse par électrooxydation . . . . .	34
4.2 Hydrolyse enzymatique . . . . .	35
4.3 Tests de fermentation . . . . .	37
<b>Conclusion</b>	<b>39</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>40</b>

# Table des figures

1.1	La biomasse, ressources et utilisations [1]. . . . .	5
1.2	Principales sources de biomasse [1]. . . . .	6
1.3	Schéma des voies de valorisation de la biomasse en molécules énergétiques (physicochimique et biochimique vs thermique) (les aspects traités dans cet article sont en caractères gras).[2]. . . . .	7
1.4	Principaux composants de la biomasse lignocellulosique [3]. . . . .	8
1.5	Structure chimique de la cellulose. [3]. . . . .	9
1.6	Structure chimique de l'hémicellulose. [3]. . . . .	9
1.7	Structure chimique de la lignine.[3]. . . . .	10
1.8	(A) les fleurs de A. donax à maturité, à la fin de l'été; (B) En hiver; (C) Canne simple, atteignant la hauteur de 8 m; (D) Propagation végétative par de nouveaux rhizomes se propageant à partir des vieilles plantes; (E) Jeunes pousses sortant des noeuds. [4] . . . . .	12
2.1	Les différentes méthodes de prétraitements de la biomasse lignocellulosique)	16
2.2	Présentation visuelle des différentes méthodes de prétraitement mécanique [5].) . . . . .	18
2.3	Présentation visuelle des différentes méthodes de prétraitement chimique [5].) . . . . .	21
3.1	Courbe détalonnage; absorbance à 420 nm en fonction de la concertation de glucose . . . . .	29
3.2	Un schéma montrant plusieurs réactions représentatives d'électro-oxydation de la biomasse [6].) . . . . .	30
3.3	Voies proposées pour l'électrooxydation de la lignine [6] . . . . .	31
4.1	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=4 a différente concertation en biomasse . . . . .	34
4.2	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=7 a différente concertation en biomasse . . . . .	35
4.3	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=10 a différente concertation en biomasse . . . . .	35
4.4	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=4 .	36

4.5	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=7	37
4.6	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=10	37
4.7	Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=10	38

# Liste des tableaux

1.1	Rendement énergétique net et indice EROI pendant 12 ans de culture de A. donax et M. sinensis . . . . .	13
3.1	Analyse granulométrique de l'échantillon . . . . .	27

# Introduction Générale

Les préoccupations environnementales liées au changement et au réchauffement climatique sont d'une importance capitale pour la survie de l'humanité et ont ainsi attiré l'attention des scientifiques du monde entier. L'augmentation des niveaux de gaz à effet de serre, l'épuisement progressif des ressources en pétrole et l'augmentation de la demande en énergie ont rendu nécessaire la recherche de ressources alternatives propres et durables aux combustibles fossiles afin de répondre à la demande de la population tout en maintenant son niveau et sa qualité de vie (Sims et al. ; 2010). Actuellement, les ressources en combustibles fossiles comme le charbon et le gaz naturel contribuent largement à la production d'électricité, mais elles assurent aussi plus de 90 % des besoins énergétiques du transport.

Les biocarburants sont avantageux, même si leur utilisation présente certaines limitations ; par conséquent, si elle est optimisée, une bioraffinerie peut s'avérer réduire la dépendance aux carburants à base de pétrole de manière durable. Le bioéthanol s'est imposé comme le premier biocarburant mondial et le marché du bioéthanol a continué de croître rapidement ces dernières années. La demande de pétrole devrait augmenter à hauteur de 57 % de 2002 à 2030 et selon Crop-energies (2016), en 2018, la production mondiale de bioéthanol a augmenté de 2,7 % pour atteindre 154 millions de m<sup>3</sup>.

La biomasse lignocellulosique (BLC) est une matière première prometteuse pour les futurs biocarburants renouvelables. En effet, elle constitue un substrat renouvelable abondant et disponible pour la production de bioéthanol qui n'entre pas en compétition avec l'alimentation animale ou humaine. Les matériaux lignocellulosiques sont principalement constitués par un mélange de glucides et de polymères linéaires non ramifiés de glucose,

c'est-à-dire la cellulose. Parmi les autres constituants majeurs, on trouve les hémicelluloses qui appartiennent à un groupe de polysaccharides hétérogènes contenant à la fois des sucres carbonés C5 et C6, ainsi que la lignine qui est une molécule complexe avec des unités phénylpropanoïques dans une structure à trois dimensions. Les matières végétales lignocellulosiques contiennent également des protéines et des composés extractibles, représentant une fraction mineure (entre 5 % et 15 %). Les extractibles incluent un très grand nombre de constituants lipophiles et hydrophiles.

Pour produire du bioéthanol par voie biochimique, 3 étapes clés sont nécessaires : le prétraitement qui permet de déstructurer la matrice lignocellulosique afin de rendre la cellulose plus accessible aux enzymes, l'hydrolyse enzymatique qui a pour but de produire des sucres fermentescibles et la fermentation qui permet de transformer ces sucres en éthanol. Le prétraitement est la première et la plus importante étape dans le traitement de la biomasse lignocellulosique. Il s'agit d'un processus clé par lequel la structure récalcitrante de la biomasse lignocellulosique pourrait être modifiée de manière à la rendre accessible à d'autres processus ou réactions. Après celui-ci, il sera donc possible de transformer les polymères glucidiques en sucres simples fermentescibles par hydrolyse enzymatique, puis en biocarburant ou en d'autres produits dérivés.

L'objectif de ce travail est de proposer un procédé de prétraitement ; electrooxydation, permettant la destruction de la structure de la lignine et la libération de la cellulose et l'hémicellulose facilement hydrolysable par les enzymes cellulosique, permettant la production d'éthanol par fermentation des sucres.

Ce présent mémoire se décline en trois chapitres. Le premier et le second chapitre, est une étude bibliographique consacrée dans un premier temps à la biomasse lignocellulosique puis aux procédés de prétraitement. Le chapitre trois est consacré à la partie expérimentale. Les résultats obtenue sont rapportés dans le dernier chapitre

Première partie

Etude bibliographique

# Chapitre 1

## Les biomasses lignocellulosiques

### 1.1 La biomasse

La biomasse est la fraction biodégradable des produits, des déchets et des résidus d'origine biologique provenant de l'agriculture (y compris les substances animales et végétales), de la sylviculture et des industries connexes, y compris la pêche et l'aquaculture, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et municipaux. Ainsi, les ressources qui la constituent sont nombreuses et de natures très différentes. Elles proviennent directement de matières premières ou apparaissent lors des processus de transformation de celles-ci (figure 1.1).

### 1.2 La biomasse, une ressource de plus en plus sollicitée

L'essentiel de la biomasse agricole est destinée à l'alimentation humaine et animale, alors que la biomasse forestière est principalement affectée à la production de bois. Mais le développement des utilisations non alimentaires sous forme de bioénergies et de produits biosourcés devrait s'accélérer. La politique mise en place pour lutter contre le réchauffement climatique, réduire la dépendance vis-à-vis des matières premières fossiles et anticiper l'épuisement des gisements d'hydrocarbures favorise l'émergence de méthodes de productions alternatives qui s'appuient sur l'utilisation de ressources renouvelables. Il est donc important de progresser dans l'évaluation de ces ressources afin d'anticiper les éventuels conflits d'usage et de respecter la hiérarchie des usages qui donne priorité à

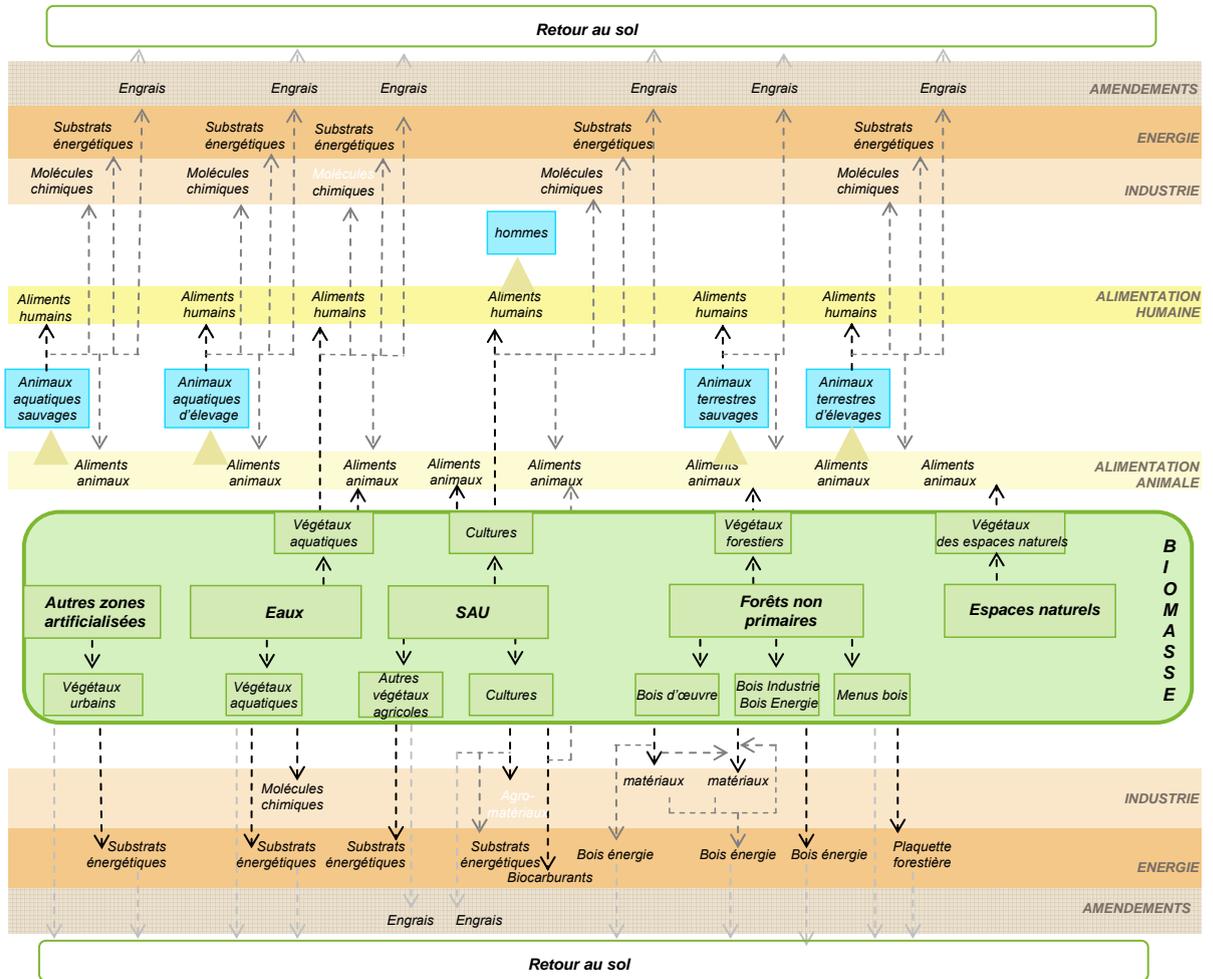


FIGURE 1.1: La biomasse, ressources et utilisations [1].

l'usage alimentaire, puis aux usages industriels (y compris matériaux) et en dernier lieu aux usages énergétiques.

### 1.3 Utilisation de la biomasse pour la production de biocarburants

Les biocarburants font partie des carburants alternatifs développés pour réduire à la fois les émissions des gaz à effet de serre (GES) et la dépendance au pétrole dans les transports. Ils sont produits par des procédés biologiques ou thermiques au cours desquels la biomasse est convertie en carburants liquides (éthanol, lipides comme précurseurs) ou gazeux (syngas, isobutène ou hydrogène). Le terme "biomasse" désigne la fraction biodégradable des produits, des déchets et des résidus de l'agriculture (substances végétales et

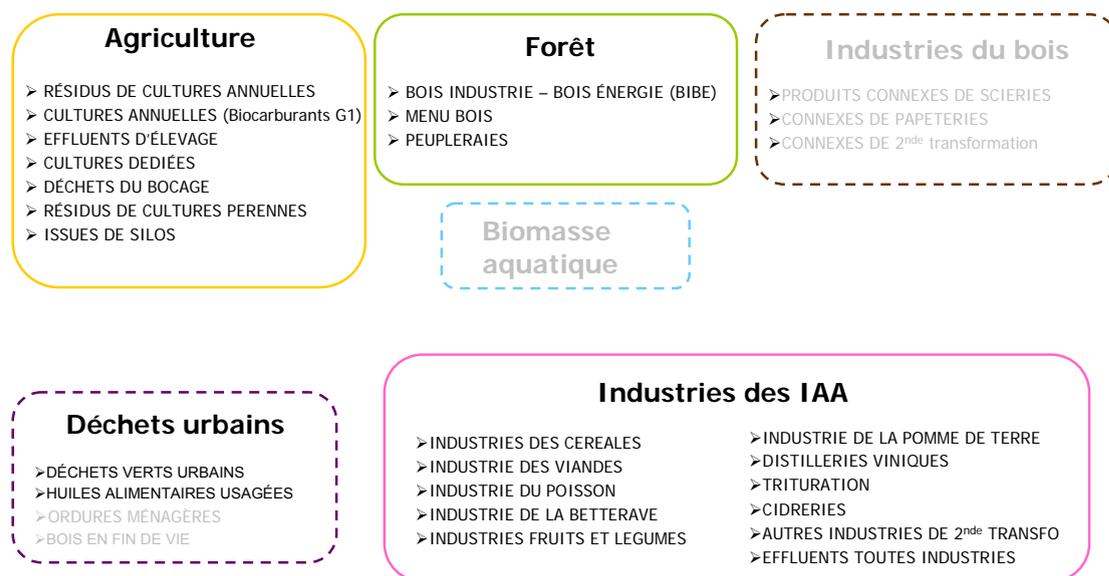


FIGURE 1.2: Principales sources de biomasse [1].

animales), de la sylviculture et des industries de la pisciculture ou aquaculture, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels ou municipaux. Au cours de la dernière décennie, trois générations de biocarburants ont été obtenues successivement. Les différentes générations de biocarburants dépendent de la nature de la ressource mobilisée :

Les biocarburants dits G1 (première génération, généralement issus de cultures en concurrence avec l'alimentaire) sont fabriqués à partir :

- de plantes contenant de l'huile (colza, tournesol, soja, palme) pour le biodiesel ;
- d'alcool produit par fermentation du sucre issu de plantes (betteraves, cannes à sucre), ou de l'amidon extrait de céréales (blé, maïs,  $\ddot{E}$ ) pour le bioéthanol.

Les biocarburants G2 (deuxième génération) peuvent être obtenus notamment à partir de résidus agricoles (paille) et forestiers (bois) et de plantes provenant de cultures dédiées (miscanthus, taillis à croissance rapide). Il s'agit de transformer les principaux constituants (lignocellulosique) :

- soit par voie thermochimique pour obtenir du biodiesel.
- soit par voie biochimique pour obtenir de l'éthanol.

La conversion de matières lignocellulosiques en substrats liquides ou gazeux peut s'opérer selon deux voies (Figure 1.3) : (1) des traitements physico-chimiques, chimiques et biologiques sont combinées pour produire initialement des hydrolysats liquides puis des

biocarburants liquides ou gazeux et (2) des processus thermiques (combustion, gazéification et pyrolyse) qui produisent des gaz de synthèse ou syngas (i.e. mélanges gazeux CO, CO<sub>2</sub> et / ou H<sub>2</sub>) qui sont ensuite transformés en molécules énergétiques des familles alcool ou lipide [2].

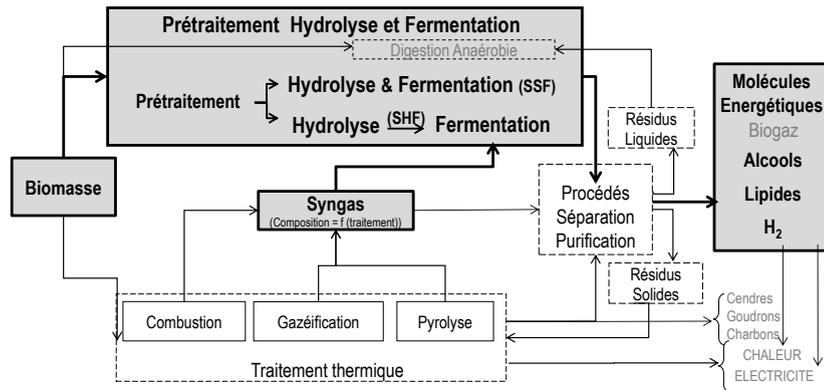


FIGURE 1.3: Schéma des voies de valorisation de la biomasse en molécules énergétiques (physicochimique et biochimique vs thermique) (les aspects traités dans cet article sont en caractères gras).[2].

## 1.4 Structure de la biomasse lignocellulosique

Les principaux composants des matériaux lignocellulosiques sont la cellulose, les hémicelluloses et la lignine.

La cellulose est un composant structural majeur des parois cellulaires qui procure une résistance mécanique et une stabilité chimique aux plantes. L'énergie solaire est absorbée au cours du processus de la photosynthèse et stockée sous forme de cellulose. Les hémicelluloses sont des copolymères de différents types de C<sub>5</sub> et C<sub>6</sub> qui existent également dans la paroi cellulaire de la plante. La lignine est un polymère de composés aromatiques qui forme une couche protectrice pour les parois de la plante. Dans la nature, ces substances se développent et se dégradent au cours de l'année. On estime qu'environ 7,5.10<sup>10</sup> tonnes de cellulose sont consommées et régénérées chaque année. C'est donc le composé organique le plus abondant au monde [7].

Outre les trois composés chimiques principaux constituant la lignocellulose, l'eau est également présente dans le complexe. De plus, des quantités mineures de protéines, de minéraux et d'autres composants peuvent également être trouvées dans la composition de la BLC. La composition de la lignocellulose dépend fortement de sa source. Il existe

une variation significative de la teneur en lignine et hémicellulose de la lignocellulose selon qu'elle provient de bois des feuillus, de bois des résineux ou de graminées. La Figure 1.4 illustre la structure de la lignocellulose [8].

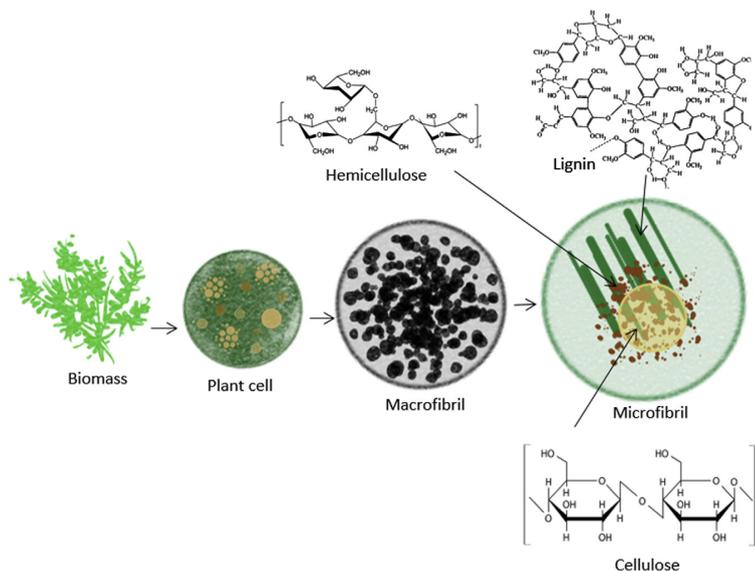


FIGURE 1.4: Principaux composants de la biomasse lignocellulosique [3].

### 1.4.1 Cellulose

Le composant principal de la biomasse lignocellulosique est la cellulose. La cellulose est un homopolysaccharide linéaire constitué d'unités de glucose (D-glucopyranose) liées entre elles par des liaisons  $\beta(1-4)$  glycosidiques ( $\beta$ -D-glucane) décrites sur la Figure 1.5. L'unité récurrente de la cellulose est le disaccharide cellobiose. La nature hydrophile/hydrophobe de la cellulose repose sur son anisotropie structurale. Les chaînes de cellulose sont disposées de manière parallèle et sont organisées en feuilles stabilisées par des liaisons hydrogène O—H à O intercalaire, tandis que l'empilement de feuilles est stabilisé par les forces de dispersion de Van der Waals et par de faibles liaisons hydrogène CH—O. La cellulose a une forte affinité pour elle-même et pour les matériaux contenant des hydroxyles, en particulier l'eau. Basé sur la prépondérance de fonctions hydroxyle, le polymère de cellulose est très réactif avec l'eau. La petite taille moléculaire de l'eau favorise la réaction avec les chaînes de cellulose et des liaisons hydrogène sont immédiatement formées. De plus, les forces de dispersion de Van der Waals jouent un rôle important entre ces deux entités réactives. Elles stabilisent la structure de la cellulose et donnent

une énergie de cohésion considérable au réseau de cellulose. En résumé, les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques et les forces de dispersion de Van der Waals jouent un rôle important dans la détermination de la structure cristalline de la cellulose lors des interactions cellulose-eau

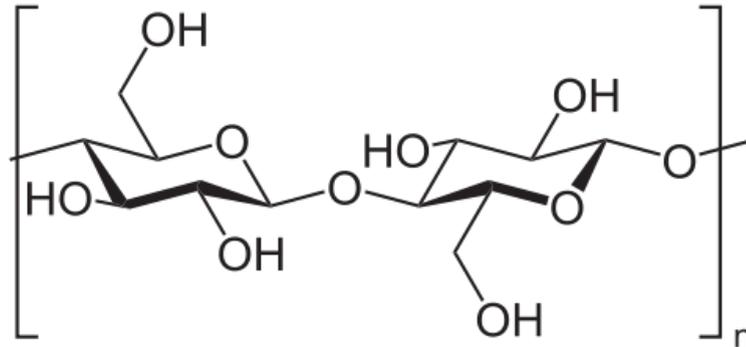


FIGURE 1.5: Structure chimique de la cellulose. [3].

#### 1.4.2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides ramifiés peu polymérisés et constitués de différentes unités monosaccharidiques telles que le glucose, le mannose, le galactose, l'arabinose et le xylose (Figure 1.6). Elles ont des ramifications courtes (50-200) et amorphes, ce qui les rend partiellement solubles dans l'eau. Les hémicelluloses sont capables de se lier à la cellulose par de multiples liaisons par pont hydrogène et à la lignine par des liaisons covalentes. Ces polymères ne sont pas cristallins et sont plus accessibles à l'hydrolyse que la cellulose. Les hémicelluloses présentent une structure en bâtonnets avec des ramifications et des chaînes latérales repliées dans la chaîne principale par liaison hydrogène [9].

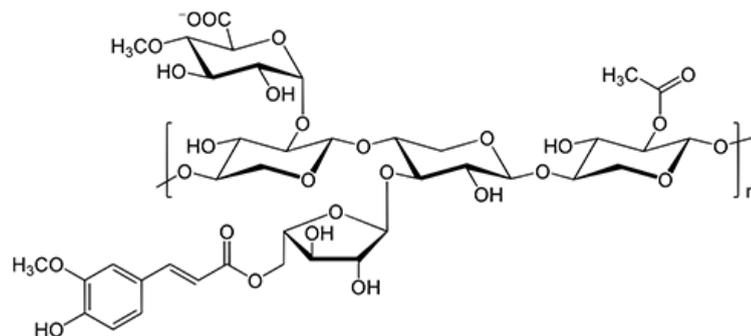


FIGURE 1.6: Structure chimique de l'hémicellulose. [3].

### 1.4.3 Lignine

Après la cellulose, la lignine est la deuxième source de carbone renouvelable la plus abondante. La lignine est un hétéropolymère phénolique réticulé dérivé principalement de trois monomères d'alcool hydroxycinnamoylé, à savoir les alcools p-coumarylique, coniférylique et sinapylique. Ils sont principalement formés par la polymérisation radicalaire d'unités alcool phydroxy cinnamylique à teneur en méthoxy variable (Figure 1.7). Ils sont de nature relativement hydrophobe et aromatique. Selon le degré de méthylation, le groupe aromatique est le p-hydroxybenzyle (dérivé de l'alcool p-coumarylique), le guaiacyle (dérivé de l'alcool coniférylique) ou le syringyle (dérivé de l'alcool sinapylique). La lignine non seulement donne de la résistance au tissu végétal en raison de sa rigidité, mais elle affecte également le transport de l'eau, des nutriments et des métabolites. [10].

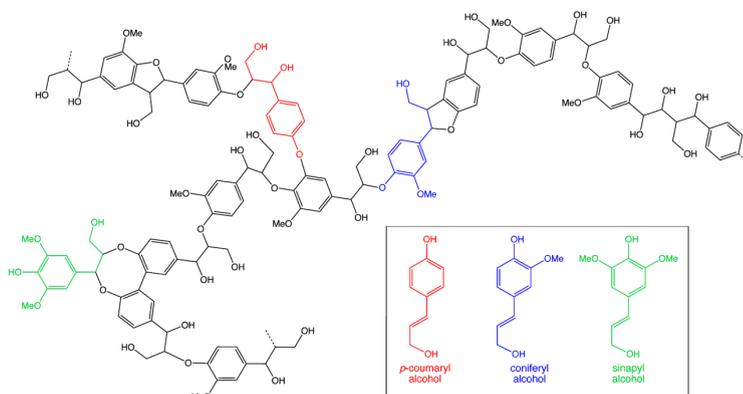


FIGURE 1.7: Structure chimique de la lignine. [3].

## 1.5 *Arundo donax* comme biomasse lignocellulosique

*Arundo donax* est une graminée érigée, vivace, ressemblant à un bambou, présente dans le bassin méditerranéen depuis des milliers d'années, mais sa zone d'origine est encore débattue et n'est pas claire car des preuves historiques et archéologiques indiquent la présence de cette plante depuis les temps anciens. *A. donax* est devenu mondialement dispersé par les humains, il est donc possible de le trouver en Asie, en Europe du Sud, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et aussi en Amérique du Nord et du Sud et en Australasie. L'explication de cette diffusion intentionnelle est que *A. donax* peut être utilisé à de nombreuses fins dans le monde rural. Les chaumes sont utilisés pour fabriquer des treillis, des clôtures, des paniers, des cannes à pêche, des tuteurs pour les plantes, des

toits, des brise-vent, des abris solaires, des bacs à céréales, des instruments de musique, des cannes et des treillis. Dans les vignes, les tiges et les feuilles sont utilisées pour caler et attacher les pieds de vigne. L'inflorescence apicale peut être utilisée pour fabriquer des balais. En médecine traditionnelle, il est utilisé comme diurétique, sudorifique et pour le traitement de l'hydropisie. *A. donax* a été utilisé industriellement pour produire de la cellulose, du papier et de la rayonne (viscose)[11, 12].

### 1.5.1 Botanique et physiologie

*A. donax* L. est une plante bien adaptée aux climats tempérés chauds à subtropicaux. Elle appartient à la famille des Poaceae et est la plus répandue parmi les espèces du genre *Arundo* comprenant également *Arundo plinii*, *Arundo collina* et *Arundo mediterranea*. Elle est considérée comme l'une des graminées herbacées les plus hautes en raison de sa hauteur pouvant atteindre plus de 8 m dans des conditions de croissance optimales, avec des vitesses de croissance allant de 4 à 7 cm par jour. En fait, même si *A. donax* est une plante, elle présente des vitesses de photosynthèse élevées et un potentiel photosynthétique insaturé par rapport aux plantes C4 [13].

*A. donax* est une plante vivace à rhizome produisant de gros rhizomes charnus (de 5 à 50 cm de longueur) sous la surface du sol [14]. Les racines fibreuses issues des rhizomes sont capables de pousser dans le sol jusqu'à 5 m de profondeur. Les chaumes portent des feuilles alternes (5 à 8 cm de large et 30 à 70 cm de long) qui proviennent du rhizome et sont très dures et cassantes avec une surface verte brillante lisse qui vire au jaune doré à la fin de la croissance saison. La tige *A. donax* est une tige creuse et segmentée qui mesure de 1 à 4 cm de diamètre et est capable de se ramifier 1.8. Les parois des chaumes ont une épaisseur de 2 à 7 mm et les entre-noeuds peuvent atteindre 30 cm de longueur. Cette structure de tige est capable de supporter la position dressée d'une plante aussi haute, car sa stabilité mécanique ne dépend pas de la pression de turgescence. En fait, l'analyse en coupe a mis en évidence un stérome hypodermique avec des fibres sclérenchymateuses et un anneau interne parenchymateux épais. Cet anneau contient un nombre élevé de faisceaux vasculaires, caractérisés par des gaines de faisceaux fortement lignifiées, renforçant dans le sens longitudinal. Les tiges et les feuilles sont caractérisées par une teneur relativement élevée en silice, causée par la présence de cellules siliceuses associées à des faisceaux vasculaires dans la couche épidermique. Plusieurs tiges poussent

à partir des bourgeons de rhizome pendant toute la saison végétative, formant des touffes denses [4].

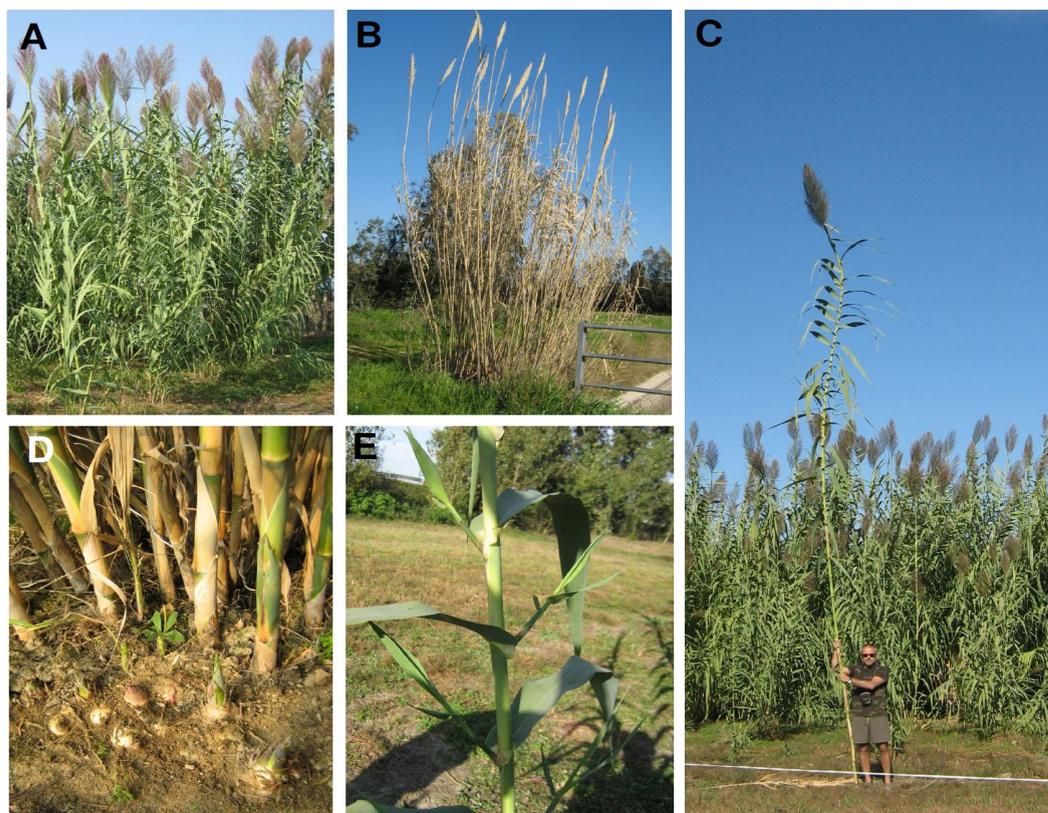


FIGURE 1.8: (A) les fleurs de *A. donax* à maturité, à la fin de l'été; (B) En hiver; (C) Canne simple, atteignant la hauteur de 8 m; (D) Propagation végétative par de nouveaux rhizomes se propageant à partir des vieilles plantes; (E) Jeunes pousses sortant des noeuds. [4]

Pour ces caractéristiques, *A. donax* est capable de pousser dans une très large gamme de sols, y compris des terres apparemment inhospitalières et marginales; après la première année de croissance, il deviendra relativement insensible au stress hydrique. Il est également capable de survivre dans des sites à forte humidité et salinité, y compris les marais, même si les meilleures performances sont obtenues dans des sols bien drainés avec une bonne disponibilité en eau. S'il supporte les basses températures en hiver, il est très sensible aux gelées tardives du printemps. Sa vigueur fait d'*A. donax* un concurrent potentiel efficace pour les autres espèces végétales. Une fois établi, *A. donax* a tendance à couvrir de vastes zones avec des touffes denses, compromettant la présence de végétation indigène incapable de rivaliser. Dans la zone riveraine, il peut modifier les régimes d'écoulement. *A. donax* est également capable de tirer parti des incendies extrêmes, car grâce à la résistance des rhizomes et à son taux de croissance rapide, il peut dépasser les

autres espèces. Cela peut entraîner une diminution de la diversité biologique des zones colonisées. De plus, dans les tiges et les feuilles d'*A. donax*, il existe plusieurs produits chimiques nocifs, ces composés ainsi que l'épaisseur des tissus peuvent les protéger de l'attaque des insectes herbivores et autres brouteurs [15].

### 1.5.2 Donax comme culture énergétique

Dans la quantification de l'efficacité des processus de production d'énergies de la biomasse, l'énergie retournée sur l'énergie investie (Eroei) est un paramètre important à considérer. Dans ce concours, *A. Donax* a montré le meilleur potentiel en valeur Eroei, grâce aux grands rendements atteints dans des conditions de culture à faibles intrants, par rapport à d'autres espèces herbacées vivaces telles que *sinensis* et *Panicum* qui ont montré des valeurs Eroei plus faibles et une plus faible adaptabilité à différentes conditions pédologiques [16].

TABLE 1.1: Rendement énergétique net et indice Eroei pendant 12 ans de culture de *A. donax* et *M. sinensis*

Année	Rendement énergétique net (Gj/ha)		Éroei	
	<i>A. donax</i>	<i>M. sinensis</i>	<i>A. donax</i>	<i>M. sinensis</i>
1	488	156	30	10
2	891	846	75	71
3	852	538	71	45
4	732	597	62	50
5	718	522	60	44
6	780	441	65	37
7	762	533	64	45
8	678	469	57	40
9	403	453	34	38
10	377	331	32	28
11	505	384	43	33
12	458	330	39	28
Moyenne	637±180	467±169	53±20	39±18

*A. donax* présente les caractéristiques positives des cultures annuelles (taux de croissance relatif élevé et productivité élevée) et polyennales (faible apport requis et racines profondes). La fertilisation azotée de la culture d'*A. donax* pourrait être non économique car la faible augmentation du rendement et les coûts énergétiques et économiques élevés de l'azote aggraverait le bilan énergétique et économique total. Pour cette raison, *A. donax* pourrait être la culture énergétique idéale étant une plante rugueuse adaptée aux terres marginales.

La biomasse d'A. donax a trouvé une large application dans la production d'énergie. Elle pourrait être utilisée comme biocombustible solide dans la combustion directe, la gazéification et la pyrolyse ou utilisée pour la digestion anaérobie pour produire du biogaz, ou soumise à une fermentation alcoolique pour produire du bioéthanol [17]. La fermentation alcoolique et la digestion anaérobie nécessitent des prétraitements chimiques et physiques de la biomasse qui diminuent l'indice EROI des processus.

### 1.5.3 Production de bioéthanol à partir d'A. donax

La comparaison entre plusieurs biomasses fibreuses, A. donax a montré une valeur intermédiaire pour le rendement en bioéthanol, en raison du faible rendement de récupération des sucres et de la présence après les prétraitements d'une forte concentration d'acétate (4,8 g /l) (un composé inhibiteur de la fermentation alcoolique).

L'efficacité légèrement inférieure de la libération de glucose et de la production de bioéthanol pourrait être due à une teneur élevée en lignine (16 à 22 %) [18] à un rapport S : G lignine élevé [19] et à une microporosité plus élevée. et une mésoporosité plus faible, par rapport aux autres cultures annuelles [20] Bien que A. donax ne soit pas caractérisé par les meilleures performances dans le processus de production de bioéthanol, le rendement élevé de biomasse sèche par hectare [21, 22] suggèrent un grand potentiel pour cette culture.

## 1.6 Conclusion

A. donax pourrait devenir une culture énergétique importante en raison de son rendement élevé et de sa capacité à pousser sur des terres marginales, donc sans concurrence avec les terres arables utilisées pour la production alimentaire. Ainsi, la production de bioéthanol apparaît pour l'instant comme la meilleure façon d'utiliser la biomasse lignocellulosique issue de cette plante.

## Chapitre 2

# Pré-traitement et hydrolyse de la biomasse lignocellulosique

### Introduction

Le prétraitement est une étape importante nécessaire pour décomposer la structure de la lignine et des hémicelluloses, réduire la cristallinité et augmenter la porosité de la cellulose afin de la rendre accessible aux enzymes ou aux acides et permettre ainsi son hydrolyse. Une classification généralisée des méthodes de prétraitement les regroupe en : prétraitements physique, chimique, biologique et multiple ou hybride, comme illustré sur la Figure 2.1. Dans les méthodes de prétraitements hybrides, des paramètres physiques tels que la température ou la pression, ou encore une étape biologique sont combinés à des traitements chimiques et sont alors appelés méthodes de prétraitements physico-chimiques ou biochimiques d'une façon générale. L'AFEX (Ammonia Fiber Explosion) est un bon exemple de méthode physico-chimique, et le traitement Bioorganosolv constitue aussi un exemple typique de méthode biochimique pour le prétraitement de la biomasse.. Les stratégies de prétraitements hybrides sont généralement plus efficaces pour améliorer la digestibilité de la biomasse et sont souvent utilisées pour concevoir des technologies de prétraitement avancées. Un prétraitement efficace devrait améliorer la conversion des sucres [3].

Il devrait également éviter la dégradation ou la perte de glucides, ainsi que la formation de sous-produits qui inhibent l'hydrolyse et le processus de fermentation. Il devrait de

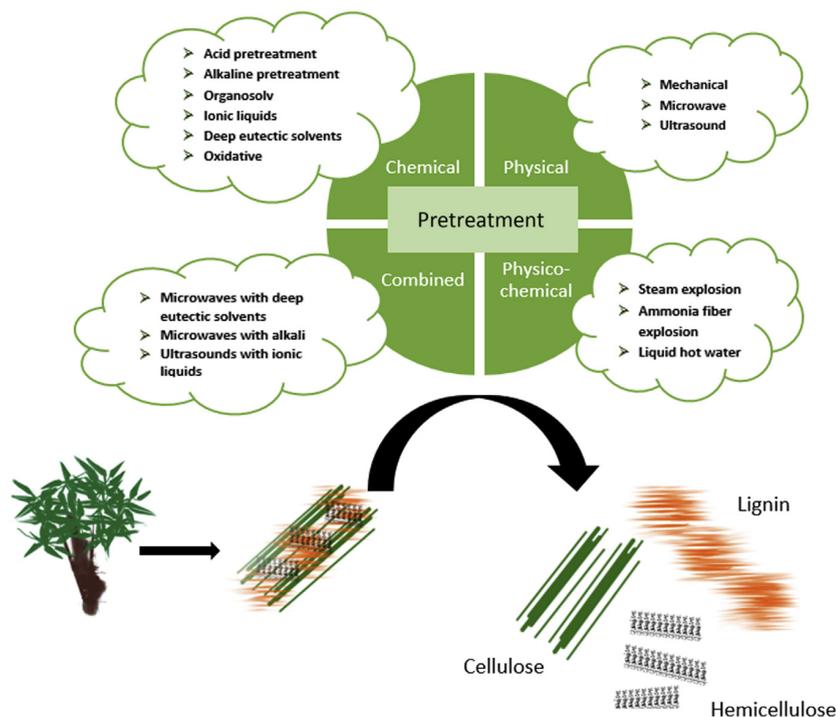


FIGURE 2.1: Les différentes méthodes de prétraitements de la biomasse lignocellulosique)

plus être rentable et externaliser la demande en énergie. Les obstacles dus au coût de l'utilisation de la biomasse peuvent être surmontés en développant une méthode de prétraitement efficace avec des conditions de fonctionnement optimales. La formation limitée d'inhibiteurs, la préservation de la cellulose et des hémicelluloses, la réduction de l'utilisation de produits chimiques et d'eau, la réduction de la demande en énergie dans les procédés biochimiques sont les éléments clés d'un prétraitement économique. Les points énumérés sont [3] :

1. Rendements élevés de multiples cultures, âges des sites et périodes de récolte
2. Fraction solide hautement digestible
3. Pas de dégradation du sucre
4. Faible quantité de composés toxiques
5. Pas d'exigence de réduction de taille
6. Exploitation dans des réacteurs de taille raisonnable et à coût modéré
7. Non production de résidus de déchets solides
8. Efficacité à faible teneur en humidité
9. Obtention d'une concentration en sucre élevée

10. Compatibilité de fermentation du matériau de prétraitement
11. Récupération de la lignine
12. Consommation minimale de chaleur et de puissance

## 2.1 Prétraitement Mécaniques

Les avantages du prétraitement mécanique des matériaux lignocellulosiques sont : la réduction de la taille des particules, l'augmentation de la surface spécifique et de la densité apparente, et la réduction de la quantité de déchets chimiques. Une densité apparente plus élevée facilite la manipulation de la biomasse après la récolte, le stockage et le transport . À leur tour, des tailles de particules plus faibles, ainsi qu'une augmentation de la surface spécifique, facilitent le traitement chimique ou physique en raison de : (1) le développement d'une frontière de phase entre le matériau lignocellulosique et les produits chimiques, et (2) l'élimination de la limitation du transfert de chaleur [3, 23].

L'objectif du broyage est de réduire les limitations de transfert de chaleur et de masse. Le broyage et le déchiquetage sont plus efficaces pour réduire la taille des particules et la cristallinité de la cellulose que l'écaillage, probablement du fait des forces de cisaillement générées lors du broyage. Le type et la durée de broyage ainsi que le type de biomasse déterminent l'augmentation de la surface spécifique, le DP final et la réduction nette de la cristallinité de la cellulose. Le broyage à billes vibratoire est plus efficace que le broyage à billes ordinaire pour réduire la cristallinité de la cellulose dans les copeaux d'épicéa et de tremble. Le broyage à disque qui produit des fibres améliore plus efficacement l'hydrolyse de la cellulose que le broyage à marteaux qui produit des faisceaux plus fins [3, 24].

Le principal inconvénient du prétraitement mécanique est la forte consommation d'énergie, qui contribue aux coûts de traitement élevés des matériaux lignocellulosiques. Ainsi, la connaissance des propriétés mécaniques de la matière première utilisée est essentielle pour la sélection optimale de la méthode et de l'équipement nécessaires au traitement mécanique de la biomasse. Cela devrait garantir un équilibre approprié entre les coûts et l'efficacité des processus. Compte-tenu des besoins énergétiques élevés de ce procédé à l'échelle industrielle et de la hausse de la demande énergétique, il est peu probable qu'il reste économiquement viable [3, 25].

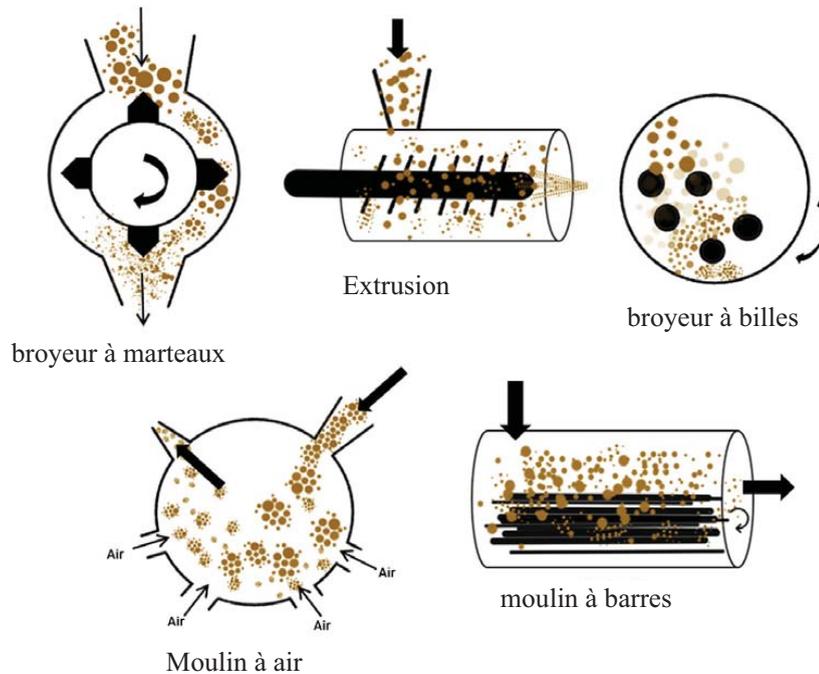


FIGURE 2.2: Présentation visuelle des différentes méthodes de prétraitement mécanique [5].)

## 2.2 Prétraitement biologique

Le traitement biologique comparé aux méthodes conventionnelles telles que les prétraitements chimiques et physiques est considéré comme un processus efficace, à faible consommation d'énergie et respectueux de l'environnement. Cette méthode utilise principalement des microorganismes, tels que des champignons ou des bactéries, qui sont capables de se reproduire tout en dégradant la BLC. Les prétraitements biologiques sont principalement associés à l'action de champignons producteurs d'enzymes capables de dégrader la lignine, l'hémicellulose et les polyphénols [3, 26].

Il a été rapporté que les champignons de la pourriture blanche et de la pourriture molle dégradent les matières lignocellulosiques, la pourriture blanche étant le traitement de prétraitement biologique de la biomasse le plus efficace. Les champignons de la pourriture brune attaquent principalement la cellulose, tandis que la pourriture blanche et la pourriture douce attaquent à la fois la lignine et la cellulose via la production d'enzymes telles que les peroxydases de lignine, les polyphénol oxydases, les peroxydases dépendantes du manganèse et les laccases qui dégradent la lignine.

La cinétique de prétraitement biologique est cependant trop lente pour des applications industrielles. Le temps de séjour de 10 à 14 jours, l'exigence de conditions de croissance et le grand espace nécessaire pour effectuer les prétraitements biologiques sont les inconvénients qui rendent cette méthode de prétraitement peu attrayante à l'échelle industrielle. Le fait qu'une partie de la fraction glucidique soit consommée par le micro-organisme constitue également un inconvénient [3, 27].

## 2.3 Prétraitement physico-chimique

### 2.3.1 Prétraitement à la vapeur

Le prétraitement à la vapeur également appelé explosion à la vapeur car on pensait qu'une action "explosive" sur les fibres était nécessaire pour qu'elles deviennent hydrolysables; elle s'agit d'une méthode physicochimique la plus étudiée et la plus couramment appliquée pour le prétraitement de la biomasse. Dans ce processus, la biomasse prétraitée physiquement (déchiquetée, moulue ou simplement préconditionnée brute) est généralement traitée avec de la vapeur saturée à haute pression à des températures d'environ 160 à 240 °C et à des pressions comprises entre 0,7 et 4,8 MPa. La pression est maintenue pendant quelques secondes à quelques minutes pour favoriser l'hydrolyse de l'hémicellulose, puis relâchée. L'hémicellulose est la fraction prédominante des glucides solubilisés dans la phase liquide pendant le prétraitement, tandis que la lignine est transformée du fait de la température élevée. La cellulose de la fraction solide devient plus accessible, ce qui augmente la digestibilité de la matière première lignocellulosique. L'hydrolyse de l'hémicellulose est provoquée par l'acide acétique généré par les groupes acétyle associés à l'hémicellulose et d'autres acides libérés pendant le prétraitement, qui peuvent catalyser davantage l'hydrolyse de l'hémicellulose, ce qui entraîne la libération de monomères de glucose et de xylose [28].

À haute sévérité (270 °C, 1 min), le prétraitement donne une solubilisation optimale de l'hémicellulose, mais une température plus basse et un temps de séjour plus long (190 °C, 10 min) sont plus favorables car ils évitent la formation de produits de dégradation du sucre qui inhibent la fermentation ultérieure. L'efficacité du prétraitement peut être améliorée par addition de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> ou SO<sub>2</sub> en tant que catalyseur. L'utilisation d'un catalyseur acide augmente la récupération des sucres d'hémicellulose, diminue la

production de composés inhibiteurs et améliore l'hydrolyse enzymatique sur le résidu solide [29].

### **2.3.2 Explosion à l'ammoniac (AFEX)**

Dans le prétraitement AFEX, la biomasse est mise en contact avec une charge d'ammoniac liquide anhydre dans un rapport de 1/1 à 2/1 (1 à 2 kg d'ammoniac/kg de biomasse sèche) pendant 10 à 60 min à 60-90 °C et à des pressions supérieures à 3 MPa. Dans un récipient fermé sous pression, le mélange de biomasse et d'ammoniac est chauffé pendant environ 30 minutes à la température souhaitée. Après avoir maintenu la température cible pendant environ 5 minutes, la soupape d'aération est ouverte rapidement pour relâcher la pression de manière explosive. La libération rapide provoque une évaporation de l'ammoniac (qui est volatil à la pression atmosphérique) et une baisse concomitante de la température du système [30].

L'effet chimique de l'ammoniac sous pression fait gonfler la biomasse cellulosique, augmentant ainsi la surface accessible tout en décristallisant la cellulose. Cela entraîne un changement de phase dans la structure cristalline de la cellulose. Une petite quantité d'hémicellulose est solubilisée sous forme oligomère lors du prétraitement par AFEX. La distribution de la lignine dans la biomasse reste relativement la même après le prétraitement AFEX, mais la structure de la lignine est fortement modifiée, ce qui augmente la capacité de rétention d'eau et la digestibilité. Les modifications physiques et chimiques combinées augmentent nettement la sensibilité de la biomasse prétraitée à une hydrolyse enzymatique ultérieure [5].

### **2.3.3 Prétraitement par voie hydrothermale**

Le prétraitement par voie hydrothermale est similaire au prétraitement à la vapeur, mais utilise de l'eau à l'état liquide à des températures élevées au lieu de la vapeur. Ainsi il entraîne l'hydrolyse de l'hémicellulose et l'élimination de la lignine, rendant la cellulose de la biomasse plus accessible, tout en évitant la formation d'inhibiteurs de fermentation qui se produisent à des températures plus élevées. Dans ce processus, des températures plus basses (optimum entre 180 et 190 °C pour les tiges de maïs) et une faible teneur en matière sèche (environ 1 à 8%) sont utilisées, ce qui entraîne une production accrue

de poly et d'oligosaccharides. Des températures de 160-190 °C pour le prétraitement à l'eau liquide chaude à pH contrôlé et de 170-230 °C ont été rapportées en fonction de la gravité du prétraitement [31].

## 2.4 Prétraitement chimique

Ce type de prétraitement utilise des réactions chimiques pour modifier la structure récalcitrante des matériaux lignocellulosiques. Les méthodes les plus couramment utilisées sont basées sur l'application d'acides, d'alcalins, de liquides ioniques, d'agents oxydants ou d'un traitement organosolv. Selon les substances chimiques utilisées lors du traitement, divers mécanismes de décomposition de la biomasse peuvent se produire [5].

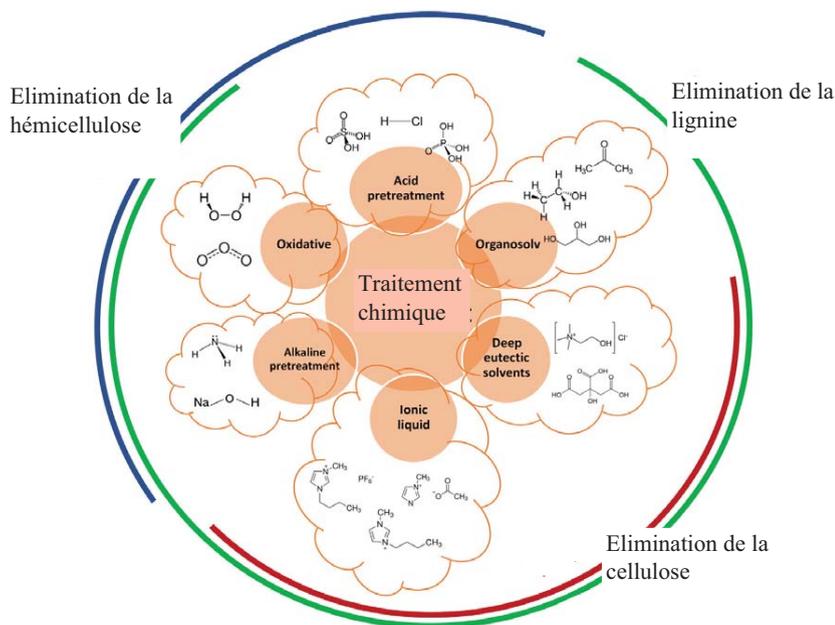


FIGURE 2.3: Présentation visuelle des différentes méthodes de prétraitement chimique [5].)

### 2.4.1 Prétraitement acide

Le prétraitement des lignocelluloses avec des acides est l'une des méthodes les plus efficaces pour solubiliser les hémicelluloses, rendant la cellulose plus accessible. Les principales réactions lors du traitement acide sont l'hydrolyse de l'hémicellulose et la condensation et la précipitation de la lignine solubilisée. Les principaux inconvénients du prétraitement acide sont l'environnement corrosif des réactions et la formation possible

d'inhibiteurs [hydroxyméthylfurfural (HMF), furfural et acide acétique][5].

Le traitement à l'acide fort permet d'obtenir des rendements en sucre élevés à des températures douces lors de l'hydrolyse de la cellulose. Bien que l'hydrolyse à l'acide fort soit très efficace indépendamment de la source de charge, le milieu réactionnel est très toxique et corrosif, ce qui nécessite la conception de réacteurs résistants et robustes. Cela affecte les coûts de traitement de la biomasse. La solution qui réduit les coûts tout en maintenant une efficacité élevée du processus est l'application des acides dilués. Les avantages du traitement à l'acide dilué sont des vitesses de réaction élevées d'hydrolyse de l'hémicellulose et de la cellulose et une formation limitée d'inhibiteurs [32].

### 2.4.2 Prétraitement alcalin

L'élimination de la lignine de la structure de la biomasse est la tâche la plus importante dans le traitement initial de la biomasse avec un alcali, ce qui conduit à l'amélioration de la réactivité des polysaccharides restants. La décomposition des polysaccharides qui pourrait se produire est principalement causée par un mécanisme d'hydrolyse alcaline impliquant une saponification intermoléculaire des liaisons ester dans le complexe polymère de la biomasse. Quelques des bases telles que NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub> ou l'ammoniac anhydre sont largement utilisées dans le prétraitement alcalin de la biomasse lignocellulosique. Les réactions qui ont lieu lors du prétraitement alcalin de la biomasse augmentent sa surface interne et diminuent à la fois la cristallinité de la cellulose et le degré de sa polymérisation [5]

Le prétraitement de la biomasse à l'aide de bases peut être effectué à température ambiante et son rendement dépend de la teneur en lignine. Le prétraitement est le plus efficace pour les matériaux lignocellulosiques caractérisés par une faible teneur en lignine. Les principaux avantages de l'application du traitement alcalin sont : l'utilisation de produits chimiques bon marché, des conditions de réaction douces, une élimination efficace de la lignine et du xylane et la possibilité de fractionnement de la biomasse. Le principal inconvénient du traitement alcalin initial est la longue durée du processus et les difficultés de neutralisation du mélange de post-traitement.[33]

### 2.4.3 Méthodes de solvants organiques

Organosolv est une méthode de prétraitement de la biomasse qui utilise divers mélanges de solvants organiques ou organiques aqueux pour solubiliser l'hémicellulose et extraire la lignine. Les solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'éthylène glycol, le triéthylène glycol et l'alcool tétrahydrofurfurylique sont les plus couramment utilisés dans le processus, tandis que les acides organiques tels que les acides oxalique, salicylique et acétylsalicylique sont des catalyseurs du processus d'organosolvation [5].

Le traitement organosolv de la matière lignocellulosique avec l'utilisation d'alcools conduit à l'hydrolyse des liaisons internes de la lignine et de l'hémicellulose, ainsi qu'à l'hydrolyse des liaisons interpolymères éther et ester entre elles. Il en résulte une élimination de la lignine et une solubilisation presque complète de l'hémicellulose. À son tour, la présence d'acides organiques dans le procédé organosolv conduit à la formation d'ions hydrogène, qui facilitent la délignification de la biomasse et la dissolution de la lignine. La température optimale du procédé est de l'ordre de 100°C à 250°C et dépend du type de biomasse, cependant l'utilisation d'un catalyseur (comprenant des acides inorganiques et organiques) permet au procédé de fonctionner efficacement à une température plus basse. . L'ajout d'un acide inorganique au mélange réactionnel provoque l'hydrolyse de l'hémicellulose, ce qui augmente considérablement la disponibilité de la cellulose pour les processus ultérieurs. Les solvants utilisés dans le processus sont souvent des inhibiteurs des réactions ultérieures de fermentation ou d'hydrolyse enzymatique, ils doivent donc être éliminés après le processus de prétraitement [34].

## 2.5 Prétraitement oxydatif

Le prétraitement oxydant est basé sur le traitement des matériaux lignocellulosiques avec des agents oxydants tels que l'ozone, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène ou l'air. Les processus impliquent principalement l'élimination de la lignine de la structure de la biomasse et l'augmentation de l'accessibilité de la cellulose. Malheureusement, l'oxydation de la biomasse n'est pas un processus sélectif et l'élimination de la lignine s'accompagne souvent de la perte d'hémicellulose et de cellulose. L'efficacité du processus de délignification est le résultat de l'oxydation des aromatiques anneaux en présence d'un agent oxydant aux acides carboxyliques. Les autres réactions du processus de délignification

qui participent au prétraitement oxydatif comprennent : la substitution électrophile, le déplacement des chaînes latérales et le clivage de la liaison alkylaryle. En raison de la demande énergétique élevée et du coût élevé correspondant du prétraitement d'oxydation, le procédé n'est pas suffisamment compétitif pour être mis en œuvre à grande échelle [35].

L'efficacité du prétraitement d'oxydation peut être affectée par le temps et la concentration de l'agent oxydant. La concentration optimale d'ozone (30 à 50 mg/L) et le temps de prétraitement (60 à 120 min) pour l'hydrolyse enzymatique de la coquille de noisette ont été déterminés. Un temps de prétraitement prolongé ou une concentration d'oxydant plus élevée réduit l'efficacité du processus d'hydrolyse enzymatique. Il a été démontré que le rendement en glucose formé augmentait avec une augmentation de la concentration de peroxyde d'hydrogène par rapport à l'échantillon non traité de 55 % (pour une concentration de 4 % de  $H_2O_2$ ). De plus, une augmentation de la concentration de  $H_2O_2$  de 4 % à 8 % a entraîné une accessibilité accrue de la cellulose mais une réduction de la formation de glucose. Une concentration de peroxyde d'hydrogène de 8% élimine efficacement la lignine et l'hémicellulose mais aussi la cellulose dégradée [36].

## 2.6 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons décrit les principales méthodes de prétraitement de la biomasse. Généralement, les méthodes mécaniques sont moins efficaces et ne peuvent pas être appliquées seules, tandis que les méthodes chimiques peuvent non seulement dépolymériser la biomasse en unités de sucre, mais également donner lieu à d'autres réactions secondaires. De plus, le prétraitement chimique peut présenter de nombreux inconvénients liés à la production importante de déchets et à la corrosion des réacteurs.

Malgré le développement accru des techniques de prétraitement, il existe encore plusieurs inconvénients qui doivent être résolus. Parmi celles-ci figure l'enjeu important lié à l'économie du procédé, encore trop onéreux. La solution potentielle à cela peut être trouvée dans la combinaison de plusieurs méthodes, ce qui limite les éventuels goulots d'étranglement d'une seule technologie et augmente l'efficacité de la production de composants de valeur. Un autre problème est lié à la production de déchets et à la nécessité de leur neutralisation. Ce problème est directement lié à toutes les méthodes chimiques.

Beaucoup de ces processus sont encore développés à l'échelle du laboratoire uniquement. Le transfert des technologies décrites à l'échelle industrielle nécessite la conception de méthodes qui prendront en considération l'ensemble du spectre des composants de la biomasse. L'analyse scientifique plus approfondie et la compréhension des mécanismes axés sur les processus permettraient également la conception de processus sur mesure et compétitifs pour les futurs projets de bioraffinerie.

Deuxième partie

Matériels & Méthodes

Analytiques

# Chapitre 3

## Matériels

### 3.1 Préparation de matériel végétal

La préparation de l'échantillon a été réalisée selon la méthode standard NREL (Hames, ; 2008)[37]. L'objectif est d'avoir des échantillons avec une plage de taille de particules et une teneur en humidité spécifiques. Après séchage à l'air libre jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

la plante (tige et feuilles) séchée a été broyée à l'aide d'un pilon mortier. 4 tamis sont utilisés et sont classés en fonction du diamètre ; 2 mm, 2 mm, 1 mm et 0.5 mm. A cet effet, 1 kg de matériel végétal sont placés sur le tamis supérieur du tamiseur. Celui-ci est agité pendant 14 minutes. Le poids de matière retenu en fin d'opération sur chaque tamis ou refus est déterminé par pesée (tableau 3.1). Pour le prétraitement, le matériel végétal de taille moyenne comprise entre 0,5 et 1 mm a été utilisé. Des tailles plus grandes auraient engendré des difficultés lors de la manipulation lors de la mise dans la cellule pour le prétraitement, et des tailles plus petites seraient sujettes à une dégradation rapide lors du prétraitement, en plus de constituer un risque de colmatage de pores lors des étapes de filtration intermédiaires.

TABLE 3.1: Analyse granulométrique de l'échantillon

tamis	Diamètre des pores (mm)	Masse de l'échantillon
1	<2	1.7524g
2	2	11.7820g
3	1	58.8427g
4	0.5	60.6633g

## 3.2 Caractérisation de l'échantillon et méthodes analytiques

La teneur en solides a été déterminée, selon la méthode standard NREL (Sluiter ; 2008)[38] par séchage de 2 g de poudre à 105 °C en pesant les résidus. La teneur en cendres a été déterminée selon la méthode standard NREL (Sluiter ; 2008)[39] par incinération complète de 2 g de poudre dans un four à moufle à 525 °C pendant 6 h, en pesant les résidus.

Les glucides et la lignine constituent une partie importante des échantillons de la biomasse. Ces constituants doivent être mesurés dans le cadre d'une analyse complète de la biomasse. Les glucides peuvent être structuraux ou non structuraux. Les glucides structuraux sont liés dans la matrice de la biomasse, tandis que les glucides non structuraux peuvent être éliminés à l'aide d'étapes d'extraction ou de lavage. La lignine est un polymère phénolique complexe.

Cette procédure utilise une hydrolyse acide en deux étapes pour fractionner la biomasse en formes plus facilement quantifiables. La lignine se fractionne en matière insoluble dans l'acide et matière soluble dans l'acide. La matière insoluble dans l'acide peut également comprendre des cendres et des protéines, qui doivent être prises en compte lors de l'analyse gravimétrique. La lignine soluble dans l'acide est mesurée par spectroscopie UV-Vis. Au cours de l'hydrolyse, les hydrates de carbone polymères sont hydrolysés en formes monomères, qui sont solubles dans le liquide d'hydrolyse. Ils sont ensuite mesurés par la méthode de Dubois. La teneur en sucre de l'échantillon, des échantillons après traitement, après hydrolyse enzymatique et après fermentation a été déterminée l'aide du courbe détalonnage représenté par la figure 3.1.

La teneur en lignine a été déterminée à l'aide de la méthode standard NREL (Sluiter ; 2008)[40]. Dans cette méthode, 200 mg de matériels végétal ont été hydrolysés avec 2 ml d'acide sulfurique concentré (72 % p/p) à 30 °C dans un bain-marie. Après 1 h, le mélange a été dilué à une concentration de 4 % p/p en ajoutant 56 mL d'eau distillée, puis autoclavé à 125 °C pendant 1 h. L'échantillon a été filtré à travers un creuset à l'aide d'une pompe à vide. Le résidu solide, appelé lignine de Klason, a été lavé à l'eau distillée ; le creuset a été placé dans une étuve à 110 °C pendant une nuit puis pesé.

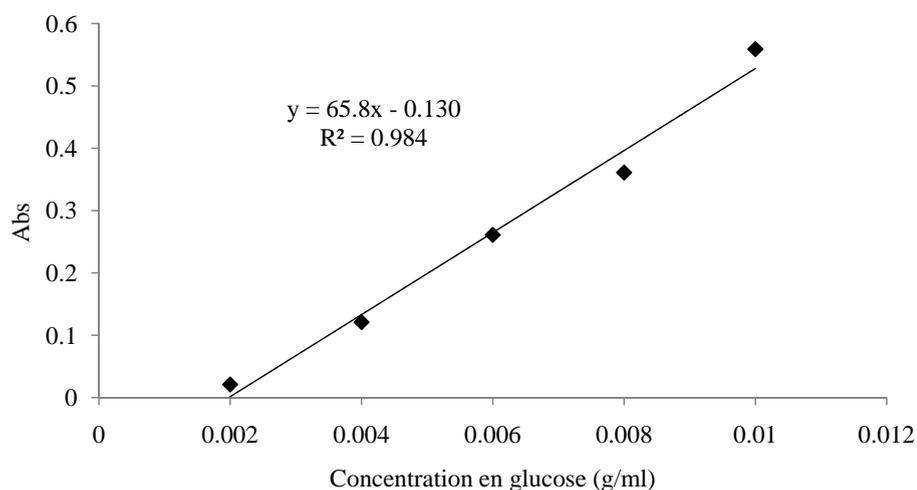


FIGURE 3.1: Courbe d'étalonnage ; absorbance à 420 nm en fonction de la concentration de glucose

L'hydrolysat a été prélevé pour déterminer la lignine soluble dans l'acide en mesurant son absorbance à 205 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis.

### 3.3 Electrooxydation de la biomasse

La biomasse et ses dérivés sont des substances facilement oxydées et lorsqu'elles sont ajoutées à l'électrolyte d'une cellule de séparation de l'eau, elles peuvent être converties en produits chimiques à valeur ajoutée

#### 3.3.1 Aperçu mécanistique de l' de la biomasse

La réaction d'électrooxydation de la biomasse suit différentes voies de réaction en fonction du type d'électrode utilisé, du potentiel d'électrode, du milieu électrolytique et d'autres paramètres, et conduit par conséquent à la formation de différents produits. Nous nous concentrons sur les voies de réaction d'électrooxydation rapportées jusqu'à présent pour plusieurs matières premières représentatives de la biomasse et dérivés de la biomasse, y compris l'alcool, l'aldéhyde, l'urée, l'amine et la lignine, comme indiqué dans le schéma [3.2](#)

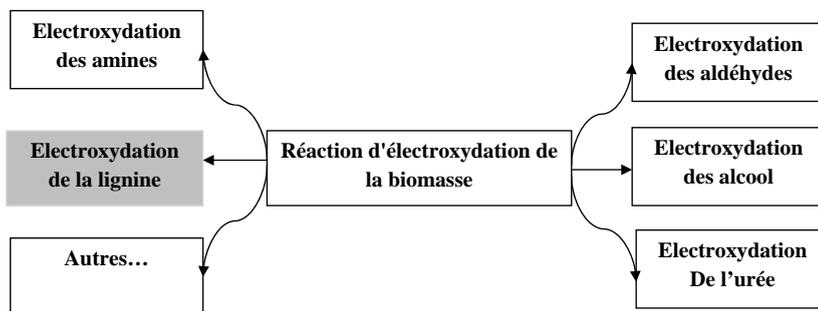


FIGURE 3.2: Un schéma montrant plusieurs réactions représentatives d'électrooxydation de la biomasse [6].)

### 3.3.2 Oxydation de la lignine

La lignine est la deuxième matière organique la plus abondante au monde après la cellulose et représente 25% des plantes ligneuses. La lignine est un polymère amorphe composé d'unités phénylpropane reliées par des liaisons carbone-carbone et des liaisons éther. La structure moléculaire de la lignine est assez complexe (Figure 3.3).

La lignine est un support d'abondants de groupes actifs tels que les groupes aromatiques, les groupes hydroxyles phénoliques, les groupes alcool-hydroxyles, les doubles liaisons conjuguées à base de carbone. Par conséquent, la lignine est impliquée dans diverses réactions telles que l'alkylation, l'halogénéation, la nitration et la polymérisation par condensation, la photolyse, l'alcoolyse, l'hydrolyse, la réduction et l'oxydation. L'étape critique de l'oxydation électrochimique de la lignine est le clivage et l'oxydation des liaisons C-C et C-O.

En conclusion, la réaction d'électrooxydation de la biomasse est une méthode prometteuse d'oxydation de la lignine. La clé d'une réaction d'électro-xydation de la biomasse réside dans l'identification des facteurs qui régissent les voies de réaction.

## 3.4 Tests d'électrooxydation de la biomasse

Une cellule électrolytique a été utilisée pour effectuer les expériences d'oxydation électrocatalytique. L'anode et la cathode sont positionnées verticalement et parallèlement l'une à l'autre. Le matériau anodique et cathodique était un carbone graphite (type cylindrique :5 cm x 1 cm). L'entrée de courant était contrôlée par une alimentation en

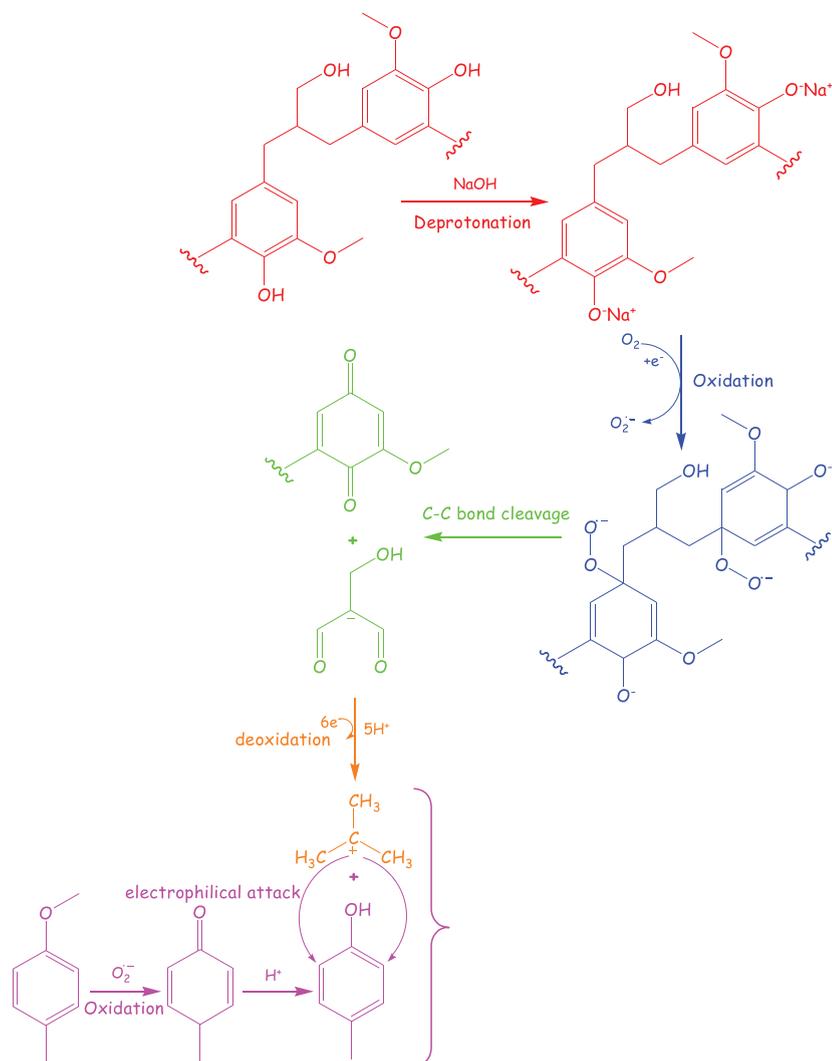


FIGURE 3.3: Voies proposées pour l'électrooxydation de la lignine [6]

courant continu stabilisée. Ces électrodes ont été plongées dans l'échantillon d'un volume de 50 ml. La solution a été constamment agitée à 100 tr/min avec un agitateur magnétique afin de maintenir une concentration uniforme de la solution d'électrolyte.

Le matériel végétal préparé comme indiqué dans la section 1, a été prémélangé avec de l'eau à la charge souhaitée. Différentes charges de biomasses sèches ont été étudiées à savoir : 2, 5 et 10 % (m/v). L'effet de pH a été aussi étudié en réalisant les expériences d'électrooxydation dans un milieu acide (pH=4), milieu neutre (pH=10) et milieu alkalin (pH=10). Au cours de l'expérience, des aliquotes de 1ml ont été prélevés et ont été soumis à l'analyse des sucres par la méthode d'acide sulfurique-phénol. À la fin de chaque expérience, le matériel végétal a été récupéré, séché à l'air libre et soumis à l'hydrolyse enzymatique.

### **3.5 Hydrolyse enzymatique**

Le substrat utilisé pour l'étape d'hydrolyse enzymatique est la phase solide (pâte) obtenue à l'issue du prétraitement. L'hydrolyse enzymatique a été réalisée à différentes charge de biomasse sèche de : 2, 5 et 10 % et un volume total de 20 ml. Une solution tampon citrate 0,05 M a été utilisé pour maintenir le pH constant à environ 5,0 et 1 ml d'enzyme a été ajoutée au milieu. Les hydrolysats ont été incubés à 50°C et mis en rotation à 200 tr/min pendant 72 h. Après la période d'incubation, les enzymes ont été désactivées en chauffant les échantillons à 99°C. La concentration de glucose par la méthode d'acide sulfurique-phénol.

### **3.6 Fermentation alcoolique : production de bioéthanol**

La souche *Saccharomyces cerevisiae* utilisée couramment en panification fournie sous forme de lyophilisat est utilisée dans ce travail. Elle est reprise dans de l'eau stérile, puis dans le milieu (en g/L) : glucose, 20; extrait de levure, 3; polypeptone, 5. Les cultures sont maintenues à 30 °C pendant 24 heures et utilisée dans le milieu liquide. La production d'éthanol a été réalisée dans des Erlenmeyers de volume 150 mL. Les expérimentations sont conduites en batch avec un volume utile de 50 mL. Les Erlenmeyers sont placés dans un incubateur à 30 °C sous agitation à 200 trs/min. Avant le démarrage de la culture, le pH a été ajusté à 5.

Afin de suivre l'avancement de la fermentation, des échantillons sont prélevés toutes les 24 heures, le dernier étant réalisé après 72 heures. L'échantillon prélevé est filtrée sur des filtres de 0,2 µm pour le dosage des concentrations de glucose résiduel.

Troisième partie

Résultats & discussion

## Chapitre 4

# Résultats et discussion

### 4.1 Prétraitement de la biomasse par électroxydation

Les figures 4.1, 4.2 et 4.3 représentent l'évolution de la teneur en sucre dans l'hydrolysats après traitement de la biomasse à différentes charges dans milieu acide, neutre et alcalin.

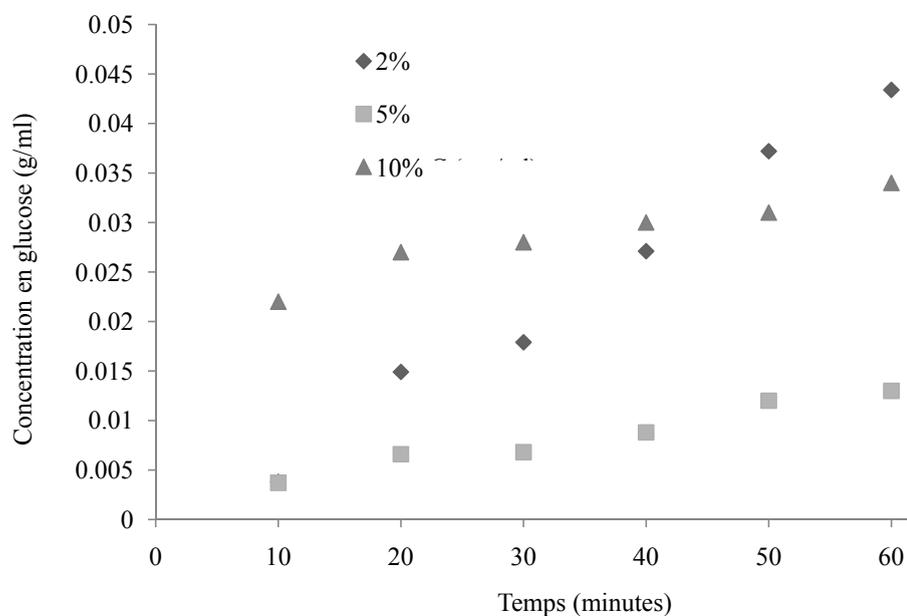


FIGURE 4.1: Concentration en glucose dans l'hydrolysats après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=4 à différente concertation en biomasse

Les figures 4.1, 4.2 et 4.6 représentent l'évolution de la teneur en sucre dans l'hydrolysats après traitement de la biomasse à différentes charges dans un milieu acide, neutre et alcalin. Les résultats montrent que la concentration en glucose la plus élevée a été obtenue

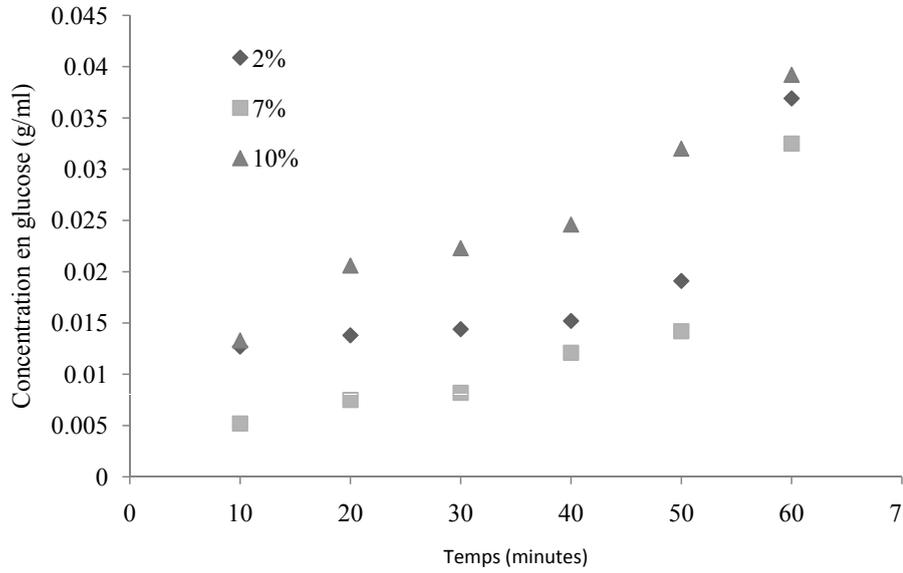


FIGURE 4.2: Concentration en glucose dans l'hydrolysats après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=7 a différente concertation en biomasse

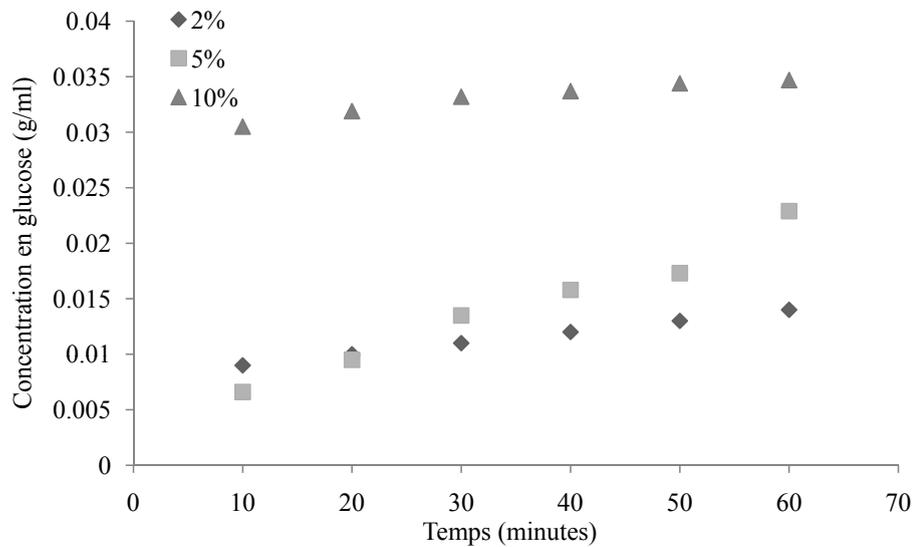


FIGURE 4.3: Concentration en glucose dans l'hydrolysats après prétraitement de la biomasse par électroxydation à pH=10 a différente concertation en biomasse

pour une charge en biomasse de 2% pH 4 ou une concentration de 0.043 g/ml de glucose a été obtenue après 60 minutes de traitement.

## 4.2 Hydrolyse enzymatique

Les figures ??, ?? et ?? représentent les évolutions de la concentration en glucose et du rendement d'hydrolyse en fonction du temps pour trois charges différentes de substrat

prétraité sec (2 %, 5 % et 10 % p/v) avec une granulométrie comprise entre 0,5 et 1 mm. Fondamentalement, on peut noter qu'en général, plus la quantité de substrat hydrolysé est élevée, plus la quantité de glucose produite est élevée, comme prévu. Cependant, un résultat surprenant a été que le rendement de conversion augmente lorsque la charge de substrat a été augmentée de 2 % à 10 %, constant, indépendamment de la charge de substrat. Cela signifie que le taux d'hydrolyse est proportionnel à la charge initiale du substrat. La conséquence est que la concentration de glucose a augmenté presque proportionnellement à la teneur en substrat jusqu'à 32 ± 1 g/L à 5,2 % (p/v) de charge du substrat, après 72 heures d'hydrolyse.

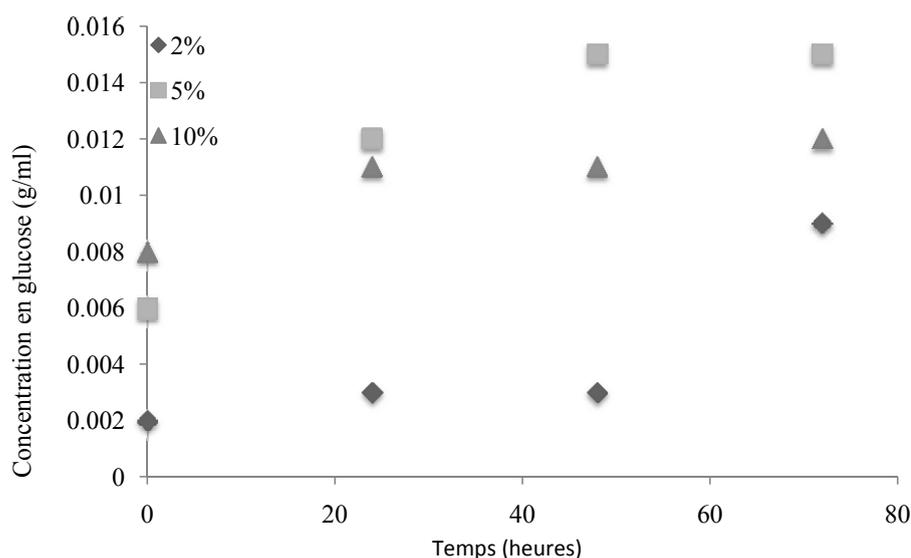


FIGURE 4.4: Concentration en glucose dans l'hydrolysats après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=4

Des résultats similaires sur l'évolution de la concentration en glucose avaient déjà été rapportés par plusieurs études. Par exemple, Zhang et al. (2009)[41] ont étudié l'effet de la charge du substrat lors de l'hydrolyse enzymatique à l'aide d'une paille de blé prétraitée par de l'acide phosphorique et du peroxyde d'hydrogène. Quatre charges de substrat (2, 10, 15 et 20 %) ont été testées, et il a été souligné que la consistance de substrat la plus élevée conduisait à la concentration de glucose la plus élevée dans l'hydrolysats final. Cependant, le rendement de conversion de la cellulose en glucose diminue légèrement lorsque la charge de substrat augmente.

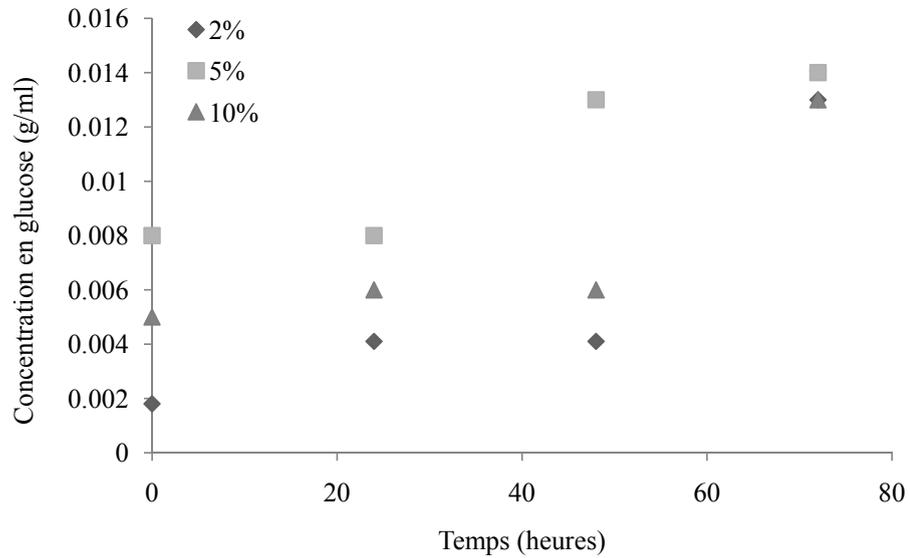


FIGURE 4.5: Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=7

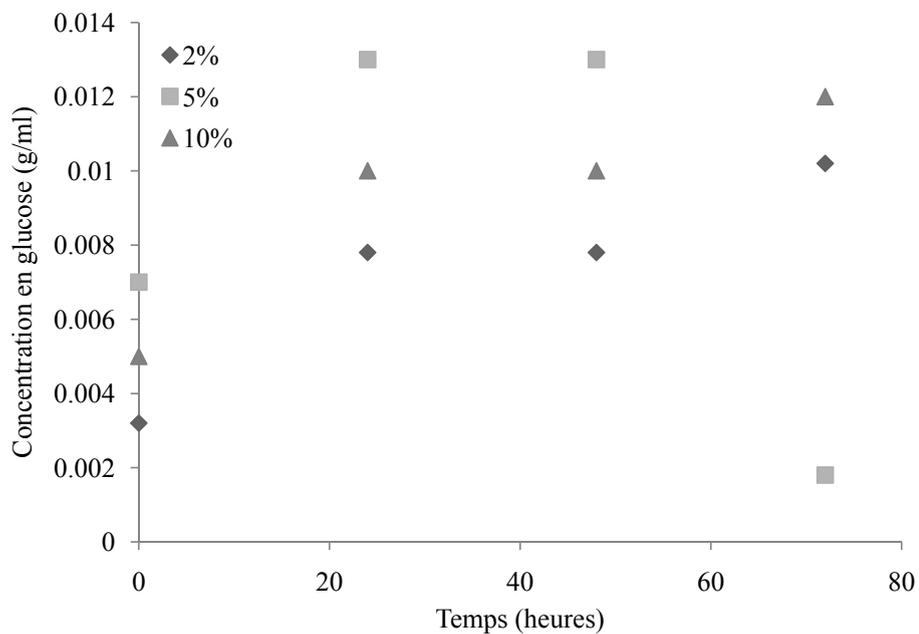


FIGURE 4.6: Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=10

### 4.3 Tests de fermentation

Pour produire du bioéthanol, le procédé d'hydrolyse enzymatique en amont doit fournir, autant que possible, un hydrolysate fortement concentré en glucose, accompagné de quantités mineures d'autres composants hydrolysés (hémicellulose, inhibiteurs, etc.). La figure 4.7 illustre l'évolution des concentrations en glucose, pour les trois hydrolysats

testés Concernant les résultats, les sucres subissent une fermentation éthanolique dans les trois cas.

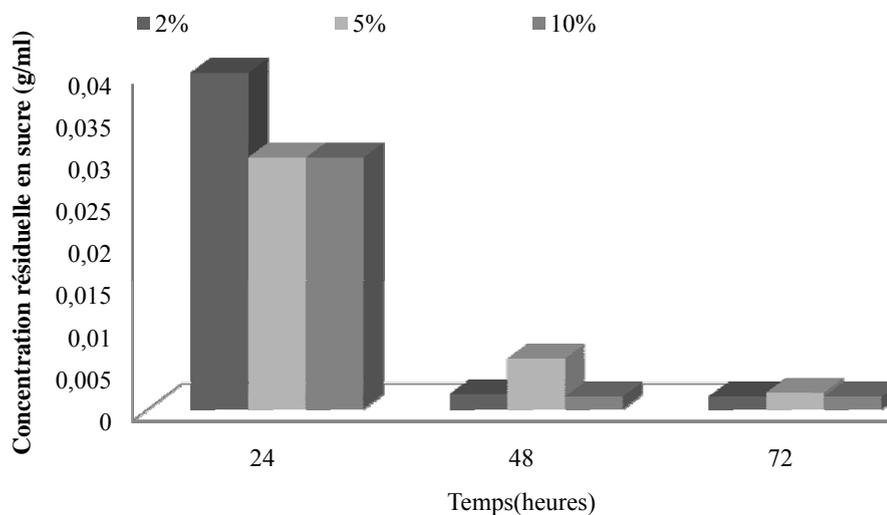


FIGURE 4.7: Concentration en glucose dans l'hydrolysate après hydrolyse enzymatique de résidus secs obtenue après prétraitement par électroxydation à pH=10

Enfin, la fermentation de l'hydrolysate glucosidique par une souche de *Saccharomyces cerevisiae* nous a conduit à utiliser la totalité des sucres présents dans l'hydrolysate et un rendement de fermentation alcoolique proche de 80% du rendement théorique semble être obtenu, ce qui indique l'absence de composés inhibiteurs produits lors des étapes de prétraitement et d'hydrolyse.

# Conclusion

Ce travail a permis de tester un procédé capable de produire du bioéthanol à partir d'une biomasse forestière. Cette étude inclut une stratégie de prétraitement de la matière lignocellulosique, ainsi que l'étape d'hydrolyse et de fermentation. Les essais préliminaires ont permis de déterminer une granulométrie optimale qui correspond à une taille moyenne de 0,5 mm. Les essais de prétraitement ont porté sur les gammes suivantes : 2, 5 et % (p/v); charge de la biomasse; pH acide, neutre et alcalin. Le prétraitement permet effectivement de récupérer un solide riche en cellulose. Les résultats optimaux qui ont été atteints correspondent à une charge de 10 %. Les essais d'hydrolyse ont été suivis par des essais de fermentation des hydrolysats obtenus par la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats de fermentation ont démontré que l'on peut obtenir 80 % du rendement en éthanol après 72 heures. Du point de vue des perspectives, il est clair qu'une optimisation des conditions opératoires du procédé de prétraitement est nécessaire. Les deux pistes principales résident d'une part dans une diminution de la durée du prétraitement afin de réduire son coût énergétique, d'autre part, il est également clair que le changement d'échelle constitue un vrai challenge. Enfin, une analyse techno-économique détaillée qui prendra en compte cette technologie reste une étape indispensable.

# Bibliographie

- [1] FranceAgriMer. Évaluation des ressources disponibles en France. Technical report, L'Observatoire national des ressources en biomasse, 2015.
- [2] Alfenore S. and Molina-Jouve C. De la conversion microbienne des ressources lignocellulosiques pour la production de molécules énergétiques : verrous et perspectives. *Innovations Agronomiques*, 54 :89–104, 2016.
- [3] Maarouf ABDOU ALIO. *Production de bioéthanol à partir d'une biomasse lignocellulosique multi-ressources locale par prétraitement Organosolv et hydrolyse enzymatique*. PhD thesis, Université Clermont Auvergne, 2020.
- [4] Roberto Pilu<sup>1</sup>, Andrea Bucci, Francesco Cerino Badone, and Michela Landoni. Giant reed (*arundo donax* L.) : A weed plant or a promising energy crop? *African Journal of Biotechnology*, 11(38) :9163–9174, 2012.
- [5] Marcin Jedrzejczyk, Emilia Soszka, Martyna Czapnik, Agnieszka M. Ruppert, and Jacek Grams. *Second and Third Generation of Feedstocks.*, chapter Physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass, pages 143–196. Elsevier, 2019.
- [6] Ying Li and Zhiya Dang and Pingqi Gao. High-efficiency electrolysis of biomass and its derivatives : Advances in anodic oxidation reaction mechanism and transition metal-based electrocatalysts. *wiley online library*, pages 847–863, 2021.
- [7] X. Kang, M. C. and Mentink-Vigier Fand Cosgrove D. J. Kirui, A. and Dickwella Wiganage, and T. Wang. Lignin-polysaccharide interactions in plant secondary cell walls revealed by solidstate. *NMR, Nature Communications*, 10 :347–360, 2019.
- [8] Kirk-Othmer. *Encyclopedia of Chemical Technology*, volume 27. Wiley., 2001.

- [9] A. Demirbas. The importance of bioethanol and biodiesel from biomass. *Energy Sources, Part B : Economics, Planning, and Policy*, 3(2) :177–185., 2008.
- [10] L. P. Ramos. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, 26(6) :863–871, 2003.
- [11] Gücel S. *Arundo donax* L. (giant reed) use by turkish cypriots. *Ethnobotany Res. Appl.*, 08 :245–248, 2010.
- [12] Guo ZH. and Miao XE. Growth changes and tissues anatomical characteristics of giant reed (*arundo donax* l.) in soil contaminated with arsenic, cadmium and lead. *J. Cent. South Univ. Technol.*, 17 :770–777, 2010.
- [13] Mirza N., Mahmood Q., Pervez A., Ahmad R., Farooq R., Shah MM., and Azim MR. Phytoremediation potential of *Arundo donax* in arsenic-contaminated synthetic wastewater. *Bioresour. Technol.*, 101 :5815–5819, 2010.
- [14] Spencer DF., Liowa PS., Chan WK., Ksander GG., and Getsinger KD. Estimating *arundo donax* shoot biomass. *Aquat. Bot.*, 84 :272–276, 2006.
- [15] Coffman GC., Ambrose RF., and Runde PW. Wildfire promotes dominance of invasive giant reed (*arundo donax*) in riparian ecosystems. *Biol. Invasions.*, 12 :2723–2730, 2010.
- [16] Takahashi W, Takamizo T, Kobayashi M, and Ebina M. Plant regeneration from calli in giant reed (*arundo donax* l.). *Grassland Sci*, 4 :56224–56229, 2010.
- [17] Jeon YJ, Xun Z, and Rogers PL. Comparative evaluations of cellulosic raw materials for second generation bioethanol production. *Appl. Microbiol*, 51 :518–524, 2010.
- [18] Neto CP, Seca AML, Nunes AM, Coimbra MA, Domingues F, and Cavaleiro JAS Evtuguin D, Silvestre A. Variations in chemical composition and structure of macromolecular components in different morphological regions and maturity stages of *arundo donax*. *Ind. Crop. Prod.*, 6 :51–58, 1997.
- [19] Seca AM, Cavaleiro JAS, Domingues FMJ, Silvestre AJD, Evtuguin D, and Neto CP. Structural characterization of the lignin from the nodes and internodes of *arundo donax* reed. *J. Agric. Food Chem.*, 48 :817–824, 2000.

- [20] Adani F, Papa G, Schievano A, Cardinale G, D’Imporzano G, and Tambone F. Nanoscale structure of the cell wall protecting cellulose from enzyme attack. *Environ. Sci. Technol.*, 45 :1107–1113, 2011.
- [21] Williams C, Biswas T, Black I, and Head S. Pathways to prosperity : second generation biomass crops for biofuels using saline lands and wastewater. *Agric. Sci.*, 21 :28–34, 2008.
- [22] Angelini LG, Ceccarini L, and Bonari E. Biomass yield and energy balance of giant reed (*arundo donax* l.) cropped in central italy as related to different management practices. *Eur. J. Agron.*, 22(375-389), 2005.
- [23] Y. Sun and J. Cheng. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production : a review. *Bioresource Technology*, 83(01) :1–11, 2002.
- [24] J.Y. Zhua, G.S. Wang, X.J. Pan, and R. Gleisner. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*, 64(3) :474–485, 2009.
- [25] A. T. W. M. Hendriks and G. Zeeman. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100 :10–18, 2009.
- [26] J Lee. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, 56 :1–24, 1997.
- [27] T. Vares, T. K. Lundell, and A. I. Hatakka. Production of multiple lignin peroxidases by the white-rot fungus *phlebia ochraceofulva*. *Enzyme and Microbial Technology*, 15 :664–669, 1993.
- [28] D. Morrison, J. S. van Dyk, and B.I. Pletschke. *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*, volume 96, chapter The effect of alcohols, lignin and phenolic compounds on the enzyme activity of *clostridium*, page 673–686. *Bioresource Technology*, 2005.
- [29] N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladisch. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6) :673–686, 2005.

- [30] H. Alizadeh, F. Teymouri, T. I. Gilbert, and B. E. Dale. Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (afex). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 124 :1133–1141, 2005.
- [31] C. E. Wyman, B. E. Dale, R. T. Elander, M. Holtzapple, M. R. Ladisch, and Y. Y. Lee. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 96 :1959–1966, 2005.
- [32] A.W. Bhutto, K. Qureshi, K. Harijan, R. Abro, T. Abbas, and et al. Bazmi, A.A. Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass. *Energy*, 122 :724–745, 2017.
- [33] A.T.W.M. Hendriks and G. Zeeman. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.*, 100 :10–18, 2009.
- [34] P. Harmsen, W. Huijgen, L. Lopez, and R. Bakker. Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. *Food Biobased Res*, pages 1–49, 2010.
- [35] S. Uzuner, R.R. Sharma-Shivappa, D. Cekmecelioglu, and P. Kolar. A novel oxidative destruction of lignin and enzymatic digestibility of hazelnut shells. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 13 :110–115, 2010.
- [36] F.L. Shimizu, P.Q. Monteiro, P.H.C. Ghiraldi, R.B. Melati, F.C. Pagnocca, and W. Souza. Acid, alkali and peroxide pretreatments increase the cellulose accessibility and glucose yield of banana pseudostem. *Ind. Crops Prod.*, 115 :62–68, 2018.
- [37] B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, A. Sluiter, J. Sluiter, and D. Templeton. Preparation of samples for compositional analysis. Technical report, National Renewable Energy Laboratory (NREL/), 2008.
- [38] A. Sluiter, B. Hames, D. Hyman, C. Payne, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and J. Wolfe. Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. Technical report, National Renewable Energy Laboratory (NREL/), 2008.
- [39] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton. Ddetermination of ash in biomass. Technical report, National Renewable Energy Laboratory (NREL/), 2008.

- [40] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. Crocker. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Technical report, National Renewable Energy Laboratory (NREL/), 2008.
- [41] Zhang Y., Xu B., and Zhou W. On a novel mechanistic model for simultaneous enzymatic hydrolysis of cellulose and hemicellulose considering morphology. *Bio-technology and Bioengineering*, 111(9) :1767–1781, 2014.