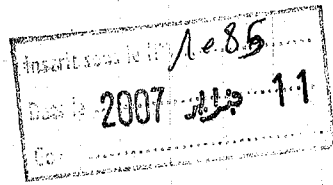


DOC/574-14/01

NOM: BELKASSEM

Prénom: Khaled.

© droits réservés de Belkacemi Khaled 1990



≈ Dédicaces ≈

- *A ma femme, Safia pour son dévouement et sa compréhension.*
  - *A ma fille, Megdouda et mes futurs enfants.*
  - *A toi mon père, qui grâce à tes conseils et ta sagesse, tu as fait de moi un homme.*
  - *A toi ma mère, à qui je dois tant pour ta patience et ta tendresse sans limite.*
  - *Au reste de ma famille: Houaes, Fatiha, Zahir, Ahcène, Naïma, Lamine et Saïd.*
  - *Je ne saurais oublier toute ma belle famille.*
- Qu'ils trouvent ici toutes mes reconnaissances pour leurs encouragements précieux.*

*Khaled*

## SOMMAIRE

Dans ce travail nous avons fait en premier lieu, une revue bibliographique relative aux différents points étudiés où nous nous sommes attachés notamment à la classification des carbohydrates ainsi que la définition et l'analyse structurale des hémicelluloses.

Une revue comparative des moyens de prétraitements des matériaux lignocellulosiques est déterminée.

La production d'enzymes, leur purification et isolement ainsi que leur mode d'action, sans oublier la production de protéines d'organismes unicellulaires portant sur le choix du microorganisme et sur les procédés existants qui utilisent des carbohydrates comme substrat, sont présentés pour situer leur importance au niveau de la compréhension du reste du travail.

Au deuxième chapitre, nous avons exposé la description des biomasses utilisées, leurs analyses chimiques préliminaires. Une description brève du procédé de prétraitement thermo-mécano-chimique en phase aqueuse (procédé UdeS-H) est donnée.

La grande partie de ce chapitre a concerné:

- les grilles expérimentales
- les méthodologies expérimentales et analytiques
- les méthodes de calculs adoptées.

Dans les chapitres 3 et 4, le concept de la sévérité du prétraitement est discuté et représenté par le biais des facteurs de sévérité:

$R_O$ ,  $R'_O$  et  $R_{OC}$  de façon phénoménologique.

Dans le cinquième chapitre est présenté le concept de sévérité  $R_B$  basé sur la mécanistique et l'existence de "l'effet de compensation et de la température isocinétique" des procédés d'hydrolyse.

Un modèle d'hydrolyse acide des hémicelluloses est proposé basé sur le facteur  $R_B$  et sur l'existence de deux cinétiques distinctes, l'une rapide et l'autre lente de l'hydrolyse des hémicelluloses, en termes d'accessibilité à l'hydrolyse représentée par  $x_{r0}$ : la fraction des

Dans le cinquième chapitre est présenté le concept de sévérité  $R_B$  basé sur la mécanistique et l'existence de "l'effet de compensation et de la température isocinétique" des procédés d'hydrolyse.

Un modèle d'hydrolyse acide des hémicelluloses est proposé basé sur le facteur  $R_B$  et sur l'existence de deux cinétiques distinctes, l'une rapide et l'autre lente de l'hydrolyse des hémicelluloses, en termes d'accessibilité à l'hydrolyse représentée par  $x_{r0}$ : la fraction des hémicelluloses facilement hydrolysables et qui est potentiellement présente dans les matériaux lignocellulosiques.

Rappelons qu'une confrontation des résultats expérimentaux trouvés dans la littérature et ceux de nos expériences sur les tiges de maïs et *Stipa tenacissima* avec le modèle proposé est faite.

Le sixième chapitre concerne l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses solubilisées par prétraitement. Ceci a été réalisé de deux façons:

- hydrolyse enzymatique avec des enzymes libres en solution;
- hydrolyse enzymatique avec des enzymes immobilisés sur un support d'alginate.

Enfin au septième chapitre, le problème lié à la toxicité des filtrats hémicellulosiques est étudié en utilisant la levure *Candida utilis*.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à formuler mes plus vifs remerciements aux professeurs Esteban Chornet, Ralph P. Overend et Marc Beerli qui tout au long de ce travail m'ont guidé, bien dirigé et aidé dans un tel sujet d'études dans le cadre du projet coopératif LAML/CQVB.

Je remercie également le gouvernement algérien pour son aide et son suivi méritant.

Je désire remercier aussi, Monsieur Sâadane Chikhi (Institut de Chimie industrielle - USTHB-ALGER-ALGERIE), pour avoir fourni son aide réelle pour l'obtention de la graminée *Stipa tenacissima* et les responsables d'Agriculture Canada - Lennoxville pour l'obtention des tiges de maïs.

Je souhaite exprimer mes reconnaissances à Messieurs J.P. Lemonier, Gilles Phaneuf pour leur aide technique, aux membres de l'équipe analytique LAML Sherbrooke, et plus particulièrement à Monsieur T.S. Nguyen, pour leur soutien analytique.

Je remercie tout le département du génie chimique de l'Université de Sherbrooke et tous mes collègues, surtout Nicolas Abatzoglou, A. Illah Afifi, P. Tiwari et Fadila Matejek pour l'atmosphère franche et chaleureuse qui y règnait entre nous.

Je ne saurais oublier le directeur du département de biologie de l'Université de Sherbrooke, Monsieur Pierre Béchar, pour son aide au niveau de l'incubateur et de la centrifugation à haute vitesse.

Je remercie Mme Carole Vachon d'avoir bien voulu dactylographier cette thèse et lui donner son aspect final.

## TABLE DES MATIERES

|   |     |
|---|-----|
| SOMMAIRE .....  | iii |
| REMERCIEMENTS .....   | v   |
| TABLE DES MATIERES .....  | vi  |
| LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX .....                           | ix  |
| INTRODUCTION .....  | 1   |
| CHAPITRE 1 - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....  | 3   |
| 1- Généralités .....  | 3   |
| 2- Les prétraitements .....   | 10  |
| 3- Production d'enzymes - Cas des xylanases .....                               | 15  |
| 4- Purification et isolation des xylanases (hémicellulases) et les .....        |     |
| $\beta$ -D-xylosidases .....  | 22  |
| 5- Production de protéines d'organismes unicellulaires .....                    | 30  |
| CHAPITRE 2 - PRETRAITEMENTS THERMO-MECANO-CHIMIQUES EN PHASE AQUEUSE .....      | 35  |
| 1- Description des biomasses utilisées - Analyses chimiques préliminaires ..... | 35  |
| 2- Description de l'appareillage .....  | 37  |
| 3- Méthodologie expérimentale - Grilles utilisées .....                         | 38  |
| 4- Résultats expérimentaux .....  | 50  |
| 5- Interprétations des résultats expérimentaux .....                            | 50  |
| 6- Conclusion du chapitre .....   | 54  |
| CHAPITRE 3 - COORDONNEES CINETIQUES - SEVERITE $R_0$ .....                      | 55  |
| 1 -Introduction .....   | 55  |
| 2 - Définition du facteur $R_0$ .....   | 57  |
| 3 - Application du facteur $R_0$ à nos résultats .....                          | 58  |

|   |           |
|---|-----------|
| 4 - Application du facteur $R_O$ aux résultats trouvés dans la littérature.....   | 61        |
| 5 - Conclusions du chapitre .....   | 61        |
| <b>CHAPITRE 4 - SEVERITE DU PROCEDE LIEE A L'EFFET CATALYTIQUE DE</b>   |           |
| <b>L'ACIDE .....</b>  | <b>66</b> |
| 1 - Introduction .....  | 66        |
| 2 - Sévérité du prétraitement $R_o'$ .....  | 67        |
| 3 - Application du facteur de sévérité $R_o'$ au profil de solubilisation des hémicelluloses .....                            | 70        |
| 4 - Sévérité du prétraitement $R_{OC}$ via l'existence d'un "effet de compensation" et d'une "température isocinétique" ..... | 71        |
| 5 - Application du facteur $R_{OC}$ pour la solubilisation des hémicelluloses ..  | 80        |
| 6 - Interprétation des résultats en termes de sévérité de prétraitement .....   | 81        |
| 7 - Conclusions du chapitre .....   | 90        |
| <b>CHAPITRE 5 - PSEUDO CINETIQUE ET INTERPRETATIONS DES MECANISMES</b>  |           |
| <b>REACTIONNELS DES GLYCOSIDES ET DES HEMICELLULOSES</b>  | <b>92</b> |
| 1 - Introduction .....  | 92        |
| 2 - Hydrolyse des matériaux lignocellulosiques - Réactions et mécanismes  | 93        |
| 3 - Cinétique de solubilisation des hémicelluloses - Formulation de la vitesse réactionnelle .....                            | 95        |
| 4 - Justification de la formulation de la vitesse de réaction via le mécanisme de l'analyse conformationnelle .....           | 97        |
| 5 - Mise en évidence expérimentale de l'existence des deux formes d'hémicelluloses.....                                       | 99        |
| 6 - Signification thermodynamique du facteur de sévérité $R_B$ .....  | 101       |
| 7 - Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses .....   | 106       |
| 8 - Interprétations des résultats .....   | 111       |
| 9 - Conclusions du chapitre .....   | 125       |

|   |     |
|---|-----|
| <b>CHAPITRE 6 - HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES HEMICELLULOSES SOLUBILISEES</b> ..... | 127 |
| 1- Introduction .....   | 127 |
| 2- Présentation des enzymes utilisés - Spécifications .....                     | 128 |
| 3- Hydrolyse enzymatique avec des enzymes libres .....                          | 129 |
| 4- Hydrolyse enzymatique avec des enzymes immobilisés .....                     | 148 |
| 5- Modélisation de l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses .....             | 156 |
| 6- Conclusions du chapitre .....  | 158 |
| <b>CHAPITRE 7 - ESSAIS DE TOXICITE DES FILTRATS OBTENUS</b> .....               | 160 |
| 1- Introduction .....   | 160 |
| 2- Elaboration du milieu de culture .....                                       | 161 |
| 3- Méthodologie expérimentale .....   | 162 |
| 4- Procédure analytique .....   | 165 |
| 5- Grilles expérimentales .....   | 166 |
| 6- Résultats expérimentaux .....  | 168 |
| 7- Interprétation des résultats .....   | 168 |
| 8- Conclusions du chapitre .....  | 179 |
| <b>CONCLUSION GENERALE</b> .....  | 182 |
| <b>SUGGESTIONS ET RECOMMANDATIONS POUR DE FUTURES RECHERCHES</b> .              | 185 |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....  | 190 |
| <b>APPENDICES</b> .....   | 212 |



## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figure 1.  | Séquences de quelques xylanes .....  | 6  |
| Figure 2.  | Séquences d'autres polysaccharides .....   | 7  |
| Figure 3.  | Diagramme d'écoulement du procédé UdeS-H.....  | 39 |
| Figure 4.  | Etapas analytiques pour déterminer la "conversion" .....   | 43 |
| Figure 5.  | Analyse des résidus solides .....  | 44 |
| Figure 6.  | Analyse des filtrats .....   | 45 |
| Figure 7.  | Rendement optimal en hémicelluloses , cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....                                | 51 |
| Figure 8.  | Rendement optimal en hémicelluloses , cas des tiges de maïs .....  | 51 |
| Figure 9.  | Hémicelluloses récupérées en fonction de $R_0$ , cas des tiges de maïs .....                               | 59 |
| Figure 10. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas des tiges de maïs .....             | 59 |
| Figure 11. | Hémicelluloses récupérées en fonction de $R_0$ , cas de <i>Stipa tenacissima</i> ....                      | 60 |
| Figure 12. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....   | 60 |
| Figure 13. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas de <i>Populus tremuloïdes</i> ..... | 63 |
| Figure 14. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas du chêne rouge .....                | 63 |
| Figure 15. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas de <i>Betula papyrifera</i> .....   | 64 |
| Figure 16. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas de <i>Pinus radiata</i> .....       | 64 |
| Figure 17. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas des tiges de blé .....              | 65 |
| Figure 18. | Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de $R_0$ , cas du                                  |    |

|            |  |    |
|------------|--|----|
|            | tremble .....  | 65 |
| Figure 19. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas des tiges de maïs .....                | 72 |
| Figure 20. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....      | 72 |
| Figure 21. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas des tiges de blé .....                 | 73 |
| Figure 22. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas de <i>Betula papyrifera</i> .....      | 73 |
| Figure 23. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas du chêne rouge.....                    | 74 |
| Figure 24. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas du tremble                             | 74 |
| Figure 25. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas de <i>Pinus radiata</i> .....          | 75 |
| Figure 26. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas de <i>Populus tremuloïdes</i> .....    | 75 |
| Figure 27. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_0')$ , cas de toutes les biomasses ensemble ..... | 76 |
| Figure 28. | Hémicelluloses récupérées en fonction de $\log(R_0')$ , cas des tiges de maïs                              | 77 |
| Figure 29. | Hémicelluloses récupérées en fonction de $\log(R_0')$ , cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....              | 77 |
| Figure 30. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas des tiges de blé .....               | 82 |
| Figure 31. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas du tremble                           | 82 |
| Figure 32. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas de <i>Pinus radiata</i> .....        | 83 |
| Figure 33. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas du chêne rouge .....                 | 83 |
| Figure 34. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas de <i>Betula papyrifera</i> .....    | 84 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| Figure 35. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas de <i>Populus tremuloïdes</i> .....    | 84  |
| Figure 36. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas des tiges de maïs .....                | 85  |
| Figure 37. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....      | 85  |
| Figure 38. | Solubilisation des hémicelluloses en fonction de $\log(R_{OC})$ , cas de toutes les biomasses ensemble ..... | 86  |
| Figure 39. | Hémicelluloses récupérées en fonction du $\log(R_{OC})$ , cas de <i>Stipa Tenacissima</i> .....              | 87  |
| Figure 40. | Hémicelluloses récupérées en fonction du $\log(R_{OC})$ , cas des tiges de maïs                              | 87  |
| Figure 41. | Optimisation expérimentale de la récupération des hémicelluloses, cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....      | 88  |
| Figure 42. | Optimisation expérimentale de la récupération des hémicelluloses, cas des tiges de maïs .....                | 88  |
| Figure 43. | Mécanismes hydrolytiques possibles .....   | 94  |
| Figure 44. | Méthodologie expérimentale pour séparer les deux types d'hémicelluloses selon DUTOIT et al .....             | 100 |
| Figure 45. | Linearité entre l'énergie et l'entropie, cas de la phase rapide .....  | 107 |
| Figure 46. | Linearité entre l'énergie et l'entropie, cas de la phase lente .....   | 107 |
| Figure 47. | Schéma de la modélisation .....  | 110 |
| Figure 48. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses, cas des tiges de maïs .....               | 112 |
| Figure 49. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses, cas de <i>Stipa tenacissima</i> .....     | 113 |
| Figure 50. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses, cas de <i>Betula papyrifera</i> .....     | 114 |
| Figure 51. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses, cas de <i>Populus tremuloïdes</i> .....   | 115 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| Figure 52. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses , cas du tremble .....   | 116 |
| Figure 53. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses , cas du chêne rouge .....   | 117 |
| Figure 54. | Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses , cas des tiges de blé .....   | 118 |
| Figure 55. | Effect inductif sur les groupements carboxyliques au cours de l'hydrolyse acide.....   | 124 |
| Figure 56. | Protocole expérimental de l'hydrolyse enzymatique .....  | 132 |
| Figure 57. | Hydrolyse du lactose .....   | 134 |
| Figure 58. | Mise en évidence de l'action synergique des enzymes-comparaison entre les hémicellulases et les cellulases d' <i>Aspergillus niger</i> ..... | 138 |
| Figure 59. | Hydrolyse enzymatique des filtrats des tiges de maïs , cas des enzymes libres .....  | 139 |
| Figure 60. | Hydrolyse enzymatique des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas des enzymes libres .....  | 139 |
| Figure 61. | Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs , cas où ENZF = 0.00113 UI/mg .....   | 140 |
| Figure 62. | Profils substrat - produits des filtrats des tiges de maïs , cas où ENZF = 0.00321 UI/mg. ....   | 140 |
| Figure 63. | Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs , cas où ENZF = 0.01320 UI/mg. ....   | 141 |
| Figure 64. | Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs , cas où ENZF = 0.03000 UI/mg. ....   | 141 |
| Figure 65. | Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs - , cas où ENZF = 0.30000 UI/mg. ....   | 142 |
| Figure 66. | Profils substrat-produits des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas où ENZF = 0.00355 UI/mg. ....                                       | 143 |
| Figure 67. | Profils substrat-produits des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas où ENZF = 0.01777 UI/mg. ....                                       | 143 |
| Figure 68. | Profils substrat-produits des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas où ENZF = 0.05332 UI/mg .....                                       | 144 |
| Figure 69. | Profils substrat-produits des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas où ENZF = 0.12260 UI/mg. ....                                       | 144 |
| Figure 70. | Profils substrat-produits des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> , cas où  |     |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
|             | ENZF = 0.51100 UI/mg. ....   | 145 |
| Figure 71.  | Description de l'installation d'hydrolyse enzymatique employant des enzymes immobilisés .....                      | 151 |
| Figure 72.  | Hydrolyse des filtrats de <i>Stipa tenacissima</i> avec des enzymes immobilisés..                                  | 154 |
| Figure 73.  | Hydrolyse des filtrats des tiges de maïs avec des enzymes immobilisés ....   | 154 |
| Figure 74.  | Etapas pour préparer l'innoculum .....   | 165 |
| Figure 75.  | Etapas analytiques de fermentation .....   | 167 |
| Figure 76.  | Essais de fermentation du substrat avec des levures non acclimatées , cas de tiges de maïs (1).....                | 169 |
| Figure 77.  | Essais de fermentation du substrat avec des levures non acclimatées , cas de tiges de maïs (2).....                | 170 |
| Figure 78.  | Essais de fermentation avec des levures acclimatées , cas de <i>Stipa tenacissima</i> et les tiges de maïs .....   | 171 |
| Figure 70.  | Essais de fermentation avec des levures acclimatées , cas des milieux reconstitués .....                           | 172 |
| Figure 80.  | Schéma d'ensemble pour la fabrication des S.C.P <sup>1</sup> à partir des carbohydrates des résidus agricoles..... | 183 |
| Tableau 1.  | Principales D-xylanes isolées à partir des végétaux .....  | 5   |
| Tableau 2.  | Composition des biomasses fréquemment étudiées .....   | 9   |
| Tableau 3.  | Répartition des polyoses dans différentes biomasses .....  | 11  |
| Tableau 4.  | Comparaison de quelques prétraitements thermomécaniques .....  | 14  |
| Tableau 5.  | Différents prétraitements rapportés dans la littérature .....  | 16  |
| Tableau 6.  | Synthèse de la production des xylanases à partir des microorganismes .....   | 20  |
| Tableau 6'. | Synthèse de la production des xylanases à partir des microorganismes (suite).....                                  | 21  |
| Tableau 7.  | Etude comparative des différentes xylanases identifiées, rapportées par dans la littérature .....                  | 26  |
| Tableau 7'. | Etude comparative des différentes xylanases identifiées, rapportées par dans la littérature ( suite ).....         | 27  |

---

<sup>1</sup> S.C.P : Single Cell Protein

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Tableau 8.  | Comparaison des propriétés de quelques $\beta$ -D-xylosidases de diverses origines ..... | 28  |
| Tableau 9.  | Procédés de production des S.C.P à l'échelle industrielle .....                          | 32  |
| Tableau 10. | Production des S.C.P à partir des résidus agricoles .....                                | 33  |
| Tableau 11. | Méthodes analytiques utilisées .....   | 46  |
| Tableau 12. | Conditions opératoires pour la solubilisation des hémicelluloses .....                   | 62  |
| Tableau 13. | Résultats de la simulation .....   | 119 |
| Tableau 14. | Resumé de l'étude statistique sur la comparaison des deux modèles cinétiques .....       | 122 |
| Tableau 15. | Croissance de <i>Candida Utilis</i> et autres levures dans les différents substrats..... | 180 |

## INTRODUCTION

Les besoins énergétiques dans le domaine de l'alimentation posent des problèmes moins difficiles à résoudre que les besoins en matières azotées, en particulier les protéines . Ceux - ci s'expriment en termes de quantité et qualité.

Aujourd'hui , compte tenu de la surconsommation des pays industrialisés, de la difficulté d'assurer une répartition équitable des disponibilités, beaucoup de pays en voie de développement se trouvent devant une situation de pénurie chronique pour leur approvisionnement protéinique.

Pour faire face à ces problèmes, il faut favoriser la production, l'amélioration des protéines traditionnelles et promouvoir la recherche et l'utilisation des sources nouvelles . C'est à ces dernières qu'appartiennent les protéines microbiennes généralement désignées sous le nom de (SCP)<sup>1</sup>.

L'utilisation de ces sources nouvelles consiste en la valorisation des résidus agricoles lignocellulosiques.

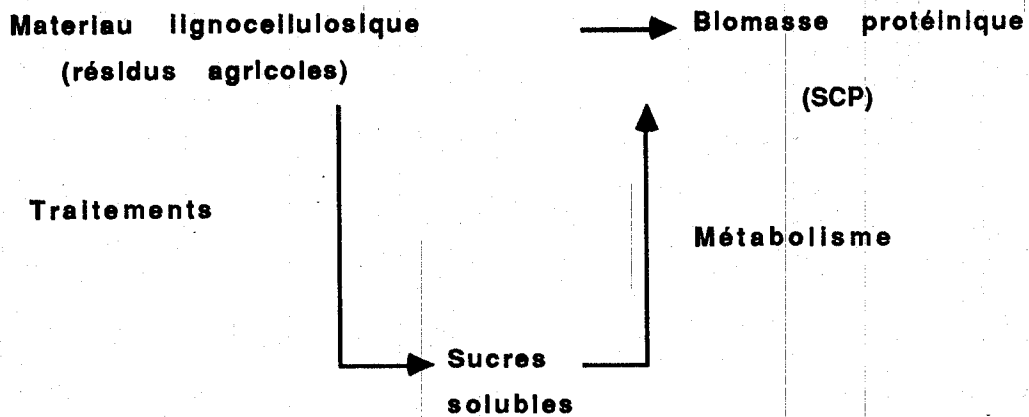
Il est connu que ces derniers riches en cellulose et hémicelluloses constituent des matériaux potentiels pour la production de l'éthanol VIKARI et al. (1981) [ 226 ], et des sucres fermentescibles.

La production et les propriétés des enzymes capables d'hydrolyser la cellulose sont bien établies, ce qui n'est pas le cas pour les hémicelluloses.

Les voies qui permettent de fabriquer des protéines à partir des matériaux lignocellulosiques suivant le schéma simplifié :

---

<sup>1</sup> - SCP: Single Cell Proteine



sont nombreuses et compliquées à appréhender.

Le sujet de cette présente étude s'articule autour de ce point où il est question de valoriser des résidus agricoles, tiges de maïs, et une graminée *Stipa tenacissima* (plus connue en Afrique du Nord sous le nom d'Alfa).

Ce travail permettra de mieux connaître et élucider les étapes des traitements au cours desquelles a lieu la production des sucres solubles. Ces derniers seront par la suite utilisés par des microorganismes unicellulaires protéiniques comme substrat .



# CHAPITRE 1

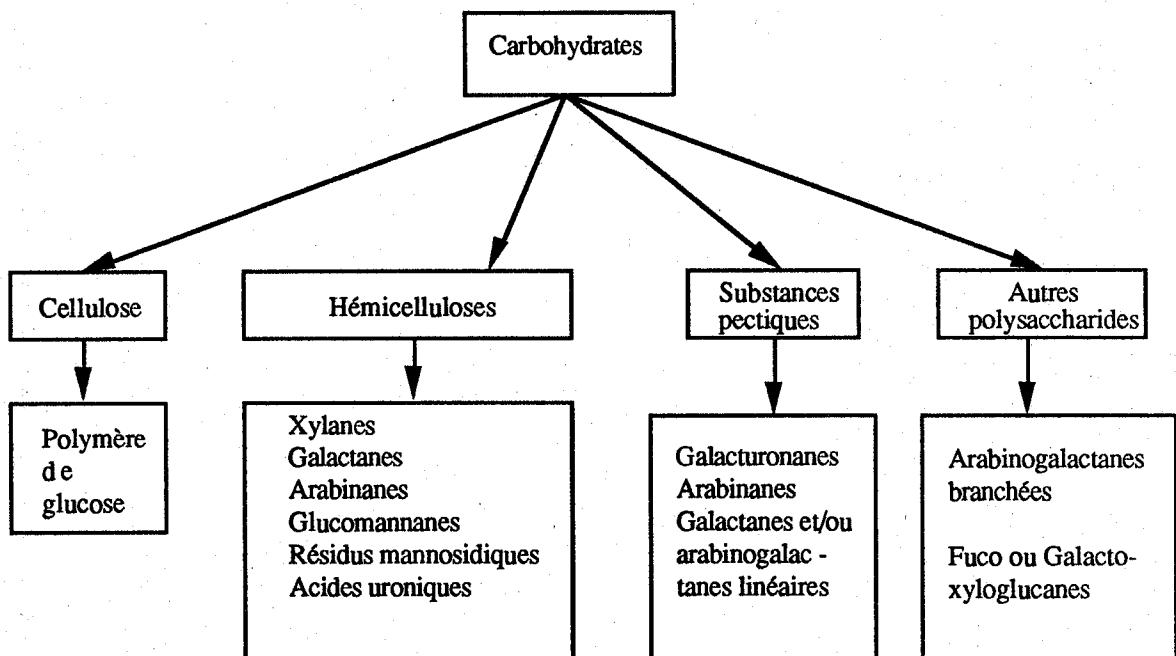
## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1- Généralités

#### 1-1. Hémicelluloses - Définition et analyse structurale:

Une classification généralement admise des carbohydrates a été formulée par ASPINALL et al. (1973)[8], introduisant la notion de substances pectiques.

La classification est comme suit:



Les hémicelluloses sont classiquement définies comme la portion des polysaccharides, autres que la cellulose et les substances pectiques qui sont extractibles avec des bases fortes (typiquement 10% KOH), PRAKASH et KEN BRINSON (1984). [162].

Une autre définition acceptée est celle donnée par STAUDINGER et REINNEKE (1939) [207] qui les définissent comme des polysaccharides non cellulosiques se distinguant de la cellulose à plusieurs niveaux. Ce sont des polymères hétérogènes à chaînes plus courtes et branchées.

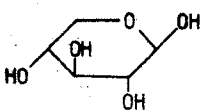
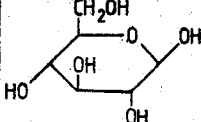
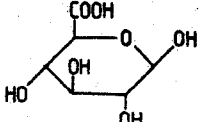
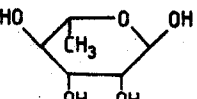
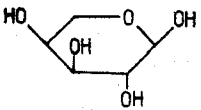
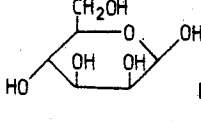
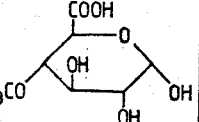
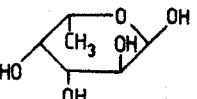
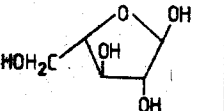
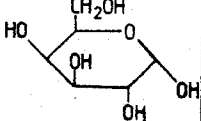
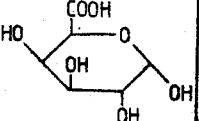
Très peu d'hémicelluloses connues sont uniquement des homopolymères et entièrement linéaires. La plupart d'entre-elles sont branchées.

Elles présentent des branchements notamment avec des L-arabinofuranosides, glucuronosides, 4-O-méthyl-glucuronosides ou galactosides.

Les 4-O-méthyl-glucuronosides ne sont pas présents uniquement comme des méthylesters, mais souvent comme des sels de cations inorganiques, FRATZKE et REILLEY (1976), [74]

Les monomères formant les polyoses sont quand à eux subdivisés en quatre groupes:

- les pentoses
- les hexoses
- les acides hexuroniques
- les désoxyhexoses

| Pentoses  | Hexoses   | Acides hexuroniques  | Désoxyhexoses   |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |   |

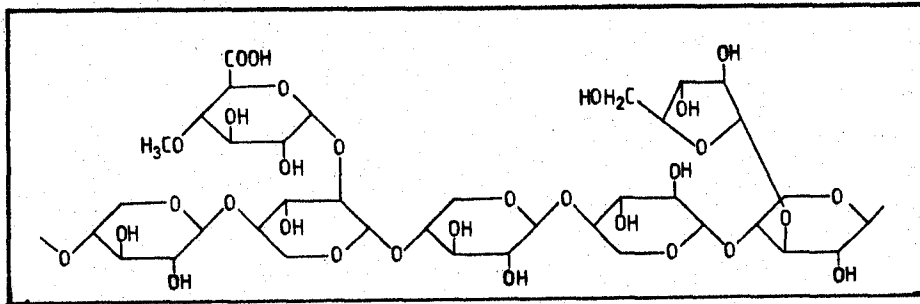
Suivant les biomasses, la composition en différents monomères est largement distincte FENGEL et WEGNER (1984) [67].

Le tableau 1 résume quelques séquences des hémicelluloses pour les bois et quelques graminées.

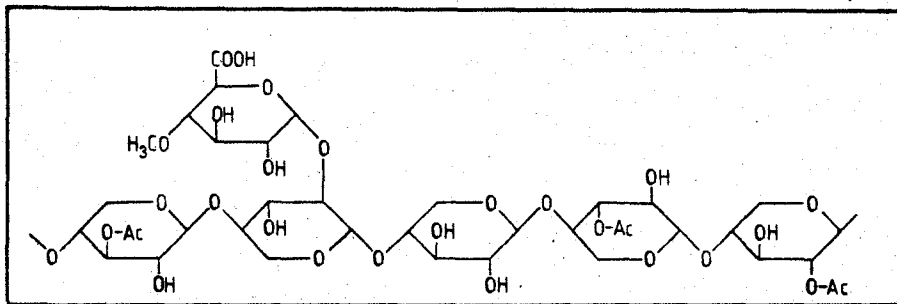
Des exemples de fragments des hémicelluloses sont rapportés dans les figures 1 et 2.

| Types de biomasse   | Noms                         | Caracères structuraux des hémicelluloses   | Degré de polymérisation | Auteurs                            |
|---------------------|------------------------------|--|-------------------------|------------------------------------|
| Graminée (Roseau)   | <i>Arundo donax</i>          | Essentiellement linéaires  | 80                      | FERNAND BARNOUD et al. (1972) [70] |
| Graminée (Liliacée) | <i>S. trifasciata</i>        | Branchées en 1-2 xylopyrano - 4-O-méthylglucosides                                   |                         | SHARMA (1981) [188]                |
| Graminée            | <i>Lolium perenne</i>        | Branchées en 1-3 - arabinofuranosides et 1-3 arabinogalactopyranosides               | -                       | MORISSON (1974) [142]              |
| Graminée            | <i>Stipa tenacissima</i>     | Linéaires branchées une fois en 3-4 xylopyranosides                                  | 70                      | CHANDA et al. (1950) [33]          |
| Graminée            | <i>Chorchorus capsularis</i> | Branchées en 2-4-O-méthylglucosides  | -                       | NATHDAS et al. (1981) [146]        |
| Graminée            | Tiges de maïs                | Branchées en 2-1 avec 4-O-méthylglucuronosides et en $\beta$ -3 avec L-arabinosides  | -                       | FRATZKE et REILLEY (1976) [74]     |
| Feuillus            | -                            | Branchées en 2-1 avec $\alpha$ -D-4-O - méthylglucuronosides                         | 100-200<br>-            | FENGEL et WEGNER (1984) [67]       |
| Conifères           | -                            | Branchées en 2-1 $\alpha$ -D-4-O-méthylglucuronosides et en 1-3 L-arabinofuranosides | 70-130                  | FENGEL et WEGNER (1984) [67]       |

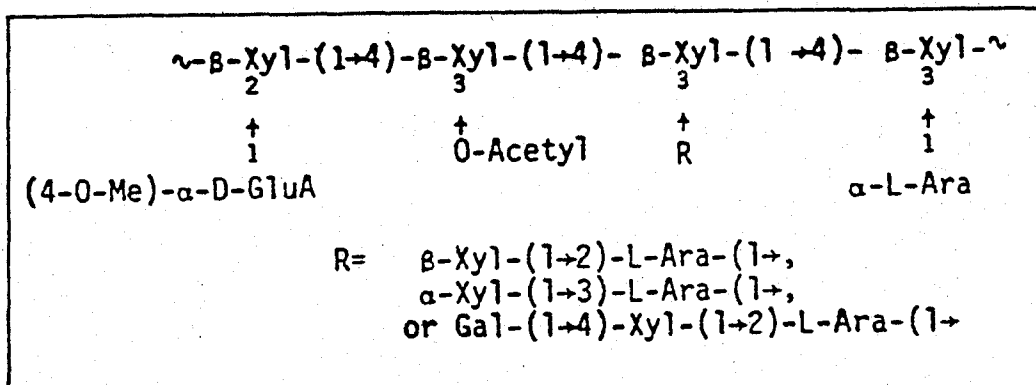
Tableau 1. Principales D-xylanes isolées à partir des végétaux



(a)



(b)



(c)

**Figure 1** Séquences de quelques xylanes  
 (a) - Conifères  
 (b) - Feuillus  
 (c) - Graminées (Tiges de maïs)

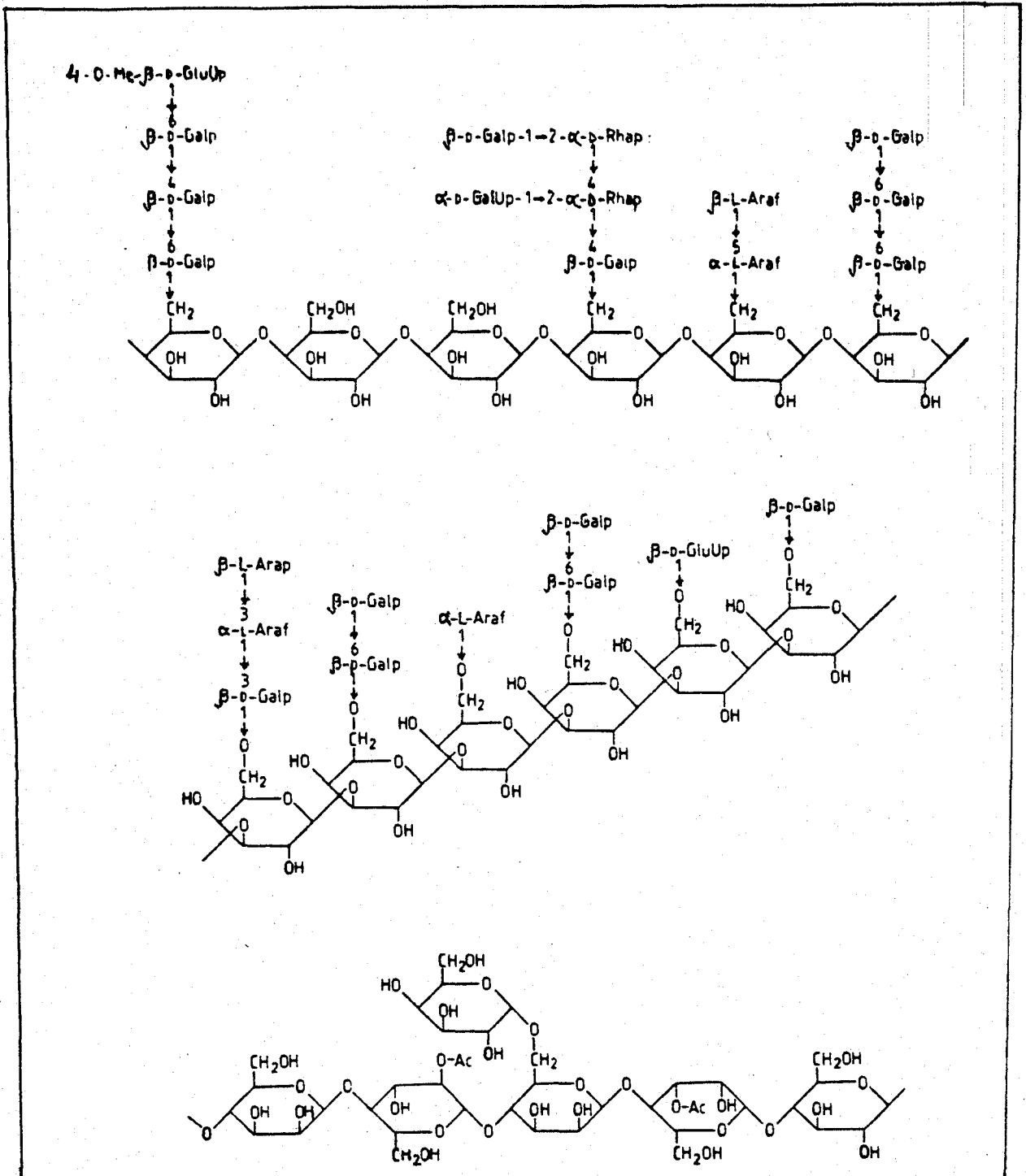


Figure 2. Séquences d'autres polysaccharides

## 1.2 Composition des biomasses

D'une façon générale, la biomasse est dotée d'un ensemble constitutif composé principalement de trois matrices polymériques inter-reliées qui sont:

- la cellulose
- les hémicelluloses
- la lignine.

La distribution de ces familles polymériques dépend largement des biomasses et de leur origine.

D'après THOMAS (1977) [213] , COWLING et KIRK (1976) [40], la composition chimique des matériaux lignocellulosiques se présente dans les proportions suivantes<sup>1</sup>:

| Constituants   | Conifères (%) | Feuillus (%) | Graminées (%) |
|----------------|---------------|--------------|---------------|
| Cellulose      | 42 ± 2        | 45 ± 2       | 25 - 40       |
| Hémicelluloses | 27 ± 2        | 30 ± 5       | 25 - 50       |
| Lignine        | 28 ± 3        | 20 ± 4       | 0 - 15        |

D'une manière générale les matériaux lignocellulosiques requièrent en plus de ces trois constituants, d'autres entités chimiques se trouvant en proportion plus faibles et qui font partie soit des familles polymériques déjà citées soit se retrouvent comme constituants à part.

Le tableau 2 donne en détail la composition chimique des biomasses fréquemment étudiées.

Des calculs statistiques faits à partir du tableau 2, sur la répartition des différentes familles polymériques ont donné:

<sup>1</sup> - % rapportés à la biomasse sur une base sèche.

| Type de biomasses                           | Cellulose | Hémicelluloses<br>ou<br>pentosanes | Lignine | Extraits | Cendres | Auteurs  |
|---|-----------|------------------------------------|---------|----------|---------|--|
| Bagasse                                     | 38.50     | 31.40                              | 22.20   | -        | 3.10    | TRICKETT et NEYTZELL<br>(1982) [217]           |
| Bagasse                                     | 43.20     | 23.80                              | 24.10   | -        | 8.20    | PLANES et al. (1981) [159]                     |
| Tiges de blé                                | 30.00     | 25.00                              | 18.00   | 8.00     | -       | CUNNINGHAM et al. (1986)<br>[41]               |
| "Sallow"                                    | 33.70     | 24.30                              | 21.10   | 7.90     | -       | GALBE et ZACCHI (1986)<br>[77]                 |
| Tiges de maïs                               | 35.00     | 33.00                              | 7.00    | -        | 1.00    | PRIETO et al. (1986) [163]                     |
| Kenaf                                       | 39.00     | 23.00                              | 10.00   | 4.00     | -       | CUNNINGHAM et al. (1986)<br>[41]               |
| Sorghum                                     | 16.00     | 16.00                              | 6.00    | 5.90     | -       | " "  |
| Enveloppes de riz                           | 35.00     | 26.00                              | 20.00   | 5.00     | 15      | SINGH et al. (1984)<br>[192]                   |
| Bagasse                                     | 42.00     | 28.5                               | 19.00   | 6.00     | 4.00    | SINGH et al. (1984) [192]                      |
| Enveloppes de riz                           | 35.00     | 25.00                              | 20.00   | 1.00     | 15.00   | SHARMA et SAHGAL (1983) [188], (1982)<br>[186] |
| Tiges de maïs                               | 31.00     | 28.50                              | 13.00   | 14.00    | 7.00    | DOUGLAS MAC DONALD et al. (1983) [127]         |
| Tiges de maïs                               | 35.00     | 30.00                              | 30(3)   | -        | -       | SPROULL et al. (1986) [204]                    |
| Bagasse                                     | 37.10     | 31.40                              | 24.20   | -        | 2.70    | TRICKETT et NEYTZELL (1982) [218]              |
| (Tongaat)                                   |           |                                    |         |          |         |  |
| Bagasse                                     | 34.90     | 25.00                              | 26.60   | 4.00     | 2.70    | WAYMAN et al. (1984) [229]                     |
| (Louisiana)                                 |           |                                    |         |          |         |  |
| Tiges de blé                                | 37.50     | 35.50                              | 16.10   | 4.50     | 6.40    | " "  |
| Epi de maïs                                 | 32.00     | 44.30                              | 12.90   | 3.20     | 0.70    | " "  |
| Tiges de maïs                               | 29.00     | 29.60                              | 12.41   | 18.40    | -       | ROBEY (1984) [174]                             |
| Tiges de maïs                               | 36.50     | 20.70                              | 21.20   | -        | 5.10    | SCHULTZ et al. (1984) [185]                    |
| Bagasse de canne<br>à sucre                 | 39.90     | 21.60                              | 21.30   | -        | -       | " "  |
| Feuillus                                    |           |                                    |         |          |         |  |
| <i>Populus tremuloides</i>                  | 50.80     | 21.30                              | 18.20   | -        | -       | SPRINGER et al. (1963) [203]                   |
| <i>mitchx</i>                               |           |                                    |         |          |         |  |
| Tremble de bois                             | 42.20     | 25.50                              | 26.90   | 5.40     | -       | WAYMAN et al. (1984) [229]                     |
| Chêne rouge                                 | 40.30     | 28.80                              | 21.80   | 5.50     | 0.24    | SPRINGER (1985) [202]                          |
| Comifères                                   |           |                                    |         |          |         |  |
| Sciures de pins<br>( <i>Pinus Radiata</i> ) | 50.00     | 18.50                              | 24.80   | -        | 0.70    | AGUILLERA et MARTIN (1985) [3]                 |
| Pins rouges                                 | 50.70     | 17.30                              | 27.00   | 5.00     | -       | WAYMAN et al. (1984) [229]                     |
| Pins du Sud                                 | 48.03     | 25.68                              | 29.00   | -        | -       | CASEBIER et al. (1969) [31]                    |
| <i>Pinus radiata</i>                        | 47.30     | 15.60                              | 26.40   | 1.80     | 0.20    | BRASCH et FREE (1964) [25]                     |

Tableau 2. Composition des biomasses fréquemment étudiées

| Constituants   | Conifères (%) | Feuillus (%) | Graminées (%) |
|----------------|---------------|--------------|---------------|
| Cellulose      | 49.0 ± 1.6    | 44.4 ± 5.6   | 35.6 ± 6.3    |
| Hémicelluloses | 19.3 ± 4.4    | 25.2 ± 3.8   | 27.2 ± 6.1    |
| Lignine        | 26.8 ± 1.7    | 22.3 ± 4.3   | 17.4 ± 5.7    |

ce qui confirme assez bien la tendance rapportée par THOMAS (1977) [ 213] , COWLING et KIRK (1976) [40].

### **Hémicelluloses et répartition des monomères:**

Les hémicelluloses , comme on l'a vu précédemment sont des hétéropolymères formés principalement de:

- xylose
- mannose
- arabinose
- galactose
- acides uroniques

La répartition de ces entités chimiques est fonction de la nature même de la biomasse considérée.

Le tableau 3, résume cette répartition pour le cas des bois et quelques graminées.

## **2- Les Prétraitements :**

Plusieurs recherches conduites depuis un peu plus d'un siècle dans le domaine de la valorisation de la biomasse montrent que les matériaux lignocellulosiques sont une source par excellence d'énergie et de fabrication de produits chimiques à haute valeur ajoutée.

Dans le but d'avoir des rendements en produits techniquement et économiquement acceptables, il est impératif de procéder au prétraitement de la biomasse dont la faisabilité est



| Espèces                      | Xylose            | Mannose | Galactose | Arabinose | Acides uroniques | Auteurs                       |
|------------------------------|-------------------|---------|-----------|-----------|------------------|-------------------------------|
| <i>Beula papyrifera</i>      | 23.9              | 2.90    | 1.3       | 0.5       | 5.6              | FENGEL et WEGNER (1984) [68]  |
| <i>Populus tremuloides</i>   | 21.2              | 3.50    | 1.1       | 0.9       | 3.7              | FENGEL et WEGNER (1984) [68]  |
| <i>Pinus sylvestris</i>      | 7.0               | 12.40   | 1.9       | 1.5       | 5.0              | FENGEL et WEGNER (1984) [68]  |
| <i>Pinus strobus</i>         | 7.0               | 8.10    | 3.8       | 1.7       | 5.2              | FENGEL et WEGNER (1984) [68]  |
| Tremble                      | 20.8              | 2.60    | -         | -         | 4.7              | SPRINGER et al. (1963) [203]  |
| Chêne rouge du Sud           | 21.2              | 3.20    | -         | -         | 2.9              | SPRINGER et al. (1985) [202]  |
| Chêne rouge                  | 21.7              | 2.40    | 2.1       | 1.6       | -                | TRAN et CHAMBERS (1985) [216] |
| Pins                         | 6.8               | 12.00   | 3.3       | 1.3       | -                | TRAN et CHAMBERS (1985) [216] |
| Enveloppes du riz            | 12.3              | 1.40    | -         | 1.6       | -                | CASEBIER et al. (1969) [32]   |
| Bagasse                      | 18.8              | 3.10    | -         | 1.9       | -                | SCHULTZ et al. (1984) [185]   |
| Tige de maïs                 | 17.3              | 2.50    | -         | 2.5       | -                | SCHULTZ et al. (1984) [185]   |
| Tiges de blé                 | 21.0              | -       | 1.7       | 3.8       | -                | GROHMANN et al. (1984) [185]  |
| <i>Stipa tenacissima</i> (L) | 25.8 <sup>1</sup> | -       | -         | -         | 3.1              | CHANDA et al. (1950) [33]     |

Tableau 3. Répartition des polyoses dans différentes biomasses

1- La valeur représente le pourcentage en pentosanes par rapport à la biomasse initiale sur une base sèche

limitée par des considérations d'ordre énergétiques et de coûts, SAWADA et NAKUMARA (1985) [181].

Un prétraitement, pour être efficace doit répondre aux conditions suivantes:

- équipements simples et robustes
- utilisation de produits chimiques peu chers
- solubilisation et fractionnement des entités chimiques de la biomasse d'une façon sélective et contrôlée
- efficacité de prétraitement sur une grande variété de matériaux lignocellulosiques.

Les moyens de prétraitements sont nombreux et variés et on peut distinguer principalement les prétraitements

- thermomécaniques
- par radiations
- chimiques
- biochimiques

ainsi que leurs combinaisons.

Pour simplifier, on va décrire sommairement les prétraitements thermomécaniques et citer quelques exemples relatifs aux prétraitements trouvés dans la littérature.

### **L'autohydrolyse:**

Depuis les premiers travaux de RICHTER, RYDHOLM (1965) [179], la plupart des travaux plus récents traitent de l'autohydrolyse comme une première étape dans les industries des pâtes et papiers.

Il a été montré que le traitement de la biomasse avec de l'eau à des températures supérieures à 185°C induit la formation d'acides organiques (acétique) par la rupture des groupements acétylés labiles présents initialement dans les matériaux lignocellulosiques, catalysant ainsi l'hydrolyse des hémicelluloses en oligomères solubles.

### **L'oxydation par voie humide:**

Quand de l'air ou de l'oxygène est présent durant l'autohydrolyse, on parle alors de procédé à oxydation humide. Les premiers travaux s'y rapportant furent conduits par SCHALEGER et al. (1977) [183] et (1978) [182].

Ils trouvèrent que la première réaction qui s'y déroule est la formation d'acides qui sont formés par la solubilisation de composés acides des hémicelluloses par voie d'hydrolyse de groupements acétylés et par oxydation, ensuite cette réaction est suivie de l'hydrolyse des hémicelluloses catalysée par les acides formés.

Aux températures se situant entre 120 et 170°C, la cellulose et la lignine sont aussi affectées et modifiées. Cependant, leur solubilisation n'est pas importante et l'accessibilité de la cellulose se trouve accrue après oxydation humide, SCHALEGER et al. (1977) [183] et (1978) [182].

Des travaux plus récents, font état de l'utilisation de pressions partielles élevées d'oxygène et de l'action catalytique des métaux, MCGINNIS et al. (1983) [128].

### **Explosion à la vapeur:**

Le procédé a été développé initialement par MASON en 1925 pour être utilisé commercialement, SPALT (1977) [199].

En 1978, Iotech Co. Ltd Canada, a utilisé ce procédé pour la production des aliments pour les animaux.

A la lumière des résultats obtenus, Iotech décide d'utiliser le procédé pour des fins de prétraitements du bois FOODY et al. (1980) [71].

Ces travaux sont aussi suivis par ceux de MARCHESSAULT et al. (1980) [131], (1982) [132], et ceux de SHULTZ et al. (1984) [184].

Le procédé consiste en un chauffage rapide de la biomasse avec de la vapeur, dans une enceinte fermée, suivi d'une détente explosive des fibres et de la vapeur à travers un orifice (ou étranglement). Le procédé est décrit par DELONG (1981), [52].

### Hydrolyse rapide à la vapeur - Extraction en continu (Procédé RASH).

Ce procédé est similaire à l'explosion à la vapeur, sauf que les produits solubles et/ou gazeux sont continuellement prélevés de la zone de réaction, minimisant ainsi les réactions de dégradation.

Dans le procédé RASH, l'utilisation de catalyseurs est rendue facile si ceux-ci montrent un effet bénéfique particulier. Nous citons en guise de référence les travaux de BIERMANN (1983) [20].

Le tableau 4, dresse une étude comparative sommaire des prétraitements thermomécaniques.

| Prétraitements        | Avantages  | Désavantages   |
|-----------------------|--|--|
| Autohydrolyse         | Commercialement utilisé  | Réactions secondaires  |
| Oxydation humide      | Températures basses.<br>Réactions exothermiques générant de l'énergie pour le procédé.   | Exothermicité potentiellement explosive.<br>Temps de réaction lents.                   |
| Explosion à la vapeur | Commercialement utilisé<br>Procédé rapide.<br>Grande dislocation des fibres.   | Fractionnement de produits solubles non tangibles lors du prétraitement.               |
| RASH                  | Procédé rapide.<br>Produits continuellement enlevés.<br>Dégradations minimales.<br>Demande en vapeur plus faible que l'explosion à la vapeur.<br>Possibilité de rajout de catalyseurs spécifiques. | Le rapport solide/liquide est limité à cause des problèmes de pompage des suspensions. |

**Tableau 4. Comparaison de quelques prétraitements thermomécaniques**

Pour plus de détails, nous avons rapportés quelques travaux sur les différents prétraitements résumés dans le tableau 5.

De ce dernier , on peut retenir les points suivants:

- le rendement en xylose dépend du type de biomasse traitée et il semble que la récupération des hémicelluloses ne dépasse pas les 70 % des hémicelluloses initiales , exception faite pour l'herbe *Capium* , où le rendement de récupération est de 90 % , CARIOCA et al .(1985) , [ 29 ]

- une saccharification importante est obtenue dans les conditions d'hydrolyse acide qui peut atteindre les 92 % des sucres potentiels , GRETHLEIN et CONVERSE (1982) [88].

### **3- Production d'enzymes - Cas des xylanases**

La production d'enzymes est réalisée d'une façon analogue aux méthodes de fermentation en inoculant des cultures pures de microorganismes dans des milieux stériles.

On distingue deux méthodes de culture:

- culture en surface (méthode semi-solide)
- culture immergée.

Dans la culture en surface , les microorganismes sont cultivés sur la surface d'un substrat solide (généralement du son de blé). Les macro et micronutriments nécessaires à la croissance des microorganismes sont ajoutés et le mélange est humidifié avec de l'eau et stérilisé à 2 atmosphères pendant deux heures.

Le pH est maintenu constant en incorporant le plus souvent une solution tampon par vaporisation.

Après fermentation de 1 à 7 jours, le son sur lequel sont développés des microorganismes est lavé à l'eau, ce qui permet de récupérer une solution où sont contenus les microorganismes, les enzymes et le milieu de culture.

Dans la culture immergée, l'inoculum de microorganismes est mis en solution dans un milieu de culture stérilisé, le tout est incubé à température constante dans des fermenteurs sous

| Types de prétraitements                               | Procédés ou réacteurs                                   | Biomasses traitées                                   | Températures (°C)      | Temps                 | Liquide/Solide      | Catalyseurs supplémentaires              | Dimension des particules | Produits principaux                        |            | Auteurs                            |
|---|---|--|------------------------|-----------------------|---------------------|--|--------------------------|--|------------|------------------------------------|
|   |   |  |                        |                       |                     |  |                          | Xylose                                     | Glucose    |                                    |
| Hydrolyse acide et préhydrolyse (Autohydrolyse)       | Autoclave   | Bagasse préhydrolysée                                | 180-220                | 0-100 min             | 15/1                | Acide H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>     | -                        | -  | 61.3       | AMAR SINGH et al. (1984) [192]     |
| Hydrolyse Acide                                       | Autoclave   | Bagasse  | 210-220                | 0-4 hr                | 15/1 à 200/1        | Acide acétique 0.5-1.0%                  | 0.42-0.49 mm             | 26.4                                       | 7.9        | AMAR SINGH et al. (1984) [1193]    |
| "   | Autoclave   | Tiges de maïs  | 100                    | 4 hr                  | -                   | 5%                                       | -                        | 18.4                                       | -          | SROULL et al. (1986) [204]         |
| Explosion à la vapeur                                 | CSTR à 2 phases solvant: 0. Nitro-toluène               | -  | 170                    | 70 min                | -                   | 4.50%                                    | -                        | -  | -          | "                                  |
| Préhydrolyse Autohydrolyse                            | -   | Pins, Tremble  | 190                    | 15 min                | -                   | -  | -                        | 15-26                                      | -          | WAYMAN et al. (1984) [229]         |
| Autohydrolyse   | Autoclave 250 cm <sup>3</sup>                           | Pins, Tremble<br>Tiges de blé<br>Bouleau<br>Peuplier | 150<br>185-212<br>"    | 20 min<br>20 min<br>" | 100/2<br>>10/2<br>" | SO <sub>2</sub> 0.75%                    | 0.43-1.5 mm<br>"         | 11.3<br>15.4<br>6.9                        | 47.0, 32.2 | TARGONSKY (1985) [210]             |
| Autohydrolyse   | Réacteur de 6 l Siropulpes                              | Enveloppes des grains de la fleur de soleil          | 200                    | 5 min                 | -                   | -  | -                        | 11.3                                       | -          | DEKKER et WALLIS (1971) [49]       |
| Hydrolyse acide Autohydrolyse                         | Procédé discontinu réacteur de 250 l                    | -  | 175-190<br>140-130     | 2 hr<br>"             | -                   | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.45-0.5% | -                        | -  | -          | WAYMAN (1983) [252]                |
| Autohydrolyse (thermo-mécanique P=2.1-20.7MPa)        | Réacteur cascade  | <i>Populus tremuloides</i>                           | >190                   | 5 min                 | 100/8               | -  | <0.5mm                   | ~70% Xylose récupéré                       | -          | RUBIO TORRES et al. (1986) [215]   |
| Préhydrolyse acide                                    | Procédé "Silvichein" Réacteur piston                    | Graminées variées<br>Bois et graminées               | 135                    | 15-60 min             | -                   | -  | -                        | 19-23%                                     | -          | FUNK (1975) [76]                   |
| Hydrolyse acide                                       | CSTR de 1 l   | Paille de blé  | 34-90                  | 0-20 hr               | 20/1                | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.5-5%    | -                        | 90%  | -          | GONZALEZ et al. (1986) [82]        |
| Explosion à la vapeur                                 | Défibrateur Martin Bush RFA                             | Bois   | Vapeur saturée 190-210 | 10-20 min             | -                   | -  | -                        | 13-21%                                     | 91%        | PULS et al. (1984) [165]           |
| Explosion à la vapeur + Hydrolyse acide Autohydrolyse | Autoclave en acier                                      | <i>Pinus radiata</i>                                 | Vapeur saturée 190-210 | 0-5 min               | -                   | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>           | -                        | 17.4-22.9                                  | 40%        | AGUIERA et SAN MARTIN (1985) [3]   |
| Prétraitement chimique avec NaOH                      | Autoclave en acier 80ml                                 | Tiges de maïs et peuplier                            | 120-190                | 0-2 hr                | 10/1/19             | NaOH 0-2%                                | 20-200 mesh              | Conversion= 65%                            | 8.66 g/l   | LAMPTEY et al. (1985) [120]        |
| Extraction et fractionnement par solvant 50% éthanol  | Réacteur haute pression 10 l                            | Herbes capium  | 180                    | 1-3 hr                | 100/6-14            | -  | 1cm                      | 90% hémicelluloses solubilisées            | -          | CARROCA et al. (1985) [29]         |
| Oxydation humide                                      | Procédé Wetox   | Tiges de maïs  | 120-200                | 5-120 min             | -                   | -  | 2mm                      | Résultats non reproductibles et disparates | -          | ROBEY (1984) [174]                 |
| Pression partielle 0.3-3.4 MPa Hydrolyse Acide        | Procédé Wetox   | "  | 170                    | 30 min                | -                   | 1% Acide acétique                        | 2mm                      | 65-70% hémicelluloses                      | -          | ROBEY (1984) [174]                 |
| Ultra-son + hydrolyse acide                           | Réacteur ultrasonique 0-40 KHz en PVC 85cm <sup>3</sup> | Bagasse  | 50                     | 20 min                | 30/3                | LiCl + HCl 36-41%                        | -                        | 62 % Sucres réduits                        | -          | ULF SCHUCHARDT et al. (1987) [220] |

Tableau 5. Différents prétraitements rapportés dans la littérature

agitation.

Le pH du milieu peut être auto-contrôlant comme il peut être maintenu constant par régulation.

UNDERKOFER (1966) [221] a fait une comparaison entre les deux méthodes de culture résumée par le tableau suivant:

| Désignations avantages et désavantages | Culture de surface   | Culture immergée                           |
|--|--|--|
| Encombrement                           | Important  | Compact                                    |
| Travail manuel                         | Important  | Faible                                     |
| Pression d'air d'agitation             | Très faible à nulle  | Importante                                 |
| Energie requise                        | Très faible  | Importante                                 |
| Contrôle                               | Minimal  | Nécessaire                                 |
| Problèmes de contamination             | Minimes  | Sérieux                                    |
| Récupération des produits              | Demande:<br>- extraction avec une solution aqueuse<br>- filtration ou centrifugation | Demande:<br>- Filtration ou centrifugation |

### Composition du milieu:

Le milieu de culture est constitué essentiellement de la source de carbone à fermenter, d'azote et d'autres constituants nécessaires pour la bonne croissance du microorganisme et la fabrication d'enzymes (tels que les thio-oligosaccharides pour le cas des xylanases et d'autres inducteurs, DEFAYE et al. (1982) [45].

Si la fermentation est réalisée d'une façon aérobie, l'oxygène est aussi un élément très important.

A l'échelle industrielle, ou semi industrielle, les fabricants d'enzymes ne dévoilent pas les milieux de culture et ceux-ci restent confidentiels, et le plus souvent les conditions

concernant la fermentation et la production d'enzymes sont différentes et sont déterminées expérimentalement pour chaque microorganisme et enzyme spécifique.

Malheureusement, un milieu synthétisé pour une bonne croissance des microorganismes, le plus souvent ne l'est pas pour une production importante d'enzymes désirés.

### **Les conditions de fermentation:**

Celles-ci sont comme suit:

- pH
- température
- agitation
- concentration d'innoculum.
- aération

### **Conditions de production d'enzymes:**

L'enzyme désiré peut être fabriqué pendant n'importe quelle phase de croissance du microorganisme, exception faite pour la phase de latence.

La production d'enzymes peut être extra ou intracellulaire. Dans le premier cas les enzymes sont sécrétés à l'extérieur des cellules, tandis que dans le deuxième cas ils sont sécrétés puis restent dans le cytoplasme des cellules.

D'une façon générale les enzymes intracellulaires sont probablement produits durant la phase exponentielle.

Tous les microorganismes produisent plusieurs milliers d'enzymes à la fois.

Typiquement, le rendement en enzymes varie entre 1 à 5% du milieu de culture initial, AUNSTRUP et al. (1979) [9].

### **Séparation des cellules du milieu de culture:**

Suivant la nature du microorganisme (levures, bactéries, spores...), la séparation peut impliquer différentes méthodes.



En général les levures sont séparées du milieu de culture par centrifugation , alors que dans le cas des bactéries , la technique de floculation suivie de la sédimentation est utilisée.

En industrie, l'utilisation des filtres sous vide à tambour suivie d'une autre méthode de filtration est fréquemment employée.

Dans le cas d'enzymes intracellulaires, une autre étape supplémentaire est nécessaire pour récupérer les enzymes: la désintégration des cellules.

On distingue deux types de méthodes de désintégration:

- **méthodes physiques:**

- agitation avec des abrasifs (billes de verre)
- cisaillement avec des solides (passage dans une restriction)
- congélation/décongelation (chocs thermiques)

- **méthodes chimiques:**

- utilisation de détergents ioniques
- choc osmotique (solution de sel concentrée)
- traitement avec des bases ( pH = 11 à 12 )
- traitement enzymatique (lysozyme).

Pour plus de compréhension, nous avons jugé nécessaire de résumer les détails concernant la fabrication des xylanases dans le tableau 6 , où on constate qu'effectivement , les conditions de production d'enzymes sont le plus souvent différentes des conditions de fermentation.

Une activité des xylanases très importante a été obtenue en cultivant le microorganisme *Aureobasidium pullulans* Y2311-1 dans des conditions de fermentation immergée.

| Microorganisme  | Substrat   | Conditions de fermentation |         | Conditions de production de l'enzyme |                        |                           | Observations | Références |   |  |
|---|--|----------------------------|---------|--------------------------------------|------------------------|---------------------------|--------------|------------|---|--|
|   |  | Type de réacteur           | pH      | Température (°C)                     | Agritation (Tours/min) | Temps de fermentation (J) |              |            | pH                                      | Température (°C)   |
| <i>Cellulomonas flavigena</i><br>NIAB 441   | Herbe Kallar<br>Tiges de blé<br>Xylanes          | Flacon conique             | 7.3     | 45                                   | -                      | 3<br>3<br>5               | 7.3          | 30         | 16 UI/ml<br>10.5 UI/ml<br>13 UI/ml      | MOHAMMAD RAJOKA<br>et KAUSER (1984) [166]                      |
| <i>S. commune</i>   | Bois   | Flacon                     | 5.9-6.0 | -                                    | 84                     | 9                         | 4.7-5.9      | -          | >150 10 <sup>-2</sup><br>UI/ml          | VARADI et JURASEK (1979) [223]<br>(1969) [222]<br>(1968) [224] |
| <i>S. thermophile</i>   | Pâte de betterave à sucre<br>idem                | Flacon                     | 6.5     | 45                                   | 200                    | 3                         | 6.5          | 45         | 15.01 UI/ml                             | GRAJEK (1987) [98]   |
| <i>U. lanuginosa</i>  | Xylanes  | Flacon plat                | 5.0     | 30                                   | -                      | -                         | 6.5          | -          | 18.73 UI/ml<br>373.0 UI/ml              | LEATHERS (1986) [122]  |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> Y2311-1  | Cellulose micro-cristalline                      | Flacon                     | 4.8     | 29                                   | -                      | 9<br>8                    | -            | -          | 27.09 UI/ml<br>25.60 UI/ml              | GHOSE et al. (1985) [79]                                       |
| <i>T. reesi</i><br><i>T. wenii</i>  | Cellulose Xylanes                                | Fermenteur 7 l             | 3.0     | 28                                   | sur 18%<br>v/v min     | -                         | -            | -          | 108 UI/ml<br>130 UI/ml                  | ROBISON (1984) [175]   |
| <i>T. reesi</i> rat-C30   | Herbe Kallar                                     | Flacon conique<br>1 l      | 7.3     | 30                                   | -                      | 3                         | -            | -          | 13 UI/ml<br>11 UI/ml<br>10 UI/ml        | RAJOKA et MALIK (1986) [168]                                   |
| <i>C. blazozia</i><br><i>C. callasea</i><br><i>C. flavigena</i><br><i>C. fimi</i> | Liquueur de maïs                                 | Flacon                     | -       | -                                    | 150                    | 14                        | -            | -          | 170-200 UI/ml                           | SADANA et al. (1980) [180]                                     |
| <i>Aspergillus terreus</i>  | Cellulose Xylanes Holocellulose                  | Flacon                     | -       | -                                    | -                      | 3<br>3<br>9               | -            | -          | 1.834 UI/ml<br>4.14 UI/ml<br>3.55 UI/ml | PARODA et al. (1984) [152]                                     |
| <i>Streptomyces</i> Sp. No. 3137  | Glucose et $\beta$ -D-xylanes 18.30-30.5 mM      | Flacon                     | 6.0     | 36                                   | 110 osc./min.          | 10                        | 6.0          | 36         | 40 UI/ml                                | NAKANISHI et YASUI (1980) [145]                                |
| <i>T. lignorum</i>  | Arabino-D-xylanes                                | Fermenteur Biostat V 12    | 5.2     | 29                                   | -                      | 3                         | -            | -          | 104 UI/ml                               | DEFAÏE et al. (1985) [44]                                      |
| <i>S. commune</i>   | Cellulose  | Bouteille de serum         | -5.0    | 30                                   | 250                    | 9                         | 3.0          | 5.0        | 203 UI/ml                               | DESROCHERS et al. (1981) [53]                                  |
| <i>Neocallimastix frontalis</i>   | Tiges de blé Holocellulose tige de blé cellulose | Flacon (500 cc)            | 7.3     | 28                                   | -                      | 3<br>3                    | -            | -          | 6.0 UI/ml<br>4.9 UI/ml                  | SUSAN LOWE et al. (1987) [209]                                 |
| <i>Actinomyces chaitia</i>  | Xylanes Son de blé                               | Flacon (500 cc)            | 7.3     | 28                                   | -                      | 3<br>4                    | -8.0<br>-8.3 | 28<br>11   | 28 UI/ml<br>11 UI/ml                    | SRINIVASAN et al. (1984) [206]                                 |

Tableau 6. Synthèse de la production des xylanases à partir de microorganismes

| Microorganisme                                       | Substrat   | Conditions de fermentation                |     | Conditions de production de l'enzyme |                        |                           | Observations | Références                            |                              |
|--|--|---|-----|--------------------------------------|------------------------|---------------------------|--------------|---------------------------------------|------------------------------|
|  |  | Type de réacteur                          | pH  | Température (°C)                     | Agritation (Tours/min) | Temps de fermentation (J) |              |                                       | pH                           |
| <i>C. cellulocicum</i>                               | Tiges de blé<br>Tiges de maïs<br>Tremble de bois | Flacon<br>250ml                           | -   | 37                                   | 200                    | 3                         |              | Fermentation immergée                 | DUREAU et al. (1986) [59]    |
|  |  |   |     |                                      |                        | 3                         |              |                                       |                              |
|  |  |   |     |                                      |                        | 4                         |              |                                       |                              |
| <i>C. cellulocicum</i>                               | Tiges de blé<br>Tiges de maïs<br>Tremble de bois | Flacon                                    | -   | 37                                   | -                      | 10                        | 37           | Fermentation de surface               | DUREAU et al. (1986) [59]    |
|  |  |   |     |                                      |                        | 10                        |              |                                       |                              |
|  |  |   |     |                                      |                        | 13                        |              |                                       |                              |
| <i>Clostridium</i><br>sp. (822)<br><i>S. commune</i> | Cellulose  | -   | 5.2 | -                                    | -                      | -                         | 5.2          | Rien à signaler                       | SONG et LEE (1985) [198]     |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |
| <i>Talaromyces</i>                                   | Scieurs de sapin                                 | Fermenteur (Microferm Sc.Co. 14)          | 3.9 | 30                                   | 200                    | 9                         | -            | Rien à signaler                       | PAICE et al. (1978) [149]    |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |
| <i>Bacillus subtilis</i>                             | Son de blé                                       | Flacon 100ml                              | 5.5 | 50                                   | -                      | 3                         | 5.5          | 3.16 UI/ml 1 après purification       | YOSHIOKA et al. (1981) [239] |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |
| <i>Bacillus cereus</i>                               | Xylanes  | Fermenteur de 14 l Microferm. N.B. Sc.Co. | 6.5 | 30                                   | 200                    | 3                         | 6.5-7.0      | 12 UI/ml 1                            | BERNIER et al. (1983) [17]   |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |
| <i>Caldanomonas</i>                                  | Xylanes  | Flacon                                    | 6.5 | 30                                   | 250                    | 3                         | -            | 115-122 UI/10 <sup>9</sup> Cellules 2 | ESTEBAN et al. (1982) [64]   |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |
| <i>Caldanomonas</i>                                  | Xylanes  | Fermenteur 2 l Bioline Poissy, France     | 6.8 | 30                                   | 300                    | 4                         | 6.8          | 10 UI/ml                              | RAPP et WAGNER (1986) [169]  |
|  |  |   |     |                                      |                        |                           |              |                                       |                              |

1 - Activité après purification

2 - Activité enzymatique sur xylane pure et p - Nitroxyloxylosides

Tableau 6'. Synthèse de la production des xylanases à partir de micro-organismes (suite)

Activité  $\beta$ -Xylosidase rapportée (16 UI/ml, 4 J)

#### 4- Purification et isolation des xylanases (hémicellulases) et les $\beta$ -D xylosidases :

L'étude comparative et les synthèses concernant les hémicellulases et plus spécifiquement les xylanases et  $\beta$ -xylosidases ne sont pas approfondies.

Ces derniers temps, beaucoup de recherches ont été conduites pour purifier, isoler et produire ces enzymes à partir de plusieurs souches de microorganismes.

Le terme "hémicellulases" d'après DEKKER et RICHARDS (1976) [51], est relatif uniquement à la dégradation des hémicelluloses et n'inclue pas les glycosidases comme:

- $\alpha$ -L-arabinofuranosidases
- $\alpha$  et  $\beta$ -D-galactosidases
- $\alpha$  et  $\beta$ -D-mannosidases
- $\alpha$  et  $\beta$ -D-xylosidases.

Les enzymes, en plus de leur activité sur les polysaccharides à faible poids moléculaire (oligosaccharides) sont fréquemment capables d'hydrolyser des petites chaînes d'oligomères en monomères.

Les hémicellulases typiques sont:

- les L-arabinases
- les D-galactanases
- les D-mannanases
- les D-xylanases.

On remarque que ces enzymes sont toujours mis au pluriel, ceci pour leurs caractères endo et exo qui peuvent coexister ensemble.

Souvent dans les préparations commerciales d'enzymes telles que les cellulases et les hémicellulases à peu de choses près, tous ces enzymes sont présents et agissent le plus souvent d'une façon complémentaire.

Dans ce travail, nous nous limiterons à décrire les D-xylanases et  $\beta$ -D-xylosidases.

#### **4-1 Les $\beta$ -1-3 -D-xylanases:**

Les  $\beta$ -1-3-D-Xylanases sont des enzymes hydrolytiques capables de dégrader les  $\beta$ -1-3-D-xylanes en:

- D-xylose pour la forme exo
- D-xylose et D-xylo-oligomères pour la forme endo.

Ils trouvent leur origine dans plusieurs souches bactériennes se trouvant dans des environnements marins.

Les tentatives de purification de ces enzymes sont faites en utilisant la précipitation avec  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , la précipitation avec l'acétone, et l'électrophorèse à pH = 8.7 .

#### **4.2 Les $\beta$ -1-4-D-xylanases**

En fait, le mot "xylanases" se réfère aux enzymes aptes à dégrader les  $\beta$ -1-4-D-xylanopyranosides se trouvant dans les  $\beta$ -1-4-D-xylanes.

Les deux formes exo et endo existent et sont détectées.

##### **4.2.1 Purification:**

Les  $\beta$ -1-4-D-xylanases provenant de la sécrétion extra-cellulaire des microorganismes sont séparés en employant une ou la combinaison des techniques suivantes:

- la précipitation avec l'éthanol
- la précipitation avec l'acétone
- la précipitation avec l'alumine
- la précipitation avec du rivanol
- l'adsorption sur des résines échangeuses d'ions de type DEAE-SEPHADEX
- la précipitation avec le sulfate d'ammonium.

Ceux qui proviennent de l'extraction intracellulaire sont séparés par les techniques suivantes:

- l'homogénéisation dans le milieu tampon suivie de l'extraction avec le butanol

- l'écrasement des cellules avec des billes de verre en milieu tampon
- la lyse des cellules avec un détergent
- etc .

Les méthodes de séparation et de purification employées pour les xylanases sont conventionnelles incluant:

- la chromatographie échangeuse d'ions
- la chromatographie à perméation sur gel (SEPHADEX G-75 à 150; BIOGEL P100-200).
- l'électrophorèse
- la cristallisation
- etc.

#### 4.2.2 Mode d'action:

Le mode d'action dépend de l'origine des microorganismes.

- **Origine bactérienne**

Les enzymes sont essentiellement de type endo ex.: *Bacillus subtilis* et *Streptomyces xylophagus*.

La D-xylanase de *B. subtilis* dégrade la D-xylane et libère initialement les arabino et xylo-oligomères de Dp<sup>1</sup> ≥ 2, après prolongation de l'hydrolyse, le D-xylose apparaît

Pour la D-xylanase de *S. xylophagus*, la même chose est constatée mais le L-arabinose n'est pas produit.

On rapporte aussi que les dimères ne sont pas hydrolysés par les enzymes.

- **Origine fongique:**

Les xylanases sont de type exo et/ou endo.

On rapporte dans la littérature que ces enzymes sont difficilement distinguables des β-D-xylosidases car les deux types d'enzymes sont capables de dégrader les dimères.

En guise d'exemples, les xylanases produites par *A. batatae*, et *A. niger* et

<sup>1</sup> Dp : Degré de polymérisation

*Coniophora carebella* sont de type exo .

- **Origine protozoaire**

Les enzymes sont généralement de type endo. Ils dégradent les D-xylanes, arabino-xylanes, les hémicelluloses, les  $\beta$ -D-oligosaccharides de  $D_p \geq 3$  en xylobiose, D-xylose, où le xylobiose reste inattaqué.

On rapporte que ces D-xylanases ont une plus grande affinité pour les xylanes linéaires.

#### 4-3 Les $\beta$ -D-xylosidases

Nous remarquons que les xylanases du type endo et exo agissent différemment.

- Les Endo- $\beta$ -D-xylanases, ayant une activité dite viscométrique produisent des oligomères à grande majorité.

- Les Exo- $\beta$ -D-xylanases, ayant une activité dite  $\beta$ -D-xylosidique produisent des oligomères et des monomères.

Le nom de  $\beta$ -D-xylosidases est relié effectivement à l'enzyme de type exo et est capable de réduire les oligomères en monomères.

Les  $\beta$ -D-xylosidases, le plus souvent agissent d'une façon complémentaire avec les  $\beta$ -D-xylanases afin de compléter l'hydrolyse des xylanes en xylose (MASARU MATSUO et al., 1977) [184].

Ces enzymes, à l'instar des xylanases et d'autres enzymes à action hydrolytique peuvent être sécrétés par plusieurs microorganismes.

Différents auteurs rapportent l'effet inhibiteur du D-xylose sur l'activité des  $\beta$ -D-xylosidases HILDA et al. (1982) [97], RISTOPH et al. (1985) [173].

Dans les tableaux 7 et 8 sont respectivement résumés différents travaux relatifs aux propriétés des xylanases et  $\beta$ -D-xylosidases rapportés dans la littérature.

On remarque dans le tableau 8 , que les  $\beta$ -D-xylosidases ont un poids moléculaire

| Origine<br>Xylanases<br>Micro organismes    | Propriétés          |                     |                          |             | Substrats<br>hémicellulosiques<br>expérimentés    | Produits obtenus   | Auteurs  |
|---|---------------------|---------------------|--------------------------|-------------|---|--|--|
|   | MW                  | T° optimale<br>(°C) | T° stabilisation<br>(°C) | pH optimale |   |  |  |
| <i>Aspergillus niger</i>                    |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| Xylanase I                                  | 2.1 10 <sup>4</sup> | 55                  |                          | 5.0         | Xylane Soluble(+), xylane insoluble (-),<br>idem  | Xylo-oligomères de Dp 3-4<br>Xylo-oligomères de Dp 2-6, xylose<br>idem | FREDERICK et al. (1981) [75]<br>- FREDERICK et al. (1985) [75] |
| Xylanase II                                 | 1.3 10 <sup>4</sup> | 45                  |                          | 6.0         | idem  | idem   | SHEI et al. (1985) [189]                                       |
| Xylanase III                                | 1.3 10 <sup>4</sup> | 45                  |                          | 5.5         | idem  | idem   | FOURIER et al. (1984) [73]                                     |
| Xylanase                                    | 1.4 10 <sup>4</sup> | 45                  |                          | 4.9         | idem  | idem   |  |
| Xylanase                                    | 2.8 10 <sup>4</sup> | 42                  |                          | 5.0         | Xylane insoluble (-)                              |  |  |
| <i>Aspergillus niger</i>                    |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| Xylanase I                                  | 1.3 10 <sup>4</sup> | 45                  | 60                       | 6.0         | Xylane soluble (++) : xylane insoluble (+)        | Xylo-oligomères de Dp 3-6  | FREDERICK et al. (1985) [75]                                   |
| Xylanase II                                 | 1.3 10 <sup>4</sup> | 45                  | 60                       | 6.0         |   |  | STEWART et al. (1985) [208]                                    |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>                |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| Xylanase                                    | -                   | -                   | -                        | -           | Xylane du riz (+), xylane d'avoine (+)            | Xylose, xylobiose  |  |
| <i>Chaetium</i>                             |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| Xylanase                                    | 65                  |                     | 60                       | 5.0         | Xylane commerciale                                |  | SRINIVASAN et al. (1984) [205]                                 |
| <i>Chaetomium c.</i>                        |                     |                     |                          |             | Tiges de riz, maïs, tremble                       |  |  |
| <i>Trichoderma harzianum</i> ES8            |                     |                     |                          |             | Tremble   |  |  |
| <i>Clasidium</i>                            |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| <i>acetobutylicum</i>                       |                     |                     |                          |             | Xylane du mélèze                                  | Xylose, xylobiose, xylofuranose  | SONG et al. (1985) [198]                                       |
| NRRL B 527                                  | 65                  |                     |                          | 5.8         |   |  |  |
| ATCC 824                                    |                     |                     |                          | 6.0         | Xylane du hêtre                                   |  | JURAJ VARADI et al. (1971) [105]                               |
| <i>Schizophyllum c.</i>                     |                     |                     |                          |             | Xylane du mélèze                                  | Xylobiose (70%), xylose (25%)  | PAKCE et al. (1978) [151]                                      |
| <i>Schizophyllum commune</i>                | 3.1 10 <sup>4</sup> | 50                  | 45-55                    | 5.0         |   |  |  |
| <i>Bacillus sp.</i>                         |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| alkalophile                                 |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| thermophile                                 |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| W1-I  | 2.1 10 <sup>4</sup> | 65                  |                          | 6.9         | Xylan du mélèze (Sigma)                           | Xylooligomères de Dp 2-5<br>idem                                       | OKAZAKI et al. (1985) [147]                                    |
| W1-II                                       | 4.9 10 <sup>4</sup> | 70                  |                          | 7.9         |   |  | " "  |
| W2-I  | 2.2 10 <sup>4</sup> | 65                  |                          | 6.0         |   |  | " "  |
| W2-II                                       | 5.0 10 <sup>4</sup> | 70                  |                          | 7.0-9.5     |   |  | " "  |
| <i>Termitomyces chrysatus</i>               | 3.0 10 <sup>4</sup> | 55                  | ≤ 60                     | 5.5         | Xylane du mélèze                                  | Principalement du xylose   | GHOSH et al. (1980) [80]                                       |
| <i>Schizophyllum c.</i>                     |                     |                     |                          |             |   |  |  |
| <i>Talaromyces hyssopochromyoides</i> YH-50 | 3.4 10 <sup>4</sup> | 55                  | 30-60                    | 5.0         | Xylane du mélèze, xylane de <i>S. tenacissima</i> | Xylobiose (75%), xylose (25%)  | PAICE et al. (1978) [151]                                      |
| Xylanase A                                  | 7.6 10 <sup>4</sup> | 70                  |                          | 5.5         | Xylane non pure                                   | Xylose, arabinose, glucose, galactose                                  |  |
| Xylanase bI                                 | 5.4 10 <sup>4</sup> | 70                  | 0-75                     | 5.5         | Xylane non pur                                    |  |  |
| Xylanase bII                                | 4.5 10 <sup>4</sup> | 70                  | 0-75                     | 5.5         |   | Xylose, arabinose, glucose, xylo-oligomères de Dp > 2                  | YOSHIOKA et al. (1981) [239]                                   |

Tableau 7. Etude comparative de différents xylanases identifiés, rapportés dans la littérature

- : Non fait  
 (++) : hydrolysé totalement  
 (+) : hydrolysé partiellement  
 (-) : non hydrolysé



| Origine des xylanasés<br>Microorganismes | MW                   | Propriétés      |                      |                                | Substrats hémicellulosiques expérimentés | Produits obtenus   | Auteurs  |
|--|----------------------|-----------------|----------------------|--------------------------------|--|--|--|
|  |                      | T optimale (°C) | T stabilisation (°C) | pH optimale / pH Stabilisation |  |  |  |
| <i>Bacillus sp</i> C-125                 | 4.3 10 <sup>4</sup>  | 60              | 0-60                 | 7.0                            | 6.0-10.0                                 | Xylo-oligomères de Dp > 2  | HONDA et al. (1985) [100]  |
| Xylanase A                               | 1.6 10 <sup>4</sup>  | "               | "                    | "                              | 6.0-7.0                                  |  |  |
| Xylanase N                               | 3.2 10 <sup>4</sup>  | 50              | -                    | 5.0                            | 5.0-7.0                                  |  |  |
| <i>Bacillus subtilis</i>                 |                      |                 |                      |                                |  | Xylobiose, xylose et xylotrirose en traces                       | BERNIER et al. (1983) [17]   |
| <i>Bacillus circulans</i> W-12           | 8.5 10 <sup>4</sup>  | -               | -                    | 5.5-7.0                        |  |  |  |
| Xylanase A                               | 1.5 10 <sup>4</sup>  | -               | -                    | 5.5-7.0                        |  |  |  |
| Xylanase B                               |                      |                 |                      | 7.0-7.2                        |  | Non mesurés ou faibles   | ESTEBAN et al. (1982) [63]   |
| <i>Bacillus firmus</i>                   | 2.4 10 <sup>4</sup>  | 65              | 40-80                | 4.0                            | 3.0-8.0                                  |  |  |
| <i>Aspergillus N.14</i>                  | 3.8 10 <sup>4</sup>  | 60              | < 70                 | 6-9<br>4.6-5.2                 | 6.0-9.0                                  |  |  |
| <i>Irpex lactus</i>                      |                      |                 |                      |                                |  | Xylose, xylobiose, xylotrirose                                   | HOEBLER et BRILLOUET (1984) [98]                                       |
| <i>Trichoderma viride</i>                | 1.78 10 <sup>4</sup> | 59              | 0-40                 | 4.8                            | 4-6                                      |  |  |
| <i>Osiporus sp</i>                       | 3.9 10 <sup>4</sup>  | 55              | 0-50                 | 5.0                            | 3.0-7.0                                  |  |  |
| A1                                       | 2.7 10 <sup>4</sup>  | 55              | 0-35                 | 5.0                            | 3.5-8.0                                  | Xylobiose, xylose, xylotrirose<br>idem + arabinose               | SINNER et DIETRICHIS (1975) [194]<br>SINNER et DIETRICHIS (1976) [195] |
| A2                                       | 3.7 10 <sup>4</sup>  | 55              | 0-45                 | 5.0                            | 4.0-8.5                                  |  |  |
| B  |                      |                 |                      |                                |  |  |  |
| <i>Aspergillus sp.</i>                   | 2.2 10 <sup>4</sup>  | 60              | 0-50                 | 5.0                            | 3.0-11.0                                 | Xylose, xylo-oligomères de Dp > 2                                | DUBEAU et al. (1987) [60]  |
| A  |                      |                 |                      |                                |  |  |  |
| <i>C. cellulobionum</i>                  |                      | 50              |                      | 6.0                            |  |  |  |
| <i>Cellulomonas lida</i>                 |                      | 58              | ≤ 60                 | 5.8                            |  | Xylose, xylobiose et xylotrirose (traces)                        | RAPP et WAGNER (1986) [169]  |
| <i>E. coli</i>                           | 4.3 10 <sup>4</sup>  | 70              | ≤ 70                 | 6.0-10.0                       | 5.0-12.0                                 |  |  |
| Bactérie mésophile souche Y-94           |                      |                 |                      |                                |  |  |  |
| Xylanase A                               | 5.1 10 <sup>4</sup>  | 80              | 0-75                 | 4.9                            | 2.5-9.0                                  | Xylobiose, xylotrirose, xylopentose et xylo-oligomères de Dp > 5 | HIROSHI HONDA et al. (1985) [99]                                       |
| Xylanase B                               | 4.8 10 <sup>4</sup>  | 80              | 0-75                 | 4.9                            | 2.5-9.0                                  |  |  |
| Xylanase                                 | 3.5 10 <sup>4</sup>  | 80              | 0-70                 | 4.9                            | 3.0-5.5                                  |  |  |
|  |                      |                 |                      |                                |  | Xylose, xylobiose et xylotrirose (traces)                        | MITSUISHI et al. (1987) [137]  |
|  |                      |                 |                      |                                |  |  |  |
|  |                      |                 |                      |                                |  |  |  |

-- : Non fait  
(++): hydrolysé totalement  
(+): hydrolysé partiellement  
(-): non hydrolysé

1

Xylane non branché

Tableau 7. Etude comparative de différents xylanasés identifiés, rapportées dans la littérature (suite)

| Origine du microorganisme                   | Propriétés |            |              |            | Substrat | Produits                            | Références                    |
|---|------------|------------|--------------|------------|----------|-------------------------------------|-------------------------------|
|   | MW         | pH optimum | pH stabilité | T° optimum |          |                                     |                               |
| <i>Malbranchea pulchella fulturea</i> No 48 | 26000      | 6.2-6.8    | 6.3-6.7      | 50         | < 50     | Xylose , phénol                     | MATSUO et al. (1977) [134]    |
| <i>Basilus pumilus</i>                      | 60000      | 7.2        | -            | 25         | -        | Xylose et p-nitrophénol             | CLAEYSSENS et al. (1975) [36] |
| <i>Thermonospora</i>                        | 65000      | 5.0-8.0    | 7            | <60        | -        | .                                   | RISTOPH et al. (1985) [173]   |
| <i>Basilus pumilus</i>                      | 60000      | 7.2        | 6.5-9.0      | 40         | -        | Xylose rien p-Nitrophénol et xylose | HILDA (1982) [97]             |
| <i>Penicillium wortmanni</i>                | 102000     | 3.3        | 3.4          | 25         | -        | 4-Méthylxylo-triose rien            | DELEYN et al. (1982) [48]     |
| Anaérobies cellulolytiques                  | -          | 7          | -            | -          | -        | Xylose p-Nitrophénol                | KHAN et al. (1987) [111]      |
| <i>Neurospora crassa</i>                    | 83000      | 4.5-5.0    | -            | 55         | -        | Xylose xylobiose                    | DESHPANDE et al. (1986) [54]  |

1

- Hydrolyse poussée

2

- L'hydrolyse n'a pas lieu

Tableau 8 . Comparaison des propriétés de quelques  $\beta$ -D-xylosidases de diverses origines

moyen de 26000 à environ 100000.

Les essais d'hydrolyse du xylane avec ces enzymes se sont avérés négatifs, par contre l'hydrolyse des xylo-oligomères de degrés de polymérisation variés est possible, ce qui met en évidence le caractère exo de ces enzymes.

#### **4-4 Les hémicellulases synthétisées par les bactéries et protozoaires provenant des ruminants.**

D'après WILLIAMS et al. (1981) [236], plus de 100 bactéries isolées à partir des ruminants sont étudiées dans le but de détecter leur capacité à dégrader les polysaccharides.

On constate, d'après cette étude, que les polysaccharides sont dégradés avec les taux suivants:

| Polysaccharides | Intervalle du taux de dégradation (%) | Taux moyen (%) |
|-----------------|---------------------------------------|----------------|
| Xylanes         | 5 - 95                                | 38             |
| Arabinanes      | 5 - 82                                | 43             |
| Galactanes      | 2 - 38                                | 18             |

MORRISON (1975) [143], étudia quant à lui ces hémicellulases en isolant une xylanase pure dont les conditions hydrolytiques sont:

- température optimale: 30°C
- pH optimal:  $\approx$  7
- température de stabilité: 4 - 37°C.

Par ailleurs DEHORITY (1968) [46] étudia l'action de ces hémicellulases sur différents substrats et trouva les résultats suivants:

| Substrat                         | % Dégradation |
|----------------------------------|---------------|
| Hémicelluloses                   | 71 - 94       |
| Xylane pure                      | 62 - 70       |
| Carboxymethyl<br>cellulose (CMC) | 28 - 48       |
| Cellodextrines                   | 94 - 95       |

Ces résultats sont confirmés par BRICE et MORRISON (1982) [26] sur les hémicelluloses du seigle, et par DEKKER et RICHARDS (1982) [50] sur le foin.

#### **5- Production de protéines d'organismes unicellulaires:**

La production de protéines d'organismes unicellulaires plus connues sous le nom de SCP (Single Cell Proteine), donné pour la première fois par les chercheurs du MIT en 1968, a fait et fait à présent l'objet de plusieurs recherches.

Plusieurs revues de la littérature concernant la production des SCP ont été faites, MORGEN (1979) [141], FAUST (1979) [66], ERICKSON et al. (1981) [63], KURAISHI (1979) [117]. GOW et al. (1974) [85].

Plusieurs procédés existent et sont soit à l'échelle pilote, soit à l'échelle industrielle afin de produire ces protéines dites non conventionnelles.

Ces derniers utilisent des substrats aussi nombreux que variés allant d'effluents industriels de pâtes et papier (Procédé Pekilo), ROMANTSCHUK et LETHTOMAKI (1978) [176], jusqu'aux procédés utilisant le méthane, le méthanol (Procédé ICI, Shell et BP), LAINE et CHAUFFAULT (1974) [118].

L'utilisation des carbohydrates dans les procédés de fabrication des SCP est rarement discutée.

Certaines unités de production des SCP ont été développées utilisant des levures ou des microorganismes filamenteux, à l'échelle industrielle, voir tableau 9.

Plusieurs espèces de microorganismes protéiniques ont été cultivées, comme *Aspergillus* sp., READE et SMITH (1973) [170], *Aspergillus fumigatus*, GREGORY (1980) [87], *Choetomium cellulolyticum* MOO-YOUNG et al. (1979) [139], *Fusarium moniliforme* DROULISCOUS et al. (1976) [58].

Divers résidus agricoles ont été utilisés pour des fins de production des SCP et qui à l'heure actuelle se situent soit à l'échelle du laboratoire ou à l'échelle pilote, voir tableau 10.

Récemment plusieurs études faisaient état de la production des SCP avec des bactéries cellulolytiques variées à partir de déchets de cellulose, CALIHAN et al. (1971) [27], DUNLAP (1975) [61], HAN et al. (1971) [93], THAYER (1975) [211], THAYER et DAVID (1978) [212].

D'autres auteurs ont utilisé les extraits à l'eau de caroube comme substrat pour faire croître *Fusarium moniliforme*, DROULISCOUS et al. (1976) [58].

D'autre part, la levure *S. fibuligera* importante pour son activité amylolytique a été cultivée afin de produire des SCP à partir des déchets d'amidon de pommes de terre en co-culture avec *Candida utilis*, JARL (1969) [104], POLIVKA et ZELINKA (1969) [160], LEMMEL et al. (1979) [125], TVELT (1967) [219].

Plusieurs obstacles existent quant à l'utilisation économiquement raisonnable et toxiquement acceptable de ces substrats.

Ces obstacles sont:

- l'origine du substrat
- sa présence en quantités suffisantes
- le besoin de prétraitements et enlèvement de produits toxiques néfastes.
- la disponibilité partielle de ces substrats suivant les saisons.
- la variation de la composition du substrat chimiquement et biochimiquement dans le temps.

| Compagnies                | Microorganismes                          | Substrats                                   | Production (T/an) | Lieux              | Auteurs                              |
|---------------------------|--|---|-------------------|--------------------|--------------------------------------|
| Bois Cascades Co.         | <i>C. utilis</i>                         | Liqueur sulfite                             | 5 000             | Salem Org.<br>USA  | ANDERSON et al.<br>(1974) [5]        |
| Cellulose Attisholz<br>AG | <i>C. utilis</i>                         | Liqueur sulfite                             | 10 000            | Suisse             | ANON (1974)<br>[7]                   |
| Knudsen Creamary<br>Co.   | <i>K. fragilis</i>                       | Ultrafiltrat du<br>lait                     | 750               | Los Angeles<br>USA | POWELL et<br>ROBE (1964)<br>[161]    |
| Sugar Corp.               | <i>S. fibuligera</i><br><i>C. utilis</i> | Amidon                                      | 10 000            | Suède              | TVEIT, (1967)<br>[219]               |
| Tate & Lyle               | <i>C. utilis</i>                         | Effluents des<br>industries de<br>confecion | 500               | USA                | FORAGE, (1978)<br>[72]               |
| Pekkilo                   | <i>Pacilomyces</i><br><i>varioitii</i>   | Liqueur sulfite                             | 10 000            | Finlande           | ANON, (1980)<br>[6]                  |
| Heurtey S.A.              | <i>Penicillium</i><br><i>cyclopium</i>   | Ultrafiltrat du<br>lait                     | 300               | France             | KOSMAN,<br>(1978) [115]              |
| Sempac S.A.               | <i>C. utilis</i>                         | Mélasses                                    | 20 000            | Algérie            | LASKIN, (1977)<br>[121]              |
| Sosa Texcoco              | <i>Spirulina</i><br><i>maxima</i>        | CO <sub>2</sub>                             | 1 T/j             | Mexique            | CHASTEL et<br>CLEMENT (1975)<br>[34] |

Tableau 9. Procédés de production des SCP à l'échelle industrielle

| Substrats          | Microorganismes  | Echelle du procédé                      | Références  |
|--------------------|--|---|---|
| Tiges d'orge       | <i>T. viride</i><br><i>T. viride</i> + <i>S. cerevisiae</i> ou <i>Candida utilis</i> | Laboratoire                             | PEITERSEN, (1975) [153]   |
| Bagasse            | <i>Cellulomanas</i><br><i>Cellulomonas</i> et <i>Alkaligènes faecilis</i>            | Laboratoire<br><br>Pilote<br><br>Pilote | PEITERSEN, (1975) [154]<br><br>HAN et al., (1971) [93]<br>DUNLAP, (1975) [61] |
| Son de blé         | <i>Rhodopseudomonas</i>  | Laboratoire                             | SHIPMAN et al., (1975) [190]  |
| Tiges d'orge       | <i>C. utilis</i>   | Laboratoire                             | KRISTENSEN, (1978) [116]  |
| Déchets de bananes | <i>Pichia spartinae</i>  | Laboratoire                             | CHUNG et MEYERS, (1979) [35]  |
| Déchets de dattes  | Levures variées  | Laboratoire                             | KAMEL, (1979) [108]   |
| Déchets de café    | Champignons variés   | Pilote                                  | AGUIRRE et al. (1976) [4]   |

Tableau 10. Production des SCP à partir de résidus agricoles

- les problèmes de contrôle de qualité.

Comme ces désavantages coïncident rarement , pour leur faire face , la fabrication des SCP à partir des déchets n'est effectivement économiquement faisable que dans certaines conditions.

### **Le choix du microorganisme:**

Ce choix est critique et dépend généralement de plusieurs facteurs.

Pour des substrats simples tels que les carbohydrates , *S. cerevisiae* et *Candida utilis* présentent un choix des plus intéressants en raison de leur utilisation comme ingrédients pour l'alimentation et ce depuis fort longtemps.

Cependant, même avec ces microorganismes, des études toxicologiques doivent être entreprises avant une production intensive des SCP, si ceux-ci sont produits avec des substrats carbohydratés différents de ceux purs.

Les critères que doivent posséder les microorganismes choisis pour la production des SCP sont les suivants:

- le rendement par rapport au substrat doit être élevé.
- l'utilisation de facteurs de croissance est non requise.
- l'utilisation de températures de fermentation et de croissance doivent être acceptables afin de minimiser le problème de refroidissement du fermenteur.
- la croissance sous des conditions non aseptiques et contrôlées doit être envisagée.
- la croissance et le maintien des caractéristiques biologiques sous des conditions de fermentation à grande échelle sont possibles.
- la teneur en protéines utilisables doit être élevée.

En plus de toutes les études techniques et économiques de faisabilité, des études d'acceptabilité des SCP comme apport protéinique sans danger pour la santé tant animale qu'humaine doivent être entreprises systématiquement , et ceci sur de longues périodes.



## CHAPITRE 2

### PRETRAITEMENT THERMO- MECANO- CHIMIQUE EN PHASE AQUEUSE

#### 1- Description des biomasses utilisées - Analyses chimiques préliminaires:

Les biomasses utilisées dans le cadre de cette étude font partie des graminées. En l'occurrence il s'agit de:

- Tiges de maïs (Agriculture Canada-Lennoxville).

- *Stipa tenacissima* (communément appelée Alfa) en provenance des régions semi-désertiques d'Algérie.

Ces deux biomasses sont séchées puis réduites à une granulométrie moyenne inférieure à 0.5 mm.

Les analyses chimiques faites sur les biomasses initiales sont comme suit, sur une base sèche de la biomasse.

#### 1.1 Analyse élémentaire

| Biomasses                | C<br>% | H<br>% | N<br>% | Cendres<br>% | Autres<br>% |
|--------------------------|--------|--------|--------|--------------|-------------|
| Tiges de maïs            | 45.10  | 5.74   | 1.15   | 7.06         | 40.95       |
| <i>Stipa tenacissima</i> | 47.20  | 6.22   | 0.69   | 3.10         | 42.79       |

## 1.2 Analyses des polymères

| Biomasses                | Lignine<br>% | Extraits<br>Alcool-<br>Benzène % | Holocellulose<br>% | $\alpha$ -Cellulose<br>% | Hémicelluloses <sup>1</sup><br>% |
|--------------------------|--------------|----------------------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Tiges de maïs            | 16.40        | 18.40                            | 58.20              | 29.00                    | 29.20                            |
| <i>Stipa tenacissima</i> | 18.00        | 7.00                             | 71.00              | 37.00                    | 34.00                            |

## 1-3 Analyses des sucres

| Biomasses                | Arabinose<br>% | Xylose<br>% | Mannose<br>% | Galactose<br>% | Glucose<br>% | Somme<br>% |
|--------------------------|----------------|-------------|--------------|----------------|--------------|------------|
| Tiges de maïs            | 3.37           | 13.67       | 0.93         | 1.65           | 37.00        | 56.62      |
| <i>Stipa tenacissima</i> | 3.40           | 15.68       | 0.32         | 1.25           | 47.35        | 68.00      |

## 1.4 Analyse des pentosanes et groupements méthoxylés

| Biomasse                 | Pentosanes     | Moyenne | Groupements<br>méthoxylés |
|--------------------------|----------------|---------|---------------------------|
| Tiges de maïs            | 18.00<br>20.00 | 19.00   | 1.90                      |
| <i>Stipa Tenacissima</i> | 19.10<br>22.00 | 20.55   | 2.00                      |

<sup>1</sup>Les hémicelluloses sont obtenues par différence entre holocelluloses et  $\alpha$ -celluloses

## **2- Description de l'appareillage**

La valorisation de matières lignocellulosiques est vue sous une approche fractionnée où chaque famille polymérique est séparée d'une manière séquentielle sélective et contrôlée.

Ceci requiert un appareillage adéquat et des conditions telles que la composition chimique des macromolécules résultantes ne soit pas altérée par rapport à l'ensemble polymérique initiale, en évitant la dégradation thermique et la forte substitution des groupements fonctionnels des entités chimiques de la biomasse.

Pour ce faire, l'utilisation de la PDU ( unité de développement du procédé) utilisant le procédé UdeS-H (KOEBERLE et al. (1984) [114] est un matériel par excellence pour les buts fixés.

Le procédé U de S-H utilise une voie de prétraitement thermo-mécano-chimique en phase aqueuse opérant en semi-continu.

Ce procédé constitue une alternative aux approches:

- explosion à la vapeur, dérivé du procédé Mason
- cisaillement à l'aide de systèmes d'extrusion, dérivé du procédé Asplund.

Ces approches sont connues au Canada sous le nom Delong-Iotech et Stake respectivement (KOEBERLE et al. (1984) [114].

Le procédé U de S-H consiste à effectuer le prétraitement de façon semi-continue par pompage de la suspension de la biomasse à travers des conduits où la défibration et peut être même une certaine défibrillation peuvent être accomplies dans des conditions rhéologiques acceptables.

L'unité de développement du procédé se présente sous différents modules constituant les composantes principales.

- **Module de concentration de la suspension:**

Par recirculation à travers une vanne de cisaillement, on facilite l'homogénéisation de la suspension aqueuse et une certaine défibration, ceci se manifeste par une pompabilité accrue de la suspension.

- **Module d'injection de vapeur:**

La suspension est rapidement chauffée par injection de vapeur saturée ou légèrement surchauffée provenant d'une bouilloire électrique.

- **Module de cisaillement:**

La suspension déjà chauffée et pompée à une plus haute pression pour un laps de temps. Une détente contrôlée par une vanne de défibrillation force des changements structuraux au sein de la biomasse.

- **Module de réaction secondaire:**

La biomasse "éclatée" passe à travers un réacteur tubulaire à temps de résidence variable afin de permettre aux différentes réactions chimiques et de solubilisation de s'y produire. Des catalyseurs peuvent être injectés comme l'acide sulfurique ou autres avant cette section, on parlera alors d'hydrolyse acide. Si il n'y a aucun catalyseur ajouté on parlera d'autohydrolyse.

- **Module de récupération de produits:**

Dans ce module la suspension est séparée de la vapeur par une détente "flash". Cette dernière est condensée puis récupérée.

Il faut mentionner que la suspension prétraitée est neutralisée avec une solution de NaOH, s'il s'agit d'une hydrolyse acide, juste avant ce module.

Le diagramme d'écoulement de l'unité de développement du procédé UdeS-H est schématisé dans la figure 3 et les photos (1 et 2), appendice E.

### **3- Méthodologie expérimentale - Grilles utilisées**

Les expériences réalisées dans le procédé UdeS-H doivent suivre préalablement les étapes de:

- broyage fin de la biomasse (< 0.5mm)
- mise en suspension, où l'imprégnation s'effectue pendant environ 10 heures à la température ambiante avec de l'eau (20°C), ou bien 1 à 2 heures avec de l'eau un peu chaude

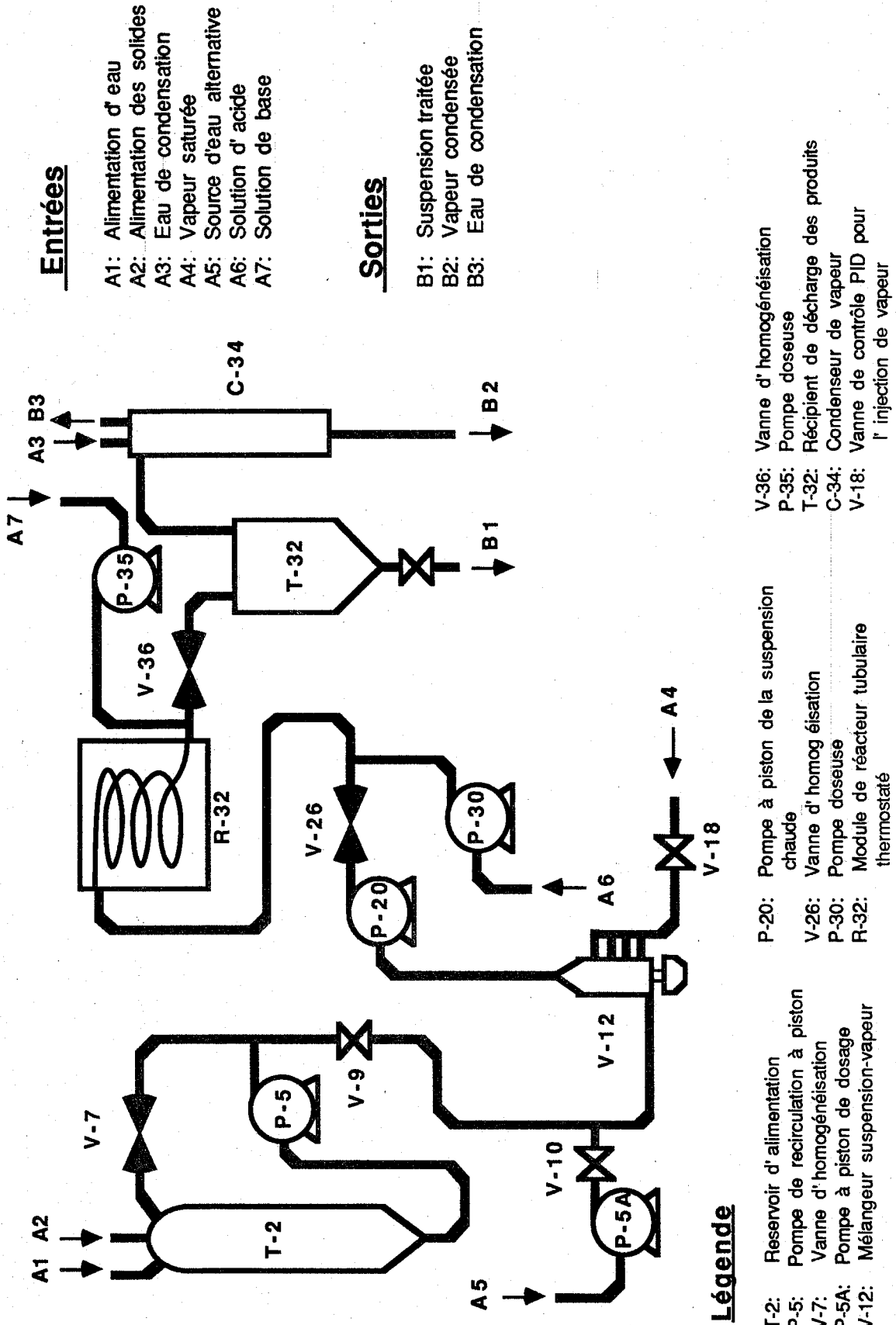


Figure 3. Diagramme d'écoulement du procédé UdeS-H

(70°C). Le pourcentage des solides dans la suspension est de 7 à 10% pondéral.

### **3-1 Paramètres opératoires pour le fractionnement**

Les paramètres d'opération suivants ont été fixés:

- pression dans la zone de préchauffage: 34 atmosphères
- pression dans la zone de cisaillement: 170 atmosphères
- dimension caractéristique des particules: < 0.5 mm.
- débit d'alimentation:  $\simeq$  1 l/min.
- pourcentage de solides dans la suspension: 7 à 10% pondéral
- concentration  $H_2SO_4$ : 0.0-2.0% pondéral (par rapport à la biomasse sèche).

Les paramètres à faire varier sont:

- la température dans le réacteur secondaire
- le temps de résidence dans ce dernier.

### **3-2 Protocole expérimental du déroulement d'une expérience typique**

Suivant qu'on a à traiter les tiges de maïs ou *Stipa tenacissima*, il y a eu de légères modifications.

Pour les tiges de maïs, la suspension est mise dans l'alimenteur puis dans le module de recirculation, où on facilite son homogénéisation durant un certain temps.

Préalablement, on aura lavé la PDU à l'eau, afin d'enlever toute particule indésirable qui resterait collée au système, ensuite, on amorce les pompes d'acide et de base, s'il s'agit d'une hydrolyse, on laisse stabiliser le système jusqu'à ce que le pH de l'eau à la sortie du réacteur soit d'environ 6.

On augmente alors la température à la valeur désirée et on la laisse constante, alors on met le système en circulation, pendant 2 min. Quand la suspension qui sort du module de récupération des produits prend un aspect plus visqueux (on est sûr que toute l'eau de lavage est évacuée, et que la suspension ait pris sa place dans le système), on commence alors à

récupérer les produits pendant  $\approx 20$  s.

Pour le cas des prétraitements acides, on arrête la pompe de la base, et on laisse s'écouler quelques secondes afin de s'assurer que la suspension est redevenue acide, alors on prélève un petit échantillon de suspension ( $\approx 30 \text{ cm}^3$ ) traitée pour mesurer immédiatement le pH.

Le pH correspond à l'acidification avant la neutralisation incluant l'acidité liée à  $\text{H}_2\text{SO}_4$  introduit et aux acides organiques libérés par fonctionnement à la température de réaction. Après la neutralisation, le pH final de la suspension est de 4 à 5.

Parallèlement, on récupère un échantillon de vapeur et on mesure son pH. Celui-ci est d'environ 3.

Pour réaliser une autre expérience à une autre température, on met le système en recirculation, on fait écouler de l'eau pour laver le réacteur et on recommence les étapes précédentes.

Pour le cas de l'Alfa, c'est exactement la même procédure, sauf qu'il est impossible de réussir une expérience sans munir l'alimenteur d'un agitateur qui puisse brasser continuellement la suspension et l'empêcher de décanter et boucher le système. Ceci facilite sa "pompabilité".

### **3-3 Grilles expérimentales utilisées**

Durant nos expériences, on a fait varier la température de 120 à 240°C ceci pour un certain temps de séjour et une concentration d'acide bien déterminés. Les temps de séjour utilisés sont compris entre 40 à 245 s, tandis que la concentration d'acide est comprise entre 0 et 2% pondéral.

Pour les tiges de maïs, les expériences sont codées comme suit:

FMBK-#-

où                    F: Fractionnement  
                           M: Maïs  
                           BK: Belkacemi Khaled  
                           #: No de l'expérience.

Pour *Stipa tenacissima* ce code est comme suit:

FABK-#-.

La signification des symboles est le même sauf pour A, A: Alfa

### 3-4 Protocole analytique:

La suspension traitée est filtrée, le filtrat contient les hémicelluloses solubilisées, une partie des extractibles tels que les terpenoïdes et les flavonoïdes, ainsi qu'une partie de la lignine.

Le "gâteau" est lavé à l'eau chaude, afin d'enlever les particules adsorbées aux fibres. Cette eau de lavage est mélangée à la fraction liquide précédente.

Le "gâteau" résiduel lavé, est séché à l'étuve à 60°C, pendant 24 h , pour y subir les différentes analyses.

Le filtrat global frais est stocké à  $\simeq 4^{\circ}\text{C}$  pour y subir différentes analyses.

Rapelons qu'il est nécessaire de procéder à l'analyse des extraits frais, afin d'éviter l'influence des fermentations sur la précision des analyses aussi bien qualitativement que quantitativement.

Le résumé des étapes analytiques pour aboutir à la "conversion" de la biomasse pour un échantillon donné est représenté par la figure 4.

Le résumé du protocole analytique pour analyser le "gâteau" et le filtrat est représenté par les figures 5 et 6 respectivement.

Les vapeurs condensées récupérées pour les hautes sévérités, sont stockées à  $\simeq 4^{\circ}\text{C}$ , pour y subir les analyses.



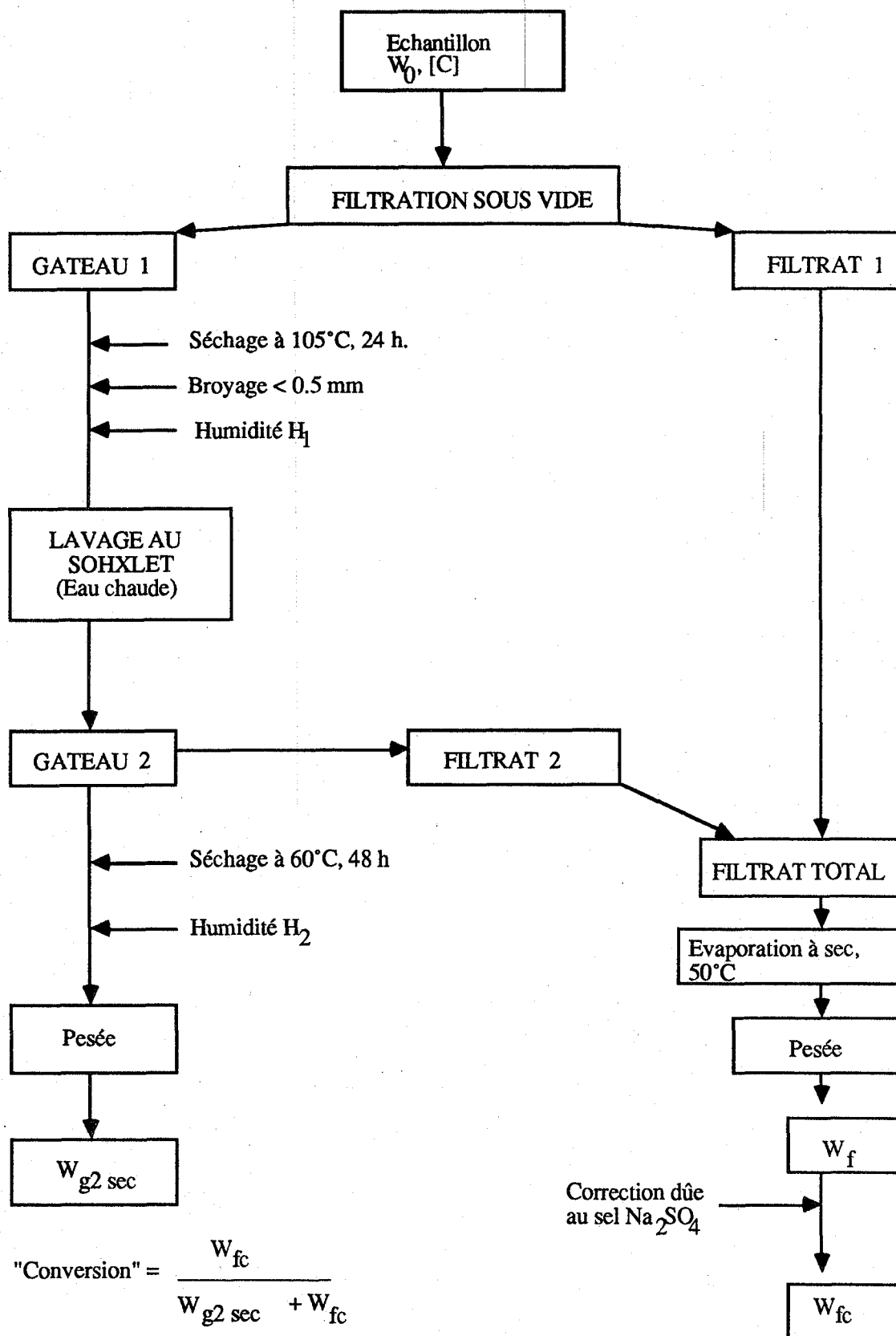


Figure 4. Etapes analytiques pour déterminer la "conversion"

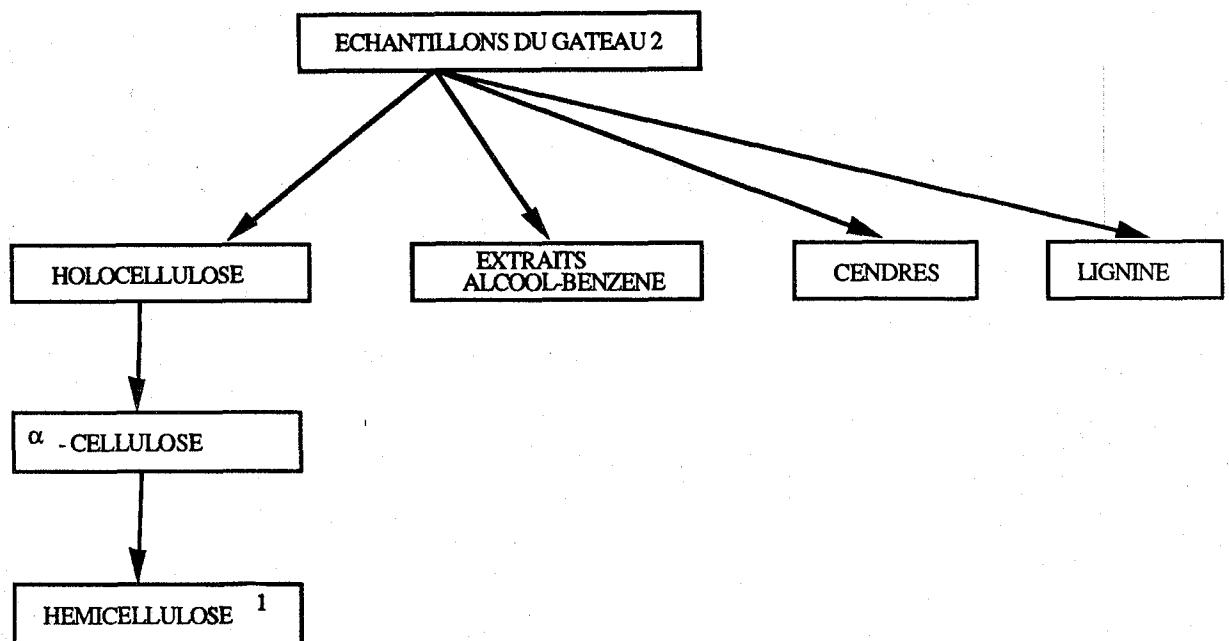


Figure 5. Analyse des résidus solides

1 - Les hémicelluloses sont déterminées par différence entre l'holocellulose et α-cellulose.

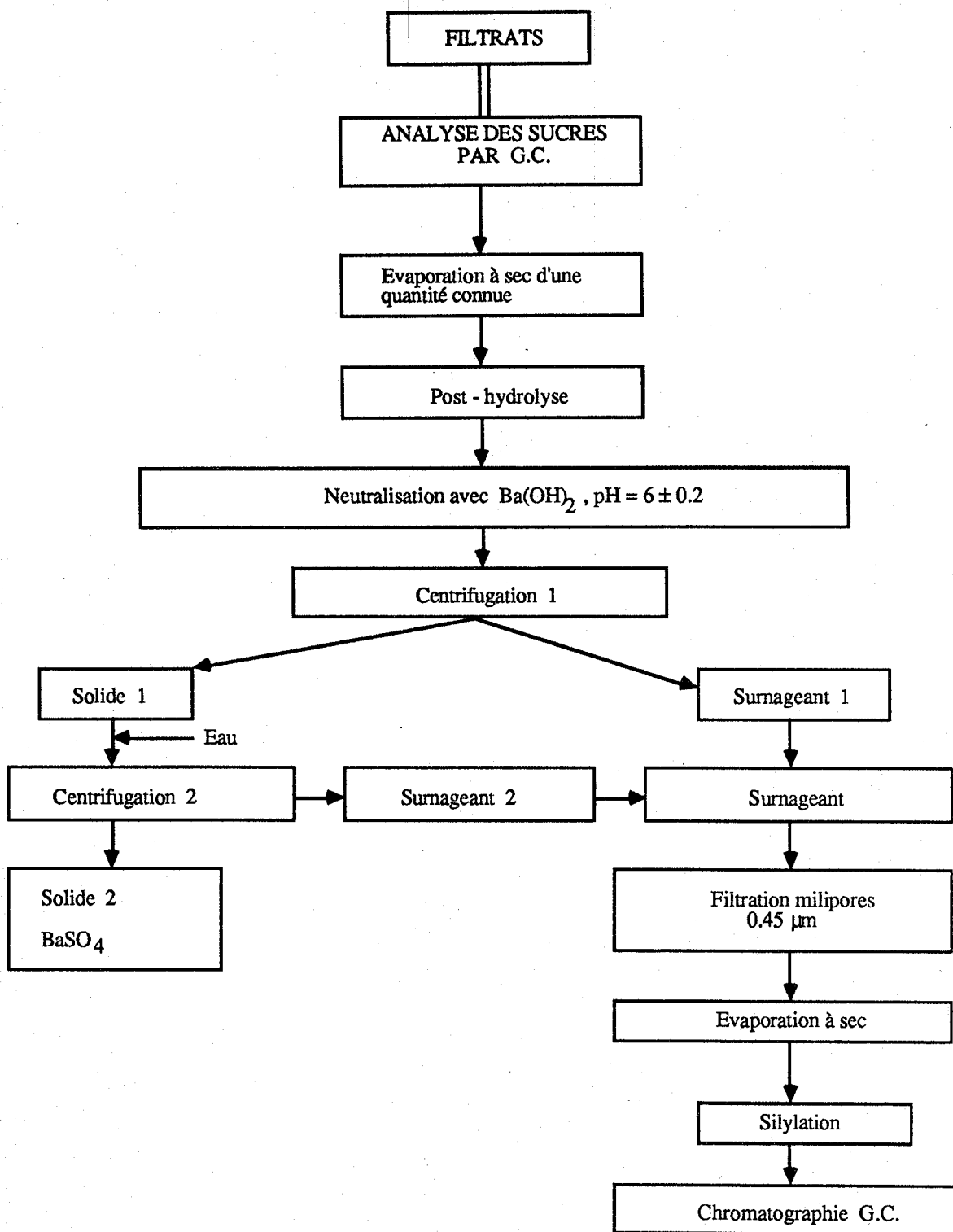


Figure 6. Analyse des filtrats

### 3-5 Les méthodes d'analyses adoptées pour cette étude

Les méthodes d'analyses utilisées pour chaque expérience afin de quantifier les différentes entités chimiques et polymériques sont résumés par le tableau 11.

| Produits chimiques           | Méthodes analytiques                                |
|------------------------------|---|
| Extraits :<br>Alcool-Benzène | Extraction au sohxlet                               |
| Extraits<br>eau chaude       | Extraction au sohxlet                               |
| Lignine                      | Méthode humide ①                                    |
| Holocellulose                | Méthode humide ②                                    |
| $\alpha$ -cellulose          | Méthode humide ③                                    |
| Hémicelluloses               | Par différence entre ② et ③                         |
| Cendres                      | Calcination   |
| Sucres monomères             | Chromatographie en phase gazeuse<br>(G.C Wide Bore) |
| Vapeurs condensées           | HPLC (Monomères)                                    |
| Oligomères                   | HPLC (Oligomères)                                   |

Tableau 11. Méthodes analytiques utilisées

### 3-6 Méthodologie de calcul adoptée

#### 3-6-1 Calcul de la "conversion"

Pour minimiser les erreurs dans le calcul de la "conversion", le raisonnement suivant est considéré:

- pour chaque ensemble d'expériences, on récolte un échantillon non traité pour vérifier le pourcentage de solides dans la suspension.

- on doit tenir compte à chaque fois de la quantité de sel introduit, qu'on doit soustraire du bilan relatif à la biomasse.

Pour comprendre la procédure, prenons un exemple de calcul:

Echantillon FABK-19.

Débit de la pompe d'acide:  $47.5 \text{ cm}^3/\text{min}$ .

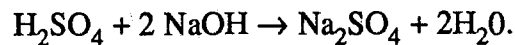
Concentration d'acide:  $28.37 \text{ g/l}$ .

Débit de la pompe de la base:  $47.5 \text{ cm}^3/\text{min}$ .

Concentration de la solution NaOH:  $23.12 \text{ g/l}$ .

Quantité de suspension récupérée:  $W_0 = 300.0 \text{ cm}^3$ .

La réaction de neutralisation est :

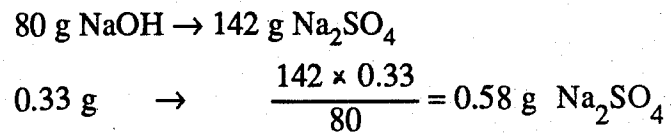


Si on considère que la masse volumique de la suspension est celle de l'eau  $\rho = 1.0 \text{ g/cm}^3$  (suspension diluée à 7%) et connaissant le débit de la pompe d'alimentation, alors le temps requis pour récupérer  $300.0 \text{ cm}^3$  de suspension traitée est:

$$300.0 \times 60/1000 = 18 \text{ s}.$$

La quantité de NaOH introduite est:  $47.5 \times 18/60 = 14.27 \text{ cm}^3$  correspondant à  $0.33 \text{ g}$  NaOH.

D'après la réaction:



Si on suppose que la totalité des sels se retrouvera dans le filtrat séché, alors la quantité corrigée de ce dernier sera exprimée par celle obtenue par pesée moins la quantité de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  formée, soit:

$$W_{fc} = W_f - \text{Sel} = 5.27 - 0.58 = 4.69 \text{ g}$$

et la "conversion" sera:

$$\text{"Conversion"} = \frac{W_{fc}}{W_{g_{2Sec}} + W_{fc}} \times 100 = \frac{4.69}{8.56 + 4.69} \times 100 = 35.4\%$$

au lieu de 39.09%, sans tenir compte du sel formé, soit une erreur relative de 7% qui n'est pas à négliger.

### 3-6-2 Méthode de calcul des hémicelluloses solubilisées via l'analyse des résidus solides:

Connaissant l'analyse de la biomasse de départ et après le prétraitement, il est possible de quantifier les différents polymères solubilisés.

La connaissance supplémentaire des cendres solubilisées corrigées en tenant compte des sels introduits sur la masse totale du filtrat sec obtenu, permet de déterminer les quantités des hémicelluloses solubilisées.

Le calcul est comme suit:

#### - Quantification des polymères solubilisés:

$$\text{Polymère}_{(i,s)} = \text{Polymère}_{(i,0)} - (1 - \text{"conv"}) \times \text{Polymère}_{(i,r)} \quad [1]$$

exprimé en % biomasse initiale.

où : Polymère<sub>(i,s)</sub>: i<sup>ème</sup> polymère solubilisé

Polymère<sub>(i,r)</sub>: i<sup>ème</sup> polymère résiduel

Polymère<sub>(i,0)</sub>: i<sup>ème</sup> polymère initialement présent dans la biomasse.

Etant donné qu'on récupère  $W_{g_{2Sec}} + W_{fc}$  grammes de biomasse sur une base sèche, alors la quantité de polymère<sub>(i,s)</sub> précédente est ramenée à cette dernière quantité de biomasse récupérée, soit:

$$\text{Polymère}_{(i,s)} = [\text{Polymère}_{(0)} - (1 - \text{"conv."}) \times \text{Polymère}_{(r)}] \times \frac{W_{g2Sec} + W_{fc}}{100} \quad [2]$$

exprimée en g/g biomasse récupérée.

Et finalement, les hémicelluloses solubilisées sont exprimées par:

$$\text{Hémicelluloses}_{(s)} = \frac{[W_{fc} - \sum \text{Polymère}_{(i,s)} - \text{Cendre}_{(s)}] \times 100}{W_{g2Sec} + W_{fc}} \quad [3]$$

exprimée en % biomasse initiale.

### 3-6-3 Méthode de détermination des sucres solubilisés et les hémicelluloses via l'analyse des filtrats par G.C.:

Les analyses nous donnent la quantité des sucres en (mg) se trouvant dans une quantité déterminée du filtrat sec.

Il est donc possible de connaître la quantité solubilisée de chaque polymère sucré sur une base de 100 g de biomasse initiale.

La formule de calcul est:

$$\frac{\text{Sucre}_{(i)} \text{ solubilisé}}{\% \text{ biomasse}} = \frac{\text{Sucre}_{(i)} \text{ (mg)}}{\text{Filtrat sec (mg)}} \times \frac{W_{fc}}{W_{g2Sec} + W_{fc}} \times 100 \quad [4]$$

Les hémicelluloses solubilisées seront approximées par:

$$\text{Hémicelluloses (s)} \approx \sum \text{Sucres(i) solubilisés} \quad [5]$$

(%) de biomasse sèche

En faisant cette approximation, on considère que le glucose solubilisé provient de la solubilisation des glucanes des hémicelluloses, ceci est valable pour les prétraitements de faible à moyenne sévérité.

Pour le cas des tiges de maïs traitées avec 2% pondéral d'acide à  $T = 240^{\circ}\text{C}$ ,  $t = 2.07$  à  $4.13$  min, on ne peut pas faire cette approximation car le prétraitement a induit la solubilisation d'une certaine quantité de cellulose relativement plus importante par rapport aux autres expériences.

Il faut aussi préciser que les hémicelluloses exprimées ainsi ne tiennent pas compte des groupements uroniques solubilisés, mais, ceci n'influe pas beaucoup sur le résultat à cause de deux raisons:

- les acides uroniques sont difficilement hydrolysables, par conséquent la plus grande quantité se situera dans les fibres
- leur quantité est  $\approx 3\%$  pour les deux biomasses.

#### **4 - Résultats expérimentaux:**

Les détails relatifs aux analyses et les résultats des différentes expériences sont répertoriés dans les tableaux donnés en appendice A.

La solubilisation des hémicelluloses par prétraitement thermo-mécano-chimique dépend de plusieurs variables à la fois, il est donc difficile de représenter les résultats sous forme graphique facilement interprétable.

Cependant, il est possible de représenter les résultats de l'optimisation expérimentale de la récupération des hémicelluloses en fonction de la concentration d'acide ajouté, voir les figures 7 et 8.

#### **5 - Interprétation des résultats expérimentaux :**

D'après nos résultats sur le prétraitement thermo-mécano-chimique des résidus agricoles, tiges de maïs et *Stipa tenacissima*, il s'avère que les conditions du prétraitement ont une influence majeure sur la solubilisation des différentes entités polymériques de la biomasse.

L'incorporation d'un acide supplémentaire ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), durant le prétraitement augmente la solubilisation de polymères mais induit aussi des réactions secondaires indésirables telles que



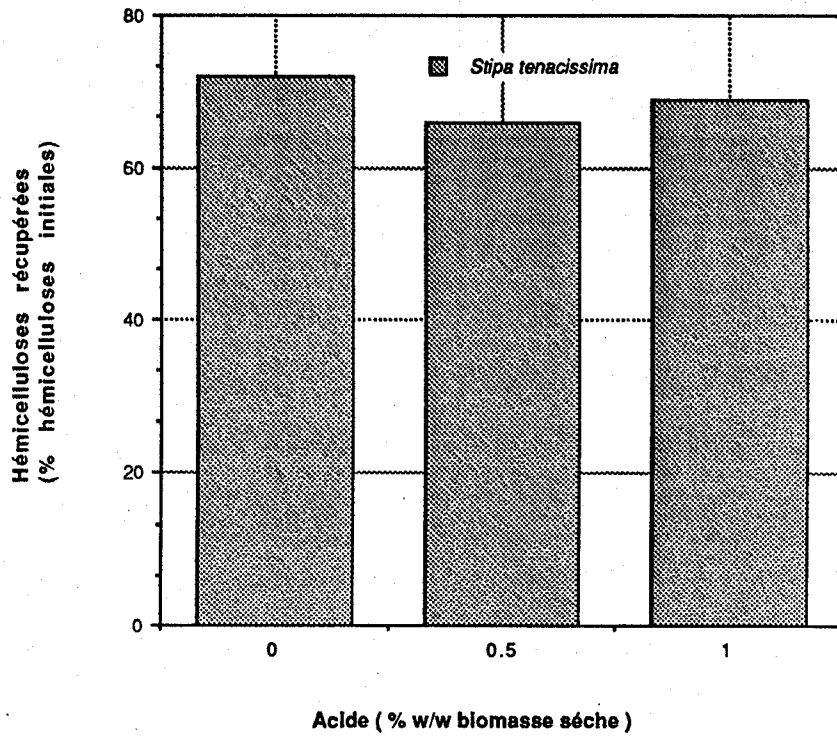


Figure 7. Rendement optimum en hémicelluloses - cas de *Stipa tenacissima*

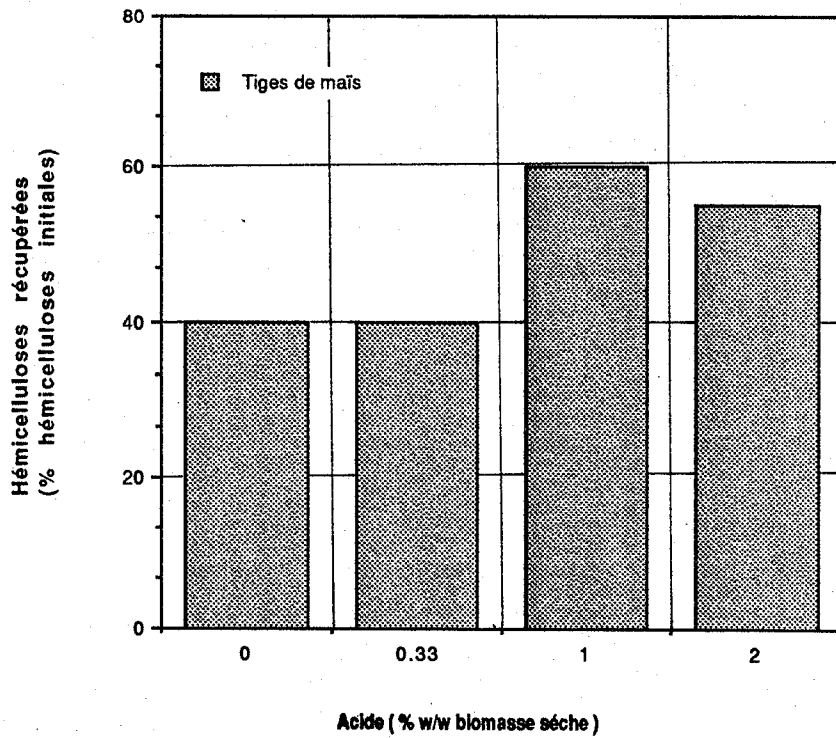


Figure 8. Rendement optimum en hémicelluloses - cas des tiges de maïs

la recondensation des carbohydrates sur la lignine formant une lignine apparente insoluble dans les acides forts.

La dégradation de ces mêmes sucres en furfural et ses dérivés n'a pas été détectée ni dans les filtrats ni dans les vapeurs condensées, ceci est dû à la faible concentration d'acide utilisée 0.00 à 2.00% poids/poids de biomasse sèche, correspondant à 0.0 à 0.2% poids/volume de la suspension et le temps de réaction relativement court, en conformité avec les résultats trouvés dans la littérature.

La perte des hémicelluloses au cours du prétraitement, aux conditions élevées de température, temps de résidence et la concentration d'acide serait vraisemblablement due à sa recondensation sur la lignine, car on a remarqué, que d'une manière générale, la lignine Klason augmentait avec les conditions sévères de traitement.

Cette perte serait aussi due aux nombreux produits volatils tels que les acides organiques, acétique entre autres et le méthanol, l'ethanol qui ne sont pas quantifiés dans cette présente étude.

A mesure que l'on augmente en sévérité de traitement, la présence des monomères et des oligomères devient plus prépondérante au détriment des polymères dans les filtrats, ce qui démontre la nature très complexe de la solubilisation de la biomasse où de très nombreuses réactions ont lieu, simultanément et/ou concurrentiellement.

Nous avons remarqué, que pour le cas des tiges de maïs, on peut récupérer environ 60% des hémicelluloses et ceci pour des conditions optimales de traitement se traduisant par la solubilisation de 80% du xylose potentiellement existant, représentant un maximum absolu, (voir tableaux des résultats, appendice A).

Pour le cas de *stipa tenacissima*, on peut récupérer environ 70% des hémicelluloses et ceci par auto-hydrolyse, sans incorporer un acide supplémentaire, dans les conditions optimales de traitement se traduisant par une solubilisation intégrale du xylose potentiellement existant dans la biomasse (voir tableaux des résultats, appendice A).

Ce même pourcentage de récupération peut être pratiquement obtenu en incorporant

0.5 % pondéral d'acide, en diminuant la température du prétraitement et/ou le temps de réaction.

L'incorporation d'environ la même quantité d'acide, pour le cas des tiges de maïs n'augmente pas substantiellement la solubilisation des hémicelluloses par rapport à l'autohydrolyse, voir les figures 7 et 8 .

Nous croyons que ces différences sont dûes fondamentalement à la structure même de ces matériaux lignocellulosiques, la manière comment les différentes entités chimiques sont liées entre elles, et la composition chimique propre à chacune d'elles, surtout le pourcentage des cendres qui pourrait avoir un rôle non négligeable.

En effet, il faut plus d'acide pour vaincre le pouvoir tampon des cendres sur le pH, durant l'hydrolyse. HARRIS et al. (1985) [95], ont fait mention de ce phénomène et l'appelèrent pouvoir neutralisant de la biomasse.

L'intégralité du xylose potentiel peut être mis en solution pour le cas de *Stipa tenacissima* alors que 80% du xylose l'est pour les tiges de maïs. Ceci peut être expliquer par la quasi-linéarité de la xylane de *Stipa tenacissima*, plus accessible à l'attaque des protons, alors que celle des tiges de maïs, branchée et substituée l'est moins .

Notons qu'en auto-hydrolyse, environ 1/3 de la lignine se trouve solubilisée. Ceci est spécifique au procédé UdeS-H, TORRES et al. (1986) [215].

Un autre fait à signaler, est la nécessité de travailler à court temps de résistance et hautes températures avec des acides très dilués contribuant ainsi à éviter des réactions de déshydratation des produits, FEATHER et HARRIS (1973) [67], HARRIS (1975) [94].

Dans la plupart des travaux faits dans la même optique, on utilise des temps de réactions plus long de 10 à > 100 min, et des températures 80 à 150°C, alors que dans notre cas, les temps se situent entre 0.7 et 4.5 min, et les températures entre 120 et 230 à 240°C, et le spectre de produits risquerait donc d'être différent en quantité et en qualité.

Dans le texte, on a toujours mis le mot conversion entre guillemets, cela est voulu, car la "conversion" est basée sur les produits solides restant sur les fibres de la biomasse et ceux

mis en solution recueillis après prétraitement, elle ne part pas de la quantité de biomasse mise en suspension initialement.

Dans les bilans, voir tableaux des résultats de prétraitements (appendice A), la quantité recueillie totale sur une base sèche:  $W_{g2\ sec} + W_{fc}$  comparée à  $W_0 \times PCT^1$  (qui est la vraie quantité de biomasse sèche introduite) sont différentes surtout quand la température est plus élevée.

Cette différence est due à deux raisons principales:

- Effet de dilution due à la vapeur condensée.
- Erreurs systématiques et expérimentales dues aux pertes engendrées lors des évaporations des résidus, où les produits volatils se trouvent perdus.

## **6 - Conclusion du chapitre :**

L'interprétation graphique des résultats expérimentaux en fonction des différents paramètres influant la solubilisation des hémicelluloses par prétraitement thermo-mécano-chimique est rendu difficile . Il est donc important de pouvoir trouver une représentation du profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction d'une coordonnée cinétique mesurant en "quelques sortes" la sévérité du procédé.

---

<sup>1</sup> PCT : Pourcentage des solides dans la suspension

## CHAPITRE 3

### COORDONNEES CINETIQUES - SEVERITE $R_0$

#### 1 - Introduction:

On a vu dans le chapitre précédent, qu'il est difficile de décrire le processus global de solubilisation des hémicelluloses par prétraitement thermo-mécano-chimique en phase aqueuse graphiquement à l'aide d'une coordonnée réactionnelle à cause de l'effet simultané de plusieurs paramètres ou variables.

Dans des procédés où des myriades de réactions peuvent avoir lieu, il est souvent utile et plus simple de décrire le processus global par une seule coordonnée cinétique qui mesure leur sévérité.

Cette coordonnée cinétique permet de comparer et de situer le résultat global du procédé, pour différentes conditions de température et du temps.

Ainsi, par exemple dans l'industrie de transformation du charbon, et des bitûmes, on utilise le facteur  $R_S$  qui permet d'avoir un ordre de grandeur sur la sévérité du procédé WHITEHURST (1986) [234].

$$R_S = \int_0^{t_r} t \exp(-E/R_f(t)) dt \quad [6]$$

où  $f(t) = T(t)$

Dans les procédés de pâtes et papier, on utilise souvent le facteur  $H$ , qui combine la température au temps de cuisson, VROOM (1957) [228].

Le développement de ce facteur H est basé sur le fait que la réaction est considérée d'ordre 1 et qu'arbitrairement, la constante de vitesse relative est l'unité à  $T = 100^{\circ}\text{C}$ .

Cette constante relative du taux,  $k_T$  suit la relation d'ARHENIUS

$$\ln k_T = B - \frac{A}{T} \quad [7]$$

A  $T = 100^{\circ}\text{C}$  ,  $k_T = 1$

$$\text{et } 0 = B - 16113/373$$

ce qui donne  $B = 43.2$ .

et  $k_T$  à une autre température est donnée par:

$$k_T = \exp(43.2 - 16113/T).$$

Pour n'importe quel cycle de cuisson, on peut avoir  $k_T$  vs temps et l'aire sous la courbe obtenue mesure la sévérité du procédé désignée par le facteur H.

BRASCH et FREE (1964) [25], développèrent un autre facteur similaire au facteur H, en supposant que la réaction mise en jeu double pour une augmentation de température de  $10^{\circ}\text{C}$ .

Ces deux auteurs supposent aussi que  $k_{\text{relatif}}$  est l'unité pour une température de base arbitraire de  $100^{\circ}\text{C}$ .

$$P_T = \exp \frac{(T_r - 100)}{14.75} \quad [8]$$

et

$$P = P_{T \cdot t} = \exp \left( \frac{T_r - 100}{14.75} \right) \times t \quad [9]$$

où :  $T_r$  : température de réaction

$P_T$ : facteur de BRASH et FREE

et le facteur P exprime la sévérité du traitement.

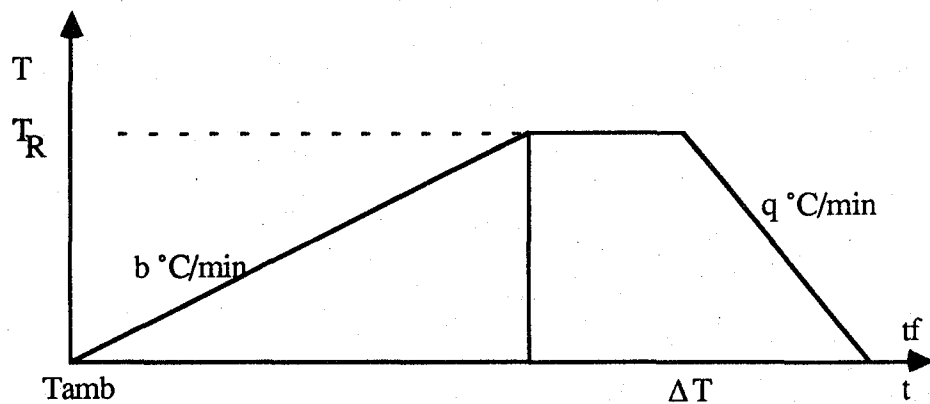
## 2 - Définition du facteur de sévérité $R_0$ :

OVEREND et CHORNET (1988) [148] sont partis du facteur  $P_T$  de BRASH et FREE (1964) [24] et l'appliquent pour un cas de réaction non isothermique.

C'est exactement le même principe que le facteur P.

$$R_0 = \int_0^t P_T dt \quad [10]$$

Pour des expériences faites en autoclave, il est possible d'avoir un tel profil de température avec le temps



$$R_0 = \int_0^{t_f} \exp\left(\frac{T(t) - 100}{14.75}\right) dt \quad [11]$$

Pour le cas d'un procédé isothermique où la température est constante durant la durée de la réaction :

$$T \neq T(t)$$

alors ,

$$R_0 = \int_0^{t_f} \exp\left(\frac{T(t) - 100}{14.75}\right) dt = \exp\left(\frac{T - 100}{14.75}\right) \int_0^{t_f} dt \quad [12]$$

et

Comme  $t_f$  représente le temps de réaction dans un procédé isothermique alors :

$$R_0 = \exp\left(\frac{T - 100}{14.75}\right)t \quad [13]$$

### 3 - Application du facteur $R_0$ à nos résultats:

Les expériences de prétraitement de *Stipa tenacissima* et les tiges de maïs , réalisées dans le procédé UdeS-H , ont été conduites d'une façon isothermique , si on néglige la phase d'élévation de la température relativement très courte , où on atteint la température désirée très rapidement.

Ainsi , en combinant l'effet de la température et du temps pour une concentration d'acide donnée , on peut obtenir un profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $R_0$  , comme le montre les figures 10 et 12 .

On met en évidence clairement l'effet de la concentration d'acide sur la solubilisation des hémicelluloses.

Le même effet est remarquablement mis en relief pour le cas des hémicelluloses récupérées , voir figures 9 et 11 . Celles - ci représentent les hémicelluloses quantifiées par chromatographie en phase gazeuse sur les filtrats obtenus.

D'après la figure 11 , on récupère le maximum des hémicelluloses ( 70 % ) , pour une sévérité de traitement exprimée en termes de  $R_0$  un peu plus supérieure à  $10^7$  min , dans les conditions d'auto-hydrolyse ( sans apport d'acide ) , pour le cas de *Stipa tenacissima*.

Pour le cas des tiges de maïs , les figures 9 et 10 montrent les mêmes profils de



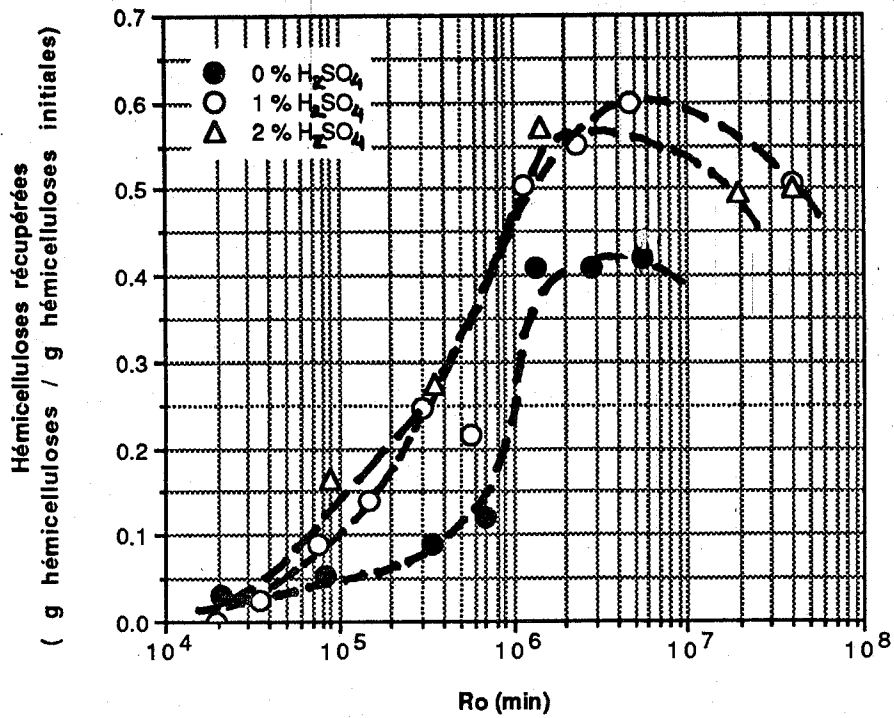


Figure 9. Hémicelluloses récupérées en fonction de  $R_o$ , cas des tiges de maïs

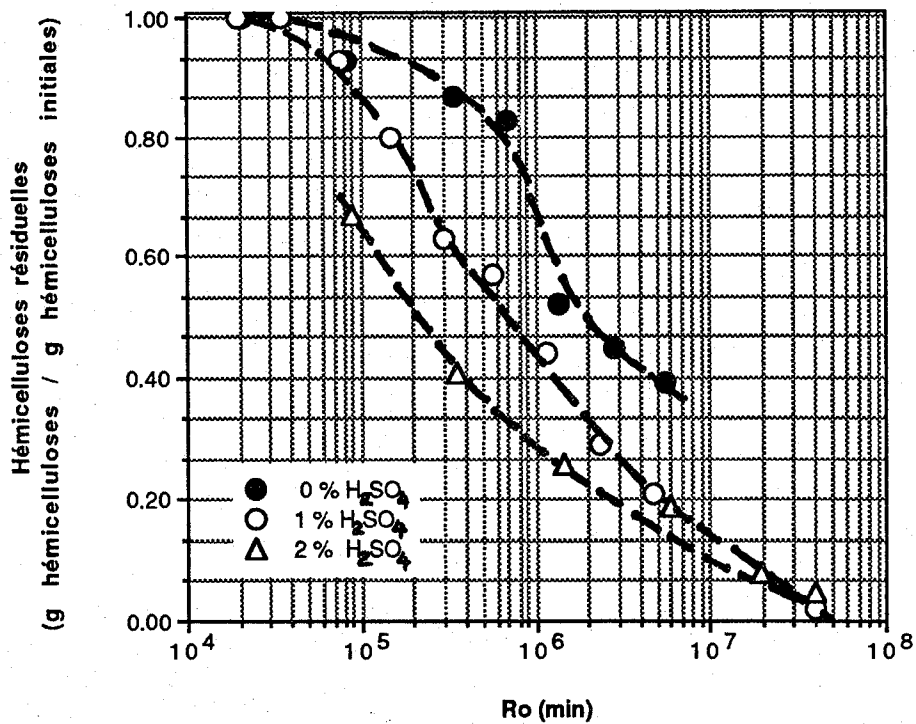


Figure 10. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $R_o$ , cas des tiges de maïs

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main. Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques.

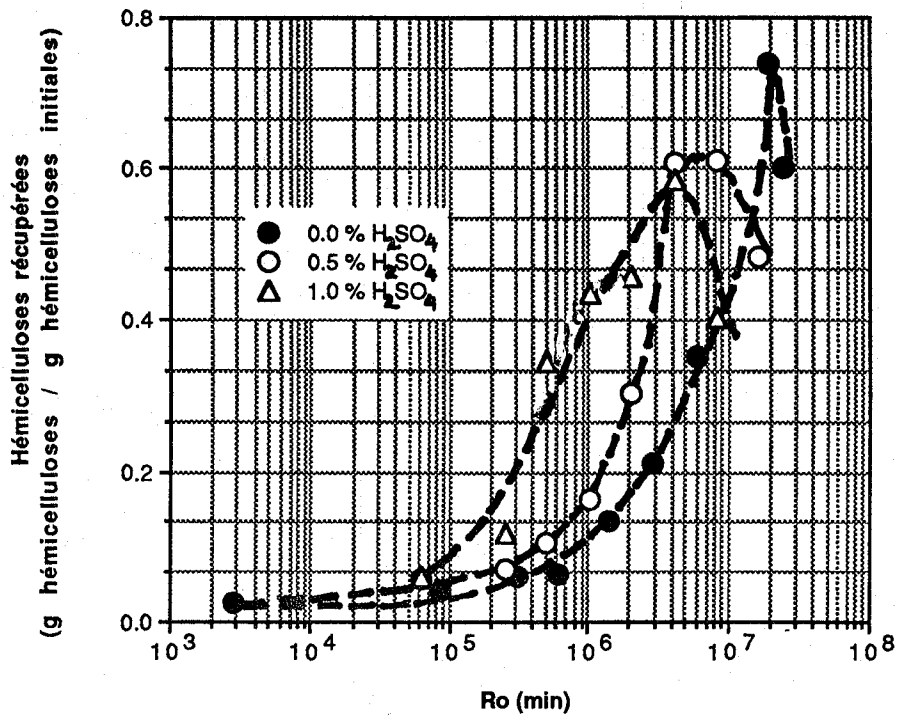


Figure 11. Hémicelluloses récupérées en fonction de Ro, cas de *Stipa tenacissima*

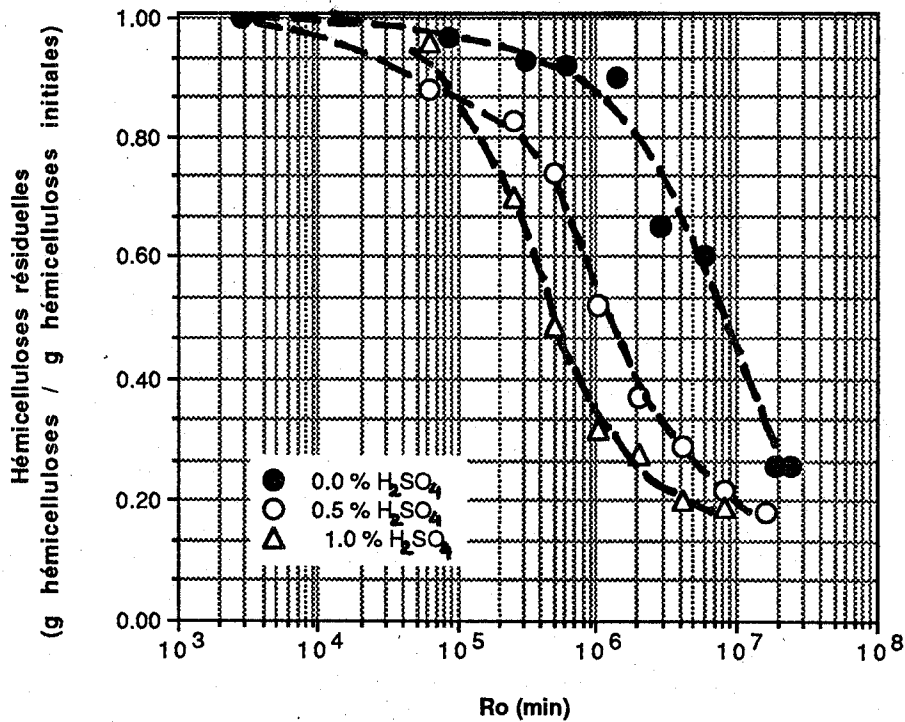


Figure 12. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de Ro, cas de *Stipa tenacissima*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main. Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques.

solubilisation que dans le cas de *Stipa tenacissima*.

En termes de récupération des hémicelluloses , on obtient un rendement maximal de 60 % et ceci pour  $R_O > 10^7$  min et 1 % d'acide , pour le cas des tiges de maïs .

#### **4 - Application du facteur $R_O$ aux résultats trouvés dans la littérature:**

Pour vérifier si l'effet de la concentration d'acide sur la solubilisation des hémicelluloses peut être mis en relief avec le concept de sévérité  $R_O$  sur d'autres biomasses , on a utilisé les résultats trouvés dans la littérature traitant de la solubilisation des hémicelluloses pour quelques bois et d'autres graminées dont les conditions de traitement sont répertoriées dans le tableau 12.

Les figures 13 à 18, montrent effectivement le même effet observé sur nos résultats.

#### **5 - Conclusions du chapitre:**

Le concept de ce facteur est utile et il permet de donner une valeur intuitive pour la compréhension des procédés et leur déroulement.

Ainsi, on peut, peut être s'attendre aux mêmes effets quantitatifs en termes de rendement ou conversion suivant le fait qu'on travaille avec des temps longs et températures basses ou bien avec des temps courts et températures élevées.

Dans notre approche de fractionnement, l'utilisation de catalyseurs comme les acides est fréquente . Ces derniers influent , comme on l'a montré , sur le profil de solubilisation des hémicelluloses.

On se pose la question suivante : " existe - t - il une manière comment inclure la concentration d'acide dans le concept de facteur  $R_O$  afin d'unifier l'effet de la température , du temps et de la concentration d'acide en une seule coordonnée représentant la sévérité du procédé ? " , c'est ce qu'on traitera dans le chapitre suivant.

| Biomasse                          | Réacteurs                           | Température (°C) | Temps (min) | Acide (% poids/volume) H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | % Hémicelluloses résiduelles | Références                   |
|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------|-------------|---|------------------------------|------------------------------|
| <i>Populus tremuloïdes michx.</i> | Réacteur batch fermé                | 100 - 150        | 0 - 10      | 0.5 - 2.0   | 100 → 4 <sup>1</sup>         | SPRINGER et al. (1963) [203] |
| Tiges de blé                      | CSTR 1 l                            | 95 - 160         | 0 - 500     | 0.5   | 100 → 9 <sup>1</sup>         | GROHMANN et al. (1985) [90]  |
| Tremble                           | CSTR 1 l                            | 95 - 160         | 0 - 2735    | 0.5   | 100 → < 5 <sup>1</sup>       | GROHMANN et al. (1985) [90]  |
| <i>Pinus radiata</i>              | Digesteur rotatif 1.5l              | 140 - 180        | 10 - 240    | -   | 84 → 25 <sup>2</sup>         | BRASH et FREE (1964) [25]    |
| <i>Betula papyrifera</i>          | Réacteur tube fermé quasi-isotherme | 100 - 150        | 0 - 1000    | 0.4 - 1.8   | 100 → ≈ 0 <sup>1</sup>       | MALONEY et al. (1984) [129]  |
| Chêne rouge                       | Réacteur isotherme fermé            | 170 - 190        | 0 - 20      | 0.4 - 0.8   | 100 → 5.5 <sup>3</sup>       | HARRIS et al. (1985) [95]    |

Tableau 12. Conditions opératoires pour la solubilisation des hémicelluloses

- <sup>1</sup> % Xylanes  
<sup>2</sup> % Pentosanes  
<sup>3</sup> % Xylanes et Mannanes

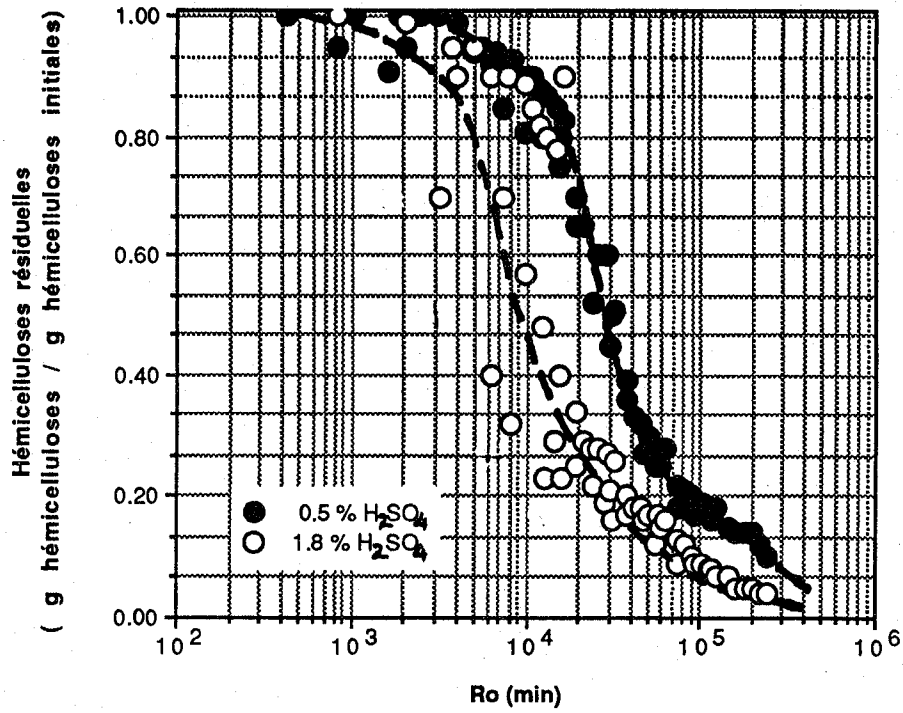


Figure 13. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $R_o$ , cas de *Populus tremuloïdes*.

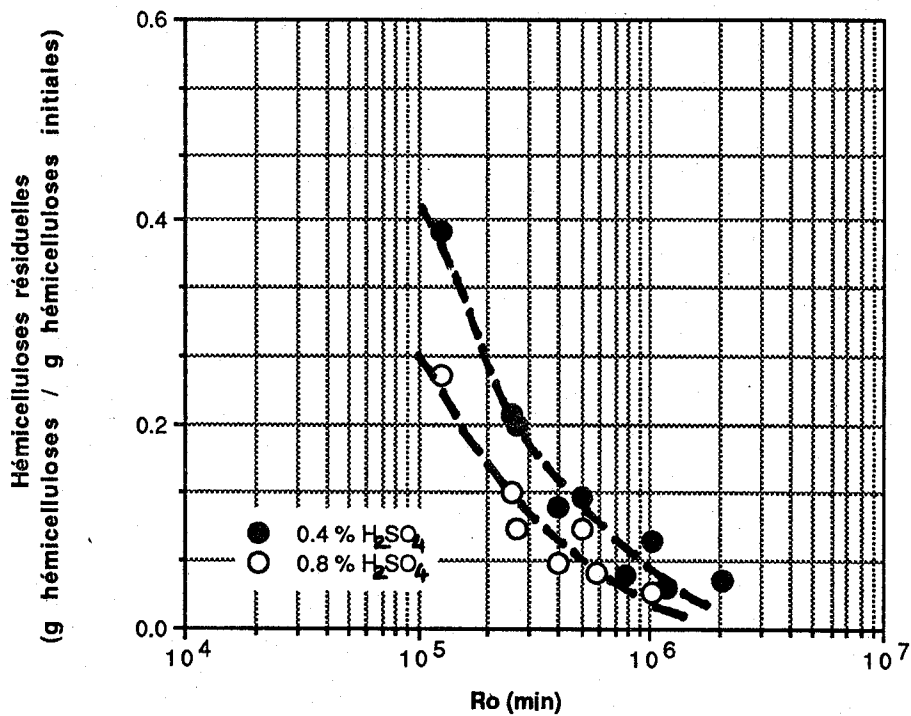


Figure 14. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $R_o$ , cas du chêne rouge.

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main. Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques.

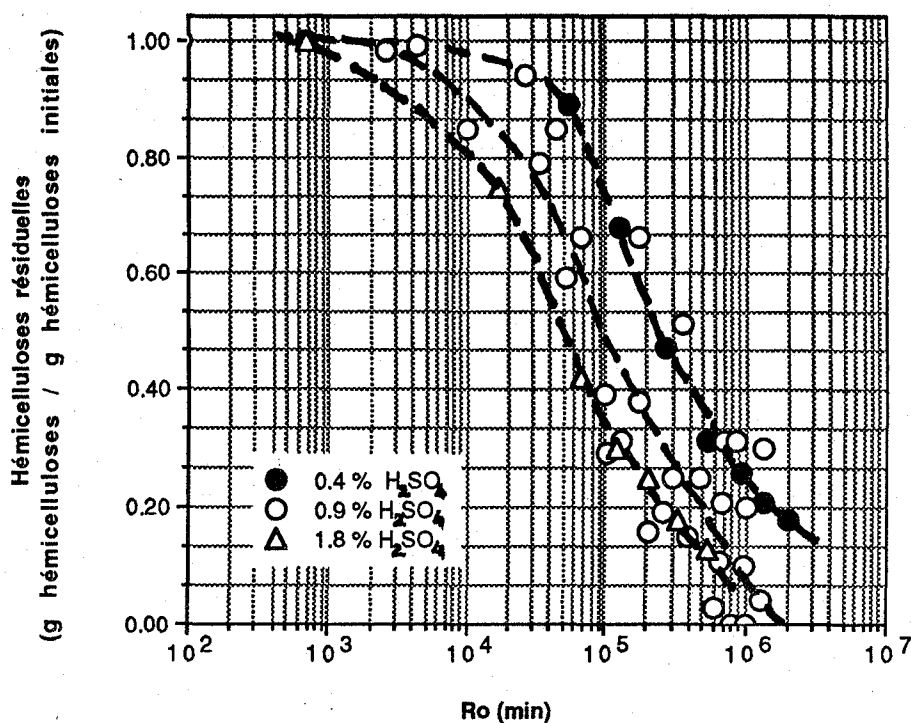


Figure 15. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $R_o$ , cas de *Betula papyrifera*

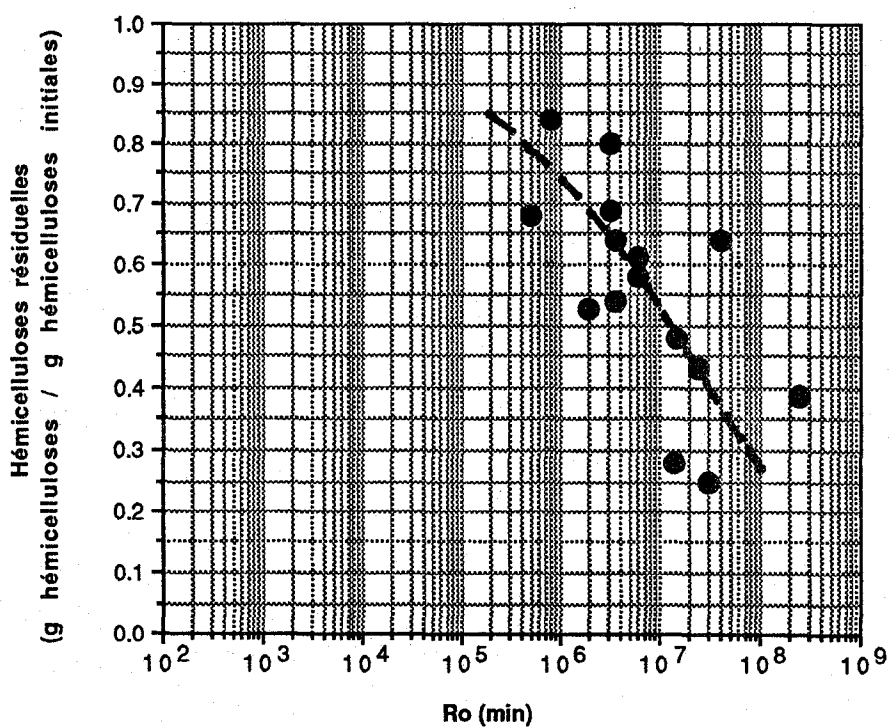


Figure 16. Profil de solubilisation de hémicelluloses en fonction de  $R_o$ , cas de *Pinus radiata*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main. Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques.

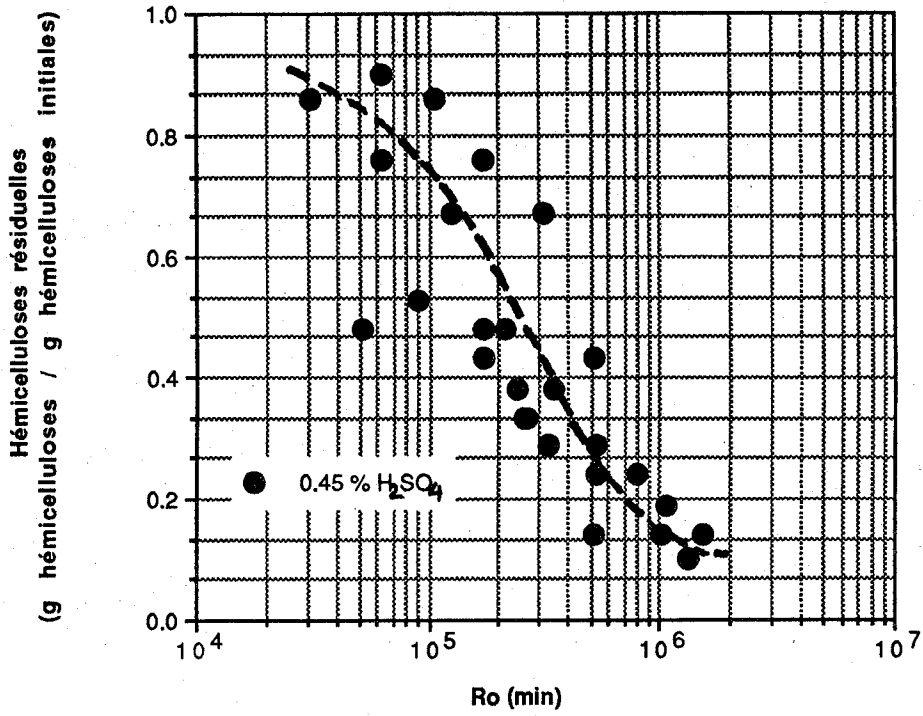


Figure 17. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de Ro , cas des tiges de blé

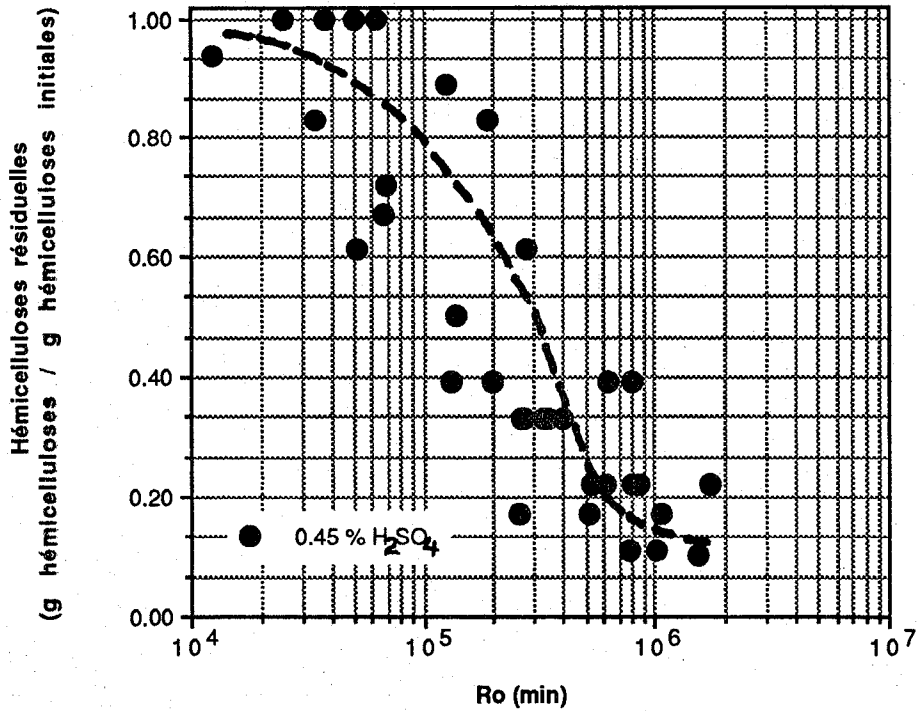


Figure 18. Profil de solubilisation des hémicelluloses en fonction de Ro , cas du tremble

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

## CHAPITRE 4

### SEVERITE DU PROCÉDE LIEE A L'EFFET CATALYTIQUE DE L'ACIDE

#### 1 - Introduction:

Dans le chapitre précédent , on s'est posé la question s'il existe une manière de faire inclure l'effet de la concentration d'acide en combinaison avec le facteur  $R_O$  , ceci afin d'unifier l'action simultanée des variables telles que le temps de réaction , la température de réaction et la concentration d'acide et décrire ainsi la sévérité du prétraitement.

Récemment , CHUM et al. (1989) [34] , avaient défini et proposé un facteur tenant compte de l'effet catalytique de l'acide dans leurs travaux sur la délignification des matériaux lignocellulosiques par des solvants organiques acidifiés, afin de corrélérer leurs résultats.

Ce facteur est défini comme suit:

$$\log (R_{\omega}(\text{corr})) - \text{pH} \quad [14]$$

où :

$$\log (R_{\omega}(\text{corr})) = \log (R_{\omega}) - \frac{1}{2.3} \left[ \frac{(T_r - 2T_f + \frac{T_f^2}{T_r})}{\omega} \right]$$

$$R_{\omega} = \exp \left( \frac{T_r - T_b}{\omega} \right) \Delta t$$

$$\omega = \frac{RT_f^2}{E}$$

$T_b = 373 \text{ K}$  et  $T_f$  est une température choisie comme une moyenne des



températures normalement utilisées expérimentalement.

Partant de l'hypothèse que le processus suit une pseudo-cinétique d'ordre 1, ils ont défini une corrélation linéaire de la forme :

$$\ln(-\ln(1 - \text{conversion})) = A[\log(R_{\omega}(\text{corr})) - \text{pH}] + B$$

et ont appliqué cette dernière relation à quelques résultats expérimentaux sur le prétraitement acide de *Populus tremuloïdes*.

## 2 - Sévérité du prétraitement $R_0'$ :

Dans un même souci de considération de l'effet simultané des variables:

- température
- temps
- concentration d'acide

on a défini une autre approche similaire à celle de CHUM et al., afin d'établir le facteur de sévérité qui pourrait corréler nos résultats expérimentaux et ceux des autres recherches.

Cette approche est basée sur les considérations suivantes:

- la réaction globale observée au cours du prétraitement des biomasses est inconnue du point de vue des mécanismes réactionnels.

- suivant le polymère auquel on s'intéresse (hémicellulose, cellulose, lignine) à solubiliser, si  $C$  représente la concentration du polymère qui est retenu aux fibres solides de la biomasse à un temps de réaction  $t$  et la température de réaction  $T$ , on a:

$$-\frac{dC}{dt} = k \cdot C_A^m \cdot \Phi(C) \quad [15]$$

- la constante  $k$  de la vitesse de réaction est représentée par une relation de type ARHENIUS telle que:

$$k = k_0 \exp(-E/RT). \quad [16]$$

$$\text{Définissons } f(C_A, T) = k C_A^m = k_0 C_A^m \exp\left(\frac{-E}{RT}\right). \quad [17]$$

Linéarisons cette expression:

$$\ln f(C_A, T) = g(C_A, T) = \ln k_0 + m \ln C_A - \frac{E}{RT}. \quad [18]$$

Si on fait le développement en série de Taylor de [18], on obtient, autour du point  $(T_0, C_{A_0})$ :

$$g(C_A, T) \approx g(C_{A_0}, T_0) + \left. \frac{\partial g}{\partial C_A} \right|_{C_{A_0}} (C_A - C_{A_0}) + \left. \frac{\partial g}{\partial T} \right|_{T_0} (T - T_0) \quad [19]$$

On s'arrête au 1er ordre de l'expansion, approximant ainsi  $g(C_A, T)$ .

$$g(C_A, T) \approx \ln k_0 + m \ln C_{A_0} - \frac{E}{RT} + \frac{m}{C_{A_0}} (C_A - C_{A_0}) + \frac{E}{RT_0^2} (T - T_0) \quad [20]$$

Donc en posant  $\ln k_0 + m \ln C_{A_0} - \frac{E}{RT_0} = \text{constante}$

$$\ln(k C_A^m) = g(C_A, T) \approx \text{constante} - m + \frac{C_A}{C_{A_0}} \times m + \frac{E}{RT_0^2} (T - T_0)$$

$$\text{et } k C_A^m \approx K \times \exp\left(\frac{C_A}{C_{A_0}} \times m\right) \exp\left(\frac{E}{RT_0^2} (T - T_0)\right) \quad [21]$$

où  $K = \exp(\text{constante} - m)$ .

Posons  $\frac{E}{RT_0^2} = \frac{1}{\omega}$  alors:

$$-\frac{dC}{\Phi(C)} = k C_A^m dt \approx K \exp\left(\frac{C_A}{C_{A_0}} m\right) \exp\left[\frac{1}{\omega}(T - T_0)\right] dt$$

$$\int \frac{-dc}{\Phi(C)} + \text{constante} \approx K \exp\left(\frac{C_A}{C_{A_0}} m\right) \exp\left(\frac{T - T_0}{\omega}\right) \times t \quad [22]$$

et  $\exp\left(\frac{T - T_0}{\omega}\right)t$  s'apparente au facteur  $R_0$ .

Et finalement, on arrive à l'expression de la sévérité combinant l'effet de la température, l'effet du temps de réaction et l'acidité combinés sous la forme:

$$R'_0 = \exp\left(\frac{C_A}{C_{A_0}} \times m\right) R_0 \quad [23]$$

$$\text{et } \int \frac{dC}{\Phi(C)} \approx -K' R'_0 + \text{constante.} \quad [24]$$

Et ceci n'est évidemment valide qu'autour du point de référence  $T_0, C_{A_0}$ .

On définit donc un outil qui permet d'aller suivre un processus complexe quant à son évolution relative à trois variables:

- température
- temps
- concentration d'acide.

Cette expression est empirique, on ne lui attribue aucune interprétation relative aux réactions chimiques qui se déroulent au cours du processus de prétraitement.

### 3 - Application du facteur de sévérité $R_0'$ au profil de solubilisation des hémicelluloses

Ce concept de facteur de sévérité  $R_0'$  est appliqué sur nos résultats obtenus sur les tiges de maïs et sur *Stipa tenacissima*, ainsi que d'autres résultats trouvés dans la littérature traitant de la solubilisation des hémicelluloses des bois et graminées, dont les conditions de prétraitements utilisés sont répertoriées dans le tableau 12.

La définition du point de référence autour duquel on a fait le développement de Taylor est relié à un état tel que toutes les biomasses présenteraient un même comportement vis à vis du prétraitement et celui-ci correspondrait aux conditions où "il ne se passe rien".

Comme les biomasses possèdent à peu de choses près la même concentration en acides organiques qui sous les conditions d'autohydrolyse donnerais un pH entre 5-6 qui correspond à une acidité de 0.01% w/v exprimée en  $H_2SO_4$ , et que d'après le tableau 12, une température inférieure à 70°C ne favorise aucune hydrolyse.

Donc comme hypothèses, on considère que

- $C_{A0} = 0.01\%$
- $T_0 < 70^\circ C$ .

Comme l'énergie d'activation de la réaction globale de solubilisation des hémicelluloses se situe entre 16 et 42 Kcal/mole, KIM et LEE (1987) [112], la moyenne sur 10 biomasses différentes donne une énergie de 30 Kcal/mole.

Ceci nous permet donc de définir le facteur de sévérité

$$R'_0 = \exp\left(\frac{C_A}{0.01} \times m\right) \times R_0 \quad [25]$$

avec  $R_0 = \exp\left(\frac{T - 67}{7.800}\right) \times t$  exprimé en unités de temps, et ceci pour le cas de la

solubilisation des hémicelluloses.

Le paramètre  $m$  est un facteur de pondération qui reflèterait l'action et l'importance

de l'acide en termes d'accessibilité à la réaction globale.

La représentation graphique de la portion des hémicelluloses qui reste attachées aux fibres en fonction de  $\log(R_0')$  donne pour chaque biomasse un profil sigmoïdal où tous les points se ramassent sur une sigmoïde et ceci quelque soit les conditions de prétraitement utilisées, voir figures 19 à 26.

On a constaté que les points se ramassent en sigmoïde pour la valeur  $m = 0.2$  et ceci pour toutes les biomasses utilisées, sauf pour le cas du chêne rouge et *Betula papyrifera* où  $m = 0.02$ , voir figure 27 .

Il en est de même pour la représentation graphique : portion des hémicelluloses récupérées en fonction de  $\log(R_0')$ , donne pour nos biomasses un profil en forme de "cloche" où les rendements passent par un maximum avant de diminuer en fonction de la sévérité du prétraitement, voir figures 28 et 29 .

Le rendement maximal de récupération des hémicelluloses se situent aux alentours de  $\log(R_0') = 9.7$  correspondant à  $\simeq 60\%$  de solubilisation des hémicelluloses pour le cas des tiges de maïs, tandis que pour le cas de *Stipa tenacissima*, ce maximum se situe à  $\log(R_0') = 9.7$  correspondant à  $\simeq 70\%$  de solubilisation des hémicelluloses.

Cette approche du facteur de sévérité met en évidence un point important et clair: l'unification des résultats expérimentaux et ce à peu de choses près pour différentes biomasses traitées dans différentes conditions et dans différents laboratoires.

Ceci nous a amené à penser à une possible existence d'un effet de compensation entre le facteur enthalpique et le facteur entropique pour ces procédés de prétraitements et de solubilisation des hémicelluloses, ce qui fait introduire une autre façon de développer le facteur de sévérité.

#### **4 - Sévérité du prétraitement via l'existence d'un "effet de compensation" et d'une "température isocinétique".**

##### **4-1 Elaboration:**

D'une manière générale la constante du taux réactionnel pour une réaction donnée

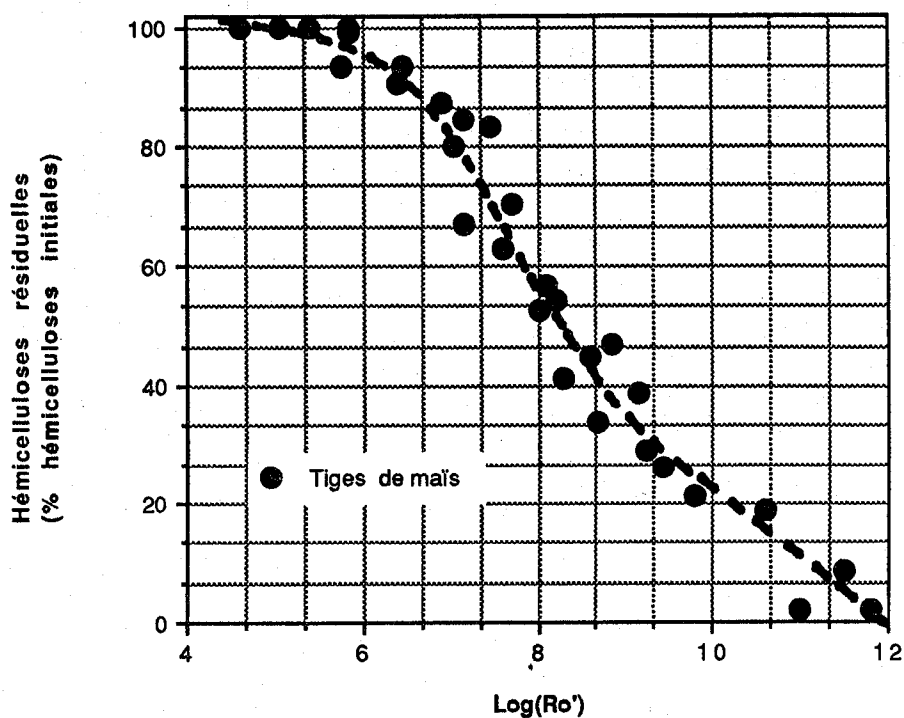


Figure 19. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$  , cas des tiges de maïs

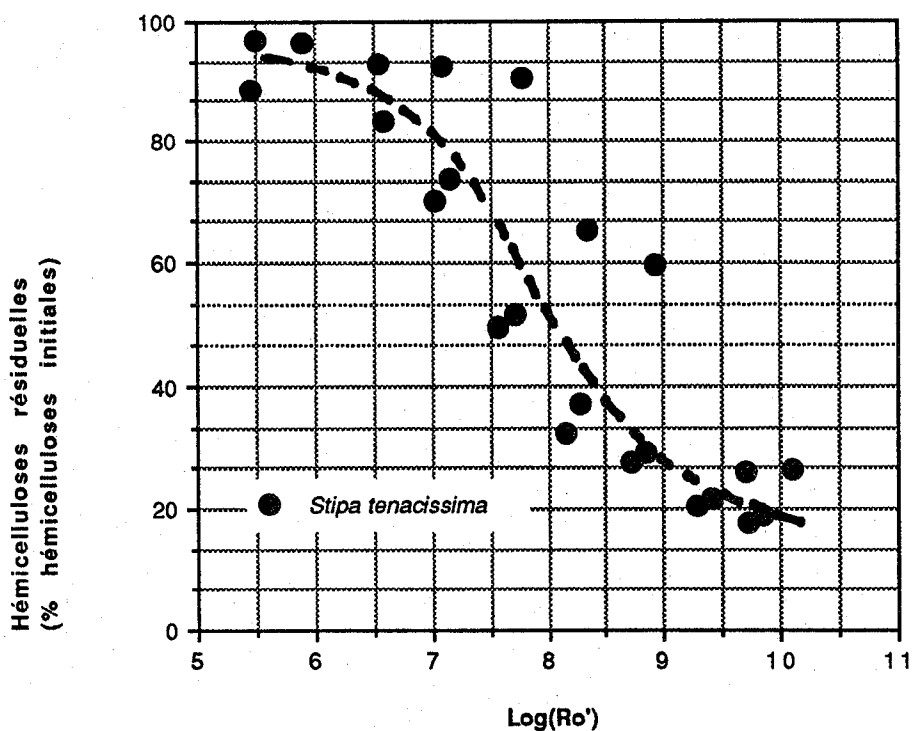


Figure 20. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$  , cas de *Stipa tenacissima*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

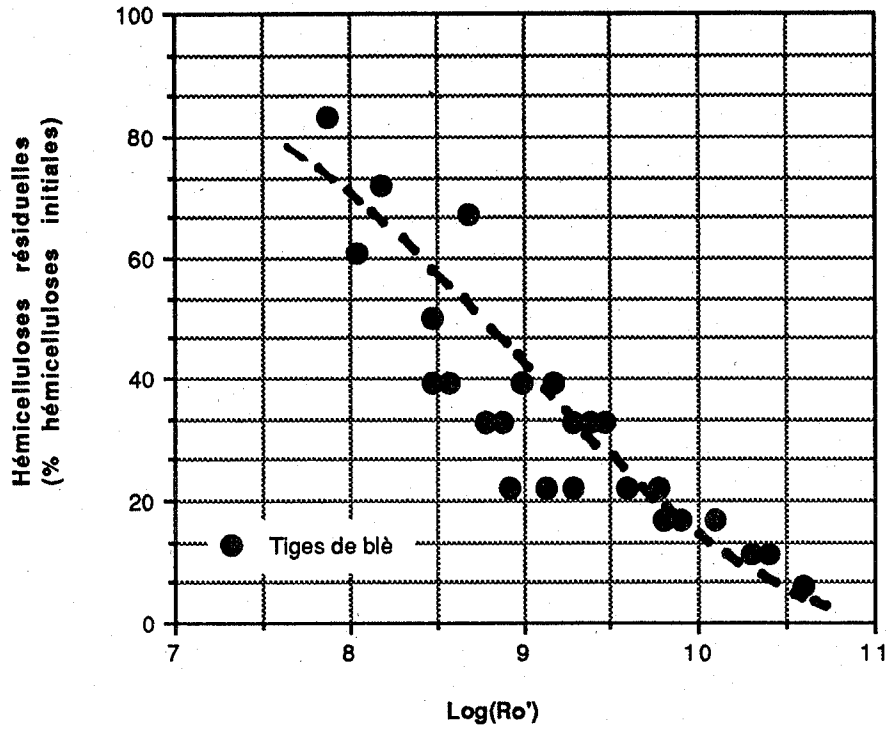


Figure 21. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$ , cas des tiges de blé

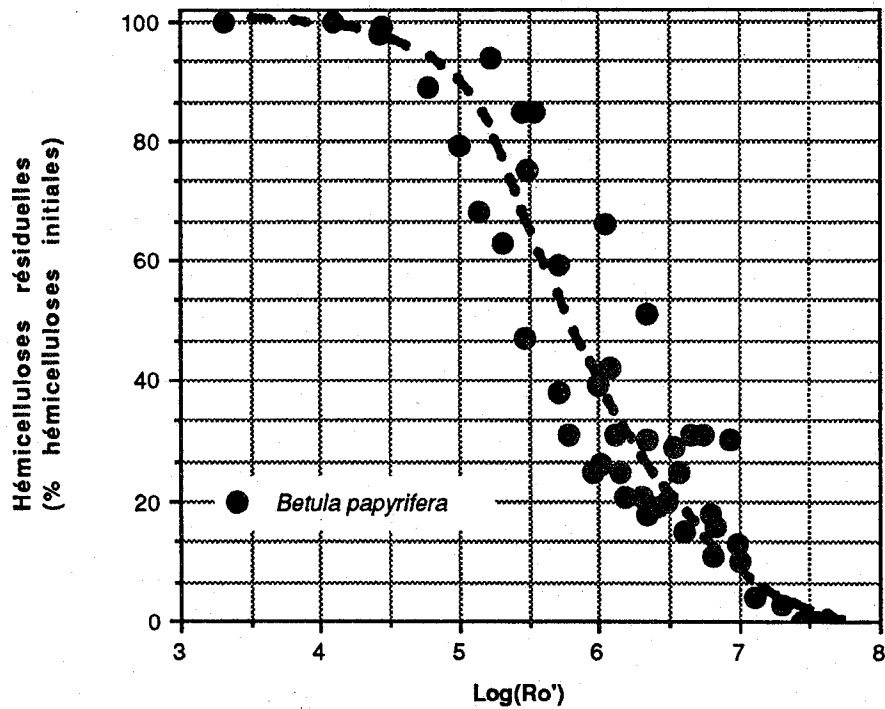


Figure 22. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$ , cas de *Betula papyrifera*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

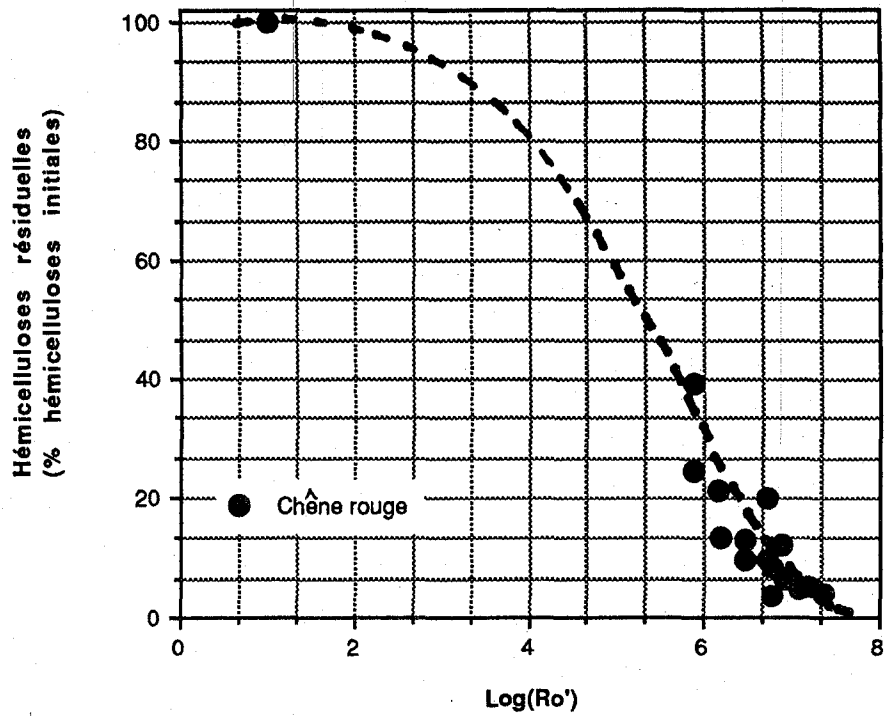


Figure 23. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$  , cas du chêne rouge

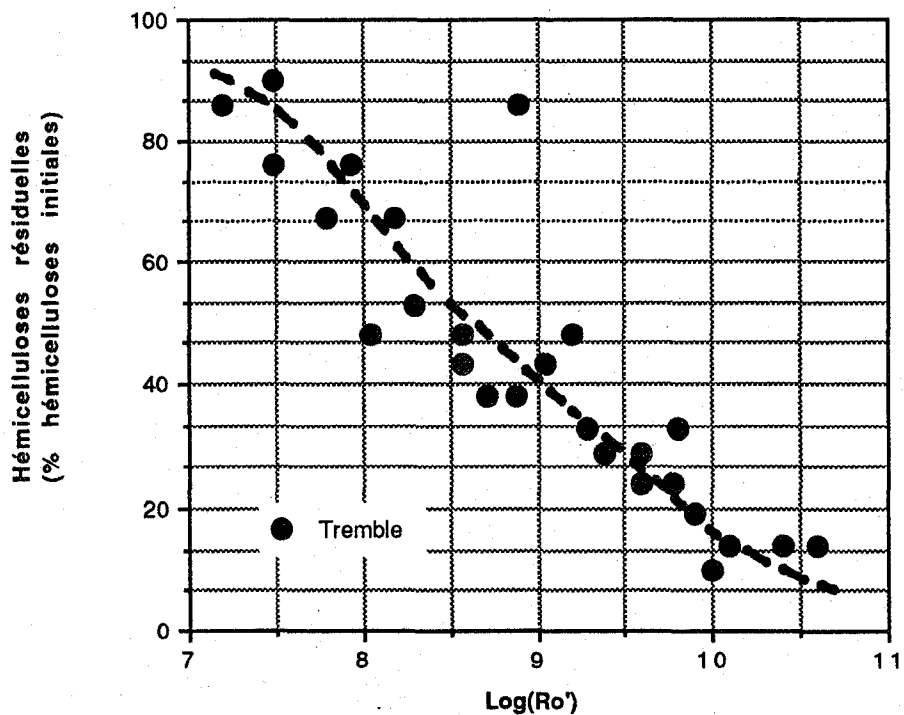


Figure 24. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$  , cas du tremble

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .



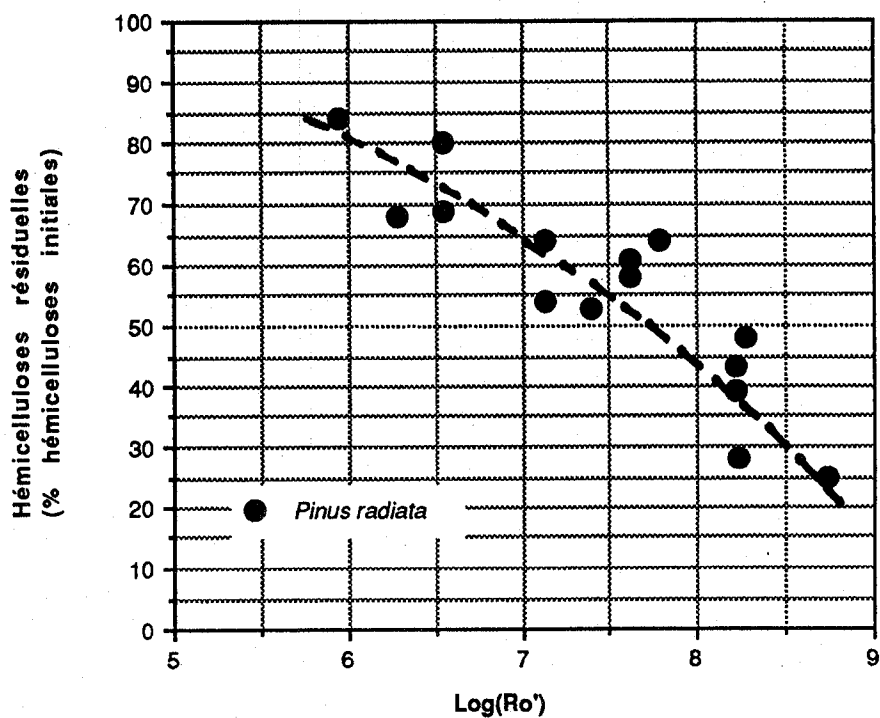


Figure 25. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$ , cas de *Pinus radiata*

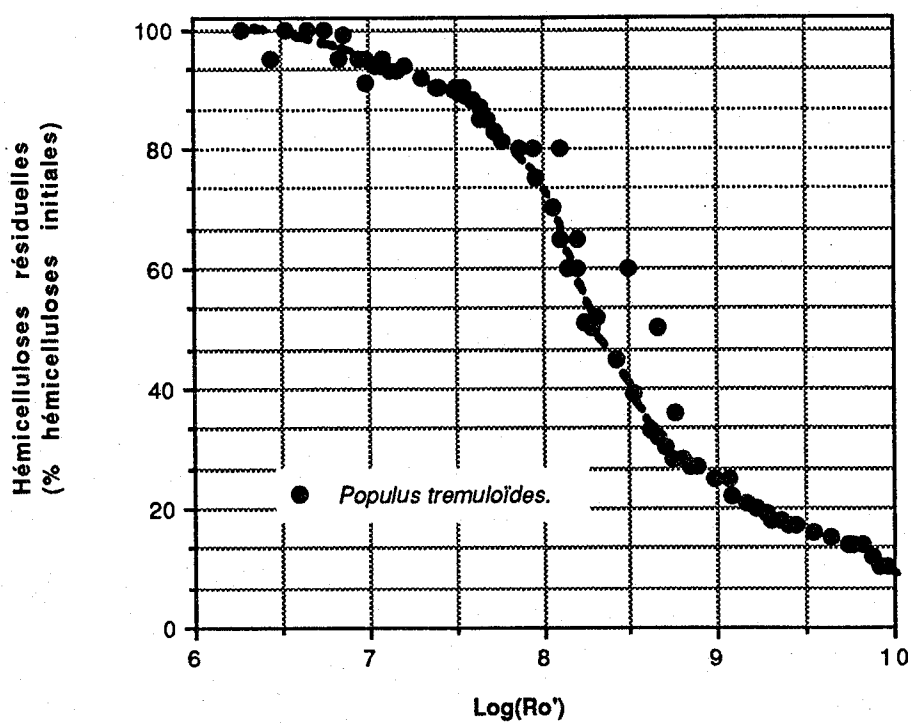


Figure 26. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$ , cas du *Populus tremuloïdes*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

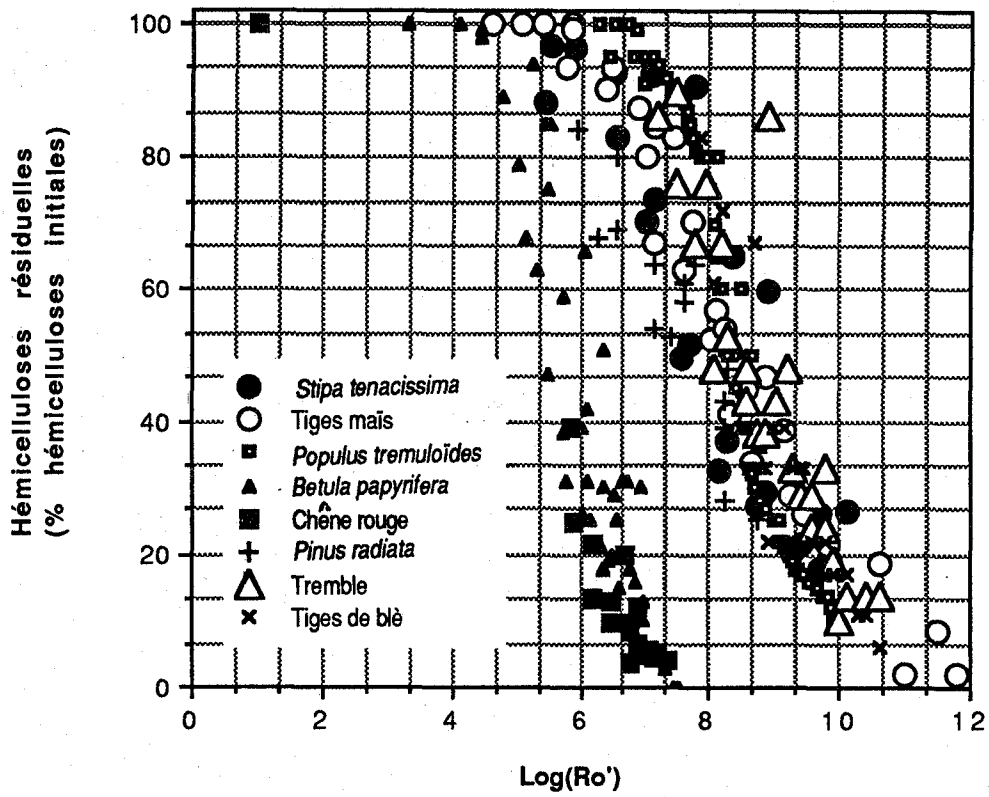


Figure 27. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Ro')$ , cas de toutes les biomasses ensemble

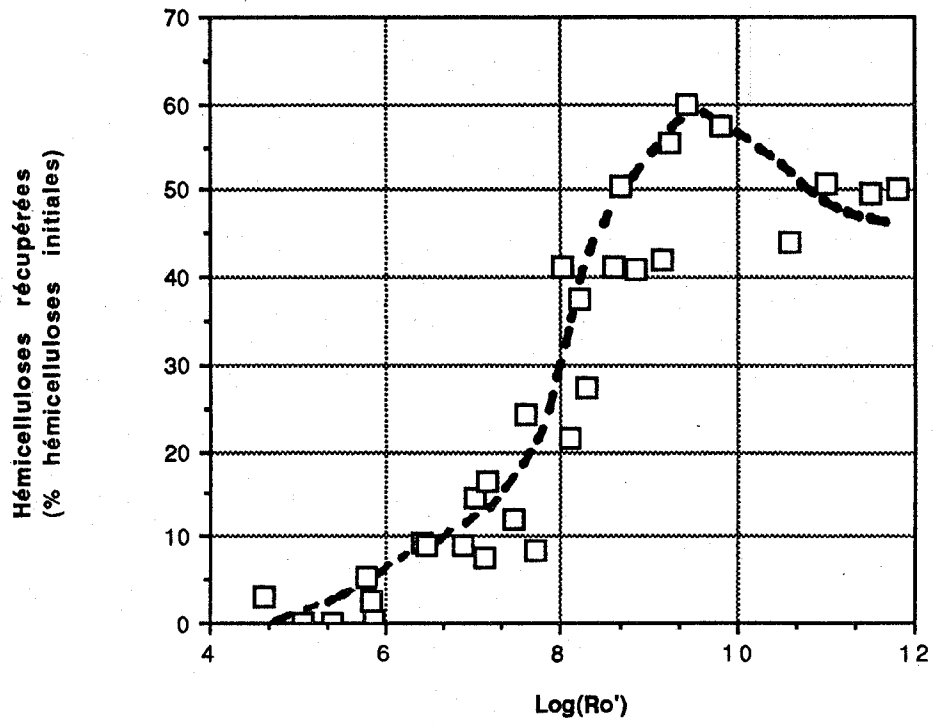


Figure 28. Hémicelluloses récupérées en fonction de  $\log(Ro')$ , cas des tiges de maïs

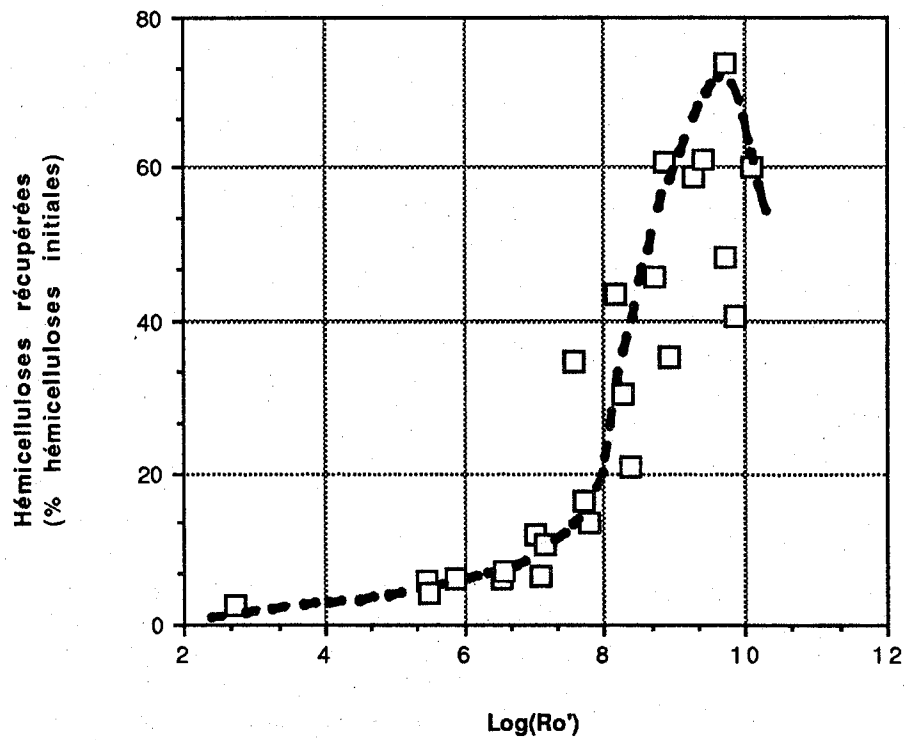


Figure 29. Hémicelluloses récupérées en fonction de  $\log(Ro')$ , cas de *Stipa tenacissima*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

est décrite par la relation d'ARHENIUS

$$k = k_0 \exp(-E/RT) \quad [26]$$

*Hypothèse 1:* En phase hétérogène, des réactions de même type présentent ce comportement: GALWEY (1977) [78]

$$\ln k_0 = B + eE \quad [27]$$

*Hypothèse 2:* Existence d'une "température isocinétique" à laquelle la constante du taux réactionnel  $k$  est la même et ceci pour le même type de réaction, GALWEY (1977) [78].

$$E = R \cdot T_{iso} \times \ln k_0 - B/e \quad [28]$$

de telle manière que  $E = 0$  quand  $\ln k_0 = B$

$$0 = R \cdot T_{iso} - B/e, \text{ si } B \neq 0, \text{ alors}$$

$$R \cdot T_{iso} = \frac{1}{e}$$

d'où

$$e = \frac{1}{R \cdot T_{iso}} \quad [29]$$

et finalement "l'effet de compensation" sera représenté par la relation:

$$\ln k_0 = B + \frac{E}{R \cdot T_{iso}}$$

$$\text{donc } k_0 = \exp(B) \times \exp\left(\frac{E}{R \cdot T_{iso}}\right)$$

et la relation d'ARHENIUS sera:

$$k = \exp(B) \times \left[ \frac{E}{R T_{iso}} \left( \frac{T - T_{iso}}{T} \right) \right] \quad [30]$$

De la même façon la vitesse de solubilisation du polymère est décrite par la relation:

$$\frac{-dC}{dt} = k C_{A_T}^n \times \Phi(C) \quad [31]$$

et le produit  $k C_{A_T}^m = \exp(B) \cdot \exp \left[ \frac{E}{R T_{iso}} \left( \frac{T - T_{iso}}{T} \right) \right] \times C_{A_T}^m$ .

D'une manière générale:

$$C_{A_T} = C_{A_0} + C_A \quad [32]$$

où  $C_{A_0}$  étant l'acidité qui est contenue potentiellement dans les biomasses et qui serait libérée par autohydrolyse et  $C_A$ , c'est l'acidité supplémentaire ajoutée s'il y a hydrolyse.

$$k C_{A_T}^m = \exp(B) \times \exp \left[ \frac{E}{R T_{iso}} \left( \frac{T - T_{iso}}{T} \right) \right] (C_{A_0} + C_A)^m \quad [33]$$

Multiplions par  $C_{A_0}^m$  et divisons par  $C_{A_0}^m$  la relation [33], ce qui donne:

$$k C_{A_T}^m = \exp(B) C_{A_0}^m \times \exp \left[ \frac{E}{R T_{iso}} \left( \frac{T - T_{iso}}{T} \right) \right] \times \left( \frac{C_{A_0} - C_A}{C_{A_0}} \right)^m \quad [34]$$

Remplaçons [34] dans l'équation [31]:

$$\frac{-dC}{dt} = \exp(B) \times C_{A_0}^m \times \left(\frac{C_{A_0} + C_A}{C_{A_0}}\right)^m \exp\left[\frac{E}{R T_{iso}} \times \left(\frac{T - T_{iso}}{T}\right)\right] \Phi(C)$$

$$- \int \frac{dC}{\Phi(C)} + \text{const} = \exp(B) C_{A_0}^m \left(\frac{C_{A_0} + C_A}{C_{A_0}}\right)^m \exp\left[\frac{E}{R T_{iso}} \times \left(\frac{T - T_{iso}}{T}\right)\right] t,$$

pour un procédé isotherme.

a) si  $T \times T_{iso} \approx T_{iso}^2$ , alors :

$$\exp\left[\frac{(T - T_{iso}) \times E}{T R T_{iso}}\right] t \approx \exp\left[\frac{T - T_{iso}}{\omega}\right] t \quad \text{où} \quad \omega = \frac{R T_{iso}^2}{E}$$

Ceci s'apparente à  $R_0$ , et on retombe sur la simplification introduite avec le développement de Taylor, fait précédemment, limitant ainsi la validité de l'emploi du précédent facteur de sévérité à une gamme limitée de température et concentration d'acide:

b) si  $T \times T_{iso} \neq T_{iso}^2$

On définit alors un nouveau facteur de sévérité basé sur l'existence d'un "effet de compensation" et d'une "température isocinétique",  $R_{oc}$  avec

$$R_{oc} = \left(\frac{C_{A_0} + C_A}{C_{A_0}}\right)^m \times \exp\left[\frac{E}{R T_{iso}} \times \left(\frac{T - T_{iso}}{T}\right)\right] \times t \quad [35]$$

### 5 - Application du facteur $R_{oc}$ pour la solubilisation des hémicelluloses:

De la même façon si  $T_{iso}$  représenterait une température où "rien ne se passe", c'est-à-dire la température où du point de vue réactionnel, on ne distingue aucune hydrolyse des hémicelluloses,  $T_{iso} < 70^\circ\text{C}$  ( $66.8^\circ\text{C}$ ).

Et si de plus l'énergie d'activation  $E$  moyenne pour la solubilisation des hémicelluloses serait de 30 kcal/mole, alors

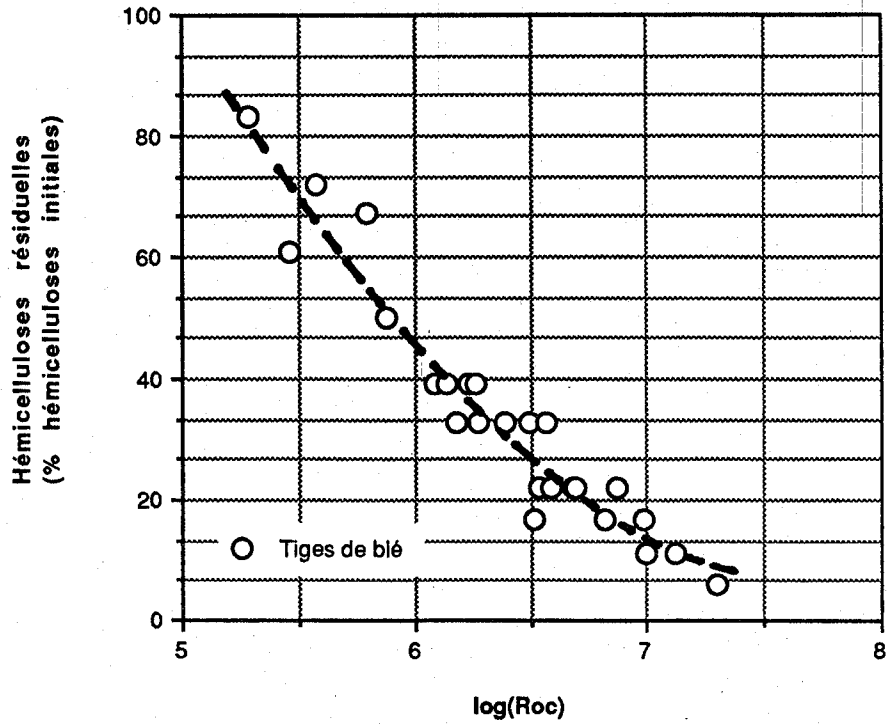


Figure 30. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Roc)$ , cas des tiges de blé

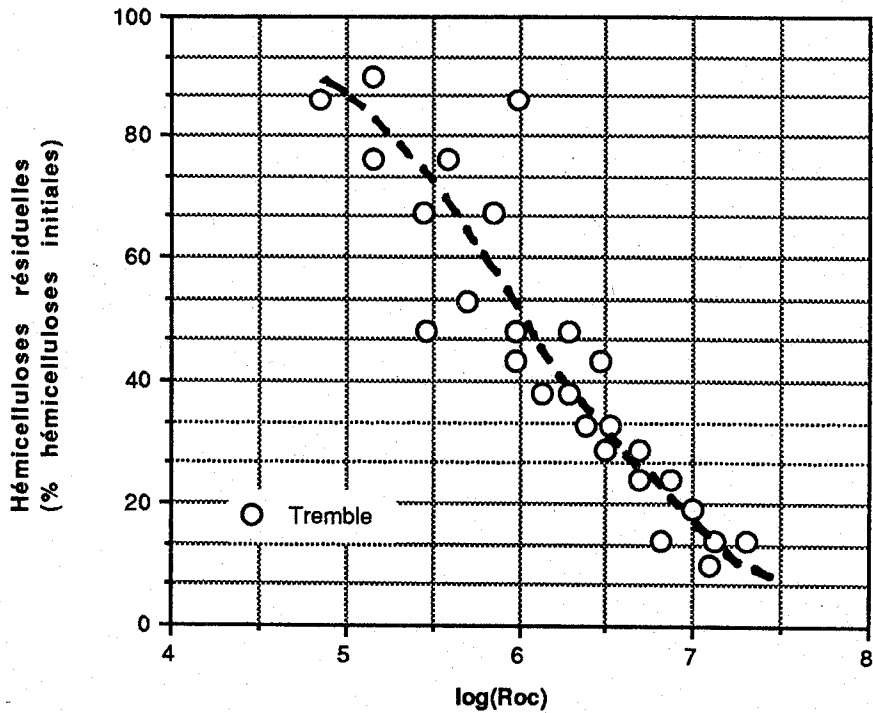


Figure 31. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Roc)$ , cas du tremble

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

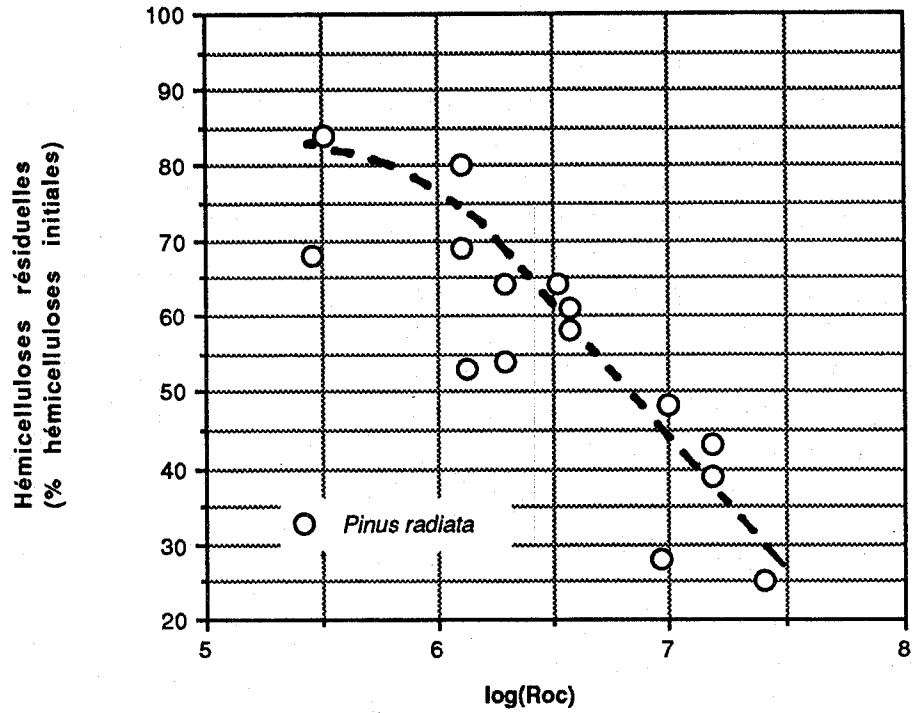


Figure 32. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(\text{Roc})$ , cas de *Pinus radiata*

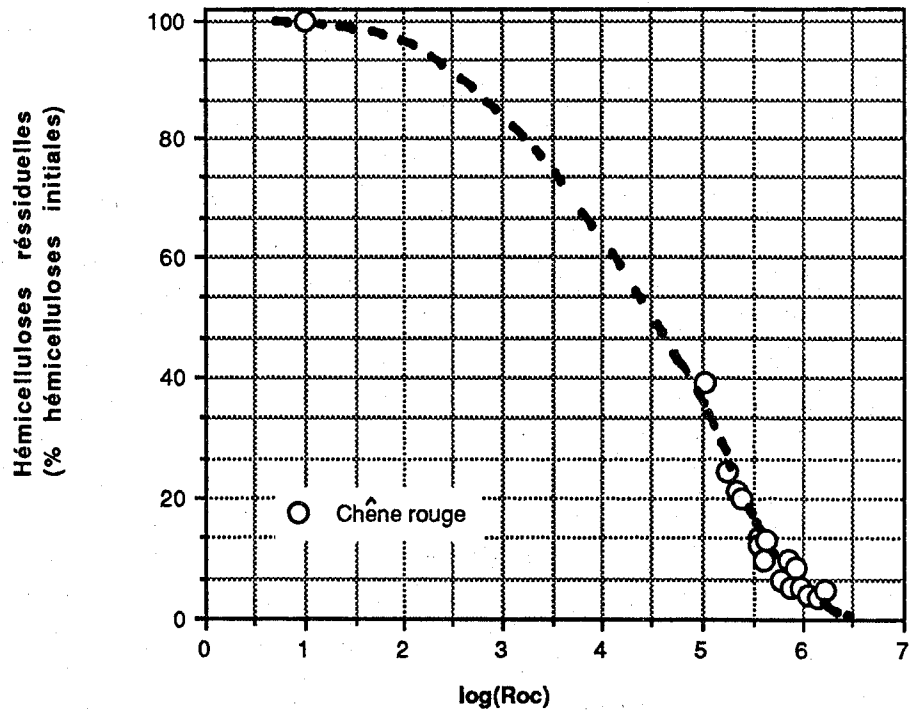


Figure 33. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(\text{Roc})$ , cas du chêne rouge

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .



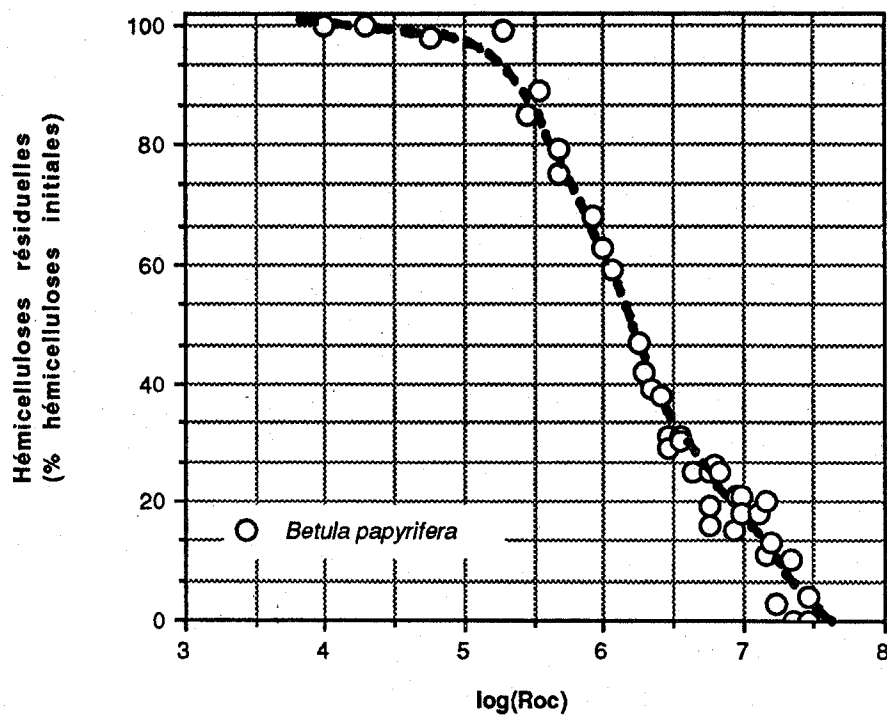


Figure 34. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(\text{Roc})$ , cas de *Betula papyrifera*

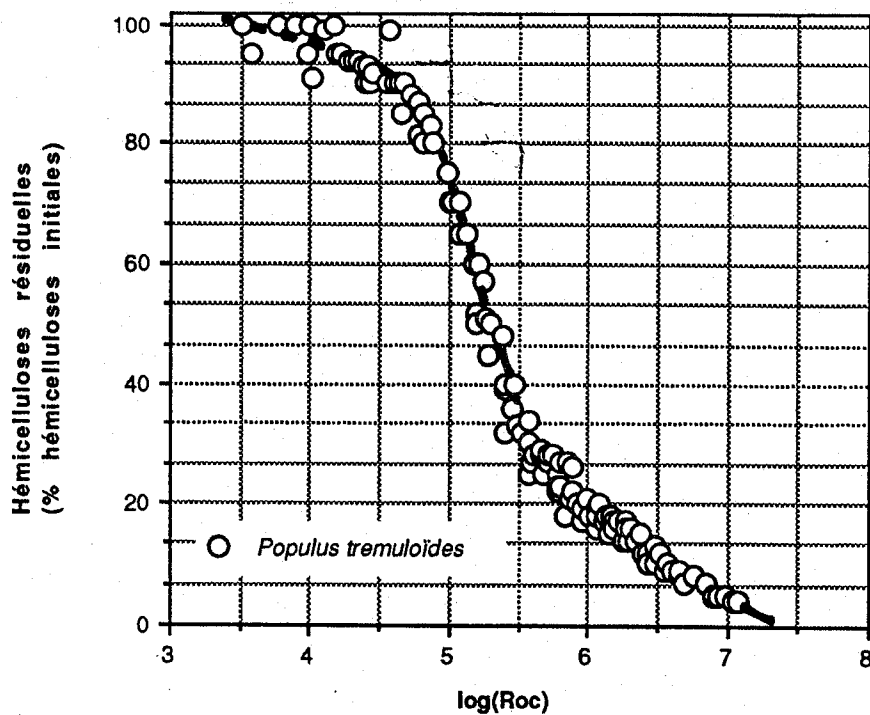


Figure 35. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(\text{Roc})$ , cas de *Populus tremuloides*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

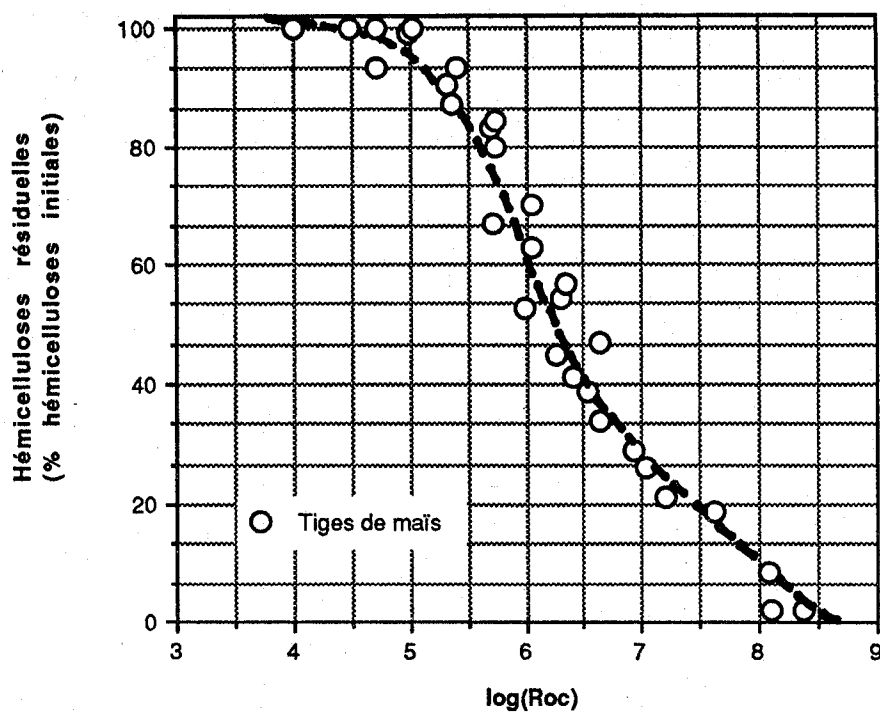


Figure 36. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Roc)$ , cas des tiges de maïs

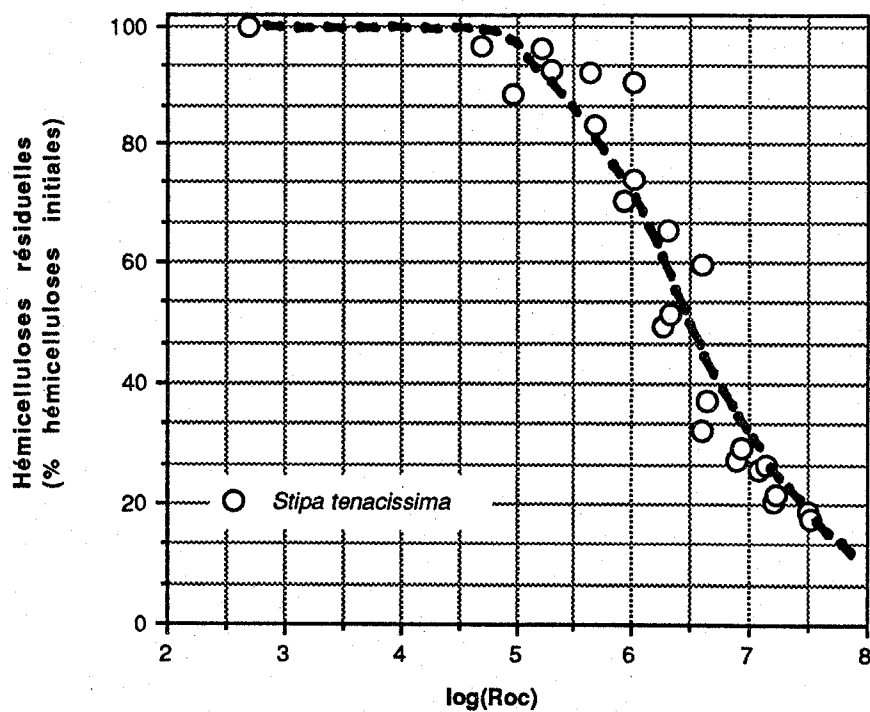


Figure 37. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(Roc)$ , cas de *Stipa tenacissima*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

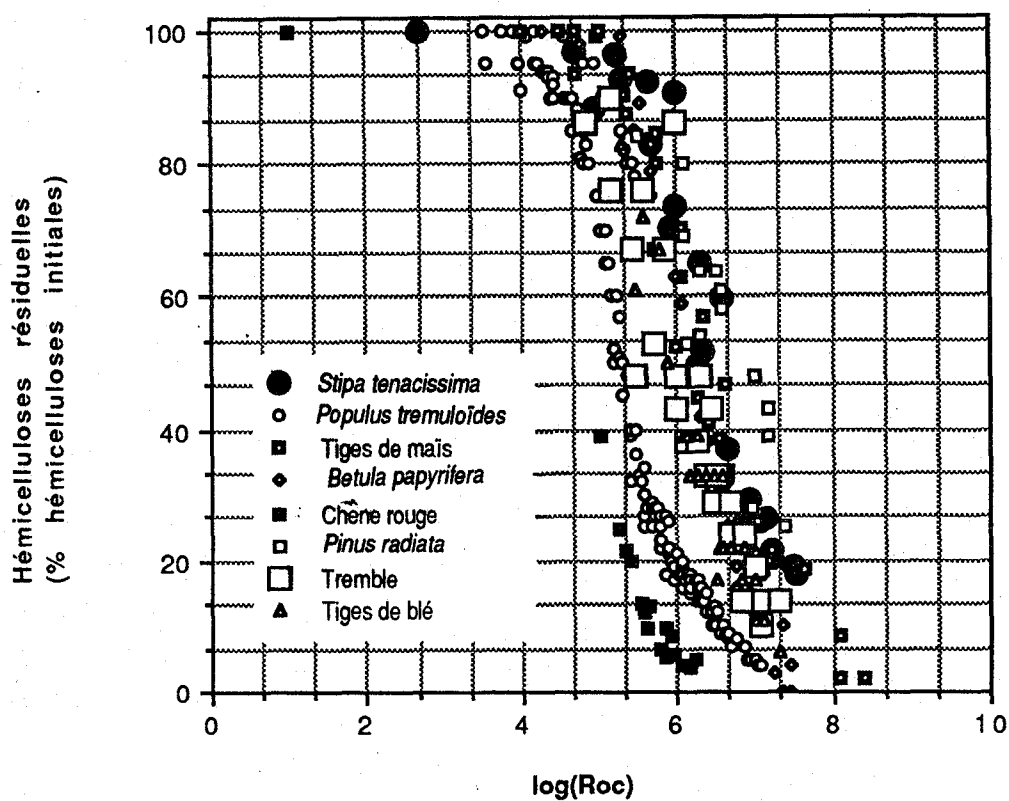


Figure 38. Solubilisation des hémicelluloses en fonction de  $\log(\text{Roc})$ , cas de toutes les biomasses ensemble

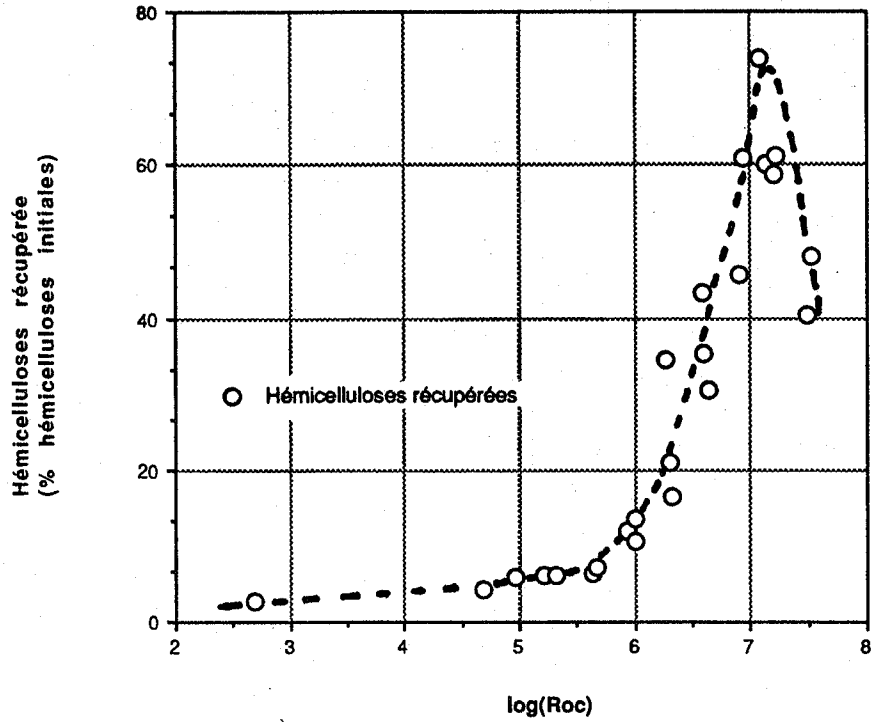


Figure 39. Hémicelluloses récupérées en fonction de  $\log(\text{Roc})$  - cas de *Stipa tenacissima*

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

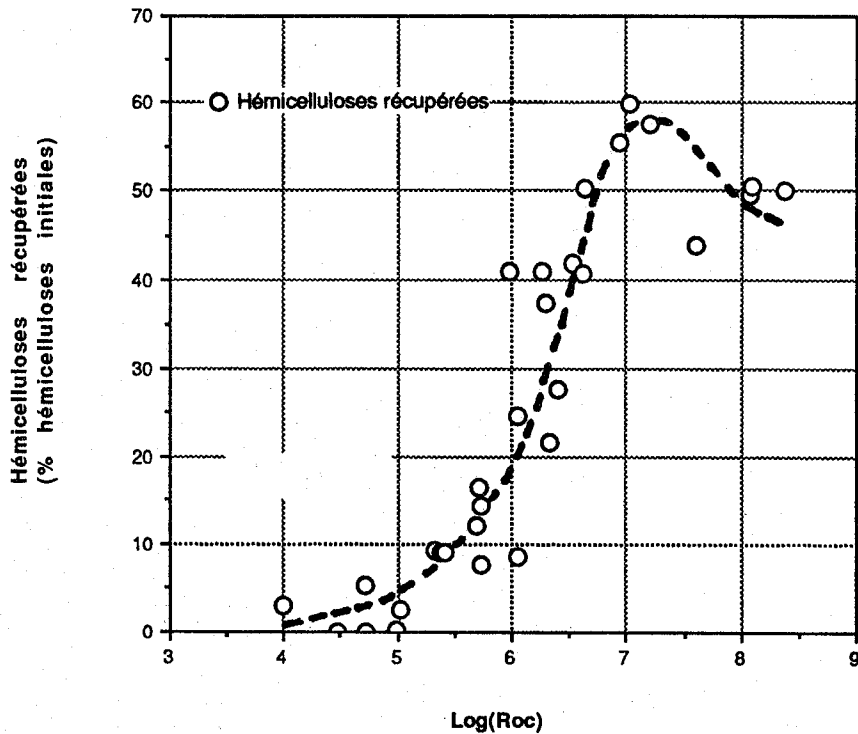


Figure 40. Hémicelluloses récupérées en fonction de  $\log(\text{Roc})$  - cas des tiges de maïs

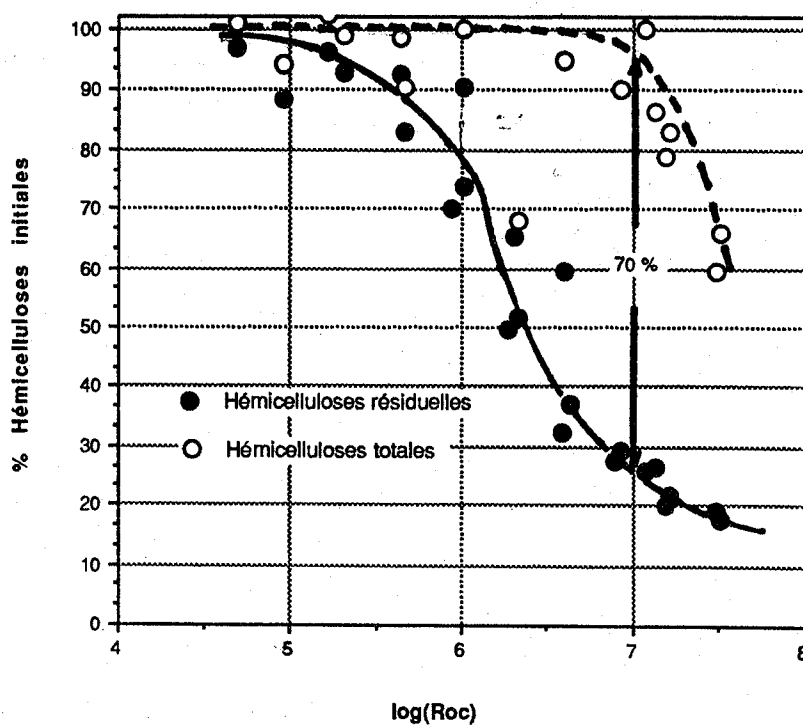


Figure 41. Optimisation expérimentale de la récupération des hémicelluloses - cas de *Stipa tenacissima*

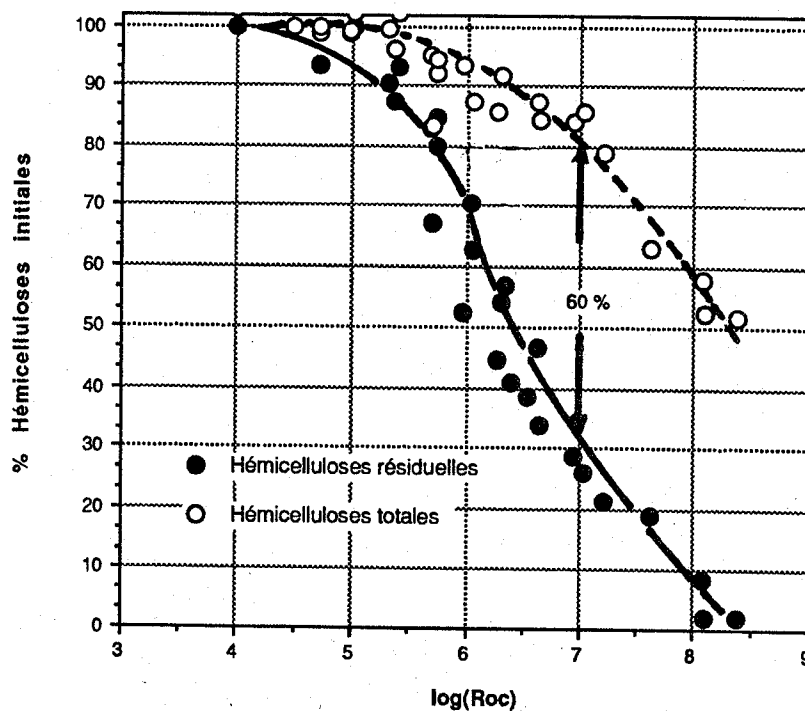


Figure 42. Optimisation expérimentale de la récupération des hémicelluloses - cas des tiges de maïs

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

ABATZOGLOU et al. (1989) [1], BELKACEMI et al. (1989) [15].

Le facteur  $R'_0$  résulte d'un développement limité autour d'un point de référence  $T_0 = 67^\circ\text{C}$ ,  $C_{A0} = 0.01$  % poids par volume de la suspension, donc son emploi reste limité à des conditions près de ce point de référence, une divergence plus importante du voisinage de ce point, engendrera bien entendu une erreur qui pourrait être importante.

Pour ce fait, prenons un exemple:

$$- T = 167.5^\circ\text{C}$$

$$- C_A = 0.4 \text{ \% poids/volume.}$$

$$\text{On a: } \ln(k C_A^m) \approx \ln k_0 + m \ln C_{A0} \times \frac{-E}{RT_0} + m \left( \frac{C_A - C_{A0}}{C_{A0}} \right) + \frac{E}{RT_0^2} \times (T - T_0)$$

$$\text{or } \ln(k C_A^m) = \ln k_0 \times \frac{-E}{RT} + m \ln C_A$$

d'où

$$\frac{-E}{RT} + m \ln C_A \approx m \ln C_{A0} \frac{-E}{RT_0} + m \left( \frac{C_A - C_{A0}}{C_{A0}} \right) + \frac{E}{RT_0^2} \times (T - T_0) = \text{DEV.}$$

C'est cette expression qui nous permet d'évaluer l'erreur introduite par l'utilisation du développement limité.

| $\frac{-E}{RT} + m \ln C_A$ | DEV    | % erreur absolue |
|-----------------------------|--------|------------------|
| -34.42                      | -19.55 | 43.20            |

Cette erreur est jugée importante, néanmoins le facteur  $R'_0$  peut être introduit comme un outil afin de comparer des données de prétraitement comme c'est le cas dans cette étude.

## 6-2 Sévérité $R_{OC}$ :

La sévérité exprimée par le facteur  $R_{OC}$  basé sur l'existence d'un effet de compensation et d'une température isocinétique ne se trouve pas confrontée à des utilisations limitées comme c'est le cas pour  $R'_0$ .

Si, effectivement, la relation "d'effet de compensation" est plausible, pour un ensemble de réactions de même famille, alors  $R_{OC}$  peut se révéler comme la coordonnée réactionnelle phénoménologique capable de représenter la solubilisation des hémicelluloses, où tous les points expérimentaux se ramassent en une sigmoïde si le paramètre  $m=1$ .

Jusqu'à présent, on ne peut attribuer à ce paramètre aucune signification au niveau de la cinétique et des mécanismes réactionnels. Mais curieusement, s'il s'agissait d'un cas de cinétique on pourrait croire qu'il s'apparente à un ordre ou "pseudo-ordre" par rapport à l'acide!!.

## 7 - Conclusions du chapitre:

La sévérité du prétraitement combinant l'effet de la température, du temps de réaction, et de la concentration du catalyseur acide est vue sous le concept des facteurs:

$$R'_0 = \exp\left(\frac{C_A}{C_{A_0}} \times m\right) R_0 \quad \text{avec } R_0 = \exp\left(\frac{T - T_0}{\omega}\right) t$$

$$R_{OC} = \left(\frac{C_{A_0} + C_A}{C_{A_0}}\right)^m \times \exp\left[\frac{E}{R T_{iso}} \left(\frac{T - T_{iso}}{T}\right)\right] \times t$$

Si le premier résulte d'un développement en série de Taylor autour d'un point de référence, le deuxième est basé quant à lui sur l'existence d'un "effet de compensation" et d'une "température isocinétique".

Malgré , l'erreur de troncation qui peut être introduite lors du développement en série de Taylor pour arriver à l'expression de  $R_O'$  , celui - ci permet de représenter sous forme d'une corrélation empirique les résultats de solubilisation des hémicelluloses.

Une représentation "améliorée" en quelques sortes de cette corrélation est obtenue en utilisant le facteur  $R_{OC}$ , qui a l'avantage de ne pas être limité à des conditions spécifiques de prétraitement , comme c'est le cas pour le facteur  $R_O'$ .

Ces facteurs empiriques sont considérés comme des "moyens" pour corréler et comparer les résultats expérimentaux obtenus sous différentes conditions et dans différents laboratoires. Ils ne considèrent pas les phénomènes observés sous l'aspect de la cinétique classique des réactions chimiques.



## CHAPITRE 5

### PSEUDO-CINETIQUE ET INTERPRETATION DES MECANISMES REACTIONNELS DES GLYCOSIDES ET DES HEMICELLULOSES

#### 1 - Introduction:

Jusqu'à présent, tout au long de ce travail, on a pas interprété la solubilisation des hémicelluloses au niveau des réactions chimiques qui ont lieu.

La solubilisation des hémicelluloses par prétraitement s'accompagne de plusieurs produits.

Des études assez récentes de la préhydrolyse, ont mis en évidence les changements structuraux lors de ces traitements, CASEBIER et al. (1969) [31], ROUDIER et EBERHARD (1967) [178].

Ces travaux mettent en relief les étapes de traitements chimiques conduisant à la solubilisation partielle des hémicelluloses et la fragmentation de celles-ci en composés solubles.

Le choix d'utiliser des procédés de prétraitement avec des acides ou des bases est souvent fondamental, à cause des grandes différences des produits obtenus. Les carbohydrates polymériques traités avec des agents acides en milieux aqueux font souvent intervenir deux types de réactions:

- l'hydrolyse des liaisons glycosidiques
- déshydratation des produits, FEATHER et HARRIS (1973) [67].

Le mécanisme d'hydrolyse et les taux réactionnels des polysaccharides et oligosaccharides ont été extensivement étudiés, CAPON (1967) [28], DEFAYE (1981) [43], HARRIS (1975) [94], CASEBIER et al. (1969) [31].

Plusieurs confusions dans l'interprétation des résultats ont été notées. Actuellement la majorité de celles-ci sont résolues en adoptant le concept analytique du mécanisme

conformationnel, HARRIS (1975) [94], CAPON (1967) [28]. En dépit de quelques aspects encore sous débat, il est généralement admis que ce mécanisme reste le plus valable, pour interpréter les résultats d'hydrolyse des glycosides en phase homogène.

La cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses a été étudiée par WAYMAN, (1980) [231], (1982) [230], en définissant les principes fondamentaux relatifs à leur solubilisation.

Le nombre d'études faites en vue d'établir des modèles cinétiques est restreint. CONNER et al. (1985) [39], HARRIS et al. (1985) [95], MALONEY et al. (1984) [130], montrent la présence de deux modes de solubilisation des hémicelluloses, tandis que CARRASCO et al. (1987) [30], montrent que la solubilisation des hémicelluloses est suffisamment décrite par une seule loi cinétique de premier ordre.

Un besoin d'une modèle cinétique faisant un lien avec la thermodynamique et les mécanismes réactionnels, capable de prédire, d'une façon générale la solubilisation des carbohydrates utilisant comme coordonnée réactionnelle, la sévérité de traitement, n'a à notre connaissance pas été développé, et de surcroît, s'impose.

## **2 - Hydrolyse des matériaux lignocellulosiques - Réactions et Mécanismes**

Bien que le principe d'hydrolyse des liaisons glycosidiques catalysée par un milieu acide est généralement valide, HARRIS (1975) [94], la dégradation globale est influencée en même temps par le milieu acide en question et la nature du matériel lui-même.

Les facteurs influençant l'hydrolyse sont:

- le type d'acide
- concentration
- pH
- force de l'acide
- température et la pression
- la phase où se fait la réaction
- la structure physico-chimique et l'accessibilité des réactifs, si la réaction

se fait en phase hétérogène, DEFAYE (1981) [43].

- les effets de conformation
- les effets électroniques, dûs à la structure des chaînes et leurs substituants, DEFAYE (1981) [43].

La fragmentation des glycosides solubles se fait par la fission des liaisons glycosidiques (glycoside-oxygène: C-O-C).

Suivant l'oxygène protonné par  $H^+$ , un et/ou des deux mécanismes suivants sont possibles:

1- Protonnation de la liaison C-O-C et élimination d'un aglycon par rupture d'une liaison C-O, puis formation d'un ion complexe carbonium oxinium cyclique.

2- Protonnation de l'oxygène anomérique se trouvant sur le cycle glycosidique et ouverture de celui-ci, puis formation d'un complexe carbonium acyclique.

➤ Apparemment, les deux oxygènes pourraient être partiellement protonnés comme le montre la figure suivante:

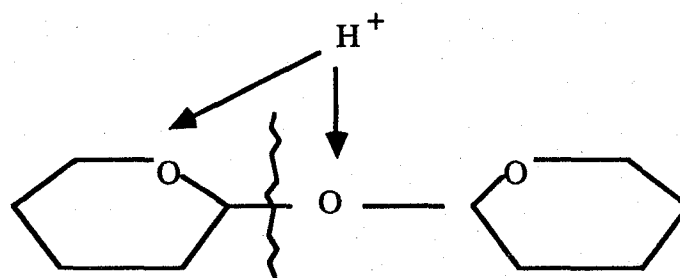


Figure 43. Mécanismes hydrolytiques possibles (HARRIS, 1975) [94]

et la position de la rupture dépendrait de la distribution de la densité électronique sur le cycle, HARRIS (1975) [94].

Systématiquement, il est généralement admis que le mécanisme qui conduit à l'ion carbonium cyclique est le plus probable, CAPON (1967) [28].

Cette étape de formation du complexe cyclique suppose une modification de conformation importante, en fonction des facteurs stériques et électroniques, FENGEL et

WEGNER (1984) [69], et il semble que la barrière énergétique rencontrée dans la flexibilité du cycle soit le facteur fondamental contrôlant.

La conformation "mi-chaise", pouvant être obtenue par l'intermédiaire cyclique lors de l'attaque de la chaîne polymérique par  $H^+$  serait causée par une légère rotation des substituants du cycle. La possibilité d'extension de cette rotation dépend de la position stérique de ces derniers.

En phase hétérogène, les polysaccharides comme les hémicelluloses branchées au reste du complexe carbohydraté, ces considérations au niveau des mécanismes réactionnels sont aussi valides mais la vitesse de clivage des liaisons C-O-C est plus faible relativement à celle observée en phase homogène due à l'accessibilité limitée des atomes oxygène des liaisons C-O-C, ROSS BROWN et JURASEK (1978) [177], FENGEL et WEGNER (1984) [68], RAYMOND (1986) [167].

Ce concept laisse présager donc un ordre de réaction pour plusieurs résultats expérimentaux obtenus jusqu'à présent.

D'après plusieurs auteurs, SPRINGER (1966) [200], CONNER et al. (1985) [39], VEERARAGHAVAN et al. (1982) [224], HARRIS et al. (1985) [95], MALONEY et al. (1986) [129], la réaction d'hydrolyse des liaisons glycosidiques suit un ordre 1 par rapport au polymère à solubiliser: C'est ce qu'on va vérifier dans les prochaines étapes de ce chapitre .

### **3 - Cinétique de solubilisation des hémicelluloses - Formulation de la vitesse réactionnelle:**

Des recherches antérieures montrent que lorsqu'on rapporte la quantité des xylanes qui restent sur les fibres après préhydrolyse des bois en fonction du temps de traitement, un profil à deux régions distinctes apparaît:

- phase initiale rapide
- phase seconde lente.

SIMMONDS et al. (1955) [191], KOBAYASHI et SAKAI (1956) [113],

SPRINGER et al. (1963) [203], SPRINGER et ZOCH (1968) [200], CONNER et al. (1985) [39], CONNER (1984) [38], BRASCH et FREE (1965) [25], MALONEY et al. (1984) [129], VEERARAGHAVAN (1982) [225], HARRIS et al. (1985) [95], PLANES (1975) [156], (1975) [158], (1981) [159], TRICKETT et al. (1982) [218], MEHLBERG et TSAO (1979) [135], et d'autres encore, ont obtenus des estimés des constantes  $k$  de pseudo premier ordre pour les deux comportements de solubilisation des hémicelluloses, et ceci pour plusieurs biomasses allant des bois, jusqu'aux graminées et plantes vivaces telles que les bagasses, TRICKETT et al. (1982) [219], DUTOIT et al. (1983) [62].

Le même comportement de la solubilisation des hémicelluloses a été obtenu dans le cadre de ce travail pour le cas des tiges de maïs et *Stipa tenacissima*.

A la lumière des observations expérimentales et structurales obtenues dans nos travaux et ceux de plusieurs auteurs, la vitesse réactionnelle de la solubilisation des hémicelluloses sera formulée en tenant compte des hypothèses suivantes:

*Hyp. 1-* validité des considérations de la pseudo-cinétique et mécanismes observés en phase homogène concernant les glycosides solubles, pour les polysaccharides relativement labiles comme les hémicelluloses se trouvant en phase hétérogène, en prenant en considération l'accessibilité limitée des atomes d'oxygène des liaisons C-O-C, RAYMOND (1986) [167].

*Hyp. 2-* existence de deux formes d'hémicelluloses dont la solubilisation est rapide pour l'une, lente pour l'autre, en termes d'accessibilité des liaisons C-O-C.

*Hyp. 3-* la réaction de solubilisation pour les deux "formes d'hémicelluloses" est du premier pseudo-ordre par rapport aux hémicelluloses résiduelles sur la fibre.

*Hyp. 4-* la réaction de solubilisation pour les "deux formes d'hémicelluloses" est du premier pseudo-ordre par rapport à l'activité de l'ion  $H^+$ .

L'ion  $H^+$  étant en solution diluée, alors dans ce travail on confondra l'activité de  $H^+$  et sa concentration.

Si  $x$  est la fraction des hémicelluloses restant sur la fibre, après prétraitement à un temps  $t$  donné.

Désignons par  $x_r$  la fraction des hémicelluloses dont la solubilisation est rapide, et  $x_s$  celle à solubilisation lente.

Si  $x_{r0}$  est désignée comme la fraction des hémicelluloses initiales identifiées comme solubilisables rapidement, alors on a:

$$r_r = \frac{-dx_r}{dt} = k_r \times C_{H^+} \times x_r \quad [37]$$

$$r_s = \frac{-dx_s}{dt} = k_s \times C_{H^+} \times x_s \quad [38]$$

$$x = x_r + x_s \quad [39]$$

L'intégration du système donne:

$$x_r = x_{r0} \times \exp(-k_r \times C_{H^+} \times t) \quad [40]$$

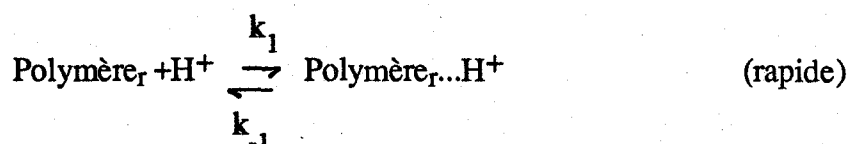
$$x_s = (1 - x_{r0}) \times \exp(-k_s \times C_{H^+} \times t) \quad [41]$$

La combinaison de [39], [40], [41], donne:

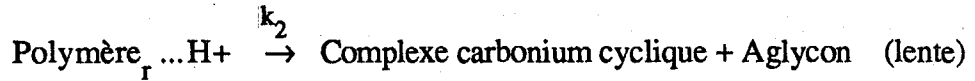
$$x = x_{r0} \times \exp(-k_r \times C_{H^+} \times t) + (1 - x_{r0}) \times \exp(-k_s \times C_{H^+} \times t) \quad [42]$$

#### **4 - Justification de la formulation de la vitesse de réaction via le mécanisme de l'analyse conformationnelle, cité plus haut:**

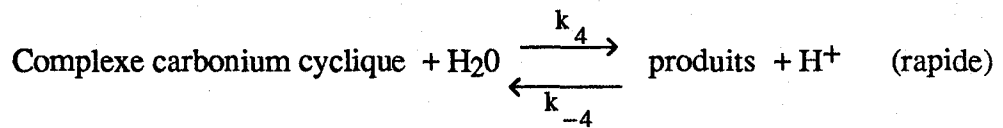
1- Equilibre entre le polymère et l'ion H<sup>+</sup>:



2- Formation de l'ion oxinium carbonium cyclique:



3- Formation des produits d'hydrolyse:



L'étape élémentaire 2, impose sa cinétique à l'ensemble, car c'est l'étape contrôlante et par conséquent les autres étapes élémentaires sont en quasi-équilibre.

Ceci donne:

$$k_1 \times [\text{Polymère}_r] \times [\text{H}^+] = k_{-1} \times [\text{polymère}_r \dots \text{H}^+] \quad [43]$$

$$r_r = k_2 \times [\text{Polymère}_r \dots \text{H}^+] \quad [44]$$

La combinaison de [40] et [41] donne:

$$r_r = \frac{k_2 k_1}{k_{-1}} [\text{Polymère}_r] [\text{H}^+] \quad [46]$$

Posons  $k_r = \frac{k_2 \times k_1}{k_{-1}}$ , il vient:

$$r_r = k_r [\text{Polymère}_r] \times [\text{H}^+] \quad [47]$$

Il en est de même pour le polymère hémicellulosique de type s:

$$r_s = k_s [\text{Polymère}_s] \times [\text{H}^+] \quad [48]$$

Posons,  $[\text{Polymère}_r] = x_r$

$[\text{Polymère}_s] = x_s$

$[\text{H}^+] = C_{\text{H}^+}$

L'on retrouve la formulation de la vitesse réactionnelle de la solubilisation des hémicelluloses établie plus loin à l'aide des observations expérimentales et structurales.

### **5 - Mise en évidence expérimentale de l'existence des deux formes d'hémicelluloses:**

DUTOIT et al. (1983) [62], avaient développé une méthodologie expérimentale pour extraire les hémicelluloses avec une solution de 4 % poids/volume de NaOH, pendant 24 heures, à partir de la bagasse.

Après avoir séparé la phase liquide (filtrat) de la masse solide qui est constituée essentiellement de la cellulose et de la lignine, ils ont procédé à une série de précipitations sur le filtrat, avec de l'acide acétique et de l'alcool absolu pour obtenir deux précipités d'apparence différente qui constitueraient les deux types d'hémicelluloses A et B. Cette méthode expérimentale est décrite sommairement dans la figure 44.

Pour le cas de la bagasse utilisée, DUTOIT et al. avaient obtenus sur une base de 100 g de biomasse sèche :

- 17.75 g d'hémicelluloses de type A (soit 55.29 % des hémicelluloses initiales) <sup>1</sup>
- 14.35 g d'hémicelluloses de type B (soit 44.71 % des hémicelluloses initiales) <sup>1</sup>

Les hémicelluloses de type A correspondent à celles solubilisables rapidement tandis que les hémicelluloses de type B correspondent à celles solubilisables lentement.

Afin de vérifier cette méthode expérimentale, on a procédé à son application pour le cas des tiges de maïs.

A partir de 22 g de tiges de maïs réduits en poudre, dont l'humidité est de 5 %, soit 20.9 g de biomasse sèche, on a obtenu :

---

<sup>1</sup> Hémicelluloses potentielles présentes dans la biomasse



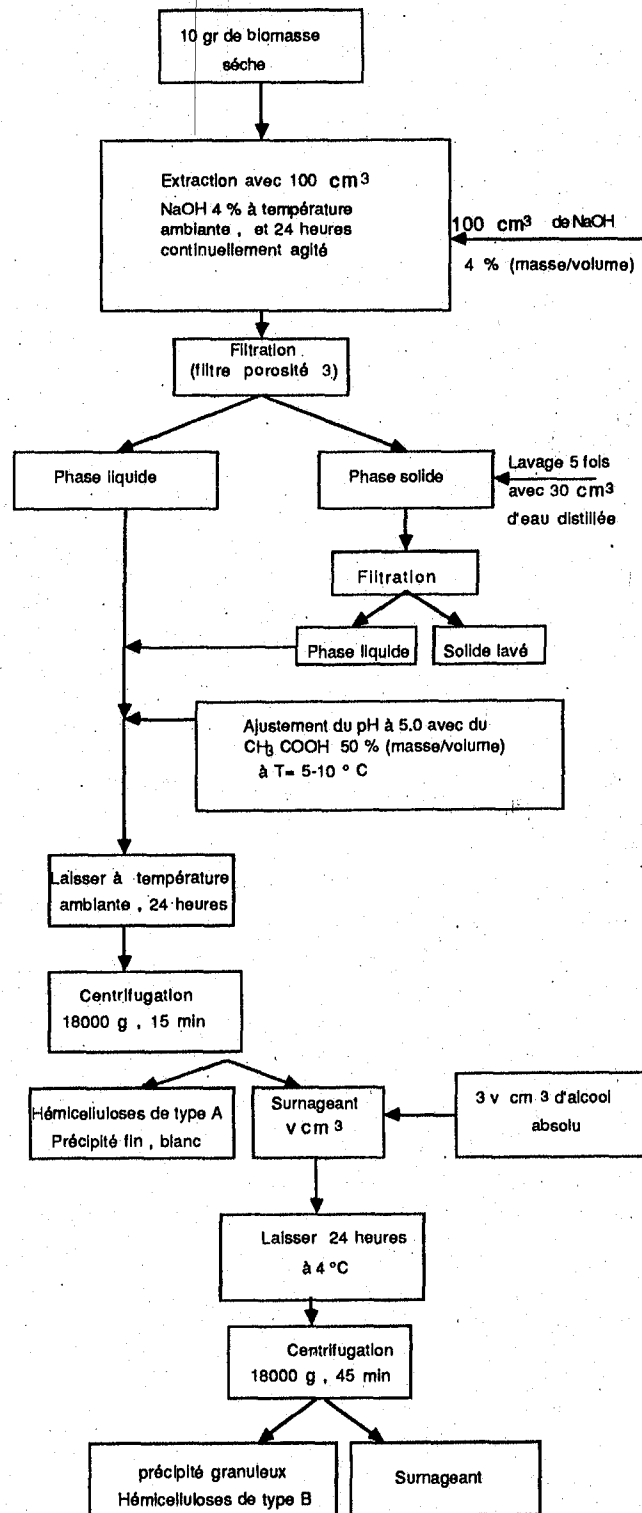


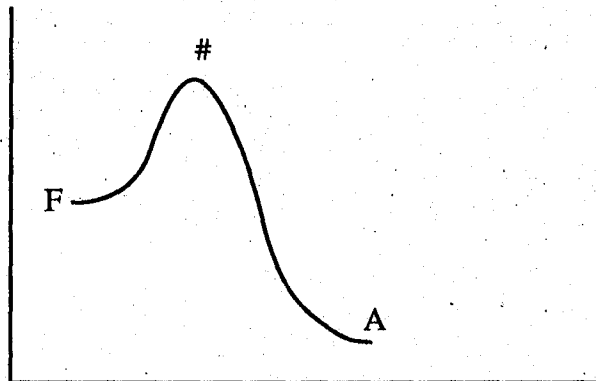
Figure 44. Méthodologie expérimentale pour séparer les deux types d'hémicelluloses selon DUTOIT et al. (1983) [62]

- 4.527 g d'hémicelluloses de type A (soit 74.18 % des hémicelluloses initiales)
- 1.576 g d'hémicelluloses de type B (soit 25.82 % des hémicelluloses initiales)

Ce qui peut à un certain point, confirmer l'hypothèse faite précédemment quant à l'existence de deux types d'hémicelluloses.

### 6 - Signification thermodynamique du facteur de sévérité - Facteur $R_B$ :

Pour l'étape élémentaire de la formation du complexe carbonium, si on applique la théorie cinétique des collisions, on obtient:



où # est le complexe actif en équilibre avec le centre actif de Polymère ...  $H^+$ , que nous représenterons par F.

$$r_2 = \nu \times C\# = \frac{k_B \times T}{h \times C_{2,0}} \quad [49]$$

et

$$K_{eq2}^{\#} = \frac{C\#}{C_F} = \exp\left[\frac{-\Delta G_{2,0}}{(R \times T)}\right] \quad [50]$$

d'où

$$r_2 = \frac{k_B \times T}{h} \exp\left[\frac{-\Delta G_{2,0}}{(R \times T)}\right] \times C_F \quad [51]$$

On sait que: 
$$\Delta G_{2,0} = \Delta H_{2,0} - T \times \Delta S_{2,0} \quad [52]$$

La combinaison de [49], [50], [52] donne:

$$r_2 = \frac{k_B \times T}{h} \exp\left[\frac{\Delta S_{2,0}}{R}\right] \times \exp\left[\frac{-\Delta H_{2,0}}{(R \times T)}\right] \times C_F \quad [53]$$

Aussi, et dans l'étape élémentaire 1, on a:

$$K_1 = \frac{C_F}{(C_{\text{Polymère}} \times C_{H^+})} = \exp\left[\frac{-\Delta G_{1,0}}{(R \times T)}\right]$$

$$K_1 = \exp\left(\frac{\Delta S_{1,0}}{R}\right) \times \exp\left[\frac{-\Delta H_{1,0}}{(R \times T)}\right] \quad [54]$$

La combinaison de [53] et [54] donne:

$$r = k \times C_{\text{Polymère}} \times C_{H^+} = r_2 = \frac{k_B \times T}{h} \exp\left[\frac{(\Delta S_{1,0} + \Delta S_{2,0})}{R}\right]$$

$$\exp\left[\frac{-(\Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0})}{(R \times T)}\right] \times C_{\text{Polymère}} \times C_{H^+}$$

où  $r$  est le taux de la réaction globale.

Il s'en suit que:

$$k = \frac{k_B \times T}{h} \exp\left[\frac{(\Delta S_{1,0} + \Delta S_{2,0})}{R}\right] \exp\left[\frac{-(\Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0})}{(R \times T)}\right] \quad [55]$$

Par définition de l'énergie d'activation, BAMFORD et TIPPER (1979) [10],  
BENSON (1976) [16].

$$E = \frac{R \times T^2 \times \partial \ln k}{\partial T} \quad [56]$$

Mais

$$\ln k = \ln\left(\frac{k_B \times T}{h}\right) + \frac{(\Delta S_{1,0} + \Delta S_{2,0})}{R} - \frac{(\Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0})}{(R \times T)}$$

avec,

$$\frac{\partial \ln k}{\partial T} = \frac{1}{T} + \frac{(\Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0})}{(R \times T^2)}$$

Dans les gammes de température normalement utilisées,

$$R \times T \ll \sum_i H_{i,0} = \Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0}$$

Suivant l'équation [56],  $E = \Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0}$ . [57]

Posons:

$$\Delta S = \Delta S_{1,0} + \Delta S_{2,0} \quad [58]$$

$$\Delta H = \Delta H_{1,0} + \Delta H_{2,0} \quad [59]$$

La combinaison de [55], [57], [58], [59] donne:

$$k = k_B \times T / h \times \exp(\Delta S / R) \times \exp[-E / (R \times T)] \quad [60]$$

Dans une série de réactions pour lesquelles le changement structural ne change pas le mécanisme des réactions ou bien la nature de l'état de transition, il existe une relation mettant en relief, l'invariabilité de ce dernier pour des réactions de même type, comme c'est le cas ici, de l'hydrolyse de la liaison glycosidique, et ce, quelque soit la nature du glycoside de même famille, LEFFLER (1955) [124].

$$\Delta H = \alpha + \beta \Delta S \quad [61]$$

où:

$\alpha$  est l'ordonnée à l'origine de la relation linéaire [61].

$\beta$  est la température "iso-cinétique" reliée à la constance du mécanisme vis à vis du changement structural des réactifs. Elle représente la température où toutes les constantes de vitesse sont les mêmes pour un type identique de réactions .

Pour une étape élémentaire donnée, la constante de vitesse peut s'exprimer comme:

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad [62]$$

mais , la relation de LEFFLER , peut aussi s'écrire sous la forme :

$$\Delta H^\ddagger = \alpha + \beta \Delta S^\ddagger \quad [63]$$

et

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger = \alpha - (T - \beta) \Delta S^\ddagger \quad [64]$$

Si  $T = \beta$  alors  $\Delta G^\ddagger = \alpha = \text{constante}$

et en vertu de l'équation [62],  $k = \text{constante}$  pour un même type de réaction.

De [61], on tire :

$$\Delta S = \frac{(\Delta H - \alpha)}{\beta} = \frac{(E - \alpha)}{\beta} \quad [65]$$

En combinant [60] et [65], on obtient l'expression finale de la constante du taux réactionnel comme:

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left[\frac{(E - \alpha)}{(\beta \times R)}\right] \times \exp\left[\frac{-E}{(R \times T)}\right]$$

$$= \frac{k_B \beta}{h} \exp\left[\frac{-\alpha}{(R \beta)}\right] \times \frac{T}{\beta} \exp\left[\frac{E}{(R \beta)} \times \frac{(T-\beta)}{T}\right] \quad [66]$$

Posons  $\beta = T_{\text{iso}}$ ,

$$D = \frac{k_B \times T_{\text{iso}}}{h} \exp\left[\frac{-\alpha}{(R \times T_{\text{iso}})}\right]$$

$$\delta(T) = \frac{T}{T_{\text{iso}}} \times \exp\left[\frac{E}{(R \times T_{\text{iso}})} \times \frac{(T - T_{\text{iso}})}{T}\right]$$

et  $k = D \times \delta(T)$ .

On a vu que:

$$r = k C_{\text{Polymère}} \times C_{\text{H}^+} = \frac{-dC}{dt} \text{ Polymère.} \quad [67]$$

Si on suppose que le procédé est essentiellement isothermique

$$T \neq T(t)$$

alors, l'intégration de [67] donne:

$$C_{\text{Polymère}} = \text{constante} \exp(-k \times t \times C_{\text{H}^+})$$

à  $t = 0$ ,  $C_{\text{Polymère}} = C_{\text{Polymère}}(0)$ , d'où:

$$C_{\text{Polymère}} = C_{\text{Polymère}}(0) \times \exp[-D \times \delta(T) \times t \times C_{\text{H}^+}].$$

Posons  $R_B = \delta(T) \ t = \frac{T}{T_{\text{iso}}} \times \exp\left[\frac{E}{(R \times T_{\text{iso}})} \times \frac{(T - T_{\text{iso}})}{T}\right] \times t.$  [68]

Donc:

$$C_{\text{Polymère}} = C_{\text{Polymère}}(0) \times \exp(-D \times R_B \times C_{\text{H}^+})$$

et le produit:

$$k \times t = D \times R_B \quad [69]$$

Ce facteur  $R_B$  permet d'évaluer la sévérité d'un procédé donné, car il est fonction des changements en  $T$  et  $t$ , qui sont les paramètres de sévérité sous contrôle de l'opérateur.

### 7 - Modélisation de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses:

Appliquons ce concept de facteur  $R_B$  à la solubilisation des hémicelluloses par hydrolyse acide des liaisons C-O-C:

On a vu plus haut que cette solubilisation est décrite par deux comportements et la formulation de la vitesse de réaction est exprimée par:

$$x = x_{r0} \times \exp(-k_r \times C_{H^+} \times t) + (1 - x_{r0}) \times \exp(-k_s \times C_{H^+} \times t) \quad [70]$$

Introduisons le facteur  $R_B$ :

$$k_r \times t = \frac{D_r \times T}{T_{isor}} \times \exp\left[\frac{E_r}{(R \times T_{isor})} \times \frac{(T - T_{isor})}{T}\right] \times t \quad [71]$$

$$k_s \times t = \frac{D_s \times T}{T_{isos}} \times \exp\left[\frac{E_s}{(R \times T_{isos})} \times \frac{(T - T_{isos})}{T}\right] \times t \quad [72]$$

Appliquons la relation [61] qui préconise la linéarité entre l'énergie et l'entropie, aux données expérimentales trouvées dans la littérature concernant l'hydrolyse acide des hémicelluloses où il est question de deux cinétiques d'hydrolyse, voir figures 45 et 46.

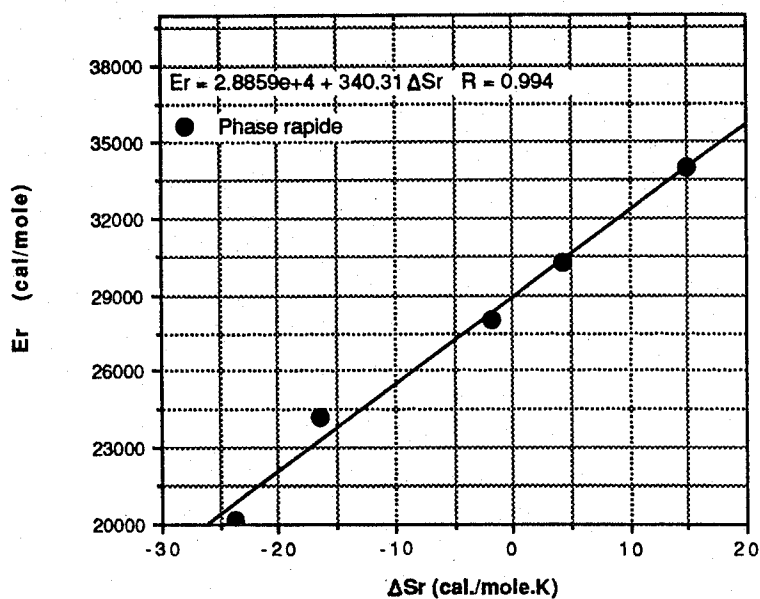


Figure 45 - Linearité entre l'énergie et l'entropie - cas de la phase rapide.

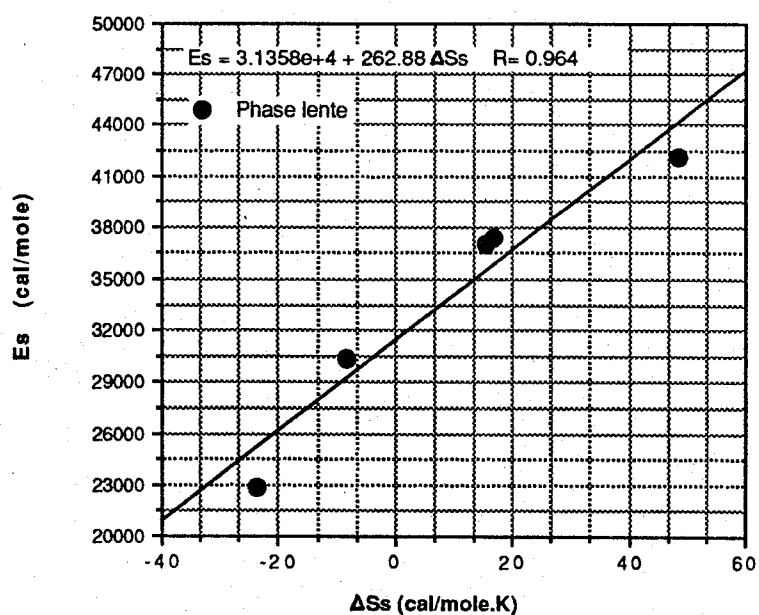


Figure 46- Linearité entre l'énergie et l'entropie - cas de la phase lente



| Substrat                   | $k_{or}^4$<br>(min <sup>-1</sup> ) | $k_{os}^4$<br>(min <sup>-1</sup> ) | $E_r$<br>(cal.mole) | $E_s$<br>(cal.mole) | $\Delta S_r^1$<br>(cal./mole.K) | $\Delta S_s^1$<br>(cal./mole.K) | Auteurs                        |
|----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| <i>Betula papyrifera</i>   | 3.7510 <sup>15</sup>               | 2.1510 <sup>18</sup>               | 30-260              | 37400               | 4.370                           | 16.946                          | MALONEY et al.<br>(1986) [129] |
| Chêne rouge <sup>2</sup>   | 2.5510 <sup>09</sup>               | 2.7310 <sup>09</sup>               | 20168               | 22814               | -23.748                         | -23.613                         | CONNER et al.<br>(1985) [39]   |
| Epis de maïs               | 7.8610 <sup>17</sup>               | 1.7510 <sup>25</sup>               | 33980               | 42100               | 14.954                          | 48.452                          | KIM et al. (1987)<br>[112]     |
| Chêne de maïs <sup>1</sup> | 1.0810 <sup>11</sup>               | 6.5010 <sup>12</sup>               | 24221               | 30377               | -16.331                         | -8.218                          | CONNER et al.<br>(1985) [39]   |
| Tremble                    | 1.6910 <sup>14</sup>               | 1.0410 <sup>18</sup>               | 28000               | 37000               | -1.767                          | 15.508                          | GROHMANN et<br>al. (1985) [90] |

- Calcul:

| Phases | $T_{iso}$ (K) | $\alpha$  | $r^5$ | D (min <sup>-1</sup> ) <sup>6</sup> |
|--------|---------------|-----------|-------|-------------------------------------|
| Rapide | 340.31        | 28858.689 | 0.994 | 1.060 10 <sup>-04</sup>             |
| Lente  | 262.88        | 31358.037 | 0.964 | 2.200 10 <sup>-12</sup>             |

1  $\Delta S = \ln\left(\frac{k_o h}{k_B T}\right)R$  (cal/k.mole) et T = 330 K

2 Hydrolyse avec 5% (w/w) Acide acétique.

3 Autohydrolyse

4 Facteur de fréquence (min<sup>-1</sup>).

5 r: Coefficient de régression linéaire

6  $D = \frac{k_B T_{iso}}{h} \exp\left(-\frac{\alpha}{RT_{iso}}\right)$

Alors le facteur  $R_B$  appliqué pour les réactions d'hydrolyse des hémicelluloses pour le cas des deux cinétiques est décrit par:

$$R_{Br} = \frac{T}{T_{isor}} \times \exp\left[\frac{E_r}{(R \times T_{isor})} \times \frac{(T - T_{isor})}{T}\right] \times t \quad [73]$$

$$R_{Bs} = \frac{T}{T_{isos}} \times \exp\left[\frac{E_s}{(R \times T_{isos})} \times \frac{(T - T_{isos})}{T}\right] \times t \quad [74]$$

La fraction des hémicelluloses résiduelles prédite par la modélisation est exprimée par:

$$x = x_{r0} \times \exp(-D_r \times R_{Br} \times C_{H+}) + (1 - x_{r0}) \times \exp(-D_s \times R_{Bs} \times C_{H+}) \quad [75]$$

Comme il s'agit de pseudo-cinétique, il sera bien commode de remplacer  $C_{H+}$  par la concentration en acide exprimée en % (poids/poids de biomasse sèche). Ceci pour comparer et confronter ce modèle aux résultats expérimentaux de la littérature où le plus souvent on ne mentionne que la concentration de l'acide %, ceci sera donc cohérent car la constante  $D$  est exprimée en  $\text{min}^{-1}$  et  $R_B$  en min.

Et la modélisation suivra le schéma représenté par la figure 47 .

Pour des raisons de suivie de la réaction avec une seule coordonnée réactionnelle,  $R_B$ , on a jugé bon de simplifier le modèle (équation 36), de la façon suivante:

$$\begin{aligned} \text{Hypothèses:} \quad & k_r \gg k_s \\ & \text{et } k_s \rightarrow 0.0 \end{aligned}$$

Ainsi le modèle se réduit à:

$$x = x_{r0} \times \exp(-D_r \times R_{Br} \times C_{H+}) + (1.0 - x_{r0}) \quad [76]$$

Ceci nous permettra donc de suivre la cinétique de solubilisation avec la coordonnée réactionnelle:

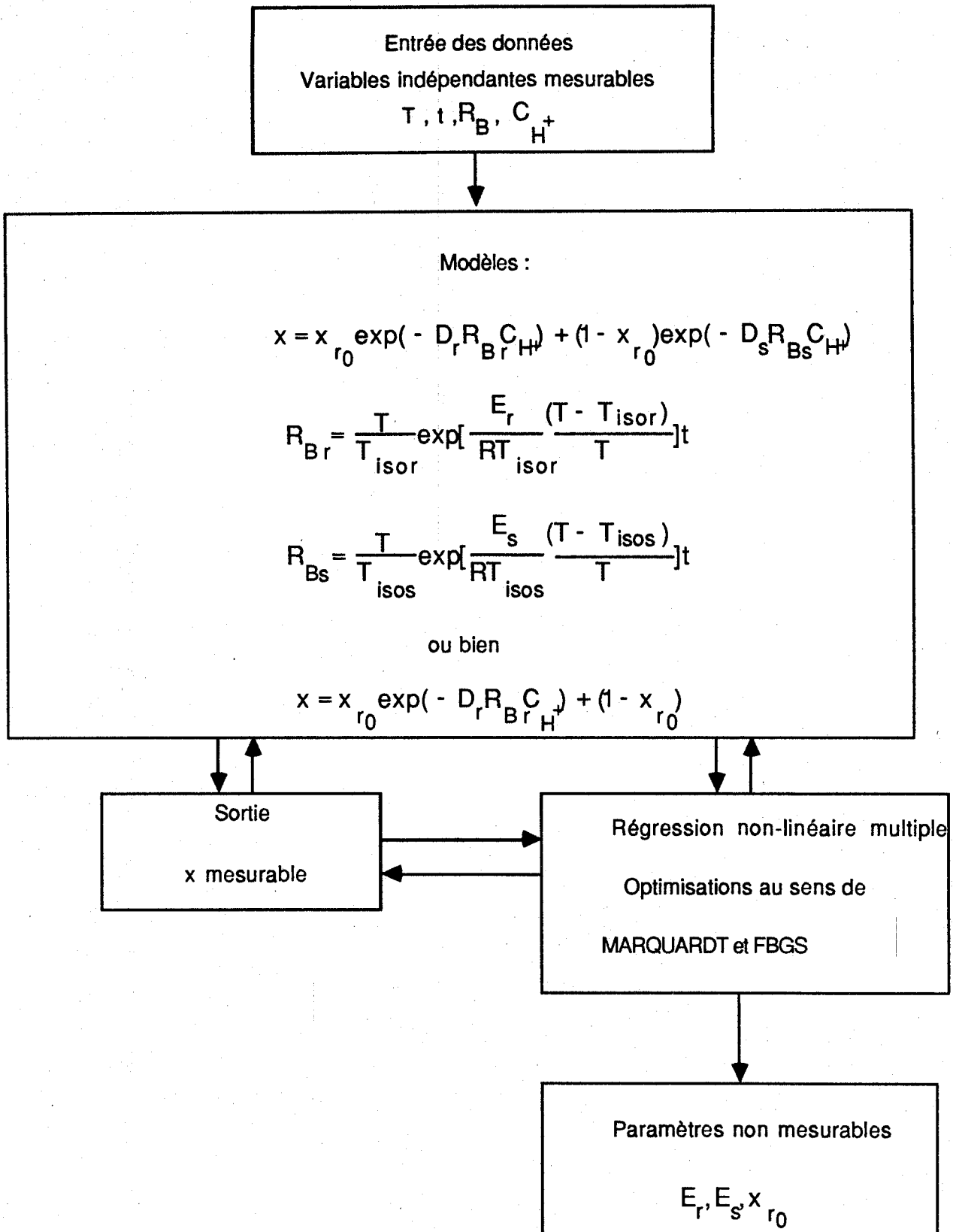


Figure 47. Schéma de la modélisation

$$R_{Br} = \frac{T}{T_{isor}} \times \exp\left[\frac{E_r}{(R \times T_{isor})} \times \frac{(T - T_{isor})}{T}\right] \times t$$

avec:  $D_r = 1.060 \cdot 10^{-04} \text{ min}^{-1}$ .

La modélisation a été faite pour huit types de biomasse:

- 1- nos résultats expérimentaux sur les tiges de maïs.
- 2- les résultats sur le chêne rouge obtenus par HARRIS et al. (1985) [95].
- 3- les résultats sur le bouleau (*Betula papyrifera*) obtenus par MALONEY et al. (1985) [129].
- 4- les résultats sur *Populus tremuloides* Michx. obtenus par SPRINGER et al. (1963) [203].
- 5- les résultats sur *Pinus radiata* de Nouvelle Zelande, obtenus par BRASCH et FREE (1964) [25].
- 6- les résultats sur le tremble, obtenus par GROHMANN et al. (1986) [90].
- 7- les résultats sur les tiges de blé, obtenus par GROHMANN et al. (1986) [90].
- 8- nos résultats obtenus sur la graminée *Stipa tenacissima*.

Les résultats de la modélisation sont répertoriés sur le tableau 13 et sur les courbes, figures 48 à 54 .

Il faut noter que les deux modèles ont été essayés pour toute les biomasses étudiées; Pour le modèle simplifié à une seule coordonnée réactionnelle  $R_{Br}$ , deux méthodes d'optimisation sont utilisées pour aller chercher les paramètres non mesurables  $x_{r0}$  et  $E_r$ . Ces méthodes sont respectivement celle due à MARQUARDT [133] (Steepest Descent Method), et celle récente utilisant le Hessien "update" au sens de FBGS, DENNIS et SCHNABEL (1983) [53].

### 8 - Interprétations des résultats:

Si on admet qu'en phase hétérogène, l'utilisation de l'approche basée sur l'analyse conformationnelle via la formation du complexe carbonium oxynium cyclique dont la

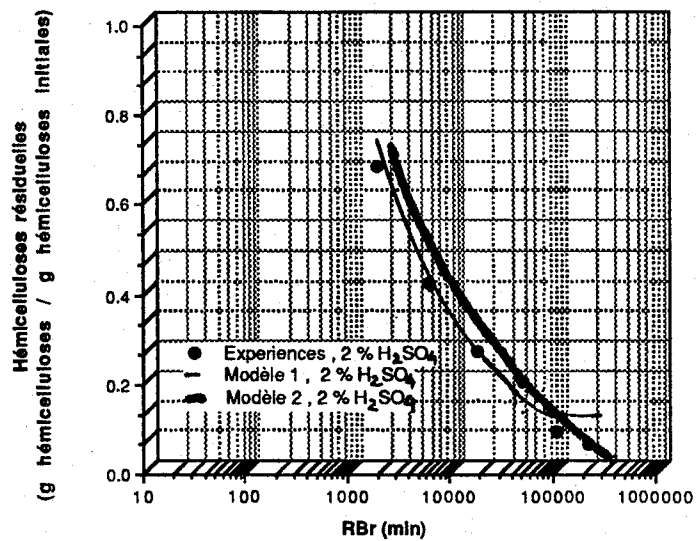
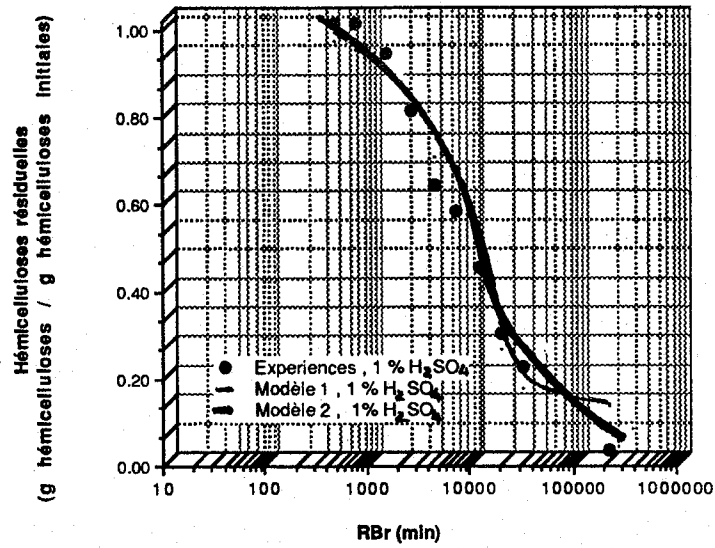
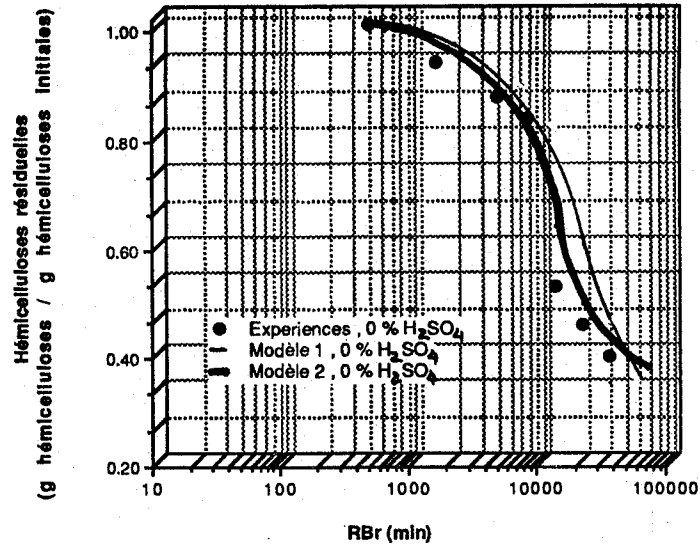


Figure 48 - Modélisation de la cinétique  
d'hydrolyse des hémicelluloses,  
cas des tiges de maïs

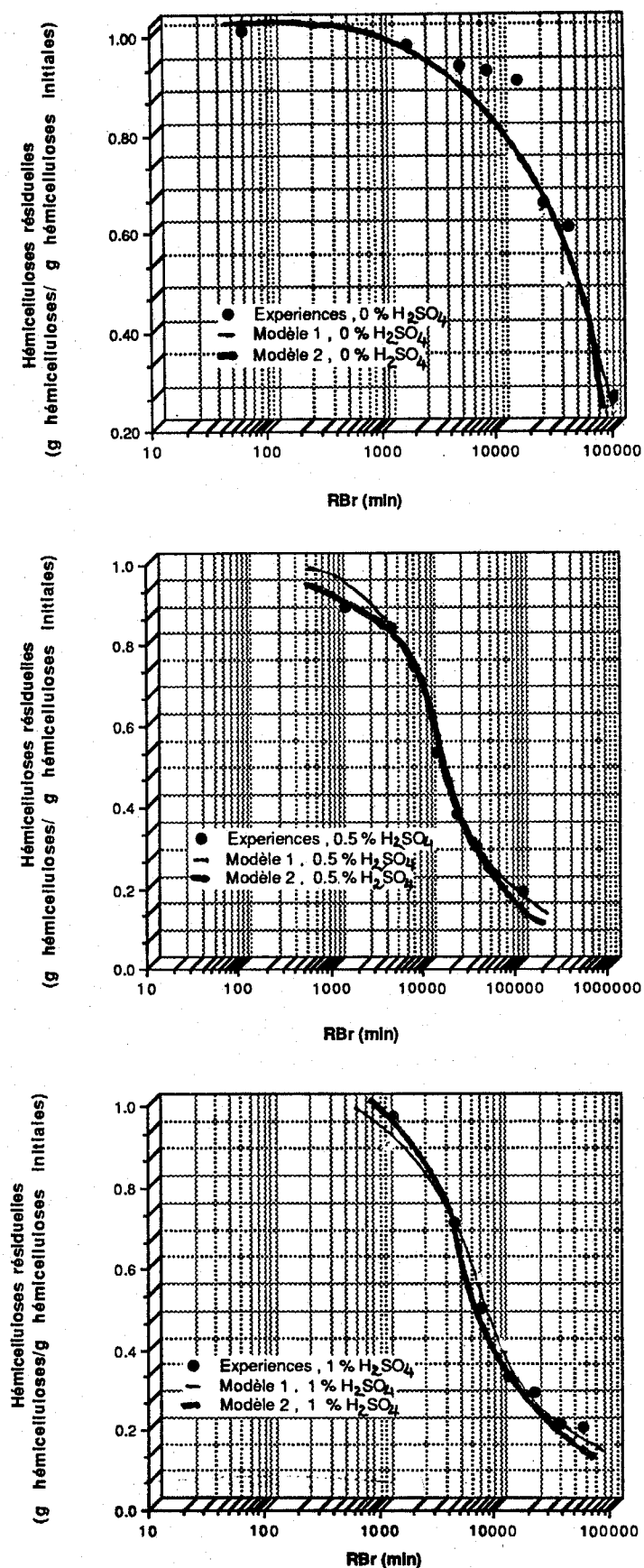


Figure 49 - Modélisation de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses, cas de *Stipa tenacissima*

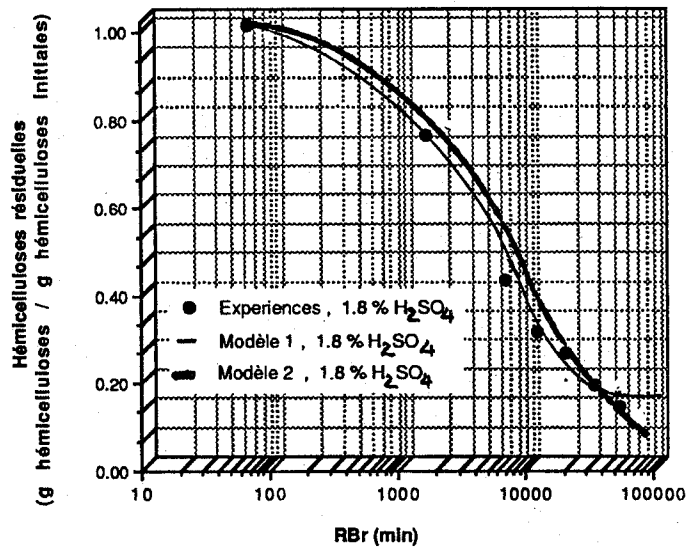
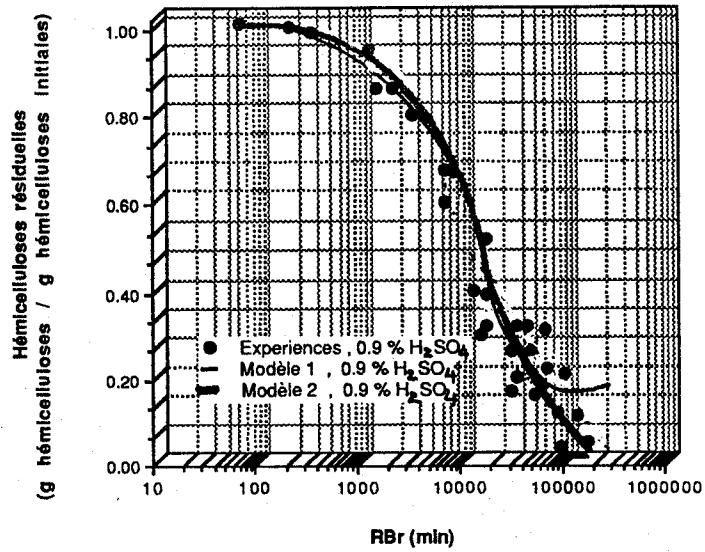
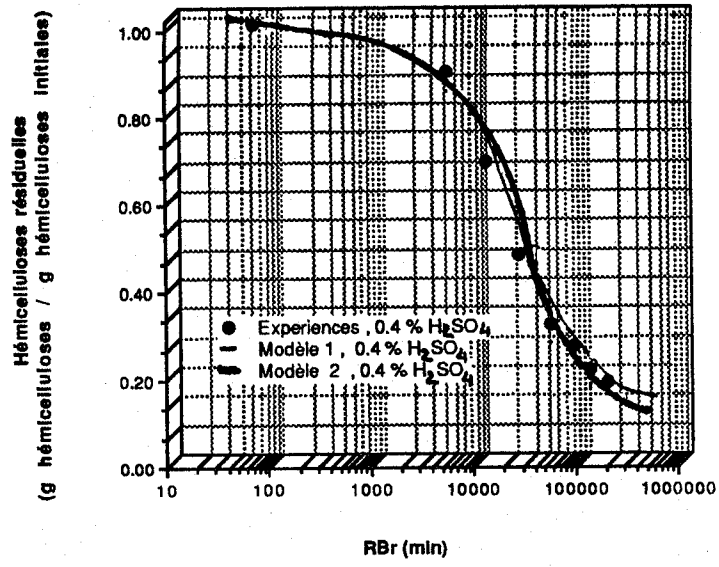


Figure 50 - Modélisation de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses, cas de *Betula papyrifera*

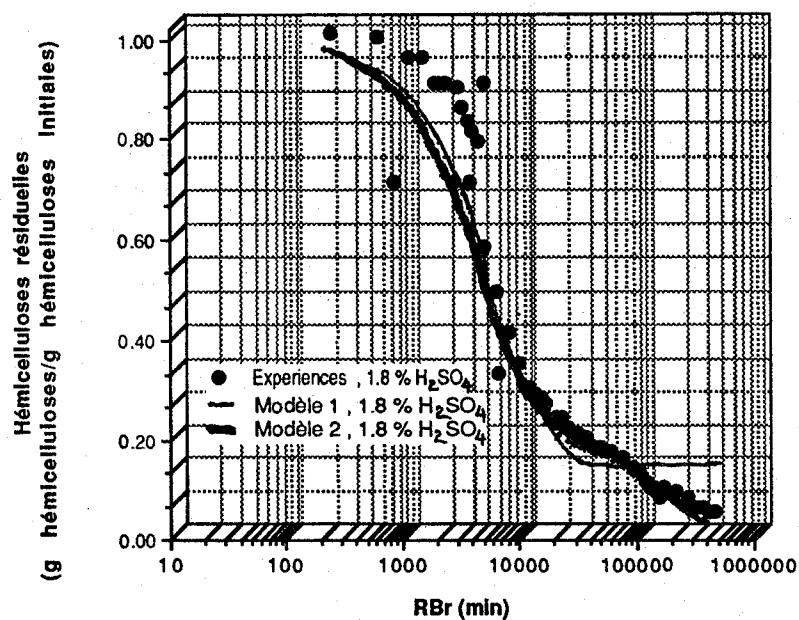
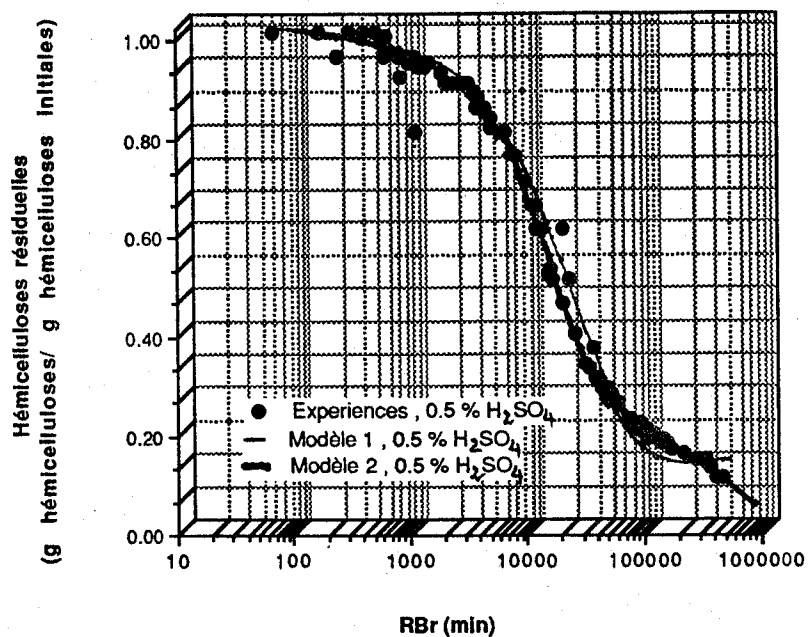


Figure 51 - Modélisation de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses, cas de *Populus tremuloïdes*



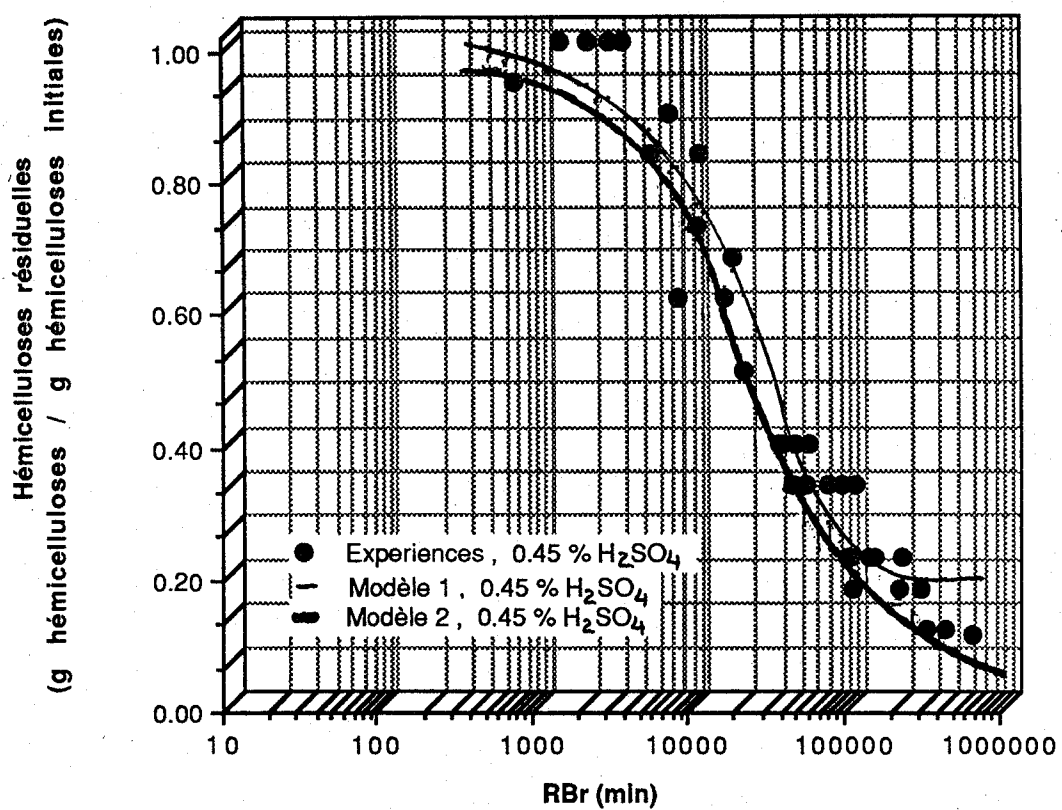


Figure 52 - Modélisation de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses, cas du tremble

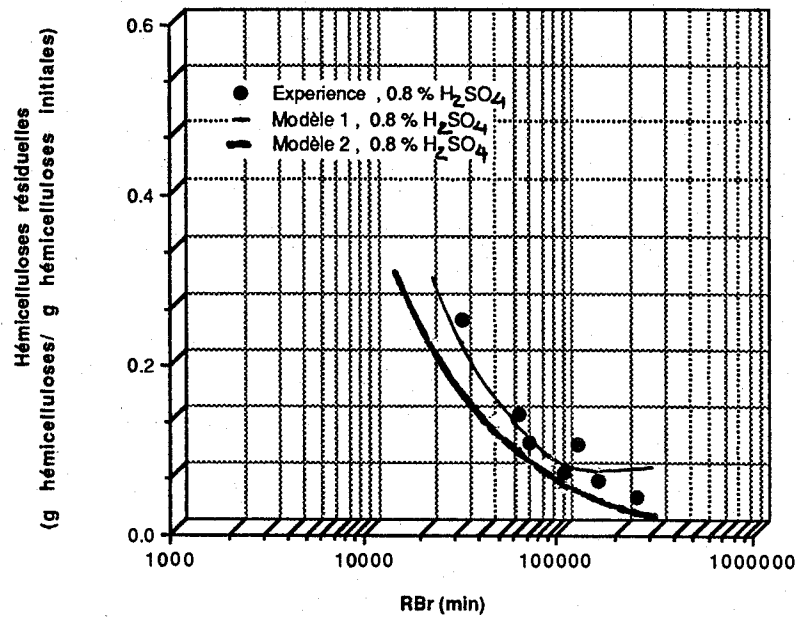
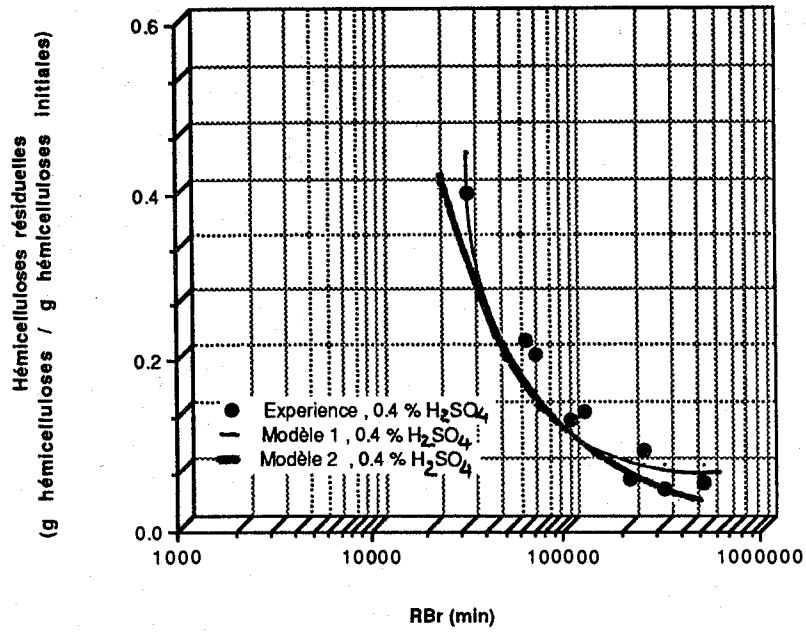


Figure 53 - Modélisation de la cinétique  
d'hydrolyse des hémicelluloses,  
cas du chêne rouge

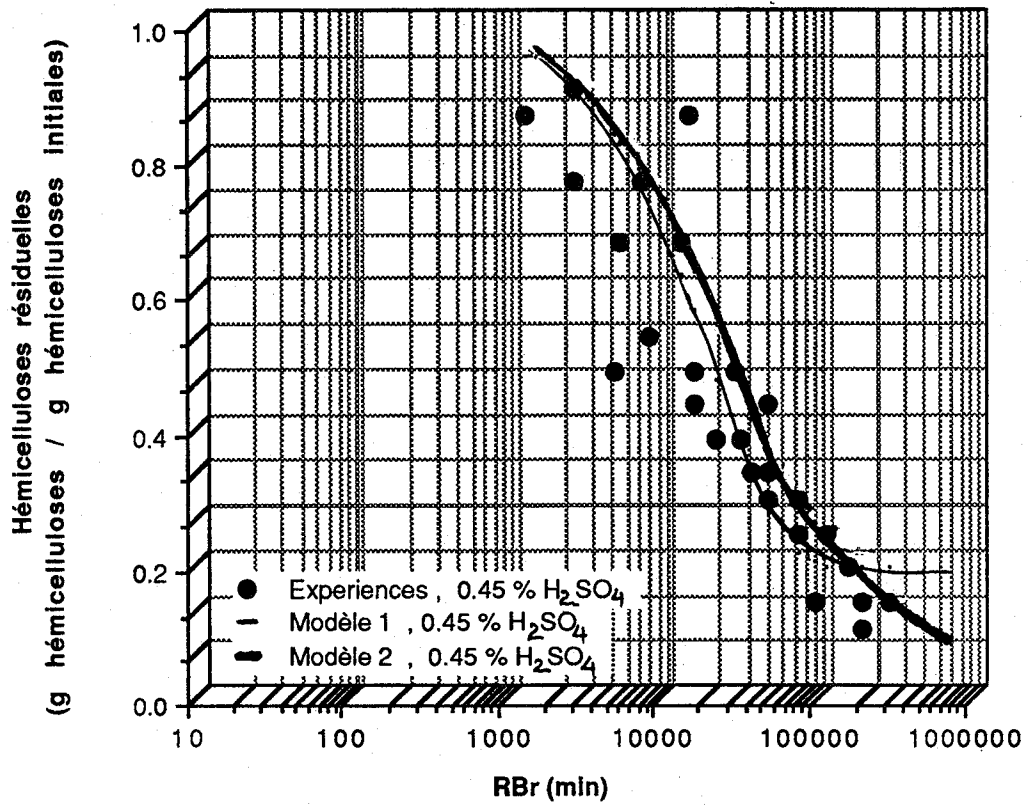


Figure 54 - Modélisation de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses, cas des tiges de blé

| Modèles                    | $x = x_0 \exp(-D_r R_{Br} CH^+) + (1.0 - x_0) \exp(-D_s R_{Bs} CH^+)$ |          |          |                 |       |                            |          |                 |                      |                |       |                 |         |                      |
|----------------------------|---|----------|----------|-----------------|-------|----------------------------|----------|-----------------|----------------------|----------------|-------|-----------------|---------|----------------------|
|                            | Méthode d'optimisation 1 4  |          |          |                 |       | Méthode d'optimisation 2 5 |          |                 |                      |                |       |                 |         |                      |
| Méthodes                   | iter.   | $x_{r0}$ | E        | $\Delta x^{-1}$ | iter. | $x_{r0}$                   | $E_r$    | $\Delta x^{-1}$ | $\ \text{Gradf}\ ^3$ | iter. $x_{r0}$ | Es    | $\Delta x^{-1}$ | Auteurs |                      |
| <i>Stipa tenacissima</i>   | 3   | 0.828    | 20606.99 | 0.058           | 9     | 0.818                      | 20887.20 | 0.058           | 0.000                | 1              | 0.849 | 20459.38        | 0.059   | Ce travail           |
| <i>Betula papyrifera</i>   | 3   | 0.836    | 26786.26 | 0.069           | 8     | 0.862                      | 26376.89 | 0.071           | 0.001                | 14             | 0.652 | 28143.78        | 0.035   | MALONEY et al. [129] |
| Chêne rouge                | 1   | 0.930    | 27450.61 | 0.026           | 1     | 0.936                      | 27476.89 | 0.067           | 0.001                | 1              | 0.800 | 28387.63        | 0.015   | HARRIS et al. [95]   |
| <i>Pinus radiata</i>       | 2   | 0.519    | 21376.00 | 0.153           | 1     | 0.549                      | 21376.89 | 0.144           | 0.001                | 1              | 0.210 | 24307.80        | 0.156   | BRASCH et FREE [25]  |
| Tremble                    | 7   | 0.813    | 28747.89 | 0.067           | 8     | 0.82                       | 28747.87 | 0.066           | 0.000                | 2              | 0.712 | 30221.71        | 0.059   | GROHMANN et al.[90]  |
| Tiges de blé               | 3   | 0.810    | 27903.07 | 0.114           | 1     | 0.899                      | 26376.89 | 0.124           | 0.001                | 2              | 0.675 | 29542.51        | 0.111   | GROHMANN et al.[90]  |
| Tiges de maïs              | 7   | 0.877    | 20887.22 | 0.057           | 1     | 0.892                      | 20887.21 | 0.058           | 0.001                | 5              | 0.698 | 21931.12        | 0.037   | Ce travail           |
| <i>Populus tremuloides</i> | 4   | 0.867    | 34910.56 | 0.063           | 1     | 0.883                      | 34922.50 | 0.064           | 0.005                | 6              | 0.786 | 35713.68        | 0.056   | SPRINGER et al.[203] |

Tableau 13 . Résultats de la simulation

$$1 \quad \overline{\Delta x} = \left[ \sum_1^N (x-x_1)^2 / N \right]^{1/2}$$

$$2 \quad f = 0.5 * \sum_1^N (x-x_1)^2$$

$$3 \quad \|\text{Gradf}\| = [(\partial f / \partial x_0)^2 + (\partial f / \partial E)^2]^{1/2}$$

4 Méthode d'optimisation 1: Steepest descent au sens de MARQUARDT

5 Méthode d'optimisation 2: Update du Hessien au sens de F.B.G.S.

formation est l'étape contrôlante de la réaction d'hydrolyse en milieu acide homogène, alors le facteur  $R_B$  permet d'approcher la sévérité d'un point de vue "moins phénoménologique" en s'aidant de la théorie cinétique des collisions.

D'après les observations expérimentales et structurales faites par plusieurs auteurs, surtout MAHELBERG et TSAO (1979) [135] et DUTOIT et al.(1983) [62], la modélisation de la solubilisation des hémicelluloses est décrite par deux réactions de pseudo premier ordre par rapport aux hémicelluloses qui restent fixées sur les fibres de la biomasse.

Se basant sur ces observations et sur le mécanisme réactionnel décrit plus haut, on a proposé un modèle "pseudo-cinétique" utilisant la sévérité  $R_B$ .

D'après cette modélisation les résultats entre les valeurs expérimentales et celles prédites sont en accord qu'on peut qualifier d'acceptable pour le modèle simplifié à une seule coordonnée réactionnelle, et bon pour le deuxième modèle à deux coordonnées réactionnelles.

Pour élucider cette différence entre les modèles 1 et 2, on a recouru à une méthode statistique dite de "tests d'hypothèses" appliquée sur l'écart moyen entre la valeur expérimentale et celle prédite par le modèle et de cette façon on peut distinguer parmi les deux modèles, celui qui représente le mieux les résultats expérimentaux et de tirer une conclusion à savoir, si la différence entre les deux modèles est significative ou non, ceci pour toutes les biomasses essayées.

La méthode employée pour faire ces tests est décrite par HICKS (1982) [96].

Sommairement, elle est basée sur les faits suivants:

Hypothèse de départ  $H_0$ : " l'écart moyen dans le modèle 1 et l'écart moyen dans le modèle 2 sont égaux".

Hypothèse alternative  $H_1$ : " Ces écarts sont significativement différents".

Soit en termes statistiques:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 (\mu_1 > \mu_2)$$

- On se donne un seuil de confiance de 95 % ( $\alpha=5\%$ ).

- On fait le "test de normalité des populations" sur les échantillons et suivant que le test est positif ou négatif, on utilisera la variable statistique suivante, si le test est positif:

$$t = \frac{Y_1 - Y_2}{\sqrt{\frac{(N_1 - 1)S_1^2 + (N_2 - 1)S_2^2}{N_1 + N_2 - 2} \left( \frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}}, \quad df = N_1 + N_2 - 2 \quad [77]$$

si le test de normalité s'avère négatif on utilisera la variable :

$$t' = \frac{Y_1 - Y_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}} \quad \text{et} \quad df' = \frac{\left( \frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2} \right)^2}{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}} - 2 \quad [78]$$

La décision du rejet de  $H_0$  est faite de la manière suivante:

| Tests de normalité des populations | Variable statistique | Variable tabulée | Conditions de rejet de $H_0$   |
|------------------------------------|----------------------|------------------|--|
| Positif                            | t                    | $t_t$            | - si $t \geq t_{t, 1-\alpha, df}$<br>ou<br>- si $ t  \geq t_{t, 1-\alpha/2, df}$     |
| Négatif                            | t'                   | $t_t$            | - si $t' \geq t_{t, 1-\alpha, df'}$<br>ou<br>- si $ t'  \geq t_{t, 1-\alpha/2, df'}$ |

Les résultats de l'étude statistique sur la comparaison des deux modèles cinétiques proposés sont résumés dans le tableau 14.

On constate d'après ce tableau, que le rejet de l'hypothèse de départ dépend de la précision sur les résultats expérimentaux. Cependant, dans la majorité des cas, le rejet de  $H_0$  est tangible.

| Biomasses                  | Test de normalité 1 | N <sub>1</sub> | N <sub>2</sub> | $\bar{Y}_1$ | $\bar{Y}_2$ | S <sub>1</sub> <sup>2</sup> | S <sub>2</sub> <sup>2</sup> | N <sub>1</sub> +N <sub>2</sub> -2 | t tabulée | t'   | Décisions |                             |
|----------------------------|---------------------|----------------|----------------|-------------|-------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------|------|-----------|-----------------------------|
| <i>Populus tremuloides</i> | Négatif             | 132            | 132            | 0.045724    | 0.032421    | 0.001922                    | 0.002161                    | 282                               | -         | 1.65 | 2.39      | Rejet de H <sub>0</sub>     |
| Tiges de blé               | Négatif             | 31             | 31             | 0.076984    | 0.065221    | 0.007191                    | 0.007489                    | 61                                | -         | 1.67 | 0.54      | Non rejet de H <sub>0</sub> |
| <i>Sipa tenacissima</i>    | Négatif             | 24             | 24             | 0.039583    | 0.041916    | 0.001795                    | 0.001689                    | 46                                | -         | 2.02 | -0.19     | Non rejet de H <sub>0</sub> |
| <i>Betula papyrifera</i>   | Négatif             | 47             | 47             | 0.050255    | 0.025404    | 0.002227                    | 0.000414                    | 92                                | -         | 1.67 | 3.31      | Rejet de H <sub>0</sub>     |
| Tiges de maïs              | Négatif             | 22             | 22             | 0.051818    | 0.031086    | 0.001002                    | 0.000424                    | 43                                | -         | 1.79 | 2.59      | Rejet de H <sub>0</sub>     |
| Tremble                    | Positif             | 37             | 37             | 0.051211    | 0.082351    | 0.001831                    | 0.003395                    | 73                                | 1.99      | -2.6 | -         | Rejet de H <sub>0</sub>     |
| Chêne rouge                | Positif             | 19             | 19             | 0.018026    | 0.010578    | 0.00024                     | 0.000074                    | 36                                | 1.68      | 1.83 | -         | Rejet de H <sub>0</sub>     |
| <i>Pinus radiata</i>       | Positif             | 16             | 16             | 0.128562    | 0.132625    | 0.007189                    | 0.007189                    | 30                                | 2.04      | -0.1 | -         | Non rejet de H <sub>0</sub> |

1 - Ce test de normalité est réalisé avec le logiciel Microstat, version 4, pour un seuil de confiance de 95 %

Tableau 14. Résumé de l'étude statistique sur la comparaison des deux modèles cinétiques

On pourrait conclure que l'écart moyen dans le modèle 1 est significativement différent de celui dans le modèle 2. Dans ce dernier l'écart moyen est plus faible que dans le premier, pour la plupart des cas.

Le modèle à une seule coordonnée  $R_{Br}$  peut représenter une moyenne prédictive de la valeur des hémicelluloses résiduelles sur les fibres, ceci du point de vue énergie d'activation.

On constate une nette différence entre les conifères représentés ici par *Pinus radiata*, et les feuillus ainsi que les graminées.

A notre avis, le paramètre le plus révélateur du point de vue cinétique de solubilisation, est  $x_{r0}$ .

En effet, ce paramètre est très significatif pour les feuillus et les graminées dont la proportion est de 0.6 à 0.90, cela veut dire qu'on pourrait facilement enlever de 60 à 90% des hémicelluloses initialement présentes sur les fibres de biomasse.

Une valeur de 70% est rapportée par les travaux de TORRES et al. (1986) [215], sur le fractionnement des *Populus tremuloïdes*, par traitement thermomécanique en phase aqueuse.

MALONEY et al. (1985) [125] et (1986) [129], dans une simulation suivant la cinétique classique ont obtenu une valeur de 0.68 pour la fraction des hémicelluloses rapidement solubilisables dans le bouleau (*Betula papyrifera*). Nos résultats sont en accord avec ceux de MALONEY et al. [130], et ils permettent d'atteindre une convergence via l'utilisation du facteur de sévérité  $R_B$ .

L'essai expérimental sur les tiges de maïs concernant la détermination de  $x_{r0}$  par la méthode décrite par DUTOIT et al., confirme quasiment la validité de la valeur prédite de  $x_{r0}$ , pour le modèle 2, d'après le tableau suivant :

| Modèles | $x_{r0}$ prédit | $x_{r0}$ expérimental | Ecart (%) <sup>1</sup> |
|---------|-----------------|-----------------------|------------------------|
| 1       | 87.70           | 74.18                 | ≈ 18                   |
| 2       | 67.50           | 74.18                 | ≈ 9                    |

$$^1 \text{Ecart (\%)} = \frac{|x_{r0 \text{ exp}} - x_{r0 \text{ prédit}}|}{x_{r0 \text{ exp}}} \cdot 100$$



Pour les conifères, représentés ici, par *Pinus radiata*, la proportion est beaucoup plus faible, elle n'est que d'environ 21 %, d'après le modèle 2.

Nous aurions apprécié, qu'il y ait plus de données sur le fractionnement des pins, sur une gamme de température et/ou de temps de résidence, et pour une certaine gamme de concentration en acide, afin d'être sûrs de la valeur trouvée de 21 %.

Notons que les résultats semblent cohérents, pour ce qui est des tendances pour l'ensemble des paramètres, surtout en ce qui concerne les énergies d'activation ou celles-ci sont entre 20 et 35 Kcal/mole, conformes aux valeurs trouvées dans la littérature.

→ La tendance remarquée, à savoir que le paramètre  $x_{10}$  est plus grand pour les feuillus et les graminées que pour les conifères doit être reliée à la structure même de hémicelluloses et de la manière dont elles sont branchées, BELKACEMI et al. (1987) [14].

Effectivement le comportement hydrolytique des liaisons glycosidiques est influencé par deux effets qui pourraient être inter-dépendants ou non:

- la conformation des unités monomériques du "squelette" osidique
- l'effet inductif des substituants des cycles.

Ce dernier décrit le fait que différents substituants du cycle altèrent la densité électronique de l'oxygène, comme c'est indiqué sur cette figure :

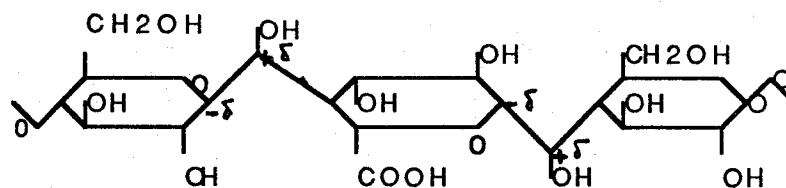


Figure 55 - Effet inductif sur les groupements carboxyliques au cours de l'hydrolyse acide, FENGEL et WEGENER (1984)

Ceci a pour effet global de stabiliser le cycle et de modifier l'abilité à l'hydrolyse de la

liaison C-O-C.

Ce qui expliquerait donc l'hydrolyse partielle des xylanes branchées avec des groupements acide - 4-O-méthyl-glucuroniques.

Comme les conifères sont plus riches en acides uroniques, FENGEL et WEGNER (1984) [68], ceci concorde parfaitement avec nos résultats de modélisation.

BARNET (1984) [11], en étudiant l'autohydrolyse rapide du bois du peuplier, suggère que l'hydrolyse des hémicelluloses ne se fait pas d'une façon aléatoire le long de la chaîne des xyloses mais, préférentiellement dans des positions désacétylés des xylanes et des oligomères formés.

Il conclut qu'il existe aussi une stabilisation de la liaison glycosidique par la présence des groupements acétylés et ce, par interaction de type hydrophobe des groupements conduisant à une attaque difficile par  $H^+$  sur l'oxygène.

Cette stabilisation joue un rôle "protecteur" et est assimilée à celle des acides uroniques, ce qui confère aux groupements acétylés:

- un rôle "accélérateur" de l'hydrolyse par la libération de l'acide acétique.
- un rôle "ralentisseur" de l'hydrolyse dû à la stabilisation des liaisons C-O-C.

Ce même phénomène de stabilisation est rapporté aussi dans les travaux de CONNER et al. (1984) [38], MOELWYN-HUGES (1928) [138], INGVAR JOHANSSON et al. (1963) [103].

## **9 - Conclusions du chapitre:**

La modélisation de la solubilisation des hémicelluloses peut être approchée par le concept de deux cinétiques de solubilisation de premier ordre, l'une rapide et l'autre lente, ceci en conformité avec de nombreux auteurs et travaux.

Cette modélisation est conduite via l'utilisation de la sévérité du prétraitement décrite

par le facteur  $R_B$  qui découle d'une signification thermodynamique, lié à l'existence d'un "effet de compensation" et d'une "température isocinétique" et d'un concept basé sur le mécanisme conformationnel développé pour des réactions homogènes, applicable aussi pour des réactions hétérogènes si on tient compte de "l'accessibilité limitée des réactifs". Cette dernière est introduite dans le modèle par le biais de  $x_{r0}$  : la fraction des hémicelluloses facilement hydrolysables.

## CHAPITRE 6

### HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES HEMICELLULOSES SOLUBILISEES

#### 1- Introduction

Alors que l'hydrolyse enzymatique de la cellulose et sa cinétique ont été extensivement étudiées, relativement, très peu est connu à propos de l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses, ainsi que sa cinétique de dégradation, par voie enzymatique.

En effet, le peu de travail qui a été fait jusqu'à présent traite de l'hydrolyse des xylanes à l'état de polymère non soluble (KHAN et al. (1987) [111]; DALY et al. 1983 [42]; GORBACHEVA et al. (1977) [83], [80]).

Pour le cas des hémicelluloses solubles obtenues par prétraitement quelconque, la littérature en est presque dépourvue.

Il est très important de relever quelques travaux, en l'occurrence, celui de YUNDT en ... 1951! qui a travaillé sur l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses obtenues à partir des tiges d'orge.

Ce travail revête un caractère important pour le nôtre, car il constitue une base de comparaison valable, vu que YUNDT [240] a utilisé le même système enzymatique: Cellulases d'*Aspergillus niger*, et à peu de choses près, il a travaillé dans les mêmes conditions d'hydrolyse que celles qu'on a utilisé.

Il est intéressant de mentionner aussi le travail de DEHORITY (1967) [46], relatif à la dégradation des hémicelluloses par des cultures pures de bactéries cellulolytiques (*Rumino cocci* (Rumen Bacteria)).

Un autre travail tout aussi intéressant est celui de KAZUMASA SHIMIZU et al. (1983) [109], qui ont travaillé sur une certaine variété de bois du Japon, feuillus (44 espèces) et les conifères (6 espèces) par auto-hydrolyse et hydrolyse enzymatique des filtrats riches en xylose

par l'enzyme "MEICELASE-P", dérivé du fungus *Trichoderma viride*.

Il faut dire que dans ces derniers articles concernant l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses, la méthodologie employée est juste mentionnée, mais pas explicitement décrite.

Après les prétraitements thermo-mécano-chimiques effectués sur les tiges de maïs est sur l'Alfa dans le procédé UdeS-H, dans les conditions optimales de solubilisation des hémicelluloses, celles-ci contenues dans les filtrats récupérés, constituées essentiellement d'oligomères, doivent être hydrolysées par un système d'enzymes appropriés, afin de les réduire en forme de monomères pour des utilisations ultérieures (fermentation par *Candida utilis* ).

Pour ce faire, différents systèmes enzymatiques sont essayés entre autres:

- les hémicellulases
- les cellulases
- les  $\beta$ -D-xylosidases

ainsi que leur combinaison, pour dévoiler les actions synergiques entre ces différents enzymes.

## **2- Présentation des enzymes utilisés - Spécifications:**

Trois systèmes enzymatiques ont été utilisés fournis par Sigma .Ils proviennent tous d'un même microorganisme: *Aspergillus niger*.

### **Description:**

#### **2-1 Hémicellulases:**

Poudre partiellement soluble dans l'eau, standardisée avec du lactose, contenant une activité cellulolytique.

*Activité:* 0.026 UI/mg poudre du système  $\beta$ -galactose déhydrogenase.

*Définition de cette activité:* 1 Unité (UI) libère 1.0  $\mu$ mole de D-galactose à partir des hémicelluloses par heure à pH = 5.5 et à 37°C.

*Activité cellulolytique:* 0.018 UI/mg poudre

*Définition de cette activité:* 1 Unité d'activité cellulolytique, libère 1  $\mu$ mole de D-

glucose à partir de la cellulose par heure à pH = 5.0 et à 37°C.

## 2-2 Cellulases:

Cellulase de type I (Sigma), poudre complètement soluble dans l'eau, contenant d'autres activités enzymatiques,

*Activité:* 0.5 UI/mg poudre. Cette activité étant déjà définie.

2-3  $\beta$ -D-xylosidases ( $\beta$ -1-4-D-xylosidase,  $\beta$ -1-4-D-xylane xylohydrolase EC 3.2.1.27). Poudre partiellement purifiée, suspendue dans une solution de 3.5M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  et 50 M acetate, pH = 5.2.

En plus des deux enzymes  $\beta$ -1-4-D-xylosidase et  $\beta$ -1-4-D-xylane xylohydrolase, d'autres enzymes sont présents comme impuretés:

- $\beta$ -galactosidase (lactase) 25% des impuretés
- $\alpha$ -galactosidase (lactase) 10% des impuretés
- $\beta$ -N-acetylglucosamidase 50% des impuretés

Activité: 4.9 UI/mg protéine (0.496 mg protéine/ml) = 0.0024 UI/ $\mu$ l

*Définition de cette activité:* 1 UI hydrolyse 1.0  $\mu$ mole O-nitrophenyl- $\beta$ -D-xyloside en O-nitrophenol et D-xylose par minute à pH = 5.0 et à 25°C.

## 3- Hydrolyse enzymatique avec des enzymes libres

### 3-1 Méthodologie appliquée:

#### 3-1-1 Préparation de la solution tampon (citrate de Na).

1-1 - Préparer une solution de citrate de sodium 0.1 M (29.041 g/l, pH = 8.00).

1-2 - Ajuster le pH de la solution à 5.5 à l'aide d'une solution 0.1 N d'HCl.

1-3 - Ajouter 50 mg de  $\text{NaN}_2$  (sodium azide), comme préservatif contre les contaminations microbiennes;

**Spécifications du tampon obtenu:**

- ion tampon citrate, 0.1M
- pH = 5.5
- 0.005%  $\text{NaN}_2$

**3-1-2 Protocole expérimental:**

Le protocole expérimental adopté est simple et est en conformité avec ceux utilisés pour mesurer l'activité enzymatique des hydrolases rapportée par plusieurs études.

Dans notre cas, on prend environ 20 ml du filtrat à hydrolyser, on l'évapore à sec, par lyophilisation, après on ajoute 20 ml de la solution tampon, 20 $\mu$ l de la solution de  $\beta$ -D-xylosidases et une certaine quantité de cellulase ou des hémicellulases, et on mesure le pH. Celui-ci doit être entre 5.2 à 5.4.

On procède ensuite à l'hydrolyse enzymatique, en mettant le mélange substrat-enzymes dans des erlenmeyers de 50 cm<sup>3</sup>, on les place après dans un incubateur rotatif placé dans une salle dont la température est réglée, constante à 30°C  $\pm$  0.1°C.

Les conditions d'hydrolyse sont donc:

- T = 30 ° C
- pH = 5.2 - 5.4
- temps d'hydrolyse: 0 - 48 h.
- vitesse de rotation: 180-200 tours/min.

A un temps bien défini, on retire un aliquot du mélange (hydrolysats). Celui-ci est mis dans un tube à essai.

On inactive ensuite rapidement la réaction d'hydrolyse dans de l'eau bouillante préalablement préparée pendant 10 minutes afin de dénaturer les enzymes et on procède alors à une microfiltration à 0.45  $\mu$ m.

A 2 ml du filtrat on ajoute alors 3.0 à 6.0 mg de sorbitol et on homogénéise. Celui-ci nous sert de standard interne afin de faire la quantification des monomères par

chromatographie HPLC.

Cette méthode s'est révélée rapide assez précise et versatile par rapport à d'autres méthodes (colorimétriques, par exemple, qui souffrent d'imprécision pour le cas de filtrats complexes, obtenus par prétraitement thermo-mécano-chimique des matériaux lignocellulosiques). La figure 56, résume ce protocole.

### 3-2 Essais préliminaires faits et grilles expérimentales réalisées:

Pour savoir qu'elle est la combinaison enzymatique la plus apte et efficace à être utilisée pour nos substrats, on a procédé à des essais préliminaires en nombre de quatre et qui sont comme suit:

| Essais | Substrats | Hémicellulases | $\beta$ -D-Xylosidase | Cellulases |
|--------|-----------|----------------|-----------------------|------------|
| 1      | FABK      | -              | +                     | -          |
| 2      | FMBK      | +              | +                     | -          |
| 3      | FMBK      | -              | +                     | +          |
| 4      | FABK      | -              | +                     | +          |

Les spécifications de chaque essai apparaissent dans les tableaux des résultats, appendices C-1 et C-2.



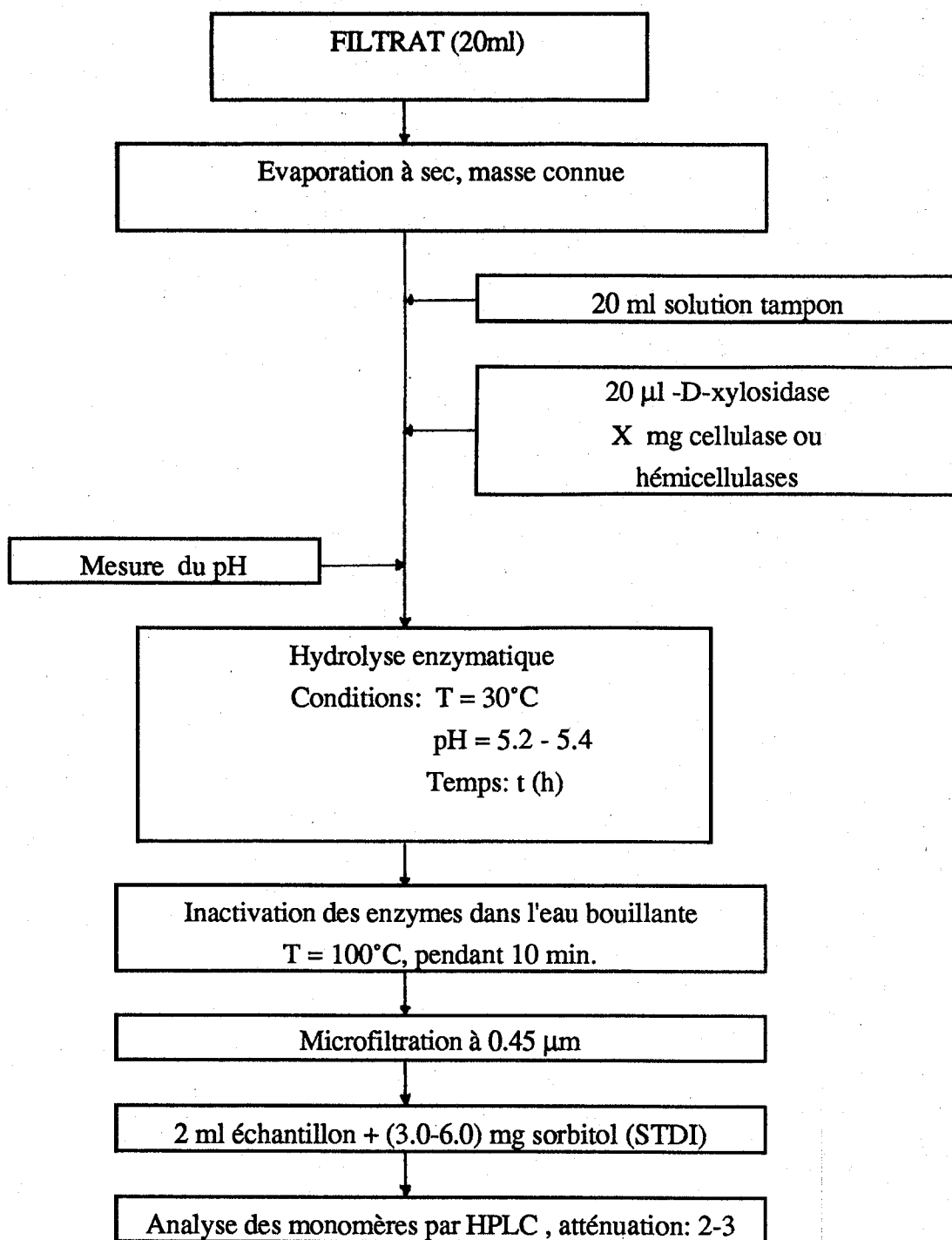


Figure 56. Protocole expérimental de l'hydrolyse enzymatique

### 3-2-1 Grilles expérimentales utilisées

- Tiges de maïs

| Milieux <sup>1</sup><br>No. | Filtrats liquides<br>évaporés (ml) | Tampon<br>(ml) | Cellulases<br>(mg) | β-Xylosides<br>(μl) | Activité<br>(UI/mg) <sup>2</sup> |
|-----------------------------|------------------------------------|----------------|--------------------|---------------------|----------------------------------|
| FMBK-H1                     | 20                                 | 20             | 0.6                | 20                  | 0.00113                          |
| FMBK-H2                     | 20                                 | 20             | 1.7                | 20                  | 0.00320                          |
| FMBK-H3                     | 20                                 | 20             | 15.9               | 20                  | 0.03000                          |
| FMBK-H4                     | 20                                 | 20             | 159.2              | 20                  | 0.30000                          |
| FMBK-H5                     | 20                                 | 20             | 7.0                | 20                  | 0.01320                          |

- *Stipa tenacissima*:

| Milieux <sup>1</sup> | Filtrats<br>(ml) | Tampon<br>(ml) | Cellulases<br>(mg) | β-Xylosidases<br>(μl) | Activité<br>(UI/mg) <sup>2</sup> |
|----------------------|------------------|----------------|--------------------|-----------------------|----------------------------------|
| FABK-H1              | 20               | 20             | 0.6                | 20                    | 0.00355                          |
| FABK-H2              | 20               | 20             | 3.0                | 20                    | 0.01777                          |
| FABK-H3              | 20               | 20             | 9.0                | 20                    | 0.05322                          |
| FABK-H4              | 20               | 20             | 20.7               | 20                    | 0.12260                          |
| FABK-H5              | 20               | 20             | 86.3               | 20                    | 0.51100                          |

<sup>1</sup> FABK - H : Fractionnement - Alfa - Belkacemi - Khaled - Hydrolyse enzymatique

FMBK - H : Fractionnement - Tiges de maïs - Belkacemi - Khaled - Hydrolyse enzymatique

<sup>2</sup> Activité définie en unités internationales par mg de filtrat sec

### 3-3 Méthode de quantification - Calculs:

Pour le cas des hémicellulases un test "d'hydrolyse des enzymes" dans les mêmes conditions décrites révèle la présence du glucose et du galactose.

Cette présence de sucres réduits dûs au système lui-même est prise en considération dans les calculs, pour le cas des hydrolyses avec des hémicellulases; ceci est dû, en fait, à l'hydrolyse du lactose (élément de standardisation de l'enzyme), qui, en présence surtout de la galactosidase (lactase), l'hydrolyse en glucose et en galactose suivant la réaction:

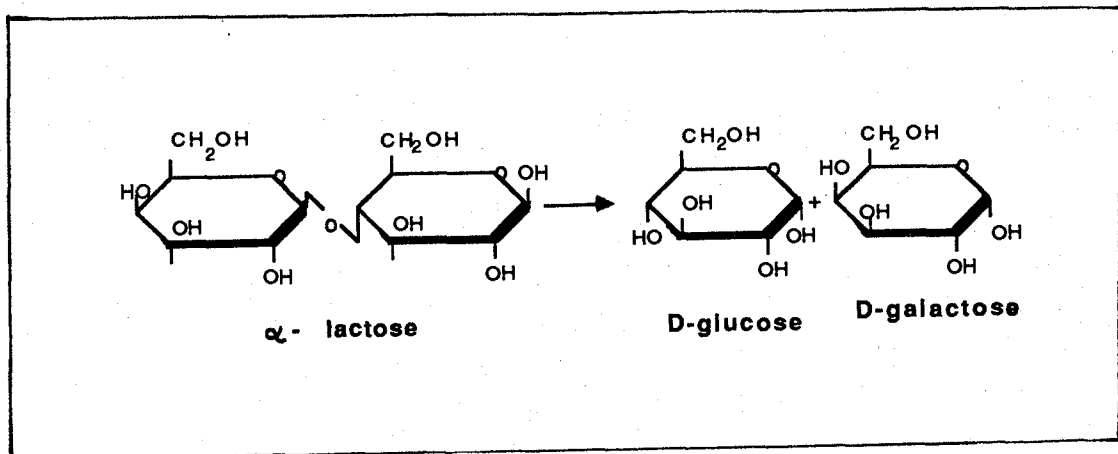


Figure 57 . Hydrolyse du lactose

Dans le cas de la cellulase, le test "hydrolyse des enzymes", ne révèle la présence d'aucun sucre, comme le montre le chromatogramme, (voir appendice F ).

Etant donné, la présence de sucres monomères dans les filtrats avant toute hydrolyse enzymatique, ces derniers sont soustraits et tenus en compte dans les calculs.

Pour savoir si l'hydrolyse enzymatique est complète ou non, on doit comparer les échantillons hydrolysés enzymatiquement à l'échantillon post-hydrolysé avec  $H_2SO_4$ , dans les conditions optimales.

En tenant compte des pertes engendrées par cette poste-hydrolyse acide des filtrats, relativement à chaque sucre, on fait l'hypothèse que celle-ci représente 100% de saccharification des oligomères contenus.

**Formules de calculs:**

$$\text{- Sucres} = \sum_i \text{sucres}_i \quad (\text{mg})$$

$$\text{- Ratio} = \text{Sucres/masse filtrat sec} \quad (\text{mg/mg}) \quad [79]$$

$$\% \text{ de saccharification} = \frac{\text{Ratio}(t) - \text{Ratio}(0)}{\text{Ratio}(\text{p.h.}) - \text{Ratio}(0)} \times 100.0 \quad [80]$$

où :

Ratio(t): Ratio obtenu après t heures d'hydrolyse enzymatique, corrigé par rapport aux sucres libérés par les enzymes eux-mêmes, pour le cas des hémicellulases.

Ratio(0): Ratio à t = 0.0 (aucune hydrolyse)

Ratio(p.h.): Ratio après poste-hydrolyse à l'acide.

Il faut mentionner qu'à chaque fois qu'on commence l'hydrolyse enzymatique des filtrats, 3 tests préliminaires sont faits:

1. dosage des monomères dans le filtrat de départ, ceci afin de déterminer les sucres se trouvant avant l'hydrolyse enzymatique

Tests: FMBK-O-NH (tiges de maïs)

FABK-O-NH (Alfa)

2. dosage des monomères dans le filtrat évaporé à sec et mélangé uniquement avec la solution tampon, sans présence d'enzymes, afin de voir s'il y a altération des oligomères par la solution tampon

Tests: FMBK-O-NH1 (tiges de maïs)

FABK-O-NH1 (Alfa).

3. dosage des monomères des filtrats poste-hydrolysés à l'acide H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans les conditions optimales, ceci afin de les comparer aux tests d'hydrolyse enzymatique, en faisant l'hypothèse que ce test représente le 100% de saccharification.

Tests: FMBK-O-PH (tiges de maïs)

FABK-O-PH (Alfa).

Tous les autres tests sont codés de la manière suivante:

FABK-H-ij      i = 1,5

FMBK-H-ij      j = 1,6.

Explication du codage:

FABK, FMBK (Filtrats obtenus par fractionnement dans les conditions optimales).

H: relatif à hydrolyse enzymatique.

i: entier relatif au No du milieu.

j: entier relatif au temps d'hydrolyse.

( Voir tableaux des résultats, appendice C-2).

Il faut préciser que les oligomères et polymères qui restent non hydrolysés sont estimés par quantification avec HPLC utilisant la méthode de standard interne.

L'injection de quelques oligo-maltoses et la partie soluble des xylanes (Sigma) dans la colonne Biorad HPX, dédiée aux monomères révèle des pics dont le taux de recouvrement (% de pertes par rapport aux vraies quantités) est non significatif, c'est-à-dire que:

$$\frac{\text{Quantité calculée par HPLC}}{\text{vraie quantité}} \simeq 1.0.$$

### **3-4 Résultats expérimentaux**

Les résultats expérimentaux de l'hydrolyse enzymatique des filtrats sont reportés dans les tableaux mis en appendices C-1 et C-2.

Pour chaque ensemble d'expériences réalisées pour une quantité d'enzyme bien déterminée, il correspond deux formes de tableaux:

- le tableau rapportant le profil des différents sucres monomères solubilisés ainsi que la saccharification dans le temps.
- le tableau rapportant le profil des polymères oligomères et monomères dans les

hydrolysats et ceci dans le temps.

Ces résultats sont aussi représentés par les figures 58 à 70.

### **3-5 Discussions et interprétations des résultats expérimentaux:**

De l'étude préliminaire, on constate essentiellement les faits suivants:

- la facilité avec laquelle l'hydrolyse enzymatique des oligomères solubilisés est réalisée, si on utilise le système cellulase d'*Aspergillus niger*
- avec ce système, la réaction enzymatique est très rapide dans les premières heures, après elle se stabilise dans le temps
- après 24 h d'hydrolyse enzymatique, pratiquement tous les oligomères solubles sont hydrolysés
- un fait remarquable, est la vitesse élevée avec laquelle, les oligomères identifiés par HPLC, qui de surcoût sont neutres sont dépolymérisés instantanément pour le cas des filtrats des tiges de maïs, et après quelques minutes pour les filtres de *Stipa tenacissima* (Alfa).

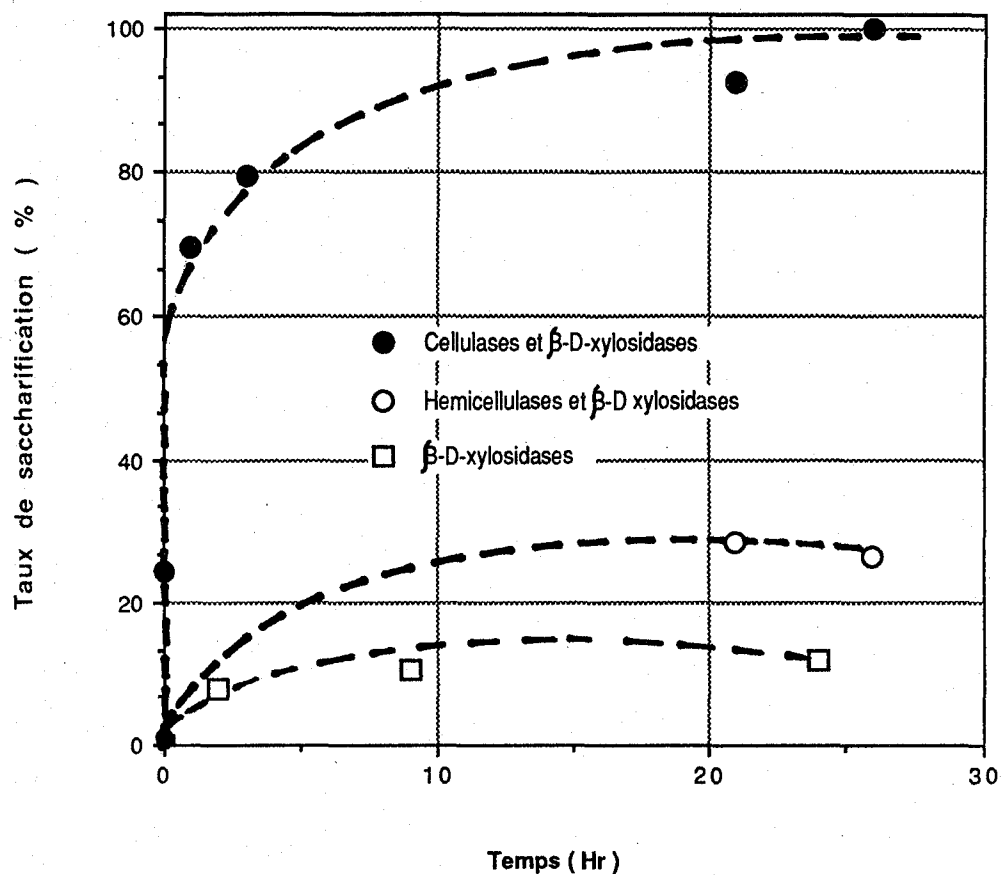
Rappelons que ces filtrats sont obtenus pour les tiges de maïs avec la présence de 1% (poids d'acide/poids de biomasse sèche) , mais par contre, pour l'Alfa, ils sont obtenus par auto-hydrolyse (sans apport d'acide).

Donc, d'emblée, on remarque l'effet de l'incorporation de l'acide lors du prétraitement sur l'hydrolyse enzymatique des oligomères solubles.

Dans le cas d'un prétraitement avec acide, ces derniers se trouvent solubilisés avec des degrés de polymérisation sûrement plus faibles que lors d'un prétraitement sans acide supplémentaire, ce qui par conséquent, facilite leur hydrolyse par les enzymes.

Le système  $\beta$ -D-xylosidase incorporé tout seul, est incapable de réaliser l'hydrolyse enzymatique des oligomères solubles, mais incorporé en présence des cellulases, il démontre bien son action synergique avec ces dernières, et la saccharification est presque totale . On suggère d'utiliser ces systèmes enzymatiques dont l'activité est très élevée , voir figure 58.

La quantification des sucres est rendue difficile, si on utilise le système hémicellulases qui



**Figure 58. Mise en évidence de l'action synergique des enzymes - comparaison Hémicellulases - Cellulases d'A. niger**

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

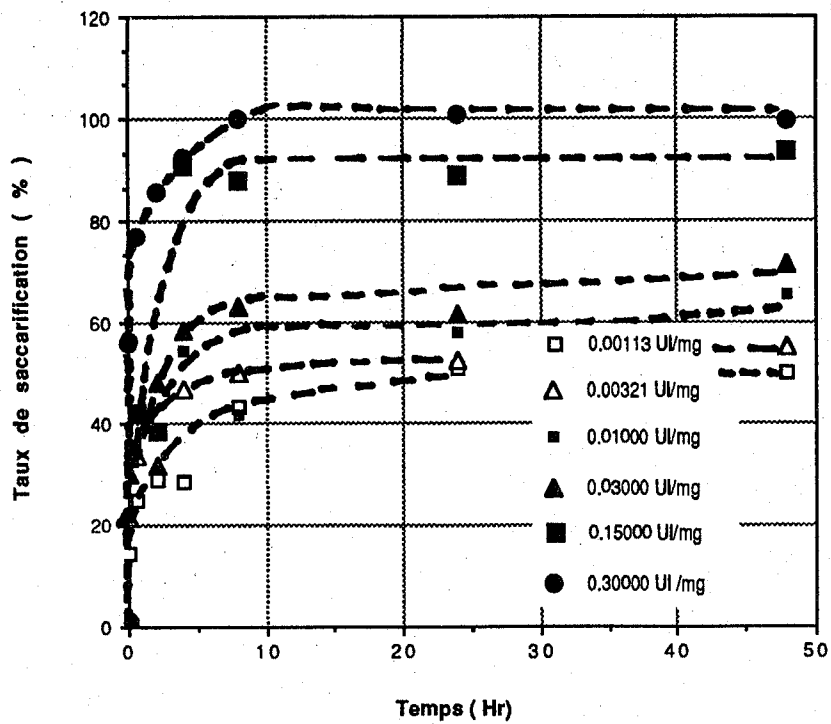


Figure 59. Hydrolyse enzymatique des filtrats des tiges de maïs - cas des enzymes libres

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

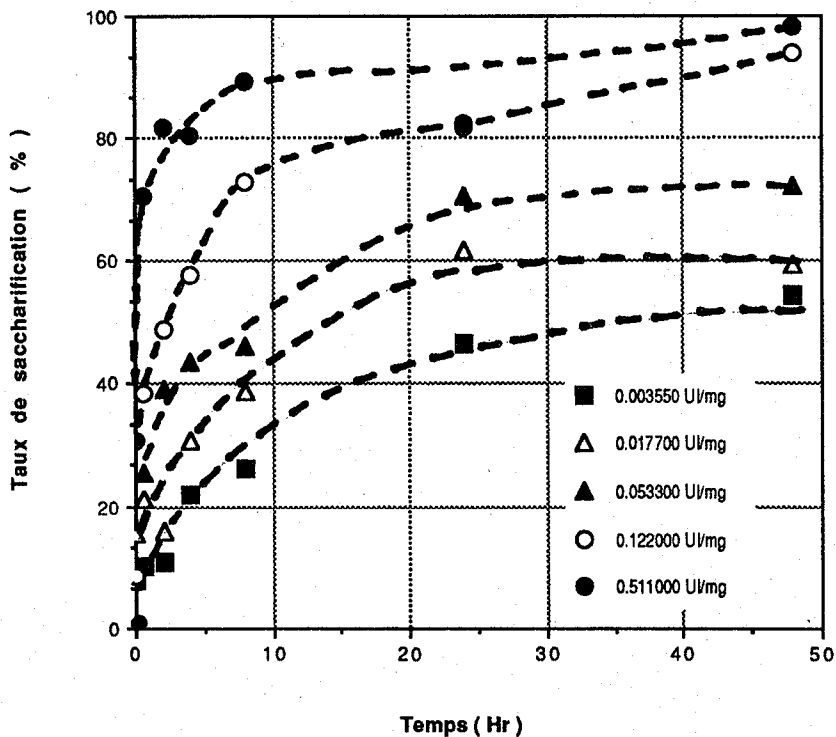


Figure 60. Hydrolyse enzymatique des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas des enzymes libres



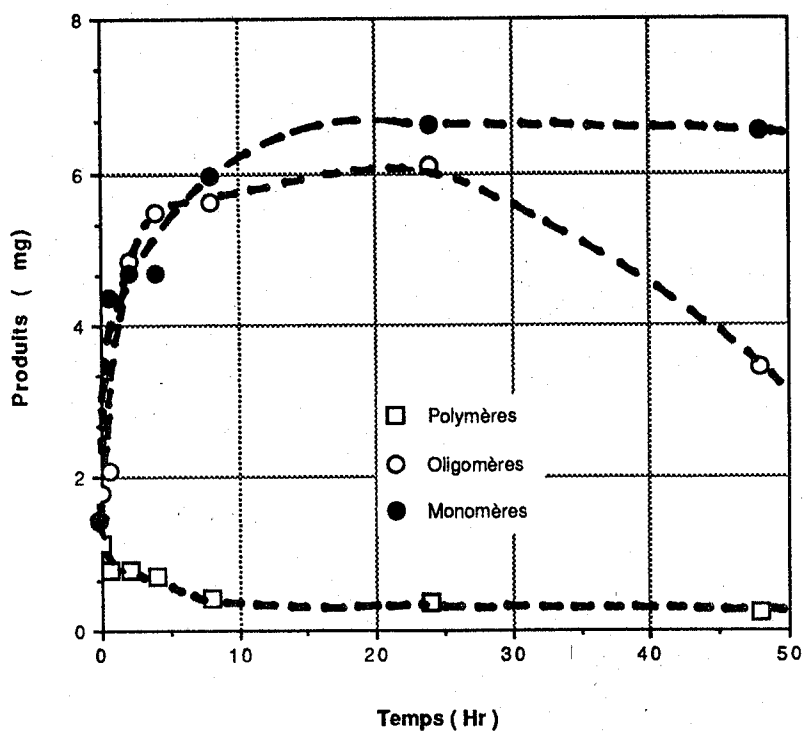


Figure 61. Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs - cas où ENZF = 0.00113 UI/mg

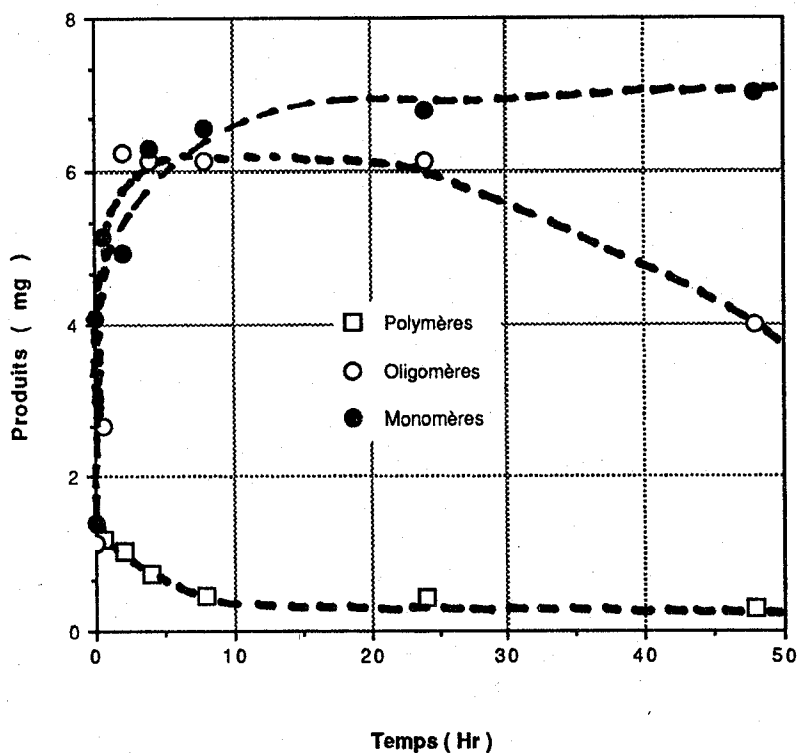


Figure 62. Profils substrat - produits des filtrats des tiges de maïs - cas où ENZF = 0.00321 UI/mg

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

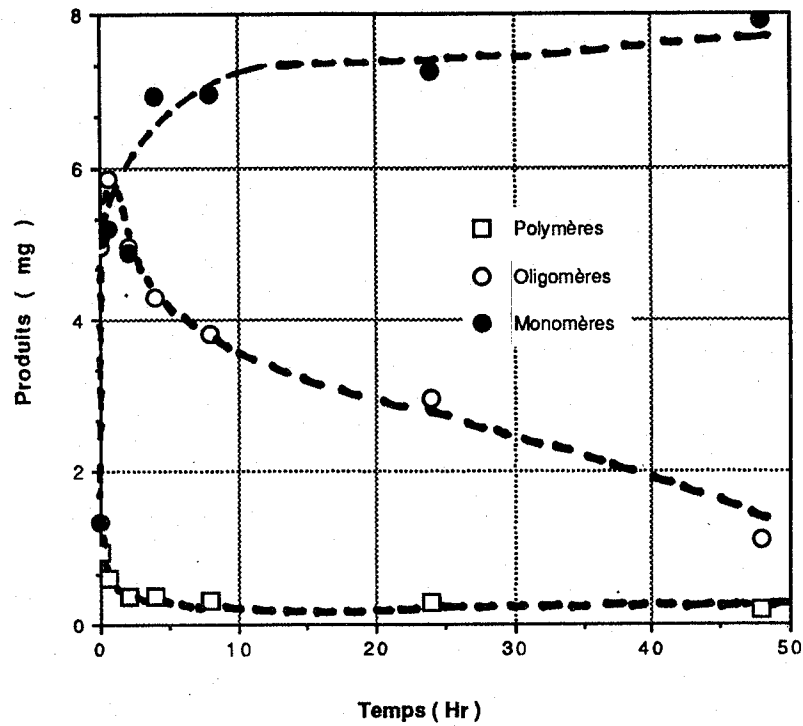


Figure 63. Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs - cas où ENZF= 0.01320 UI/mg

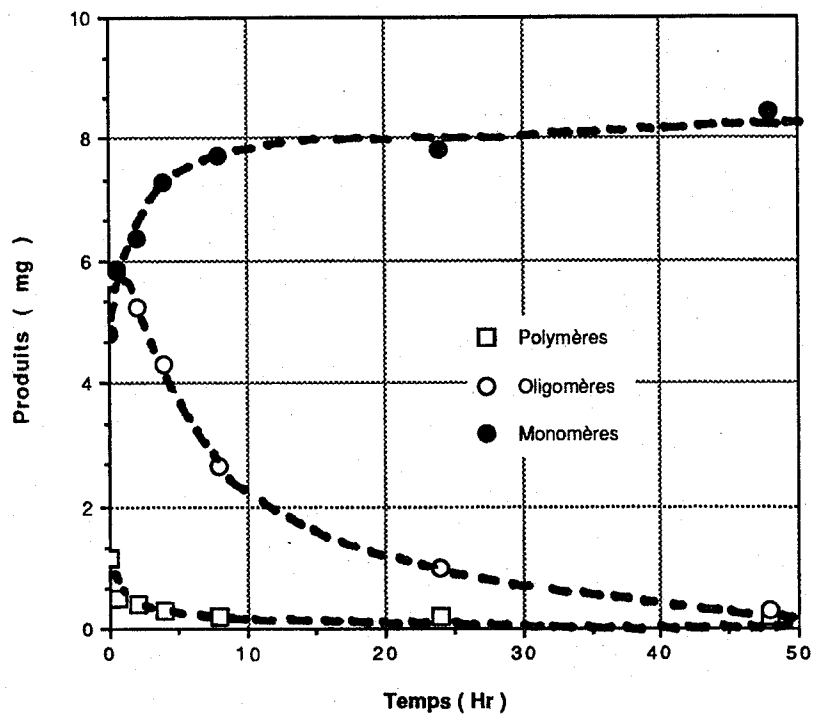


Figure 64. Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs - cas où ENZF= 0.03000 UI/mg

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

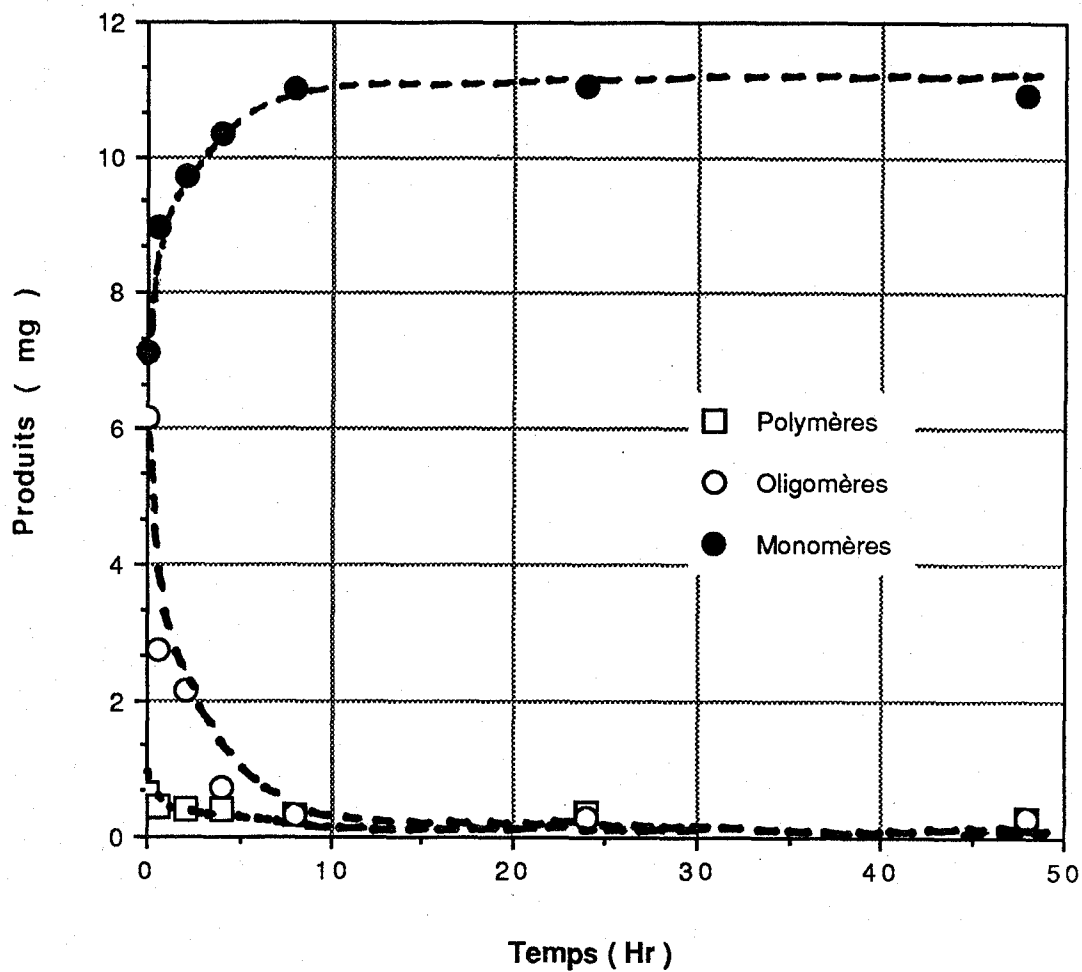


Figure 65. Profils substrat-produits des filtrats des tiges de maïs - cas où ENZF = 0.3000 UI/mg

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

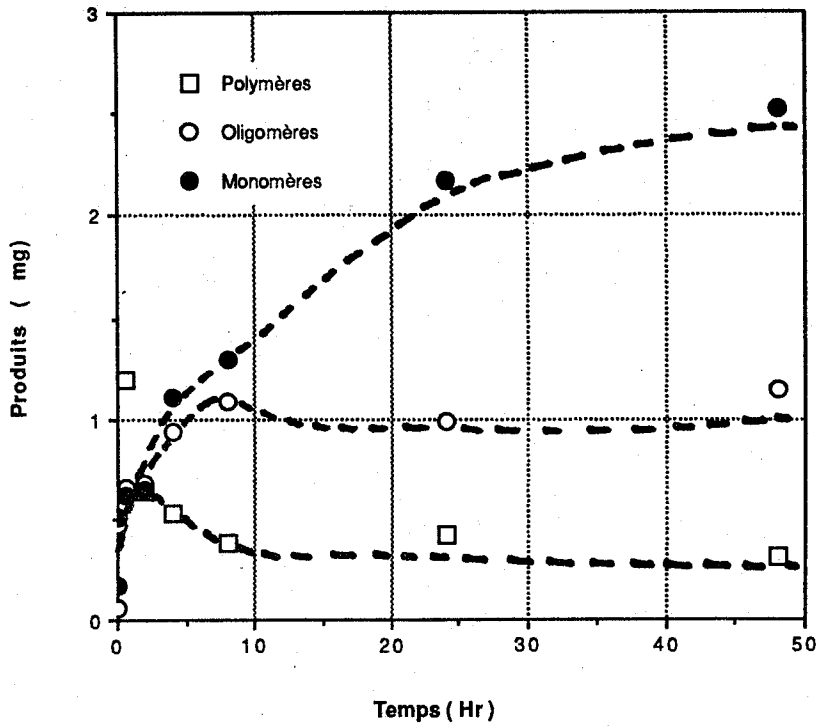


Figure 66. Profils substrat-produits des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas où ENZF=0.00355 UI/mgr

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

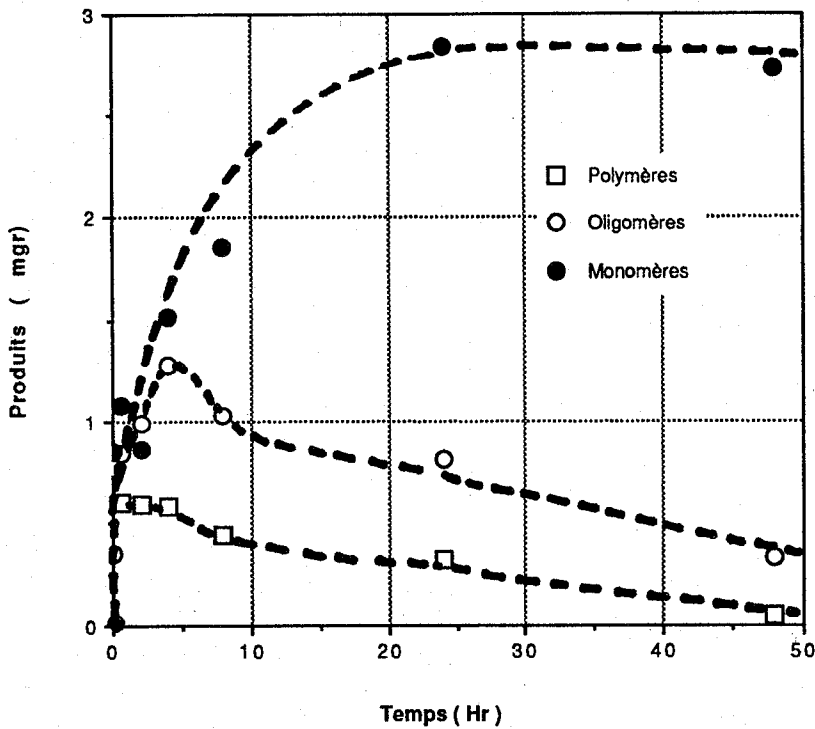


Figure 67. Profils substrat-produits des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas où ENZF = 0.01777 UI/mg

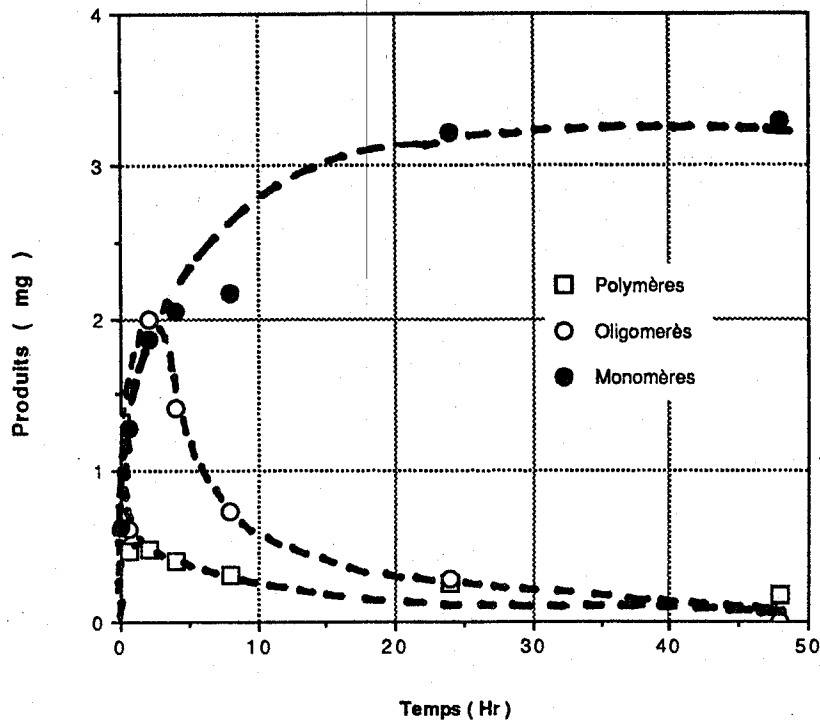


Figure 68. Profils substrat - produits des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas où  $ENZF = 0.05332$  UI/mg

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

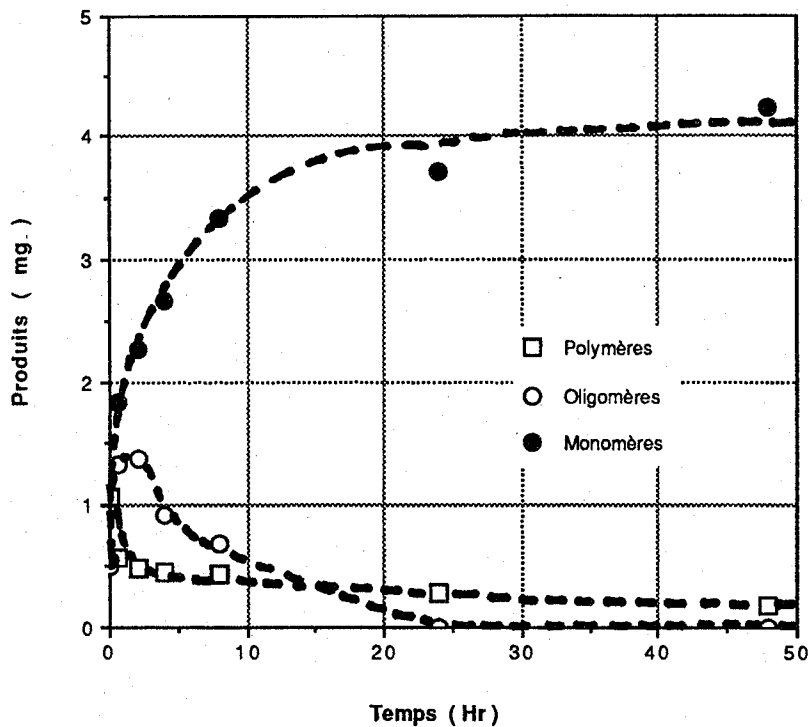


Figure 69. Profils substrat - produits des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas où  $ENZF = 0.12226$  UI/mg

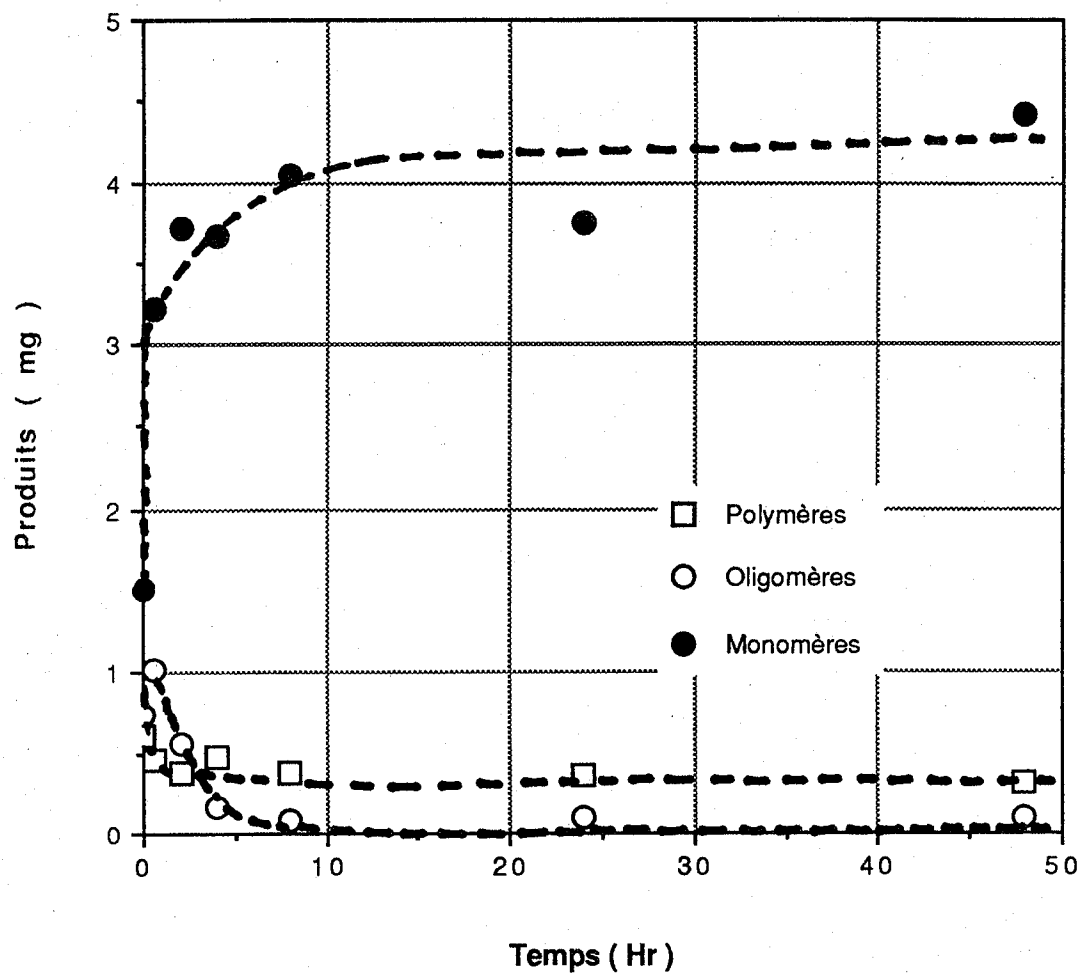


Figure 70. Profils substrat -produits des filtrats de *Stipa tenacissima* - cas où ENZF = 0.51100 UI/mg

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

en plus , des sucres libérés par le système lui-même, entache celle-ci d'erreurs à cause de l'apparition d'un pic important dû aux hémicelluloses qui "masquent" carrément l'apparition des pics dûs aux sucres! (voir les chromatogrammes en appendices F).

De l'étude proprement dite de l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses obtenues pour les tiges de maïs et *Stipa tenacissima*, employant les grilles expérimentales proposées plus haut on retient les constatations suivantes:

- l'hydrolyse est très rapide dans la première à la deuxième heure, puis se stabilise graduellement, pour finalement atteindre un palier (atteinte du régime permanent), voir figures 59 et 60. Ce profil a été vérifié et rapporté par plusieurs auteurs, YUNDT (1951) [240] et DEHORITY (1967) [47] pour le cas des hémicelluloses, DIANE KNAPERT (1981) [56], SAWADA et NAKAMURA (1985) [181], DIANE KNAPERT et al. (1981) [57], TARGONSKY (1985) [210], LINDEN et al. (1982) [126], GRETHLEIN et CONVERSE (1982) [88], BLANCH et WILKES (1982) [22] pour la cellulose, LAMPTEY et al. (1985) [120] pour les tiges de maïs

- la concentration d'enzyme de départ fait augmenter le taux de saccharification. Il faut remarquer que plus cette dernière est importante plus la réaction est rapide, dans ces premières heures, ce qui nous incite donc à réfléchir quant à un compromis concentration d'enzymes/temps d'hydrolyse.

D'après nos résultats, si on veut retenir un temps d'hydrolyse d'environ 24 h , la concentration optimale d'enzymes à utiliser est  $\geq 0.12$  UI/mg de filtrat sec pour le cas de *Stipa tenacissima* correspondant à  $\simeq 90$  % de saccharification. Elle est  $\geq 0.06$  UI/mg de filtrat sec pour les tiges de maïs, correspondant à un taux  $\geq 90$  % de saccharification.

Par contre si on veut retenir un temps d'hydrolyse plus court,  $\simeq 4$  h , une concentration de 0.3 UI/mg de filtrat sec doit être utilisée pour les tiges de maïs et  $\geq 0.5$  UI/mg de filtrat sec pour l'Alfa ceci afin de satisfaire un taux  $\simeq 90$ % de saccharification.

Une fois de plus, on constate qu'il faut plus d'enzymes pour le substrat d'Alfa car les hémicelluloses obtenues dans ce cas-ci, sont essentiellement en forme d'oligomères plus longs

que ceux obtenus pour les tiges de maïs.

Ceci est tout à fait normal, car l'hydrolyse avec l'acide dilué a eu aussi une certaine contribution.

Si on observe les figures 61 à 70, montrant les profils d'hydrolyse des polymères et oligomères et la production des monomères, on s'aperçoit que très rapidement aux premières heures de la réaction les polymères diminuent, les oligomères apparaissent rapidement, passent par un maximum puis se dégradent de plus en plus et disparaissent complètement à des temps relativement longs et des concentrations d'enzymes élevées.

Le maximum observé pour le cas des oligomères se trouve déplacé dans le temps, en fonction de la concentration d'enzymes utilisés.

En effet, il apparaît aux premières heures et ceci pour des concentrations d'enzymes élevées, tandis que sa manifestation ne se produit qu'après moins d'une dizaine d'heures pour des concentrations très faibles d'enzymes.

Tous ces profils sont observés pour le cas des deux substrats: les tiges de maïs et *Stipa tenacissima*, ce qui rappelle "cinétiquement parlé" des réactions successives.

Ceci est dû à l'action synergique des différents systèmes enzymatiques mis en jeu, où l'action hydrolytique des uns complètent celle des autres.

Les cellulases sont connues comme un amalgame d'enzymes possédant dans la plupart des cas une activité xylanolytique assez prépondérante pour hydrolyser les xylanes et les xylanopyranosides.

### **3.6 - Conclusion tirée de cette partie :**

L'utilisation d'enzymes sous leur forme libre pour hydrolyser les hémicelluloses obtenues par prétraitement thermo-mécano-chimique requiert des concentrations importantes exprimées en unités internationales d'activité d'enzymes par mg de filtrat sec.

Leur addition à des concentrations faibles dans de grands volumes du milieu à traiter rend aléatoire leur récupération dans des conditions économiques déterminées, ce qui par



conséquent limite leur emploi.

Ceci nous amène à réaliser l'hydrolyse des oligomères solubles des hémicelluloses par la technique d'hydrolyse par immobilisation d'enzymes sur un support.

#### **4- Hydrolyse enzymatique avec enzymes immobilisés:**

##### **4-1 Introduction:**

La rétention d'enzymes dans une phase insoluble, connue sous le nom d'immobilisation d'enzymes, a suscité un grand intérêt et de nombreux travaux de recherche.

Dans un domaine théorique, l'immobilisation d'un enzyme sur un support de structure parfaitement déterminée, permet d'élaborer des hypothèses quand à son fonctionnement *in vivo*. En effet, il est maintenant connu que la plupart des enzymes agissent *in vivo*, non pas à l'état libre, mais à l'état fixé, notamment au niveau des structures membranaires des cellules et de leur organites.

Dans le domaine pratique, l'immobilisation des enzymes offre la possibilité d'une mise en oeuvre continue, ou de l'utilisation répétée du biocatalyseur.

Sur le plan technologique, l'immobilisation d'enzymes conduit à un meilleur contrôle de l'activité, en jouant sur le temps de résidence et sur les conditions de mise en oeuvre dans les réacteurs.

Précédemment, on a mentionné un compromis quantité d'enzymes/temps de réaction, où pour avoir des rendements acceptables pour un temps de réaction relativement pas long, il fallait utiliser des concentrations d'enzymes élevées, ce qui, dans un plan purement pratique revient cher et non rentable.

L'objectif fixé dans ce qui suit, est de faire une étude expérimentale de faisabilité d'hydrolyse des filtrats hémicellulosiques par des enzymes immobilisés sur un support: alginate de calcium.

Les propriétés gélifiantes de ce polyside naturel extrait d'algues, sont utilisées pour procéder à l'immobilisation d'enzymes par inclusion, dans des conditions particulièrement

douces. (rapport final - BIOREACT ENG, NRCC23784, 1984) [22].

#### 4-2 Méthodologie - Description de l'installation:

##### Immobilisation des enzymes:

La cellulase d'*Aspergillus niger* et la  $\beta$ -xylosidase du même microorganisme ont été utilisés pour cette fin.

L'immobilisation a été faite au NRC-C, Ottawa, utilisant la méthode par inclusion, et employant comme support l'alginate de Calcium. (Woodward, 1985) [237].

Les spécifications pour la préparation sont comme suit:

##### 4-2-1 Préparation d'enzymes:

| Cellulase               | $\beta$ -xylosidase | Alginate de Ca<br>4% | Tampon Ca |
|-------------------------|---------------------|----------------------|-----------|
| 1.00 gr<br>ou<br>500 UI | 0.438 ml            | 175 ml               | 175 ml    |

##### 4-2-2 Solution tampon Ca:

|                           |            |
|---------------------------|------------|
| CaCl <sub>2</sub> : ..... | 2.50 g/l   |
| NaN <sub>2</sub> : .....  | 50.00 mg/l |
| NaAc:.....                | 2.72 g/l   |

##### 4-2-3 Méthodologie expérimentale:

Le filtrat hémicellulosique qui a été gardé congelé est décongelé à température ambiante, puis filtré sous vide, afin d'enlever les précipités qui se sont formés durant le

stockage sous congélation.

Au filtrat obtenu, on ajoute une certaine quantité de la solution tampon citrate (pH = 5.5), afin de ramener le pH final de la solution à 5.2. Ceci représente donc le substrat à hydrolyser enzymatiquement.

• **Remplissage de la colonne avec le biocatalyseur:**

Avant de mettre le biocatalyseur, on enrobe le support inférieur de la colonne d'une couche de laine de verre, suivie d'un filtre, ceci afin de prévenir toute particule de s'y infiltrer et d'éviter que les particules du biocatalyseur ne s'écrasent sous l'effet de la pression du lit, ce qui bloquerait tout ruissellement du substrat, voir figure 71.

Ensuite, on remplit la colonne, jusqu'à une hauteur  $H(7-10\text{cm})$  de particules du bio-gel, et on laisse écouler la solution tampon Ca, ce qui place le catalyseur dans la colonne.

• **Démarrage de la réaction:**

A l'aide de la vanne micrométrique, on introduit le substrat à un débit  $Q$  (quelques gouttes par minutes), après avoir réglé la température du thermostat à  $T^\circ\text{C}$ . (35-43°C).

On laisse s'écouler environ 1 h, pour être sûr que le régime stationnaire thermique et massique est établi. A ce moment là, on commence à chronométrer le temps d'écoulement et de recueillir le substrat hydrolysé.

**4-3 Grilles expérimentales utilisées:**

Le volume de réaction  $V_r$  était de  $37.15\text{ cm}^3$  à  $53.07\text{ cm}^3$ .

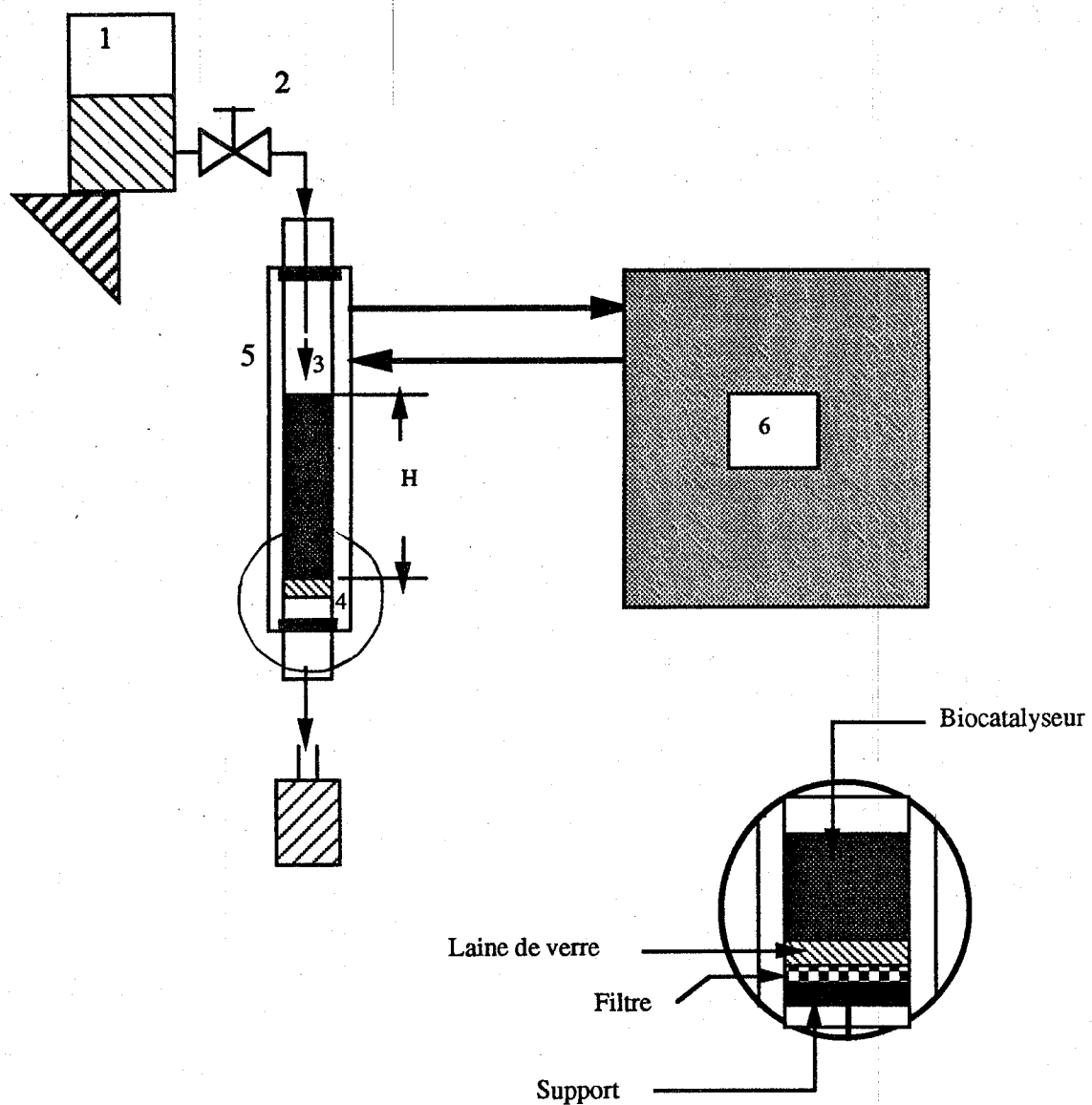
Pour le cas du substrat d'Alfa, deux températures ont été essayées:

- une température tout près de la température optimale, 35°C
- une température un peu plus élevée, 43°C.

Pour le cas des tiges de maïs, la température était de 35°C.

**Remarque:**

- Avec la température de 43°C, on avait certaines difficultés à opérer, à cause du ramollissement du biocatalyseur et ce malgré l'ajout de la solution tampon Ca.



**Figure 71 . Description de l'installation d'hydrolyse enzymatique employant des enzymes immobilisés**

**Légende :**

- 1 : Stockage du substrat de départ - Alimentation
- 2 : Valve micrométrique , débit maximum = 0.8 ml/min
- 3 : Lit d'enzymes immobilisés
- 4 : Support en laine de verre
- 5 : Colonne de type chromatographique
  - diamètre intérieur = 2.58 cm
  - longueur = 50 cm
- 6 : Thermostat (régulation de la température)

- **Alfa:**

| Expérience # | Q<br>cm <sup>3</sup> /h | Vr<br>cm <sup>3</sup> | $\tau$<br>h | T<br>°C |
|--------------|-------------------------|-----------------------|-------------|---------|
| ALFA-H1      | 16.12                   | 53.07                 | 3.29        | 35      |
| ALFA-H2      | 33.25                   | 53.07                 | 1.60        | 35      |
| ALFA-H3      | 1.17                    | 53.07                 | 36.10       | 35      |
| ALFA-H5      | 1.50                    | 37.15                 | 24.77       | 35      |
| ALFA-H6      | 36.80                   | 53.07                 | 1.44        | 35      |
| ALFA-H8      | 23.04                   | 53.07                 | 2.30        | 43      |
| ALFA-H9      | 1.81                    | 53.07                 | 29.30       | 43      |
| ALFA-H10     | 19.05                   | 37.15                 | 1.97        | 43      |
| ALFA-H11     | 188.00                  | 53.07                 | 0.28        | 43      |

- **Tiges de maïs:**

| Expérience # | Q<br>cm <sup>3</sup> /h | Vr<br>cm <sup>3</sup> | $\tau$<br>h | T<br>°C |
|--------------|-------------------------|-----------------------|-------------|---------|
| MAIS-H2      | 6.20                    | 53.07                 | 8.56        | 35      |
| MAIS-H3      | 1.05                    | 53.07                 | 50.54       | 35      |
| MAIS-H4      | 12.86                   | 53.07                 | 4.13        | 35      |
| MAIS-H5      | 17.00                   | 42.45                 | 2.49        | 35      |

#### 4-4 Quantification et résultats expérimentaux:

On a utilisé la même quantification et la même procédure expliquée plus haut, pour le cas des enzymes libres et l'analyse des monosaccharides est faite par chromatographie HPLC.

Il faut mentionner que les filtrats de départ, ramenés à un pH de 5.2 avec la solution tampon, ont été analysés et identifiés sous le nom de FABK-O-NH et FMBK-O-NH.

Pour déterminer le % de saccharification, ces mêmes filtrats ont été hydrolysés à l'acide, les tests sont identifiés par les noms FMBK-O-PH et FABK-O-PH, voir tableaux des résultats, donnés en appendice C-3.

Les résultats expérimentaux, de l'hydrolyse des filtrats avec des enzymes immobilisés sont mis en appendice C-3 et sur les figures 72 et 73.

Ils représentent le profil de solubilisation de chaque sucre monomère et celui de la saccharification en fonction de la vitesse spaciale exprimée en  $h^{-1}$ .

#### **4-5 Interprétations - Problèmes rencontrés:**

D'après les résultats obtenus, on constate que le taux de saccharification diminue avec la vitesse spatiale ou taux de dilution, ce qui revient à dire qu'elle augmente avec le temps de passage du substrat à travers le lit du catalyseur.

Pour le cas de *Stipa tenacissima*, cette diminution est plus brutale, cela veut dire que le substrat est hydrolysé moins rapidement par rapport à celui des tiges de maïs, ceci aux mêmes conditions de température et pH.

Ce résultat est attendu, dû justement à la taille plus grande des oligomères solubilisés obtenus par auto-hydrolyse de *Stipa tenacissima*, ce qui limite leur diffusion à travers les pores du bio-catalyseur et leur accessibilité aux enzymes.

L'élévation de la température pour ce biocatalyseur se reflète par une perte relative d'activité des enzymes et n'augmente nullement le taux de saccharification.

On espérait augmenter la diffusivité du substrat en augmentant la température, en fait, il y avait désactivation des enzymes, ceci est explicable car à la température de 43°C, les bio-particules ramollissaient, ce qui libérait quelque peu les enzymes encastrés dans la matrice du support d'alginate, se traduisant par une perte d'activité.

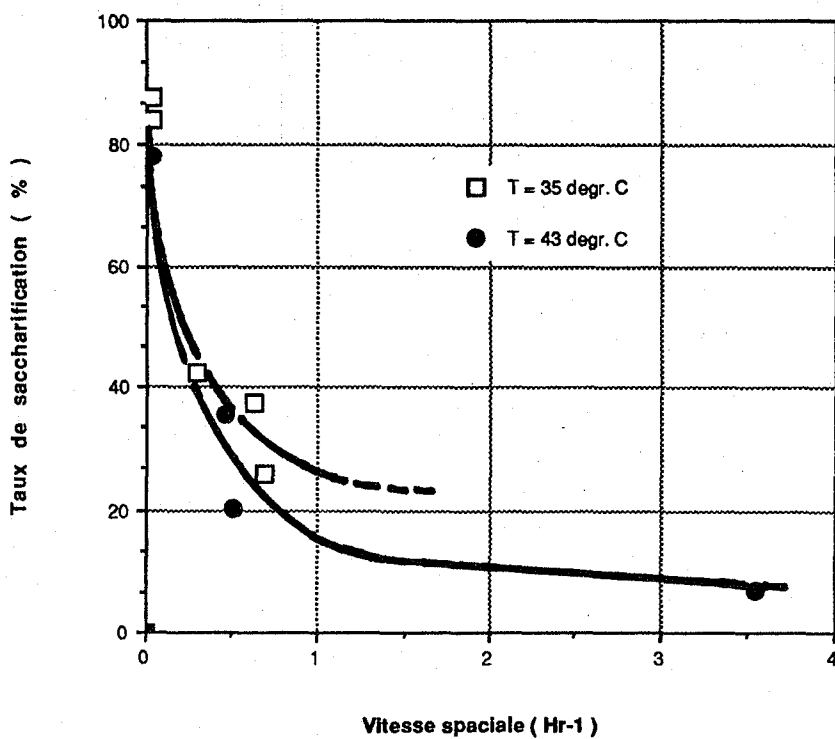


Figure 72. Hydrolyse des filtrats de *Stipa tenacissima* avec des enzymes Immobilisés

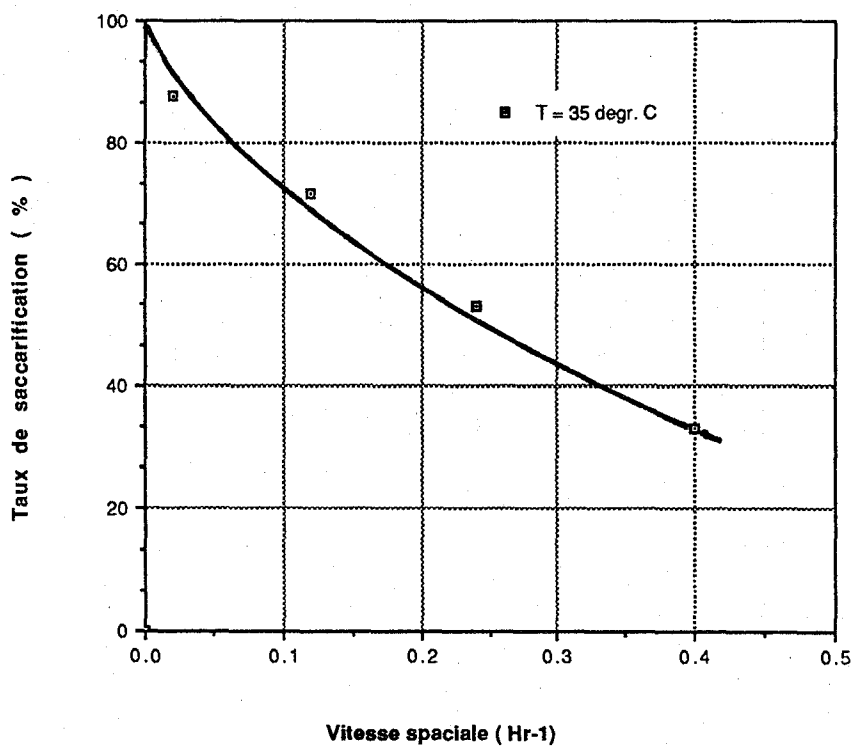


Figure 73. Hydrolyse des filtrats des tiges de maïs avec des enzymes Immobilisés

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

A cette température, un problème surgissait, l'homogénéisation du lit avec le temps, ce qui arrête tout écoulement, ceci est dû à la nature compressible des particules d'alginate sous l'effet des pertes de charges  $\Delta P$  du lit.

Donc nous pouvons dire que  $T = 43^{\circ}\text{C}$  altère les propriétés mécaniques des particules d'alginate, ceci est mis en relief dans le rapport NRC-C 23784, [22].

Il faut mentionner le succès avec lequel les expériences sont conduites à la température de  $35^{\circ}\text{C}$ , qui constitue donc un bon compromis entre les propriétés mécaniques des particules d'alginate, l'activité enzymatique des différents systèmes enzymatiques présents et la diffusion du substrat.

Un taux de saccharification de 72 % est obtenu pour un temps d'environ 8 h pour le cas des tiges de maïs, alors qu'un taux d'environ 65 % pourrait être obtenu avec le même temps de passage et la même température, pour le cas de *Stipa tenacissima*.

#### **4.6 - Conclusions de cette partie:**

De cette étude concernant l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses par immobilisation d'enzymes, on peut tirer les conclusions suivantes:

- L'hydrolyse enzymatique des filtrats par le système cellulase et  $\beta$  - D - xylosidase d'*Aspergillus niger* immobilisés sur un support d'alginate de Calcium est faisable, avec des taux de saccharification appréciables.

- L'augmentation de la température affecte les propriétés mécaniques du support d'alginate et l'activité des enzymes.

- L'utilisation de l'alginate de Calcium comme support pour l'immobilisation des enzymes est en général efficace pour l'hydrolyse des substrats pourvu que la température ne soit pas trop élevée.

- L'opération peut se faire sous des conditions non aseptiques, durant des périodes assez longues, quand la température du système est de l'ordre de  $35^{\circ}\text{C}$ .



- Les résultats , comparativement à ceux obtenus avec des enzymes libres sont intéressants , où l'intérêt pratique réside dans l'obtention d'une saccharification similaire tout en travaillant en continue ou semi-continue , sans perte du biocatalyseur et sans aucun recourt à une séparation produits/enzymes , comme c'est le cas des enzymes libres.

## **5- Modélisation de l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses**

### **5-1 Généralités:**

L'importance de la modélisation de la cinétique enzymatique revêt un caractère primordial pour un éventuel contrôle de la réaction et l'élucidation de sa mécanistique.

Jusqu'à présent, aucune tentative de modélisation de l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses n'a été effectuée et au niveau des mécanismes réactionnels , très peu de travaux ont été faits.

La "carence" en informations à ce niveau, est due probablement à la diversification du mode d'action des enzymes capables de dégrader les hémicelluloses.

Comme on l'a mentionné au chapitre, revue bibliographique, on peut distinguer principalement des enzymes de type endo et des enzymes de type exo. Les premiers cités ayant une activité dite viscométrique produisent des oligomères principalement, les autres quant à eux produisent des oligomères et des monomères.

Le plus souvent ces enzymes ne sont pas utilisés dans leur forme la plus pure et toutes ces activités peuvent exister ensemble.

Dans la majorité des cas, les substrats utilisés sont souvent des molécules ou macromolécules complexes et hétérogènes, ce qui rend ardue, la mise en évidence d'un mécanisme d'action et la modélisation de l'hydrolyse de ces mêmes substrats.

L'étude du mode d'action de ces enzymes dites hydrolases, sur les polysaccharides est aussi rendue compliquée par la répétitivité de l'attaque des enzymes sur le même substrat.

Il a été montré que ce genre d'enzymes catalysent l'hydrolyse des polysaccharides par d'autres voies autres qu'un simple clivage hydrolytique.

d'autres voies autres qu'un simple clivage hydrolytique.

Effectivement, en fonction de la concentration du substrat des réactions de transglycosylation et de condensation sont observées sur les oligomères formant ainsi des macromolécules plus grandes que celles de départ, BIELY et al. (1981) [19].

Ces réactions requièrent probablement l'interaction des enzymes avec plus d'une molécule de substrat.

Notons que ceci se rencontre surtout pour des concentrations élevées en substrat, BIELY et al. (1981) [19].

La meilleure approche pour étudier la dégradation des polysaccharides par les hydrolases est d'utiliser des substrats bien définis structurellement et simples, servant comme modèles avant de se consacrer à affronter l'étude des entités complexes.

PAICE et JURASEK (1977) [150], FRATZKE et REILLEY (1976) [74], pensent que généralement le mécanisme hydrolytique des hydrolases est apparemment, dans la plupart des cas, presque similaire et peut être à la limite identique.

A cause des similarités structurelles des hémicelluloses par rapport à la cellulose (liaisons  $\beta$ -1-4- C-O-C), beaucoup de convergences peuvent être trouvées au niveau des mécanismes, entre ces deux substrats et entre les enzymes dits cellulolytiques et ceux à activité hémicellulolytiques, FRATZKE et REILLEY (1976) [74].

On a jugé bon de cerner l'action hydrolytique des enzymes sur les hémicelluloses par une approche globale et de proposer un modèle de la cinétique d'hydrolyse des hémicelluloses.

On a préféré inclure ce volet en appendice G, dans le cadre de ce travail, car il serait "prétencieux" d'affirmer avoir cerné le mode d'action de tels systèmes enzymatiques en raison de la complexité de cette tâche.

L'approche proposée ne représente qu'un "avant - goût" à ceux qui s'intéressent à étudier entièrement ce travail.

## 6- Conclusions du chapitre :

En guise de conclusion à ce chapitre, nous pouvons avancer les principaux points abordés et formuler une synthèse relative à l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses.

Les points abordés et discutés traitaient principalement de:

- l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses avec des enzymes libres (en solution)
- l'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses avec des enzymes immobilisés dans un support d'alginate de calcium.

Concernant le premier point, les conclusions à retenir sont:

- le très peu de travail fait dans ce domaine
- l'action synergique et l'efficacité d'hydrolyse des hémicelluloses par les cellulases et  $\beta$ -D-xylosidases d'*Aspergillus niger*
- l'effet d'incorporation de l'acide lors du prétraitement sur la vitesse de saccharification par les enzymes
- un profil très rapide de saccharification qui se stabilise ensuite dans le temps, et ceci en conformité avec les résultats de la littérature
- l'existence d'un compromis quantité d'enzymes/temps de réaction pour avoir des rendements acceptables de saccharification.

Pour le deuxième point, on peut retenir ceci:

- la saccharification diminue avec la vitesse spatiale ou taux de dilution, donc elle augmente avec le temps de passage
- le même effet de la concentration d'acide lors du prétraitement du substrat sur le taux de saccharification obtenu pour le cas des enzymes libres est observé
- l'augmentation de la température se traduit par une perte en activité due au ramollissement des bioparticules emprisonnant les enzymes, et ceci au delà de l'optimum permis qui est de  $T = 30^{\circ}\text{C}$
- un meilleur contrôle de l'activité enzymatique en jouant sur le temps de résidence et

les conditions à mettre en oeuvre

- la mise en oeuvre en continu du procédé d'hydrolyse évitant ainsi la perte et le "gaspillage" du biocatalyseur dont le facteur économique est des plus primordiaux pour ce genre de procédés

- la faisabilité de tels procédés tant du point de vue conceptuel que technologique.

Enfin , concernant l'aspect de l'hydrolyse enzymatiques des hémicelluloses en termes de schémas réactionnels , on relève les points suivants:

- la complexité du mode d'action de ces enzymes dont la mécanistique est sans doute basée sur l'action synergique de plus d'un enzyme.

## CHAPITRE 7

### ESSAIS DE TOXICITE DES FILTRATS OBTENUS

#### 1- Introduction:

La bioconversion des résidus agricoles en protéines d'organismes unicellulaires (SCP) a reçu et continue à recevoir une attention particulière.

*Candida utilis* est l'une des levures les plus impliquées dans de telles bioconversions, ceci en raison de sa teneur relativement haute en protéines, de son profil complet d'acides aminés et de son abilité à utiliser un bon nombre de substrats.

En effet, on rapporte dans la littérature l'utilisation des effluents des usines de conditionnement d'ananas comme substrat pour la croissance en continu de *Candida utilis*, PRIOR (1984) [164] et d'effluents de distilleries des mélasses de cannes à sucre où les sucres non fermentables sont complètement utilisés pour la croissance de cette levure en réduisant de 17% la BOD des effluents initiaux, SIVARAMAN et al. (1984) [206].

D'autre part, KEKOS et KOUKIOS (1985) [110] rapportent dans leurs travaux l'assimilation par *Candida utilis* des polysaccharides contenus dans les glands de chêne et ceci après prétraitement avec de l'acide dilué ( $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) et extraction des tanins présents dans ces glands avec une solution de  $\text{NaOH}$  0.05 N.

L'objet de ce chapitre est d'examiner et d'étudier l'abilité à la croissance de *Candida utilis* dans les filtrats obtenus par prétraitement thermo-mécano-chimique en phase aqueuse suivi d'une hydrolyse enzymatique utilisant le système cellulases/ $\beta$ -xylosidases d'*Aspergillus niger* et ceci pour deux biomasses à savoir: les tiges de maïs et *Stipa tenacissima* (Alfa).

Il sera aussi question de mettre en relief la toxicité de ces substrats vis à vis de la croissance de la levure *Candida utilis*.

## 2- Elaboration du milieu de culture:

Le milieu de culture utilisé se compose en plus du filtrat contenant la source carbohydratée (sucres), de différents sels (éléments micro et macro-nutritifs) et d'une solution vitaminée d'Ergostérol (provitamine D<sub>2</sub>) comme préconisé par Moss et al. (1969) [144]. Le pH du milieu est ajusté à 5.0 avec une solution normale (1 N) de soude.

La composition du milieu de culture sur une base de 100 ml est la suivante:

| Composants                                      | Quantités |
|---|-----------|
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | 0.68 g    |
| Peptone   | 50 mg     |
| Extraits de levure                              | 50 mg     |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0.388 g   |
| Solution A                                      | 200 µl    |
| Solution B                                      | 500 µl    |
| Solution C                                      | 500 µl    |
| Solution D                                      | 600 µl    |
| Solution E                                      | 250 µl    |

La solution A est une solution d'acide citrique 1 M.

La solution B se compose de:

|                                       |   |        |
|---------------------------------------|---|--------|
| HCl concentré                         | : | 13ml   |
| CaO                                   | : | 1.12 g |
| ZnO                                   | : | 0.40 g |
| FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O: | : | 5.40 g |
| MnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O  | : | 1.00 g |

|                                      |   |        |
|--------------------------------------|---|--------|
| CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O | : | 0.17 g |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O | : | 0.24 g |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>       | : | 0.06 g |
| Eau distillée                        | : | 1 l    |

La solution C se compose de:

|               |   |         |
|---------------|---|---------|
| HCl concentré | : | 45 ml   |
| MgO           | : | 10.10 g |
| Eau distillée | : | 1 l     |

La solution D se compose de:

|             |   |     |
|-------------|---|-----|
| Ergostérol  | : | 2 g |
| Ethanol 95% | : | 1 l |

La solution E est du Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> demi normale (N/2).

Il faut noter que lors de la constitution du milieu de croissance les solutions A, B et C sont préalablement mélangées et ajoutées séparément par rapport au reste des sels.

Le milieu ainsi constitué est stérilisé sous autoclave à 125°C pendant 15 minutes puis refroidi et gardé au réfrigérateur à l'abri de la lumière pour être utilisé.

### 3 - Méthodologie expérimentale:

#### 3 -1 - Expériences avec des levures non acclimatées au milieu de culture:

Pour étudier le comportement du filtrat vis à vis de la croissance de *Candida utilis*, 50 ml de milieu de culture sont mis dans une erlen de 250ml en présence de 125 mg de levure sèche réalisant ainsi un inoculum de  $125/50 = 2.5$  mg/ml.

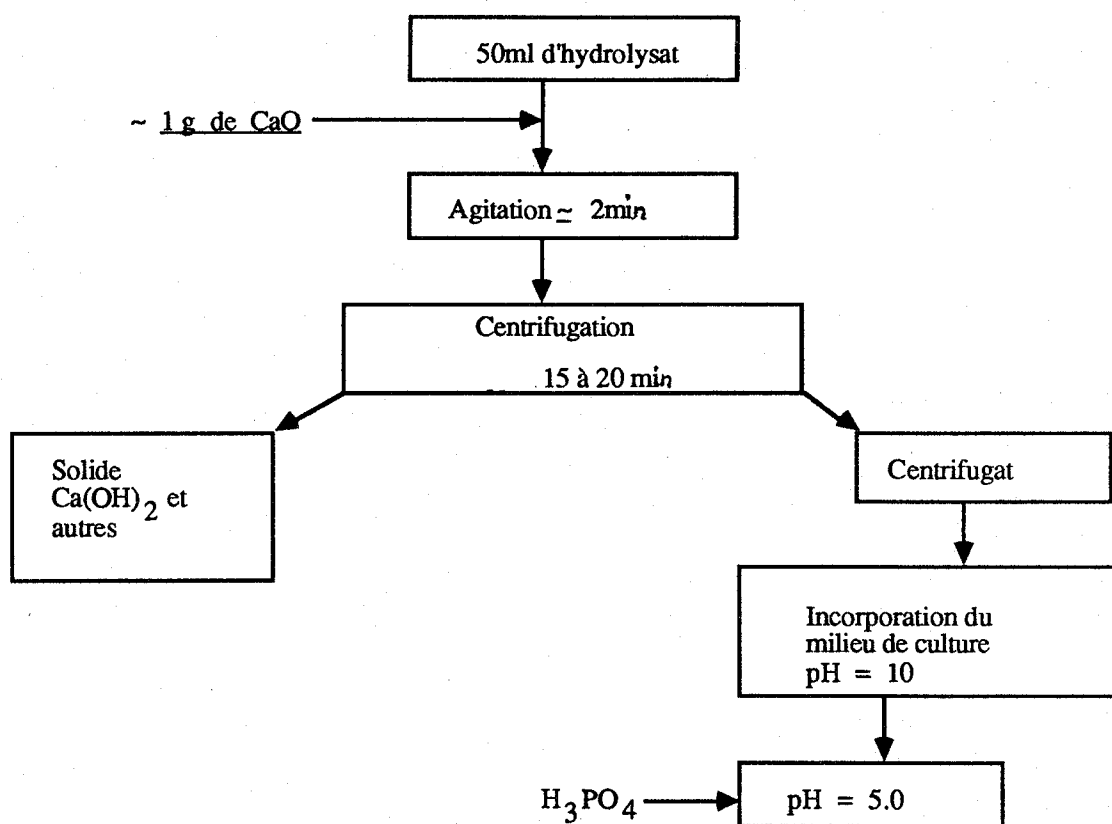
L'erlen est munie d'un bout de coton à son col pour éviter de dépôts de poussières à l'intérieur tout en laissant l'air s'y infiltrer car la fermentation doit avoir lieu en conditions aérobies.

La fermentation est réalisée dans un incubateur dont la température constante est réglée à 30°C et sous agitation de 250 tours/min.

Afin de mettre en relief la toxicité des substrats, on a dû préparer pour les tiges de maïs différents substrats:

- 1- hydrolysats enzymatiques pris tels quels (bruts)
- 2- hydrolysats traités par extraction à l'acétate d'éthyle pendant deux heures
- 3- hydrolysats traités avec de la chaux vive  $\text{CaO}$  à environ 1 g de  $\text{CaO}$  / 50 ml de filtrat.
- 4- une solution de monosaccharides reconstituée contenant le même spectre de monomères et à peu de choses près les mêmes concentrations en sucres que l'hydrolysat non traité.

Le schéma du traitement avec  $\text{CaO}$  est comme suit:



Pour *Stipa tenacissima* les essais sont réalisés avec:

- l'hydrolysat enzymatique pris tel quel
- le meilleur entre les traitements 2 et 3 réalisés sur les substrats de tiges de maïs.



L'hydrolyse enzymatique des filtrats a été réalisée en incorporant 100ml de solution tampon au filtrat issu du prétraitement dans les conditions optimales et préalablement lyophilisé contenant potentiellement environ 1.1 g de sucres monomères, soit après ajout de 100ml de solution tampon environ 11 g sucres/l.

1.59 g de cellulases et 100 $\mu$ l de  $\beta$ -xylosidases sont ensuite ajoutés et la réaction enzymatique a été réalisée dans les conditions suivantes:

|                   |   |            |
|-------------------|---|------------|
| Température       | : | 30°C       |
| pH                | : | 5.33       |
| Temps d'hydrolyse | : | 30 heures. |

Et ceci pour s'assurer que tous les oligomères et polymères sont hydrolysés en monomères.

### **3-2 Expériences avec des levures acclimatées au milieu de culture:**

La conduite des expériences en acclimatant les cellules des levures avec le milieu de culture avant de les inoculer proprement dit dans les milieux à tester est jugée nécessaire pour mettre en évidence les étapes dites de latence qui pourraient être observées dans le lot des expériences conduite sans adaptation.

Pour ce faire, on a modifié la méthode de préparation de l'inoculum, comme suit:

#### **3-2-1 Méthode de préparation de l'inoculum:**

Environ, quelques particules de levure ( 1 mg/ml ) sont suspendues dans un milieu de culture tel que décrit précédemment contenant comme source carbohydratée du xylose, glucose, mannose, arabinose, et du galactose, dans les mêmes proportions que celles utilisées auparavant, pour le cas du milieu reconstitué, afin de réaliser artificiellement à peu de choses près les hémicelluloses contenues dans les biomasses utilisées: Alfa et tiges de maïs.

Les étapes pour préparer l' inoculum sont représentées par la figure 74.

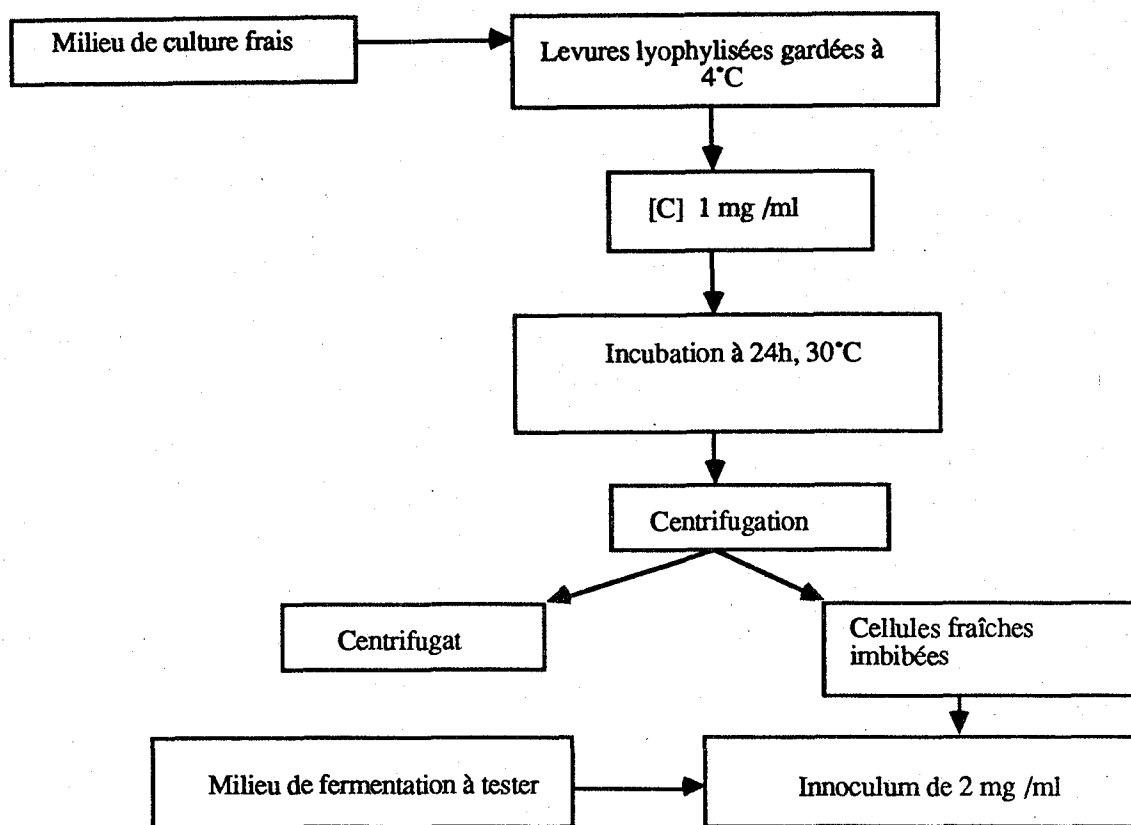


Figure 74. Etapes pour préparer l'inoculum

Ceci a pour effet de permettre aux cellules de *Candida utilis* l'induction du même système enzymatique pour dégrader les sucres lors des essais de fermentation.

Après 24 h d'incubation à 30°C et sous agitation de 250 tours/min on centrifuge la suspension et on transfère les cellules obtenues dans les différents milieux de fermentation à tester, réalisant ainsi un innoculum de 2.0 mg/ml.

La même méthodologie expérimentale est utilisée que celle décrite précédemment pour le cas des expériences conduites avec des cellules non acclimatées.

#### 4- Procédure analytique:

A un temps  $t$  un aliquot de 3ml est prélevé, 1ml est mesuré avec précision à l'aide d'une seringue de 1ml, il est ensuite lyophilisé, le solide obtenu est pesé. Les deux ml qui restent sont centrifugés, 1ml du centrifugat obtenu est microfiltré sur un filtre de 0.45  $\mu\text{m}$ , il

servira au dosage des sucres monomères par chromatographie HPLC .

Le schéma suivant résume la procédure, voir figure 75.

Il est à noter que la méthode de détermination de la quantité de biomasse formée dans le temps par pesage du poids sec de cellules lavées est préférée à la méthode spectrophotométriques où la couleur des filtrats influe beaucoup sur le résultat final, donc moins précise.

## **5- Grilles expérimentales**

Pour chaque ensemble d'expériences conduites avec et sans acclimatation des cellules, quatre milieux ont été testés.

Ces expériences sont codées comme suit:

### **5-1 Expériences sans acclimatation:**

FMBK-F-IJ, R-J

I=1,2,3

FABK-F-IJ

J=0,1,2,3,4,5,6,7

I indique le No de série de l'hydrolysat utilisé.

1- hydrolysat enzymatique brut

2- hydrolysat enzymatique extrait à l'acétate d'éthyle

3- hydrolysat traité à la chaux

R- solution de sucres reconstituée.

J: No de l'expérience de la série I, à un temps t.

F: fermentation

FMBK: Fractionnement des tiges de maïs.

FABK: Fractionnement de *Stipa tenacissima* (Alfa).

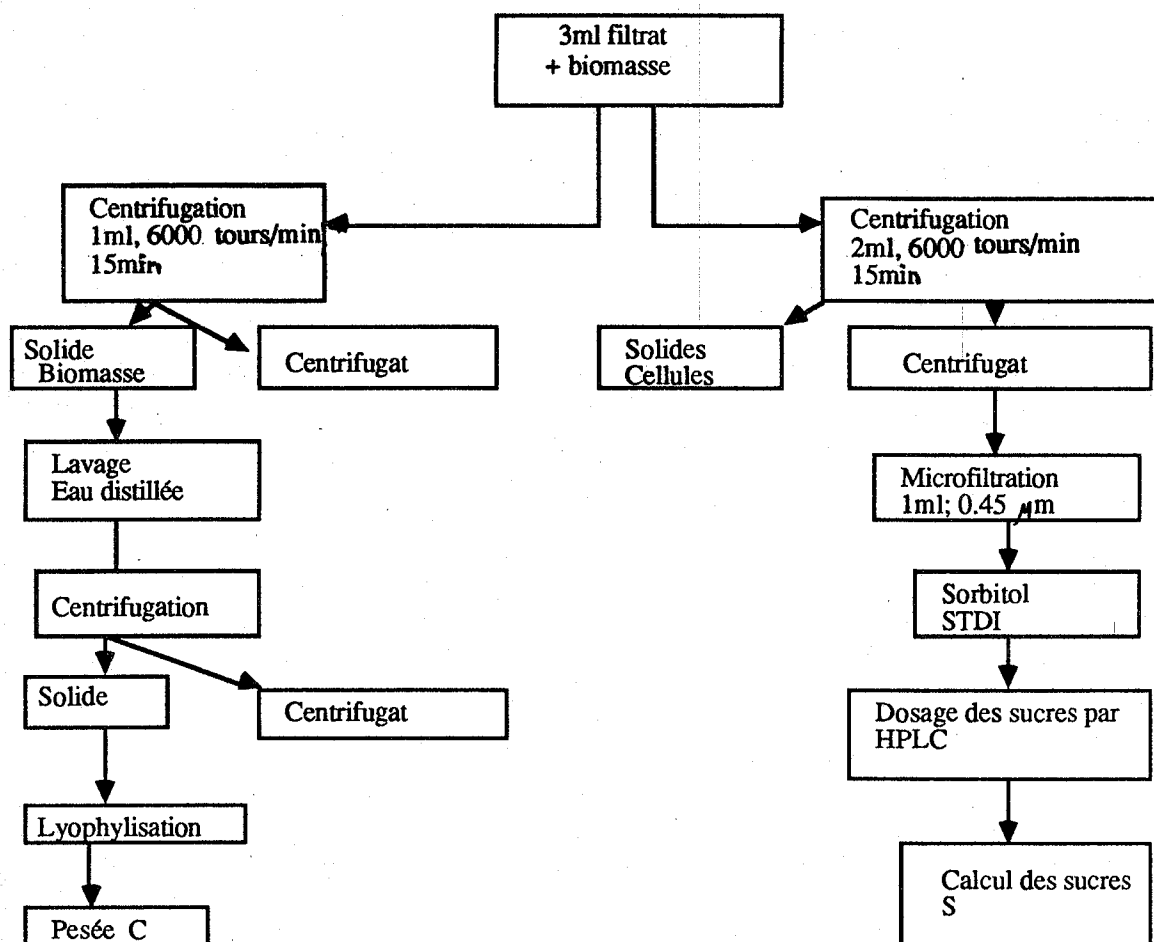


Figure 75. Etapes analytiques de fermentation

C: quantité de biomasse sèche obtenue par 1ml du mélange réactionnel.

S: quantité de sucres restants dans 1ml de mélange réactionnel

## **5-2 Expériences avec acclimatation:**

FMBK-F-IJ, R-J

I=5,6

FABK-F-IJ, RA-J

J=0,1,2,3,4,5

I indique le No de série de l'hydrolysate utilisé

5- milieu formé par les filtrats des tiges de maïs

6- milieu formé par les filtrats de *Stipa tenacissima*

R- milieu reconstitué (sucres purs)

RA- Milieu reconstitué , auquel on a ajouté les résidus secs des extraits à l'acétate d'éthyle du filtrat des tiges de maïs<sup>1</sup>.

Ce dernier milieu est expressement préparé afin de vérifier et confirmer ou infirmer l'effet des oligo et polyaromatiques solubilisés lors de l'étape de prétraitement de la biomasse et qui sont identifiés par chromatographie en phase gazeuse ( G.C capillaire ).

Les fermentations ont été conduites pour différents temps d'incubation.

## **6- Résultats expérimentaux:**

Les résultats sont tous reportés sur les tableaux donnée en appendice D et sur les figures 76 à 79 .

## **7- Interprétation des résultats:**

### **Cas des expériences avec des cellules non acclimatées:**

D'une façon générale, pour ce qui est des expériences conduites avec des cellules non acclimatées au milieu de culture , les sucres monomères sont utilisés par *Candida utilis* suivant le type de traitement que l'on fait subir à l'hydrolysate enzymatique.

---

<sup>1</sup> Ces extraits sont obtenus en traitant 300 ml du filtrat des tiges de maïs avec l'a cétate d'éthyle pendant 2 heures.

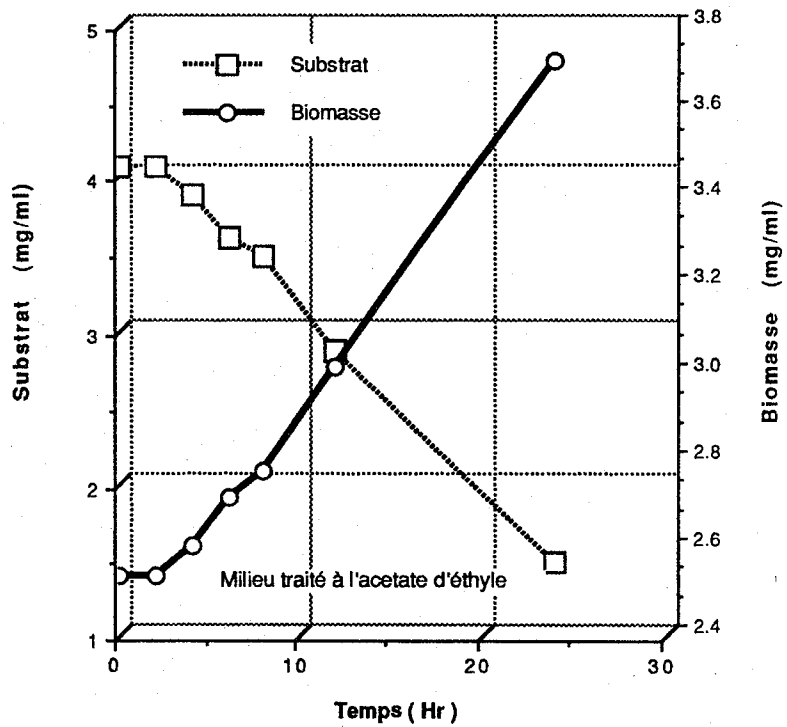
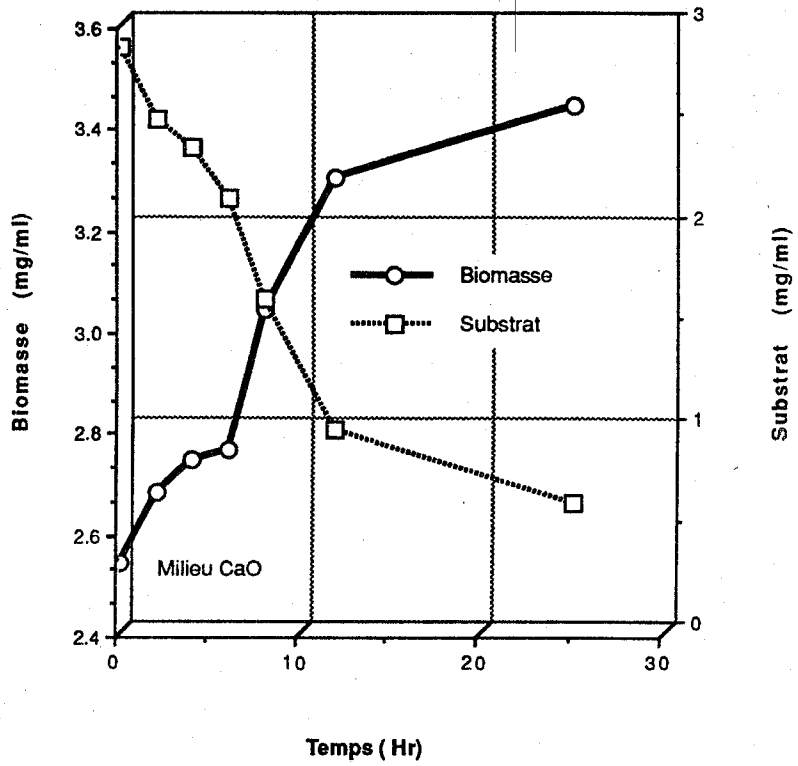


Figure 76. Essais de fermentation du substrat avec des levures non acclimatées - cas des tiges de maïs (1)

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

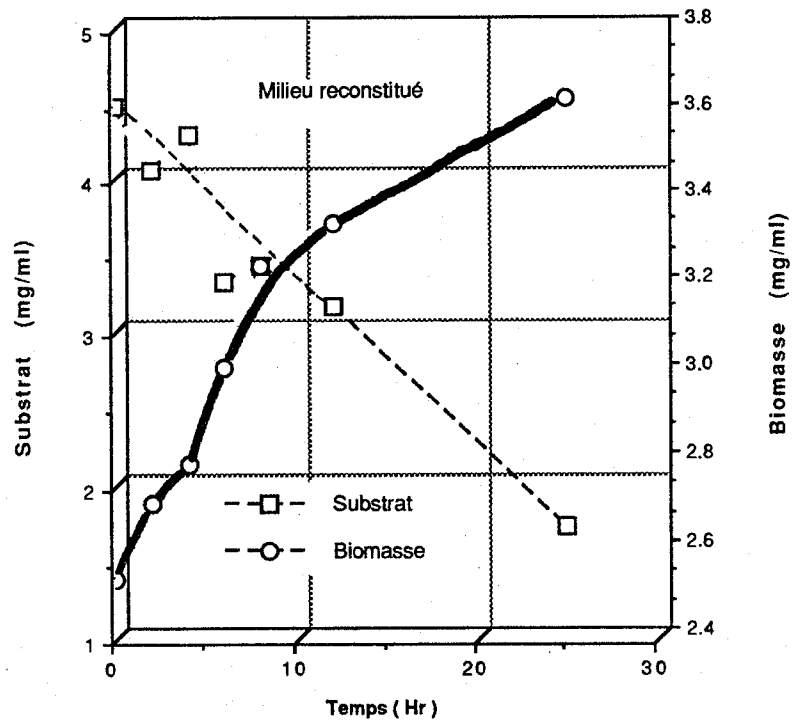
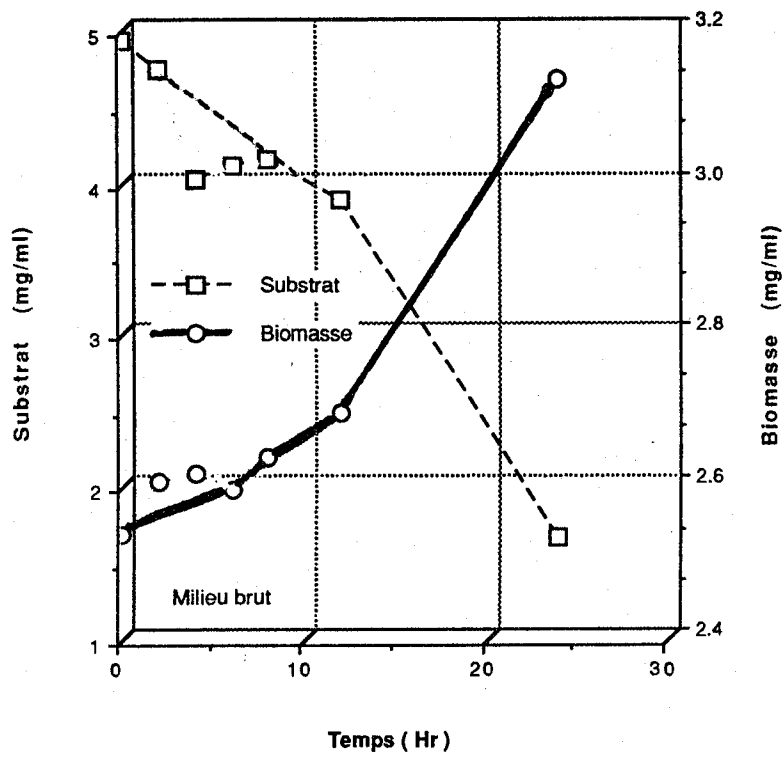


Figure 77. Essais de fermentation du substrat avec des levures non acclimatées - cas des tiges de maïs (2)

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

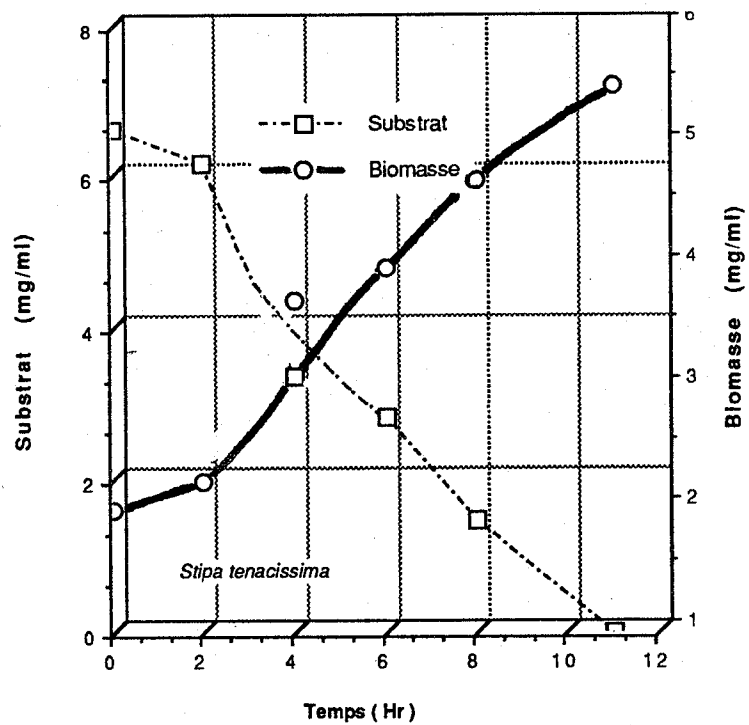
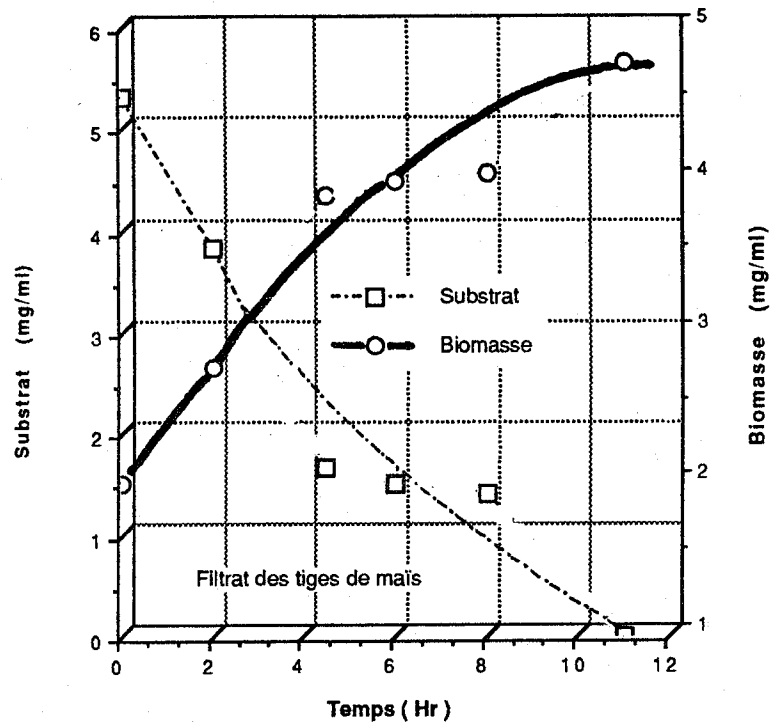


Figure 78. Essais de fermentation avec des levures acclimatées - cas de *Stipa tenacissima* et les tiges de maïs

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .



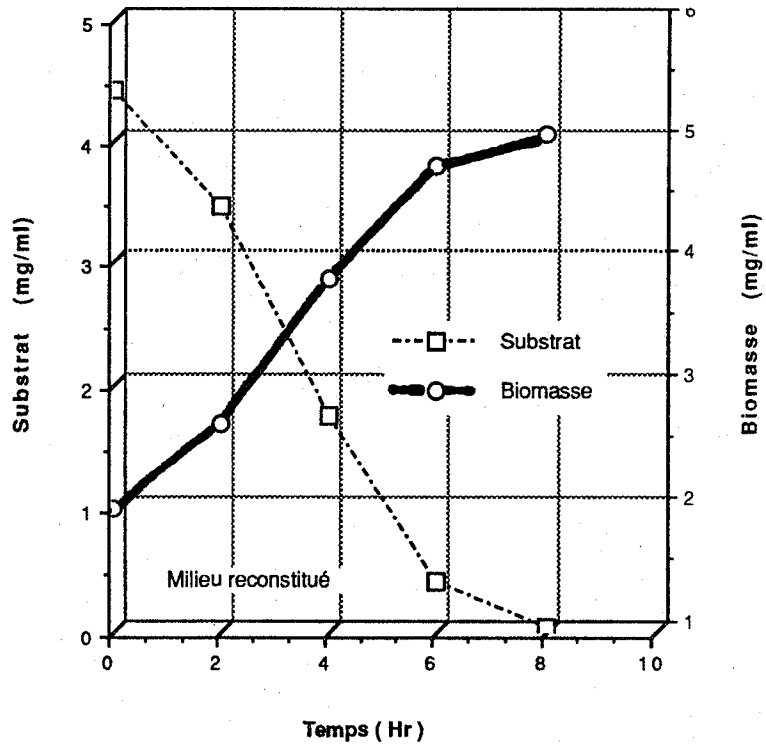
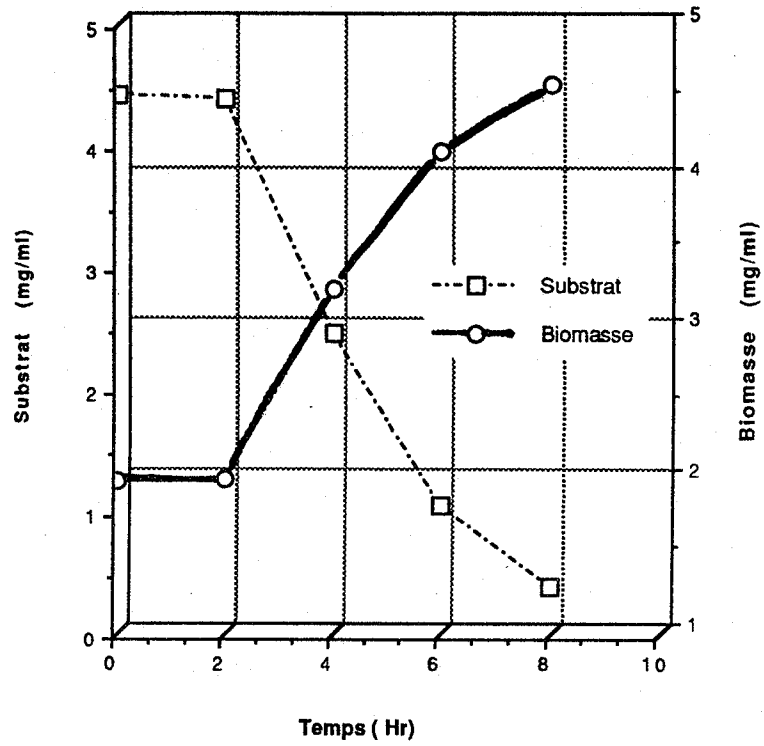


Figure 19. Essais de fermentation du substrat avec des levures acclimatées - cas des milieux reconstitués

NB : Les courbes représentées par des traits pleins et en pointillés ne sont que des tendances moyennes tracées à la main . Elles ne constituent en aucun cas des modèles cinétiques .

Pour élucider ce point et étudier la toxicité des hydrolysats on a dû réaliser pour le substrat de tiges de maïs trois milieux qui ne diffèrent que par le mode de post-traitement, à savoir:

- milieu 1: substrat brut
- milieu 2: substrat traité à la chaux
- milieu 3: substrat extrait à l'acétate d'éthyle.

Le profil de métabolisme des sucres monomères et celui de la croissance de la biomasse sont fonction du type de post-traitement effectué.

En effet, la disparition du substrat et la croissance de la biomasse sont manifestement plus rapides pour les milieux traités que pour le milieu brut non traité . Cet état est plus prononcé quand l'hydrolysat est traité à la chaux vive (CaO).

Pour le substrat de *Stipa tenacissima* , cette constatation est difficile à faire en comparant uniquement les profils de disparition des sucres et d'apparition de la biomasse.

Pour appuyer cette thèse, une étude systématique des vitesses spécifiques de la biomasse et du substrat est faite en tenant compte des points théoriques cités par ABBOTT et CLAMEN (1973) [2].

On sait que toute croissance de microorganismes est caractérisée par les facteurs de rendement suivants:

$\mu_{\max}$ : vitesse spécifique maximale d'apparition de la biomasse ( $h^{-1}$ )

$Y_g$ : rendement quand la vitesse spécifique approche l'infini.

$m'$ : coefficient de maintenance ( mg substrat/mg biomasse.h )

$R_g$ : rendement global maximum.

Le coefficient de maintenance mesure la quantité de substrat consommé par les cellules de la biomasse pour leur maintien en vie, BELKACEMI (1986) [13].

Si  $S$  représente la quantité de substrat qui reste dans le milieu et  $C$  la quantité de biomasse formée, on a alors:

$$\mu = \frac{1}{C} \times \frac{dC}{dt} \quad [81]$$

$$\frac{1}{C} \times \frac{dS}{dt} = \frac{\mu}{Y_g} + m' \quad [82]$$

où  $\frac{1}{C} \times \frac{dS}{dt}$  est la vitesse spécifique de disparition du substrat.

Du point de vue mathématique:

$$m' = \frac{1}{C} \times \frac{dS}{dt} \quad \text{quand } \mu = 0 \quad [83]$$

$\frac{dC}{dt}$  et  $\frac{dS}{dt}$  sont calculées par la méthode de pentes ou différentielle

$$R_g = \frac{\mu_{\max} \times Y_g}{\mu_{\max} + Y_g \times m'} \quad [84]$$

C'est avec ce rendement global  $R_g$  que nous allons discuter nos résultats expérimentaux.

L'équation [82] nous permet de déterminer  $Y_g$  et  $m'$  pour chaque milieu, connaissant  $\mu_{\max}$  on peut déduire  $R_g$  à l'aide de l'équation [84].

La vitesse spécifique maximale  $\mu_{\max}$  est déterminée comme suit:

D'une manière général, la croissance des microorganismes suit une certaine loi qui détermine sa cinétique, et celle-ci s'exprime par:

$$\mu = \mu(C,S) \quad [85]$$

La plus simple des équations est celle due à MONOD, telle que :

$$\mu = \mu_{\max} S / (K+S) \quad [86]$$

où  $K$  est une constante.

Malheureusement cette loi ne s'applique pas à nos résultats et pour estimer  $\mu_{\max}$  on a pris comme vitesse spécifique maximale  $\mu_{\max} = \text{Max}(\mu_i, i = 1, M)$  où  $M$  est le nombre d'expériences réalisées.

Les résultats sont comme suit:

**A- Tiges de maïs:**

| Milieux      | $Y_g$  | $m'$<br>mg/mg.h | $r^1$  | $\mu_{\max}$<br>$h^{-1}$ | $R_g$  |
|--------------|--------|-----------------|--------|--------------------------|--------|
| Brut         | 0.2727 | 0.0135          | 0.9712 | 0.0138                   | 0.2153 |
| Traité à CaO | 0.6406 | 0.0163          | 0.9193 | 0.0439                   | 0.5175 |
| Traité à AE  | 0.4013 | 0.0004          | 0.9936 | 0.0198                   | 0.3980 |

**B- *Stipa tenacissima*:**

| Milieux      | $Y_g$  | $m'$<br>mg/mg.h | $r^1$  | $\mu_{\max}$<br>$h^{-1}$ | $R_g$  |
|--------------|--------|-----------------|--------|--------------------------|--------|
| Brut         | 0.5070 | 0.0032          | 0.9905 | 0.0458                   | 0.4897 |
| Traité à CaO | 0.3962 | 0.0004          | 0.9979 | 0.0630                   | 0.3952 |

**C- Milieu témoin reconstitué:**

| $Y_g$  | $m'$<br>mg/mg.h | $r^1$  | $\mu_{\max}$<br>$h^{-1}$ | $R_g$  |
|--------|-----------------|--------|--------------------------|--------|
| 0.4874 | 0.0159          | 0.9951 | 0.0335                   | 0.3957 |

<sup>1</sup>  $r$  : coefficient de regression lineaire

Ce traitement théorique nous montre clairement que dans le cas des tiges de maïs, l'hydrolysat traité avec CaO est plus apte à être utilisé comme substrat que le milieu brut.

Par contre, pour le substrat de *Stipa tenacissima*, c'est le contraire qui se réalise, le milieu non traité est mieux utilisé.

Ceci peut être expliqué comme suit:

Lors du prétraitement thermomécanochimique des tiges de maïs on a dû utiliser 1% pondéral d'acide pour obtenir une solubilisation optimale des hémicelluloses. Cette quantité d'acide a favorisé la solubilisation non seulement des hémicelluloses, mais des fragments de lignine aussi.

Le fait de traiter le substrat avec CaO, fait précipiter ces fragments toxiques à la bonne croissance des cellules ce qui explique un rendement plus important pour le milieu traité, et ceci malgré la perte en sucres engendrée par le traitement.

Pour le cas de *Stipa tenacissima*, le prétraitement thermo-mécanochimique consistait en une autohydrolyse avec de l'eau seulement, par conséquent, le milieu de fermentation est moins toxique.

Le traitement avec CaO s'accompagne d'une perte en sucres, ce qui explique donc un rendement légèrement plus faible.

D'une façon générale les rendements globaux  $R_g$  sont de même ordre de grandeur que celui du milieu témoin, exception faite pour le cas du substrat brut des tiges de maïs où  $R_g$  est nettement plus faible.

Lors de l'extraction du filtrat des tiges de maïs avec l'acétate d'éthyle, on a recueilli la phase extraite (phase organique), on l'a concentrée et on l'a analysée par G.C. Capillaire (Colonne des produits aromatiques).

Quelques pics correspondant à des produits polyaromatiques provenant probablement de la lignine solubilisée apparaissent en fin de spectre du chromatogramme que la colonne ne peut malheureusement pas détecter d'une manière satisfaisante (car elle est dédiée aux monomères aromatiques).

A un temps de retention de 19.90 min , un pic apparaît nettement correspondant probablement à un aromatique de type phénolique.

Ceci met donc en relief la toxicité de ces substrats quant à leur fermentabilité par des microorganismes tel que *Candida utilis*.

Cette toxicité est d'autant plus importante à notre sens que le prétraitement effectué utilise plus d'acide.

Pour le milieu de culture reconstitué, il devrait donner des résultats concluants quant à l'utilisation efficace des sucres.

D'après les résultats, on constatait une phase de latence importante, où les sucres sont consommés d'une façon notable qu'après 12 h de fermentation , voir les tableaux des résultats donnés en appendice D.

Donc, la méthode de préparation de l'innoculum n'était pas correcte, ce qui a perturbé les résultats mentionnés.

Toujours est-il, que ces derniers constituent une bonne information au sujet de l'adaptation des cellules aux différents milieux et savoir quel est parmi ceux-ci, celui qui peut être utilisé pour la préparation de l'innoculum.

#### Cas des expériences avec des cellules acclimatées:

La même approche théorique est appliquée afin d'estimer les rendements maximaux  $R_g$ , ceci pour comparer les résultats obtenus entre les différents milieux et ceux mentionnés plus haut.

| Milieux # | $m'$<br>(mg/mg.h) | $Y_g$ | $r$   | $\mu_{max}$<br>(h <sup>-1</sup> ) | $R_g$ |
|-----------|-------------------|-------|-------|-----------------------------------|-------|
| 1         | 0.0009            | 0.539 | 0.995 | 0.269                             | 0.538 |
| 2         | 0.0482            | 0.897 | 0.946 | 0.099                             | 0.624 |
| 3         | 0.0145            | 0.719 | 0.974 | 0.344                             | 0.698 |
| 4         | 0.0120            | 0.482 | 0.995 | 0.544                             | 0.477 |

D'après cette analyse des rendements biomasse formée/utilisation des sucres et s'appuyant sur les profils d'utilisation des sucres par *Candida utilis* (voir chromatogrammes), on constate que les rendements sont plus importants quand on acclimate préalablement les cellules de la levure dans le milieu de culture afin d'induire son système enzymatique et son fonctionnement.

Dans l'ensemble, on a confirmé la tendance à une plus adéquate fermentation des sucres, si le fractionnement thermo-mécanochimique effectué se faisait sans la présence d'acide supplémentaire.

En effet, l'assimilation des sucres est meilleure pour le cas du filtrat de *Stipa tenacissima* que celui des tiges de maïs, et ceci pour les mêmes raisons citées plus haut.

Ces tests nous ont permis de confirmer la participation qu'on peut juger partielle à la toxicité des milieux de culture due à la présence d'oligo et polyaromatiques.

D'après les résultats de calcul de rendements, le filtrat des tiges de maïs et le témoin auquel on a ajouté les extraits à l'acétate d'éthyle obtenus du même filtrat ont donné relativement des résultats jugés similaires.

Le cas du filtrat de *Stipa tenacissima* est révélateur du fait qu'il se compare au point de vue rendement de la croissance, au milieu témoin et ceci sans aucun "poste-traitement".

L'utilisation du filtrat des tiges de maïs sans "poste-traitement" a cependant donné des résultats qu'on peut juger encourageants.

Au niveau du spectre d'utilisation des sucres on confirme aussi d'une manière claire l'assimilation plus rapide du glucose par rapport au xylose, par *Candida utilis*.

Effectivement, le glucose est totalement métabolisé après 2 heures d'incubation tandis que le xylose l'est après 8 à 11 heures d'incubation, voir chromatogramme donné en appendice F.

Le rendement maximal obtenu par les substrats des tiges de maïs et *Stipa tenacissima* est comparable à ceux trouvés dans la littérature pour le même microorganisme: *Candida*

*utilis*, où il varie entre 50 et 70% suivant le type de substrat utilisé, sauf pour le cas des déchets d'effluents de pâtes bisulfite riche en mannose où ce rendement est de  $\approx 33\%$ .

L'utilisation d'autres souches de microorganismes n'augmente pas sensiblement ce rendement qui est de 34 à 68%, voir tableau 15 .

Notons aussi que des substrats comme la pulpe de betteraves ont été efficacement utilisés par *Candida utilis* ILLANES et HAFFELD (1983) [102], après avoir été hydrolysées enzymatiquement et en milieu acide.

La fermentabilité des sucres obtenus était de 60 % pour le cas de *S. cerevisiae* pour une hydrolyse enzymatique de 25 h, GUILLERMO et al. (1987) [91].

Typiquement d'autres auteurs ont rapporté la toxicité des produits solubles dérivés de la lignine sur la croissance des micro-organismes HAJNY (1981) [92], THOMAS CLARK et MACKIE (1984) [213], confirmant ainsi nos constatations . Ceci a été aussi rapporté par PFEIFER et al. (1984) [155].

Notons enfin, pour que cette étude de la toxicité des substrats hémicellulosiques obtenus à partir du prétraitement de la biomasse soit totale, des études approfondies de l'acceptabilité des protéines ainsi obtenues soient entreprises, ainsi que celles relatives à la composition en acides aminés qui composent les protéines produites.

Il semble que les cellules vues au microscope électronique présentent quelques signes de maladie et ce malgré leur adaptation à un milieu de culture composé des filtrats hémicellulosiques et tous les éléments nécessaires à la croissance de *Candida utilis* , ce qui montre une fois de plus la nature toxique de ces jus obtenus par prétraitement thermo-mécano-chimique.

## **8- Conclusions du chapitre:**

Les principales conclusions à tirer sont:

- L'importance de la manière de préparer l'inoculum avant la mise en culture de *Candida utilis* dans les milieux nutritionnels.



| Origine<br>Substrats  | Principaux Sucres                                  | Y <sub>g</sub> | m'<br>g/g.h | μ <sub>max</sub><br>h <sup>-1</sup> | R <sub>g</sub> | Souche de levure                                   | Références                               |
|---|--|----------------|-------------|-------------------------------------|----------------|--|--|
| Effluents de fabrication<br>de conserves d'ananas                               | Sucrose, glucose<br>fructose                       | 0.610          | 0.02700     | 0.640                               | 0.590          | <i>Candida utilis</i>                              | PRIOR (1984) [163]                       |
| Cellulose dégradée<br>hydrothermiquement  | Cellobiose,<br>glucose, xylose                     | 0.500          | -           | -                                   | -              | <i>Candida utilis</i>                              | BOBLETER et al. (1976) [23]              |
| -   | Glucose  | -              | 0.02000     | -                                   | 0.630          | <i>Candida utilis</i>                              | SOLOMON et al. (1985) [196]              |
| -   | Glucose  | -              | 0.00583     | -                                   | 0.668          | <i>Trichosporon cutaneum</i>                       | SOLOMON et al. (1985) [196]              |
| <i>Sipha tenacissima</i><br>autohydrolysée                                      | Glucose, xylose<br>mannose, galactose<br>arabinose | 0.897          | 0.04820     | 0.099                               | 0.624          | <i>Candida utilis</i>                              | Ce travail                               |
| Tiges de maïs<br>hydrolysées avec<br>1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>          | Glucose, xylose<br>mannose, galactose<br>arabinose | 0.539          | 0.00099     | 0.195                               | 0.538          | <i>Candida utilis</i>                              | Ce travail                               |
| -   | Glucose, xylose<br>mannose, galactose<br>arabinose | 0.719          | 0.01450     | 0.344                               | 0.698          | <i>Candida utilis</i>                              | Ce travail                               |
| Tiges de blé<br>prétraitées avec NH <sub>3</sub>                                | Hémicelluloses                                     | -              | -           | 0.350                               | 0.340          | <i>Chaetomium cellulo-<br/>lyticum</i>             | VOLKER HECHT et al (1983) [226]          |
| Tiges de blé<br>prétraitées avec de<br>vapeur d'eau                             | Hémicelluloses                                     | -              | -           | 0.280                               | 0.640          | <i>Chaetomium cellulo-<br/>lyticum</i>             | VOLKER HECHT et al. (1983) [226]         |
| Déchets de fabrication<br>des pommes de terre                                   | Amidon, glucose                                    | -              | -           | -                                   | 0.680          | <i>Cephalosporium<br/>eichhorniae</i>              | COLEEN STEVENS et GREGORY<br>(1987) [36] |
| Déchets de fabrication<br>de pommes de terre<br>hydrolysés enzymati-<br>quement | Glucose  | -              | -           | 0.510                               | 0.580          | <i>Candida utilis</i>                              | MORETON (1978) [139]                     |
| Déchets et effluents<br>de la pâte bisulfite                                    | Mannose<br>Xylose                                  | -              | -           | -                                   | 0.430<br>0.330 | <i>Candida tropicalis</i><br><i>Candida utilis</i> | WECKSTROM et LEISOLA<br>(1980) [232]     |
| Ethanol   | -  | -              | -           | -                                   | 0.680          | <i>Paecilomyces varioti</i>                        | SRINIVASAN (1970) [204]                  |

Tableau 15. Croissance de *Candida Utilis* et les autres levures dans les différents substrats

- La participation partielle des oligo et polyaromatiques à la toxicité des filtrats.
  - L'importance du prétraitement thermo-mécanochimique de la biomasse initiale.
  - L'effet global de ce prétraitement sur la fermentation des sucres.
  - La non nécessité d'une façon particulière d'introduire une étape supplémentaire de poste - traitement des filtrats, si le prétraitement s'effectuerait dans des conditions acides très douces.
- L'assimilation par *Candida utilis* du glucose plus rapidement que le xylose, ceci est confirmé par BATT et al. (1986) [12], qui pensent que la raison qui expliquerait cela est la faible accessibilité du xylose aux systèmes enzymatiques impliqués lors de la croissance.
- La poursuite des études d'acceptabilité des protéines produites et ce à un niveau de composition en acides aminés essentiels et de toxicité sur les organismes vivants ( les animaux et les humains).

## CONCLUSION GENERALE

L'éventuelle utilisation des jus de fractionnement pour produire des S.C.P. à partir des tiges de maïs et *Stipa tenacissima* peut être approchée en utilisant le schéma d'ensemble illustré sur la figure 80 .

L'étape de prétraitement doit être vue sous une optique de fractionnement sélectif des entités polymériques , sans pour autant détruire leurs groupements fonctionnels intrinsèques. Il faut pour cela utiliser :

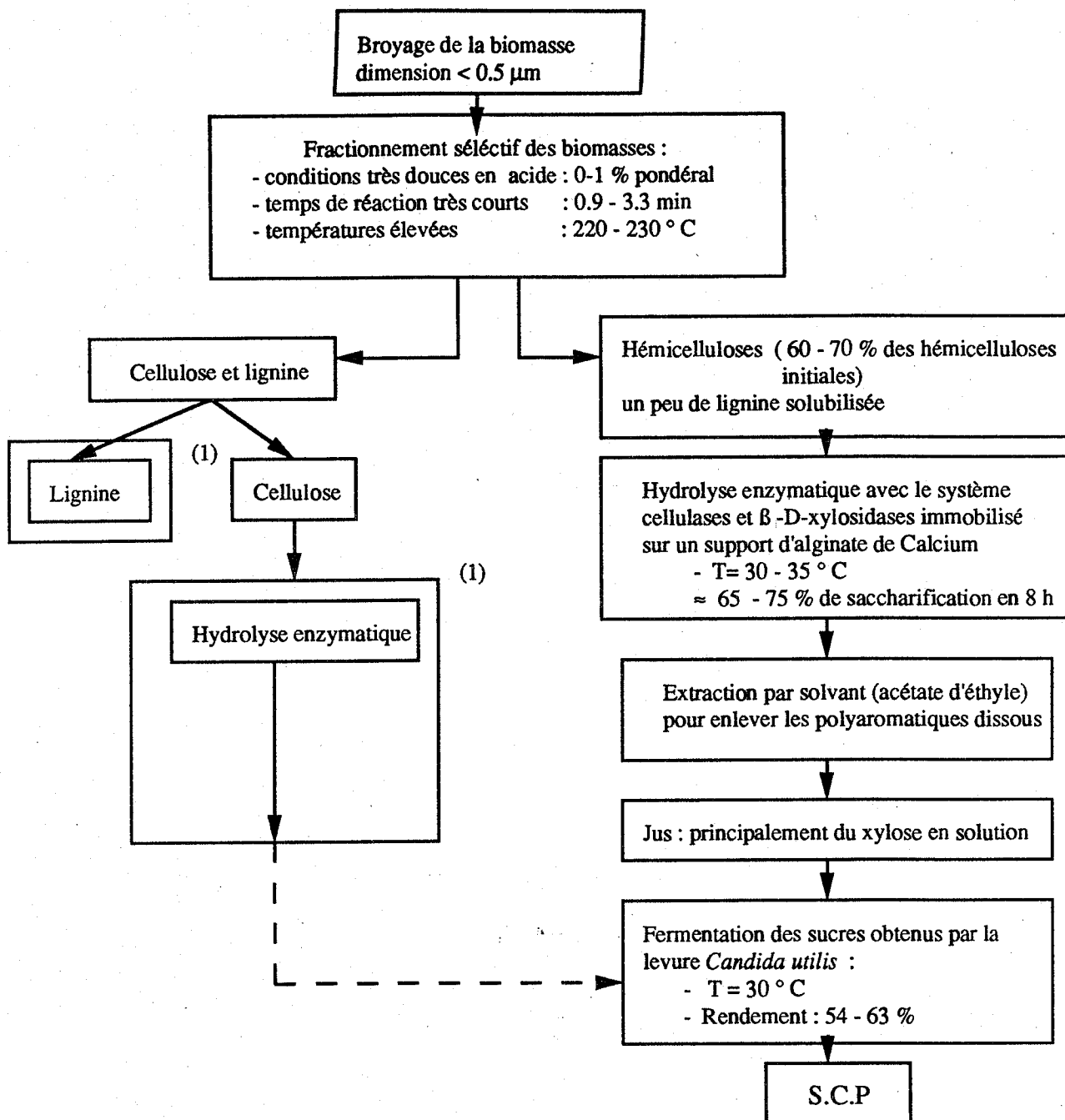
- des conditions très douces en acide , typiquement 0 à 1 % pondéral
- des temps de réaction très courts : 0.91 - 3.3 min
- des températures élevées , 220 - 230 ° C
- des procédés semi-continus et continus , où le rapport liquide/solide est 10/1 .

Ceci donne un rendement optimal typique en hémicelluloses récupérables de 60 à 70 % des hémicelluloses initiales.

L'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses avec le système cellulases et B - D - xylosidases immobilisé sur un support d'alginate est techniquement faisable si on utilise une température de 30 à 35 ° C , représentant un compromis entre la diffusion des réactifs et l'activité des enzymes.

Les résultats obtenus , bien que préliminaires , plaident en faveur de la technique d'immobilisation des enzymes .

La fermentation des sucres contenus dans les hydrolysats obtenus semble être possible , sans post-traitements où on obtient des rendements de croissance similaires à ceux obtenus avec des filtrats reconstitués à partir de sucres purs. Afin d'éviter les conséquences des effets toxiques dûs aux polyaromatiques dissous dans les filtrats prétraités , il faudrait procéder à une extraction préalable par solvant de ces derniers.



**Figure 80 . Schéma d'ensemble pour la fabrication des S.C.P à partir des carbohydrates des résidus agricoles**

Le concept de sévérité de traitement du procédé de fractionnement peut être approché de plusieurs manières différentes, où les facteurs  $R_0'$  et  $R_{0c}$  permettent de décrire l'effet de la température, du temps de réaction et de la concentration du catalyseur acide sur les rendements de la solubilisation des hémicelluloses améliorant ainsi le facteur  $R_0$  qui est basé sur la dualité température - temps de réaction.

Ces facteurs "phénoménologiques" constituent des "moyens" pour corrélérer et comparer des résultats expérimentaux obtenus sous différentes conditions.

Du point de vue de la cinétique de solubilisation des hémicelluloses, il semble que le concept de deux cinétiques de premiers ordre, l'une rapide et l'autre lente est applicable.

La modélisation proposée, conduite sur la base de ce dernier concept et employant le facteur  $R_B$  découlant d'une signification thermodynamique et sur les mécanismes réactionnels pourrait décrire les phénomènes expérimentaux observés.

## SUGGESTIONS ET RECOMMANDATIONS POUR DE FUTURES RECHERCHES

Tout au long de notre étude, nous avons remarqué quelques points importants qui méritent d'être étudiés afin d'améliorer ce présent travail:

- Faire des bilans globaux sur le procédé UdeS-H afin de déceler les pertes et leur origine, des matériaux lignocellulosiques utilisés.

- Compléter les analyses des filtrats et résidus pour ce qui est de la quantité des acides organiques solubilisés (acides uroniques, acide acétique) en utilisant la méthode HPLC (colonne des acides).

- Dans ce travail, on a mis en évidence l'influence de la concentration de l'acide sulfurique sur la solubilisation des hémicelluloses, de ce fait on propose d'étudier la force de l'acide et le type (minéral ou organique) sur cette solubilisation et vérifier aussi si l'incorporation par exemple du  $\text{SO}_2$  et  $\text{CO}_2$  comme catalyseur n'apportent pas d'améliorations conséquentes.

On suggère d'étudier notamment l'action catalytique de:

- l'acide phosphorique
- l'acide nitrique
- l'acide carbonique
- l'acide acétique
- l'acide citrique

et ceci permettra donc de généraliser la solubilisation des hémicelluloses via le concept de la sévérité du prétraitement employant l'un des facteur de sévérité développé dans ce présent travail et incluant en plus le  $\text{pK}_a$  de l'acide traduisant sa force.

- Faire l'analyse des sucres sur la lignine résiduelle et celle solubilisée qu'on pourrait récupérer par précipitation. Ceci permettra de clarifier l'hypothèse de la condensation des

sucres sur la lignine.

- Les oligomères du xylose, mannose, etc... provenant de la solubilisation des hémicelluloses sont de nature hétérogène, il faut donc réfléchir sur une manière de les séparer et les isoler par des techniques de chromatographie par exemple , afin de les quantifier. Ceci ne sera possible que si les standards existent et se trouvent commercialisés sur le marché et de ce fait, on quantifiera, plus précisément les oligomères obtenus durant l'étape de l'hydrolyse enzymatique.

- Optimisation et mise au point d'un réacteur d'hydrolyse enzymatique versatile utilisant comme biocatalyseur des enzymes immobilisés sur un support d'alginate, en prévoyant un module d'ultrafiltration des enzymes qui éventuellement s'échapperaient du support.

Cette optimisation portera sur :

- l'influence de la technique d'immobilisation des enzymes
- les aspects diffusionnels et de transfert de matière en s'aidant du schéma réactionnel global proposé en appendice G.

- Vérification du modèle de la cinétique d'hydrolyse enzymatique proposé en faisant une recherche et identification paramétriques du modèle. Ceci nécessitera l'emploi de méthodes d'optimisation puissantes avec recherche de paramètres dans des équations différentielles couplées et hautement non linéaires.

- Optimisation des rendements de croissance en fonction :

- du type d'opération ( continu ou semi-continu )
- du type de bioréacteurs (fermenteur agité , "airlift" , etc...)
- du milieu de culture économiquement adéquat.
- des conditions d'aération (  $k_{1a}$  , débits , etc...)

et si on opère en continu , il faudrait obtenir le taux de dilution  $D = Q/V_T < \mu_{max}$  , afin d'assurer la stabilité du régime permanent de la croissance en continu , BELKACEMI (1986), [13]. Ceci nécessite donc , la connaissance de la cinétique de croissance de *Candida utilis* dans

de tels milieux

- Intensification des recherches sur la toxicité des filtrats obtenus, en vérifiant d'autres agents qui pourrait être toxiques et sur des microorganismes moins résistants que *Candida utilis*.

Du point de vue technico-économique, l'étape de broyage des matériaux lignocellulosiques présente une limite essentiellement énergétique où on utilise  $\approx 100$  Kwh / tonne de biomasse traitée afin d'obtenir des particules dont le diamètre est inférieure à 0.5 mm, [120].

Un autre paramètre qui peut influencer sur la faisabilité technique du fractionnement, est l'énergie thermique requise, où il faut utiliser 1.1 kg de vapeur/kg de biomasse sèche, soit en termes de dépenses énergétiques 3600 kJ/kg de biomasse sèche, ABATZOGLOU et al (1989), [1].

Les avantages qu'offrent les enzymes immobilisés par rapport aux enzymes en solution sont:

- l'utilisation répétée des enzymes
- la possibilité des opérations en continu des procédés
- la facilité du contrôle
- la facilité de séparation des produits du bio-catalyseur

Ces avantages pourront avoir une importance considérable pour la rentabilité du procédé.

L'extraction liquide-liquide par solvant organique (l'acétate d'éthyle par exemple) des hémicelluloses obtenues par prétraitement est un procédé connu au niveau du génie-chimique et est techniquement faisable. Le seul problème qui peut se poser est le recyclage du solvant pour rentabiliser le procédé et en même temps résoudre le problème de pollution dû au solvant "contaminé" par les produits toxiques qui sont solubilisés lors de l'étape de prétraitement.

Dans ce domaine, de production des S.C.P, l'objectif d'utiliser les sucres



hémicellulosiques est attrayant, cependant l'incertitude liée aux rendements protéiniques et la valeur des protéines dominées par celles du soya sur le marché actuel rend les perspectives économiquement discutables.

Si le fractionnement des résidus agricoles vise la valorisation intégrale et simultanée des produits obtenus, les perspectives économiques des SCP dépendent du prix de la cellulose et de la lignine sur le marché.

Dans le domaine des produits chimiques, la fermentation des pentoses issus des hémicelluloses solubilisées revêt un caractère important où le plus important d'entre eux, le xylose peut ouvrir les marchés :

- du xylitol par hydrogénation.
- du furfural par hydrolyse acide.
- de l'éthanol par fermentation.
- et récemment, de la production d'huile microbienne qui s'annonce

comme une voie très prometteuse par rapport à l'option éthanol, FALL et al. (1984) [65].

*Un mot de la fin ...*

*Combien de théories scientifiques et scientifiquement ancrées à des données positives et mesurables ne se sont-elles pas avérées fausses sinon puériles quand l'esprit humain, toujours assoiffé de savoir, en a trouvé une autre encore plus scientifique et encore plus vérifiable?*

*SOCRATE n'a-t-il pas dit:*

*"Je sais que je ne sais rien".*

## BIBLIOGRAPHIE

1. Abatzoglou, N., K. Belkacemi, P. Koeberle, J. Bouchard, E. Chornet, R.P. Overend, (Mai 1989), L'hydrolyse des matières lignocellulosiques résiduelles: le procédé UdeS-H pour la production de Furfural et de Sucres fermentables, Colloque, 57<sup>e</sup> Congrès de l'ACFAS, Montréal.
2. Abott, B.J., and Allen Clamen, (1973), "The relationship of substrate, growth rate, and maintenance coefficient to Single Cell Protein production", *Biotechnology and Bioengineering*, XV, 117-127.
3. Aguilera, J.M., R.S. Martin, (1985), "Steam Hydrolysis of Pine (*Pinus radiata*) Sawdust", *Biomass*, 8, 301-313.
4. Aguirre, F., Maldonado, O., Rolz C., Menchu, J.F., Espinosa, R. and De Cabrera, S., (october 1976), "Protein from waste. Growing fungi on coffee waste", *Chemtech.*, 636-638.
5. Anderson, R., Weisbaum, R.B., Robe, K., (1974), "Convert waste into 50% protein Torula", *Food Processing*, 35, 7, 58-60
6. Anon, (September 1980), "Finnish paper firm builds protein from waste plant", *European Chemical News*, 22, 34.
7. Anon, (1974), "Manufactured protein", *Chemical Market Abstracts*, 66, 4, 147.
8. Aspinall, G.O., (1973), Carbohydrate polymers of plant Cell Walls polysaccharides, in *Biogenesis of Plant Cell Wall*, Loewus Ed., New-York, London, 95-115.
9. Aunstrup, K., Andersen, O., Falch, E.A., and Nielsen, T.K., (1979), "Production of microbial enzymes", in *Microbial Technology-Microbial Processes*, Vol. 1, Pepler H.J. and Perlman D. Eds, Academic Press, New-York, 563p.
10. Bamford, C.H., C.F.H. Tipper, (1979), Comprehensive chemical kinetics, The Theory of kinetics, V2, Elsevier Applied Sc. Publ., Amsterdam, Oxford, New-York, 192-204.
11. Barnet, David, (1984), "Autohydrolyse rapide du bois de peuplier (*Populus Tremula*):  
- Evolution de la composition des échantillons en fonction de la durée du prétraitement.  
- Isolement et caractérisation d'oligosaccharides acides", Thèse de Docteur 3<sup>e</sup> cycle,

Université Scientifique et Médicale de Grenoble (France).

12. Batt, C.A., S. Carvalho, D.D. Easson Jr, M. Akedo, and A.J. Sinsley, (1986), "Direct Evidence for a Xylose Metabolic pathway in *Saccharomyces cerevisiae*", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVIII, 549-553.
13. Belkacemi, Khaled, (Août 1986), "Production de protéines par voie non conventionnelle à partir des micro-algues *Spirulina maxima*", Mémoire de Maîtrise es Sciences appliquées en Génie chimique, Université de Sherbrooke.
14. Belkacemi, K., E. Chornet, R.P. Overend, M. Beerli, (Octobre 1987), Optimisation de la solubilisation des Hémicelluloses des Résidus Agricoles par prétraitement thermo-mécano-chimique en phase aqueuse, Canadian Chemical Engineering Graduate Student Conference, Kingston (Ontario).
15. Belkacemi K., E. Chornet , N. Abatzoglou , M. Beerli , R.P. Overend , (October 1989), "Xylan Solubilization via Depolymerization and Enzymatic Saccharification of the Soluble Oligomers " , 39<sup>th</sup> Canadian Chemical Engineering Conference , Hamilton (Ontario).
16. Benson, S.W., (1976), Thermochemical kinetics methods for the estimation of thermochemical data, and rates parameters, 2e Ed., J. Wiley & Sons, New-York, London, Sidney, Toronto, 320p
17. Bernier, R. Jr., M. Desrochers, L. Jurasek, M.G. Paice, (August 1983), "Isolation and Characterization of a Xylanase from *Bacillus subtilis*", *Applied and Environmental Microbiology*, 46, 2, 511-514.
18. Beveridge, R.J. and G.N. Richards, (1973), "Digestion of polysaccharide constituents of tropical pasture herbage in the bovine rumen, Part IV. The hydrolysis of hemicelluloses from spear grass by cell-free enzyme systems from rumen fluid", *Carbohydrate Research*, 29, 74-87.
19. Biely Peter, M. Vrsanska, Z. Kratky, (1981), "Mechanisms of Substrate Digestion by Endo-1,4- $\beta$ -Xylanase of *Cryptococcus albidus*-Lysozyme-Type Pattern of Action", *European Journal of Biochemistry*, 119, 565-571.
20. Biermann, C.J., (1983), "The Development of a New Pretreatment Method (Rapid Steam Hydrolysis) and the Comparison of Rapid Steaming, Steam Explosion, Autohydrolysis, and Wet Oxidation as Pretreatment Processes for Biomass Conversion of Southern Hardwoods", Ph.D. Thesis, Mississippi State University, Mississippi State, MS.
21. Bioreact Engineering., (1984), "Performance evaluation of variable surface area bioreactors for cellulose utilisation", NRCC-23784 , 137p.

22. Blanch, Harvey W. and Charles R. Wilke, (1982), "Cellulase Production and Kinetics", paper presented at the Royal Society of Canada - International Symposium on Ethanol from Biomass, 415-441.
23. Bobleter, O., R. Niesner and M. Röhr, (1976), "The Hydrothermal Degradation of Cellulosic Matter to Sugars and their Fermentative Conversion to Protein", Journal of Applied Polymer Science, 20, 2033-2093.
24. Bouchard, Jean, E. Chornet, R.P. Overend, (1988), "High-Performance Liquid Chromatographic Monitoring of Carbohydrate Fractions in Partially Hydrolyzed Corn Starch", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36, 1188-1192.
25. Brash, D.J. and K.W. Free, (April 1964), "The Chemistry of New Zealand Grown *Pinus radiata* III. Prehydrolysis-Sulfate pulps", Tappi, 47, 4, 186-189.
26. Brice, R.E. and I.M. Morrison (1982), "The degradation of isolated hemicelluloses and lignin Hemicellulose Complexes by Cell-free, rumen hemicellulases", Carbohydrate Research, 101, 93-100.
27. Calihan, C.D. and C.E. Dunlap, (1971), Construction of a chemical microbial pilot plant for production of single cell protein from cellulosic wastes, U.S. Environmental Protection Agency, Solid Waste Management series , SW-24C, U.S. Government Printing Office, Washington D.C.
28. Capon, B., (1967), "The mechanism of anomerisation of the methyl-D-Glucopyranosides", Chemical Communication, 1, 21-23.
29. Carioca, J.O.B., P.V. Pannirselvam, E.A. Horta, H.L. Arora, (1985), "Lignocellulosic Biomass Fractionation I-Solvent Extraction in a Novel Reactor", Biotechnology Letters, 7, 3, 213-216.
30. Carrasco, F., E. Chornet, R.P. Overend, M. Heitz, (1987), "Fractionnement de deux bois tropicaux (Eucalyptus et Wapa) par traitement thermomécanique en phase aqueuse - Partie II - Caractéristiques cinétiques sur la solubilisation des hémicelluloses", Canadian Journal of Chemical Engineering, 65 , 71-77.
31. Casebier, R.L., J. Kelvin Hamilton, H.L. Hergert, (1969), "Chemistry and Mechanism of water Prehydrolysis on Southern Pine wood", Tappi, 52, 12, 2369-2377.
32. Chanda, S.K., E.L. Hirst, J.K.N. Jones, E.G.V. Percival, (1950), "The constitution of xylan from esparto grass (*Stipa tenacissima* L.)", Journal of American Society, 1289, 1289-1297.

33. Chastel-Durand, H. and G. Clément, (1975), Spirulina algae, Food for Tomorrow, in Proceeding of the 9th International Congress of Nutrition, 3, Karger Basel, Switzerland, 85-90.
34. Chum H.L., D.K. Johnson, S.K. Black, R.P. Overend, (1989), "Pretreatment - Catalyst effects and the combined severity parameter", accepted for publication.
35. Chung, S.L. and Meyers, S.P., (1979), "Bioprotein from banana wastes", Development in Industrial Microbiology, 20, 723.
36. Claeysens, M., E. Saman, Hilda-K-Hildeson and C.K. de Bruyne, (1975),  $\beta$ -D-Xylosidase from *Bacillus pumilus*-Molecular properties and oligomeric structure", Biochemica and Biophysica Acta, 405, 475-481.
37. Coleen, A.S. and K.F. Gregory, (February 1987), "Production of Microbial Biomass Protein from Potato Processing wastes by *Cephalosporium eichhorniae*", Applied and Environmental Microbiology, 53, 2, 284-291.
38. Conner, A.H., (1984), "Kinetics Modeling of Hardwood Prehydrolysis Part I - Xylan removal by water Prehydrolysis", Wood and Fiber Science, 16, 2, 268-277.
39. Conner, A.H., B.F. Wood, C.G. Hill Jr., J.F. Harris, (1985), "Kinetic model of the dilute sulfuric acid saccharification of lignocelluloses", Journal Wood Chemical Technology, 5, 4, 461-489.
40. Cowling, E.B. and T.K. Kirk, (1976), Properties of Cellulose and Lignocellulosic Materials as substrates for enzymatic Conversion processes, in Enzymatic Conversion of Cellulosic Materials: Technology and Applications, E.L. Gaden Jr., M.H. Mandels, E.T. Reese, L.A. Spano Eds, J. Wiley & Sons, New York, USA.
41. Cunningham, R.L., M.E. Carr, M.O. Bagby, (1986), "Hemicellulose Isolation from Annual Plants", Biotechnology and Bioengineering Symposium, No. 17, 159-168.
42. Daly, I.M., Marc Svejkar, Pamela A.D. Rickard, (1983), "The hydrolysis of Xylan by *Cellulomonas* preparations", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 33B, 216-220.
43. Defaye, J., (1981), "Hydrolyse de la cellulose et des matières lignocellulosiques par l'acide fluorhydrique (HF)", Compte-rendu, Séminaire France-Québec-Etats-Unis sur l'hydrolyse des matériaux lignocellulosiques, Montréal, Québec, 189-212.
44. Defaye, J., H. Driguez, M. John, J. Schmidt and Eric, O., (1985), "Induction of D-

Xylan-degrading enzymes in *Trichoderma lignorum* by nonmetabolizable inducers. A Synthesis of 4-Thioxylobiose", Carbohydrate research, 139, 123-132.

45. Defaye, J., H. Driguez, E. Chleyer, C. Orgeret, E. Seillier et C. Vidaud, (September 1982), Induction, purification et évaluation des cellulases et hémicellulases au moyen d'analogues de substrats thio-oligosaccharidiques", Colloque Science industrie du bois, Grenoble, France, 20-22.
46. Dehority, B.A., (May 1968), "Mechanism of isolated Hemicelluloses and Xylan degradation by Cellulolytic Rumen Bacteria", Applied Microbiology, 16, 5, 781-786.
47. Dehority, D.A., (1967), "Rate of isolated Hemicellulose degradation and utilisation by pure cultures of Rumen Bacteria", Applied Microbiology, 15, 5, 987.
48. Deleyn, F., M. Claeysens and C.K. de Bruyne, (1982), " $\beta$ -D-Xylosidase from *Penicillium wortmanni*", Methods in Enzymology, 83, 639-645.
49. Dekker, R.F.H., A.F.A. Wallis, (1971), "Autohydrolysis-Explosion as pretreatment for the enzymic saccharification of sunflower seed hulls", CSIRO report, Division of Chemical and Wood Technology, Victoria Australia, 311-316.
50. Dekker, R.F.H., G.N. Richards and M.J. Playne, (1982), "Digestion of polysaccharide constituents of tropical pasture herbage in the bovine rumen - Part 1 Townsville Stylo (*Stylosanthes humilis*)", Carbohydrate Research, 22, 173-185.
51. Dekker, R.F.H. and G.N. Richards, (1976), "Hemicellulases: Their Occurrence, Purification, Properties, and Mode of Action", Advances in Carbohydrate Chemistry, 32, 277-352.
52. Delong, E.A., (1981), Method for rendering lignin separable from Cellulose and Hemicelluloses and the product so produced, Canadian Patent, 1, 096, 374.
53. Dennis, J.E., Schnabel, R., (1983), Numerical Methods for unconstrained Optimization and Non linear Equations, Prentice-Hall Ed., USA.
54. Deshpande, V., Anil, L., C. Mishra, S. Kesbar and M. Rao, (1986), "Mode of Action and properties of Xylanase and  $\beta$ -Xylosidase from *Neurospora crassa*", Biotechnology and Bioengineering, XXVIII, 1832-1837.
55. Desrochers, M., J.L., Paice M.H., (1981), "Production of cellulose,  $\beta$ -glucosidase, and

Xylanase by *Schizophyllum commune* grown on a cellulose-peptone medium", Development in industrial microbiology, 22, 675-484.

56. Diane R. Knappert, (June 1981), Partial Acid Hydrolysis Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: A Process Development Study for Ethanol Production, PhD. Thesis, Thayer School of Engineering Dartmouth College, Hanover, New Hampshire, 167p.
57. Diane R. Knappert, Hans Grethlein, Alvin Converse, (1981), "Partial Acid Hydrolysis of Poplar Wood as a Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis", Biotechnology and Bioengineering Symposium, No. 11, 67-77.
58. Drouliscous, N.J., B.J. Marcris, R. Kokke, (May 1976), "Growth of *Fusarium moniliforme* on Carob Aqueous Extract and nutritional Evaluation of Its Biomass", Applied and Environmental Microbiology, 31, 5, 691-694.
59. Dubeau, H., D.S. Chahal, M. Ishaque, (1986), "Production of Xylanases by *Chaetomium cellulolyticum* during growth on lignocelluloses", Biotechnology Letters, 8, 6, 445-448.
60. Dubeau, H., D.S. Chahal, M. Ishaque, (1987), "Xylanase of *Chaetomium cellulolyticum*: its nature of production and hydrolytic potential", Biotechnology Letters, 9, 4, 275-280.
61. Dunlap, C.E., (1975), Production of single cell protein for insoluble agricultural wastes by mesophiles, in Single Cell Protein II, S.R. Tannenbaum and D.I.C. Wang Eds, MIT Press, Cambridge, 244-262.
62. Dutoit P.J., S.P. Olivier , P.L. van Biljon, (1984), "Sugar Cane Bagasse as Possible Source of Fermentation Carbohydrates. I - Characterization of Bagasse with regard to Monosaccharide , Hemicellulose , and Amino Acid composition", Biotechnology and Bioengineering , XXVI, 1071-1078.
63. Ericsson, M., Ebbinghaus, L., Lindbloom, M., (1981), "Single cell protein from methanol: Economic aspects of the Norprotein process", Journal of Chemistry Technology Biotechnology, 31, 33.
64. Esteban, R., J.R. Villanueva and T.G. Villa, (1982), " $\beta$ -D-Xylanases of *Bacillus circulans* WL-12", Canadian Journal of Microbiology, 28, 733-739.
65. Fall, Ray, Patricia Phelps, D. Spindler, (May 1984), "Bioconversion of Xylan to Triglycerides by Oil-Rich Yeasts", Applied and Environmental Microbiology, 47, 5, 1130-1134.



66. Faust, U., (1979), "Process results from SCP-Pilot plant based on methanol", DEHEMA Monographe, 83, 125.
67. Feather, M.S., J.F. Harris, (1973), "Dehydration reactions of carbohydrates", *Advances in Carbohydrate Biochemistry*, 28, 161-224.
68. Fengel, D. & G. Wegner, (1984), Polyoses (Hemicelluloses) in Wood Chemistry Ultrastructure reactions, Walter de Gruyter Ed., Berlin New-York, 106-127.
69. Fengel, D., G. Wegner, (1984), Reactions in acidic medium, in Wood Chemistry, ultrastructure reactions, W. De Gruyter Ed., Berlin & N.Y., 266-292.
70. Fernand Baroud, Guy G.S. Dutton et J.P. Joseleau, (Juin 1972), "La D-Xylane du roseau *Arundo donax*, Communication au Congrès de l'Institut de Chimie du Canada Québec.
71. Foody, P., (1980), Optimization of Steam Explosion Pretreatment, Iotech Corp., Ottawa, Ontario, Canada, Final report to DOE, Contract AC02-79ETZ3050.
72. Forage, A.J., (1978), "Recovery of yeast from confectionery effluents", *Process Biochemistry*, 8p.
73. Fourier, R.A., Mary M. Frederick, James R. Frederick and P.T. Reilly, (1985), "Purification and characterization of Endo-Xylanases from *Aspergillus niger* III. An enzyme of pI 3.65", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 539-546.
74. Fratzke, A.R. and Reilley, P.J., (1976), "Utilisation of agricultural wastes, enzymatic hydrolysis of matrix polysaccharides", *Enzyme Technology Digest.*, 5, 1, 3-23.
75. Frederick, M.M., Chih. H. Kiang, James R., Frederick and Peter J. Reilly, (1985), "Purification and characterisation of Endo-Xylanases form *Aspergillus Niger* I. Two Isoenzymes Active on Xylan Backbones near Branch points", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 525-532.
76. Funk, H.F., (1975), "Recovery of Pentoses and Hexoses from wood and other material containing hemicellulose, and further processing of C<sub>5</sub> and C<sub>6</sub>-Components", *Applied Polymer Symposium*, 28, 145-152.
77. Galbe Mats, G. Zacchi, (1986), "Pretreatment of Sallow Prior to Enzymatic Hydrolysis", *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, No. 17, 98-105.

78. Galwey, A.K., (1977), "Compensation effect in Heterogenous Catalysis", *Advances in Catalysis*, 26, 247-322.
79. Ghose, T.K., T. Panda, V.S. Bisaria, (1985), "Effect of Culture phasing and Mannanase on production of Cellulase and Hemicellulase by mixed culture of *Trichoderma reesei* D-16 and *Aspergillus wentii* Pt 2804", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 1353-1361.
80. Ghosh, A.K., P.C. Banerjee, S. Sengupta, (1980), "Purification and properties of Xylan hydrolase from Mushroom *Termitomyces chypeatus*", *Biochimica & Biophysica Acta*, 612, 143-152.
81. Gong, C.S., M.R. Ladish and G.T. Tsao, (1977), "Cellobiase from *Trichoderma viride*: Purification, Properties, Kinetics and Mechanism", *Biotechnology and Bioengineering*, XIX, 959.
82. Gonzalez, G., J. Lopez-Santin, G. Caminal and C. Sola, (1986), "Dilute Acid Hydrolysis of Wheat Straw Hemicellulose at Moderate Temperature: A Simplified Model", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVIII, 288-293.
83. Gorbacheva, I.V. and N.A. Rodionova, (1977), "Studies on Xylan degrading enzymes I. Purification and characterization of Endo-1,4- $\beta$ -Xylanase from *Aspergillus niger* Str. 14", *Biochimica et Biophysica Acta*, 484, 79-93.
84. Gorbacheva and N.A. Rodionova, (1977), "Studies on Xylan degrading enzymes-II Action pattern of endo-1,4- $\beta$ -Xylanase form *Aspergillus niger* Str. 14 on Xylan and Xylooligosaccharides, *Biochimica et Biophysica Acta*, 484, 94-102.
85. Gow, J.S., L. Hailes, J.D., Smith, S.R.L. and Walter, R.B., (1974), SCP production from methanol: Bacteria, in Single Cell Protein II, Tannenbaum S.R. & Wang D.I.C. Eds, MIT Press, Cambridge.
86. Grajek, W., (1987), "Production of D-Xylanases by thermophilic fungi using different methods of culture", *Biotechnology Letters*, 9, 5, 353-356.
87. Gregory, K.F., (1980), SCP Production from Starchy Substrates by Thermotolerant Fungi, paper, 6th international fermentation symposium, London, Ontario, July 20 to 25.
88. Grethlein, H.E., Converse, A.D., (1982), "Continuous Acid Hydrolysis for Glucose and Xylose Production", *Proceeding of Royal Society Canadian International*

Symposium Ethanol from Biomass (Winnipeg), 312-326.

89. Grohmann, K., (1984), Chemical-mechanical methods for Enhanced Utilization of Straw", Biotechnology & Bioengineering Symposium, no. 14, Symposium Biotechnology for Fuels & Chemicals (Gatlinburg), 137-157.
90. Grohmann, K., Torget, R., M. Himmel, (1985), "Optimisation of dilute acid pretreatment of biomass", Biotechnology and Bioengineering Symposium, 15, 59-80.
91. Guillermo Schaffeld, A. Illanes, Gladys Mejias and Ana Maria Pinochet, (1987), "Sequential Acid and Enzymatic Hydrolysis of Sugar beet pulp", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 39, 161-171.
92. Hajny, G.J., (1981), U.S.D.A., Forest Service, Forest products laboratory reasearch Paper FPL. 385.
93. Han, Y.W., C.E. Dunlap & C.D. Calihan, (1971), "Single Cell protein from Cellulosic Wastes", Food Technology, 25, 32-35, 56.
94. Harris, F.J., (1975), "Acid hydrolysis and dehydration reactions for utilising plant carbohydrates", Applied Polymer Symposium, 28, 131-144.
95. Harris, F.J., A.J. Baker, T.W. Jeffries, J.L. Minor, R.C. Peterssen, R.W. Scott, E.L. Springer, T.H. Wegner, J.I. Zerbe, (1985), "Two stage, dilute sulfuric acid hydrolysis of wood-An investigation of fundamentals", Forest Prod. Lab., General technical report FPL-45, 1-74.
96. Hicks R.C , (1982) , Tests of hypotheses , in Fundamental Concepts in the Design of Experiments, 3<sup>o</sup> ed. , Holt , Rinehart and Wilson Inc., N.Y, 28 -29.
97. Hilda K. Hilderson, Marc Claeysens, Elisa V. Dooylaer, Eric Saman and C.K. De Bruyne, (1982), " $\beta$ -D-Xylosidase from *Bacillus pumilus*", Methods in Enzymology, 83, 631-638.
98. Hoebler, C. and J.M. Brillouet, (1984), "Purification and properties of an Endo-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-Xylanase from *Irpex lacteus* (*Polyporus tulipiferae*)", Carbohydrate Research, 128,142-155.
99. Honda, H., T. Kudo, Ikuda, Y., K. Horikoshi, (1985), "Two types of Xylanases of alkalophilic *Bacillus* Sp. No. C-125" ,Canadian Journal of Microbiology, 31, 538-542.
100. Honda, H., T. Kudo and Koki, H., (1985), "Purification and partial characterization of

- Alkaline Xylanase from *Escherichia coli* carrying pCX311", Agriculture Biological Chemistry, 49, 11, 3165-3169.
101. Hwang, M. and J.H. Seinfeld, (January 1972), "A New Algorithm for the Estimation of Parameters in Ordinary Differential Equations", AIChE Journal, 18, 1, 90-93.
  102. Illanes, A., Shaffeld, G. (1983), "Protein enrichment of treated and untreated leached beet cosette", Biotechnology Letters, 5, 305-310.
  103. Ingvar, J., Bengt, L., Olof, T., (1963), "Pseudocellobiouronic Acid, Synthesis and Acid Hydrolysis", Acta Chemica Scandinavica, 17, 2019-2024.
  104. Jarl, K., (1969), "Symba yeast process", Food Technology, 23, 1009-1012.
  105. Juraj Varadi, V. Necesany and P. Kovacs, (1971), "Cellulase and Xylanase of fungus *Schizophyllum commune* III. Purification and properties of Xylanase", Drevarsky Vyskum, XVI, 3, 147-159.
  106. Jurasek, K., Varadi, J. and R. Sopko (1967), "Enzymatic properties of the lignolytically active supernatant of *Schizophyllum commune* Shake Culture", Drevarsky vyskum, 4, 191-201.
  107. Jurasek, L., (September 1968), "Lignolytic action of *Schizophyllum commune*", Proceeding of 1<sup>st</sup> International Biodegradation Symposium, Southampton University-England, 565-70.
  108. Kamel, B.S., (June 1979), "Utilisation of date carbohydrate as Substrate in microbial fermentation", Process Biochemistry, 12.
  109. Kazumasa, Schimizu, K. Sudo, Sadao, N., Mitsuro, I., (1983), "Enzyme Hydrolysis of Wood VIII. Enzymatic susceptibility of autohydrolyzed woods", Mokuzaï Gakkaishi, Vol. 29, 6, 428-437.
  110. Kekos, D., E.G. Koukios, (1985), "Acid Hydrolysates from Acorn polysaccharides as substrates fo *Candida* Growth". Biotechnology Letters, 7, 5, 345-348.
  111. Khan, A.W., K.A. Lamb and M.A. Forgie, (1987), "Formation of Esterase, Xylanase and Xylosidase by Cellulotic Anaerobes", Biomass, 13, 135-146.
  112. Kim, S.B. and Y.Y. Lee, (1987), "Kinetics in Acid-Catalyzed Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose", Biotechnology and Bioengineering Symposium, No. 17, 72-84.

113. Kobayashi, T. and Y. Sakai, (1956), "Hydrolysis rate of Pentosan of hardwood in dilute Sulfuric Acid", Bulletin Agricultural Chemistry Society Japan, 20, 1-7.
114. Koeberle, P., Meloche, F., Chauvette, G., Ménard, H., Chornet, E., Heitz, M., Jaulin, L., R.P. Overend, (1984), Lignocellulosic pretreatment leading to fractionation and hydrolysis via aqueous mechano-chemistry, in Proc. 5th Canadian Bioenergy R&D Seminar, S. Hasnain Ed., Elsevier Science Publ., London, 263-267.
115. Kosman, W., (March 1978), "A better way to make protein from whey?", Chemical Engineering, 13, 36p.
116. Kristensen, T.P., (1978), "Continuous single cell production from *Cellulomonas* sp. and *Candida utilis*, grown in mixture on barley straw", European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 5, 155.
117. Kuraishi, M., Tereo, H., Ohkouchi, N., Matsuda, N. and Nagai, P., (1979), "SCP process development with methanol as substrate", DECHEMA Monographie, 83, 111.
118. Laine, B. et Chauffaut, J., (1974), Single Cell protein II, Vol. 4, Tannenbaum S.R. et Wang D.I.C Eds, MIT Press, Cambridge.
119. LAML -Sherbrooke-, (Décembre 1986) , "Le fractionnement des matières lignocellulosiques" , Rapport présenté au Centre Québécois de la Valorisation de la Biomasse , CQVB , 21-22.
120. Lamptey, J., C.W. Robinson, M. Moo-Young, (1985), "Enhanced Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass Pretreated by low pressure steam auto hydrolysis", Biotechnology Letters, 7, 7, 531-534.
121. Laskin, A.I., (1977), Single Cell protein from Renewable and Non-renewable Resources, E.L. Gaden and A.E. Mumphrey Eds, Biotechnology Bioengineering Symposium, No. 7, John Wiley & Sons, New-York, 91-95.
122. Leathers, T.D. (November 1986), "Color variants of *Aureobasidium pullulans* over produce Xylanase with extremely high specific activity", Applied and Environmental Microbiology, 52, 5, 1026-1030.
123. Lee, E.S., (1968), Quazilinearisation and Invariant Imbedding, Academic Press, New-York, 14-15.
124. Leffler, E.J., (1966), "The enthalpy-entropy relationship and its implications for organic chemistry", Contribution from the department of chemistry, Florida State University,

- V20, 1202-1224.
125. Lemmel, S.A., R.C. Heimsch and L.L. Edwards, (1979), "Optimizing the continuous production of *Candida utilis* and *Saccharomycopsis fibuliger* on potato processing wastewater", Applied And Environmental Microbiology, 37, 227-232.
  126. Linden, C. James, D.H. Smith, (October 1982), Pretreatment of crop cellulose. Paper Presented at the Royal Society of Canada. International Symposium on Ethanol from Biomass, Winnipeg, 161-203.
  127. MacDonald, D.G., Bakhshi, N.N., Mathews, J.F., Roy Chawdhury, Pratima Bajpai, Murray Moo-Young, (1983), "Alkali Treatment of Corn Stover to improve Sugar production by enzymatic hydrolysis", Biotechnology & Bioengineering, 25, 8, 2067-2076.
  128. MacGinnis, G.D., Wilson, W.W. and Mullen, C.E., (1983), "Biomass pretreatment with water and high-pressure oxygen. The wet oxidation process", Industrial Engineering Chemistry, Product R&D, 22, 352-57.
  129. Maloney, Mark T. and Thomas W. Chapman, (1986), "An Engineering Analysis of the Production of Xylose by Dilute Acid Hydrolysis of Hardwood Hemicellulose", Biotechnology Progress, 2, 4, 192-202.
  130. Maloney, M.T., T.W. Chapman, A.J. Baker, (1984), "Numerical percolation reactor model for xylan and acetyl-group hydrolysis", AIChE Summer national meeting, Philadelphia, USA, 1-32.
  131. Marchessault, R.H., Coulombe, S. Hanai, T. and Morikawa, H., (1980), "Monomers and Oligomers from Wood", Pulp Paper Magazine of Canadian Transaction, 6, 2, TR 52-56.
  132. Marchessault, R.H., Coulombe, S., Morikawa, H. and Robert, D., (1982), "Characterization of Aspen Exploded Wood Lignin", Canadian Journal of Chemistry, 60, 18, 2372-82.
  133. Marquardt, D.W., (1963), "An Algorithm for Least-Squares Estimation of non-linear parameters", Journal Society of Industrial Applied Mathematics, 11, 2, 431-444.
  134. Matsuo, M., T. Yasui and T. Kobayashi, (1977), "Purification and Some properties of  $\beta$ -Xylosidase from *Malbranchea pulchella* var. *Sulfurea* No. 48", Agriculture Biological Chemistry, 41, 9, 1593-1599.
  135. Mehlberg, R. and G.T. Tsao, (September 1979), Low liquid Hemicellulose Hydrolysis

with Hydrochloric Acid, presented at 178<sup>th</sup> ACS National Meeting, Washington, D.C.

136. Merchant, R., F. Merchant, A. Margaritis, (1988), "Production of Xylanase by the Thermophilic Fungus-*Thielavia terrestris*", *Biotechnology Letters*, 10, 7, 513-516.
137. Mitsuishi, Y., T. Yamanobe, M. Yagisawa and Y. Takasaki, (1987), "Purification and properties of thermostable Xylanases from Mesophilic Fungus Strain Y-94", *Agriculture Biological Chemistry*, 51, 12, 3207-3213.
138. Moelwyn-Hughes Emyr Alun, (1928), "The Kinetics of the hydrolysis of Certain Glycosides, Part III.  $\beta$ -Methylglucoside, Cellobiose, Melibiose and Turanose", *Transaction Faraday Society*, 25, 503-520.
139. Moo-Young, M., Daugulis, A.J., Chahal, D.S. and MacDonald, D.G., (October 1979), "The Waterloo process for SCP production from waste biomass", *Process Biochemistry*, 38 - 42.
140. Moreton, R.S., (1978), "Growth of *Candida utilis* on Enzymatically Hydrolysed Potato waste", *Journal of Applied Bacteriology*, 44, 373-382.
141. Morgen, H., (1979), "SCP from methanol - The Norprotein process", *Process Biochemistry*, 3, 2.
142. Morrison Ian, M., (1974), "Structural Investigations on the Lignin-Carbohydrate Complexes of *Lolium perenne*", *Biochemical Journal*, 139, 197-204.
143. Morrison, I.A., (1975), "Xylanase (Hemicellulase) activity in cell-free rumen fluid", *Carbohydrate Research*, 30, 129-139.
144. Moss, F.J., Pamella, A.D.R., G.A. Beech, F.E. Bush, (1969), "The response by microorganisms to Steady State growth in controlled concentrations of oxygen and Glucose I -*Candida utilis*", *Biotechnology and Bioengineering*, XI, 561-580.
145. Nakanishi, K. and T. Yashui, (1980), "Kinetic Studies on Xylanase Induction by  $\beta$ -Xyloside in *Streptomyces* Sp.", *Agriculture Biological Chemistry*, 44, 8, 1885-1889.
146. Nathdas N., Sankar, Chandra, A.S. Dutt and A. Roy, (1981), "Lignin-Xylan ester linkage in Jute fiber (*Corchorus capsularis*)", *Carbohydrate Research*, 94, 73-82.
147. Okazaki, W., T. Akiba, K. Horikoshi and R. Akahoshi, (1985), "Purification and Characterization of Xylanases from Alkalophilic Thermophilic *Bacillus* Spp.", *Agriculture Biological Chemistry*, 49, 7, 2033-2039.

148. Overend, R.P. and E. Chornet, (1988), A Unified Treatment for Liquefaction, in Bridgwater, J.L. Research in Thermochemical Biomass Conversion, Elsevier Applied Sciences Publishers, London and New-York, 411-428.
149. Paice, M.G., Jurasek, L., Carpentier, M.R., Smillie, L.B., (1978), "A Xylanase from *Schizophyllum commune*", Enzyme Engineering, 4, 61-63.
150. Paice, M.G. and Jurasek, L., (June 1977), "Wood-saccharifying enzymes from *Schizophyllum commune*", Tappi Forest Biol/Wood Chem. Conference (Madison), 113-117.
151. Paice, M.G., L. Jurasek, M.R. Carpentier, L.B. Smillie, (December 1978), "Production characterization and partial amino acid sequence of Xylanase A from *Schizophyllum commune*", Applied and Environmental Microbiology, 36, 6, 802-808.
152. Paroda, S. and M. Mishra, (1984), "Growth and enzyme production by *Aspergillus terreus* in Holocellulose", Annales de Microbiologie (Institut Pasteur), 135A, 297-302.
153. Peitersen, N., (1975), "Cellulose and protein production from mixed cultures of *Trichoderma viride* and a yeast", Biotechnology and Bioengineering Symposium , 17, 1291-1295.
154. Peitersen, N., (1975), "Production of Cellulase and protein from barley straw by *Trichoderma viride*", Biotechnology and Bioengineering, 17, 361.
155. Pfeifer, P.A., G. Bonn, O. Bobleter, (1984), "Influence of Biomass degradation products on the fermentation of Glucose to Ethanol by *Saccharomyces carlbergensis* W.34", Biotechnology Letters 6, 8, 541-546.
156. Planes, L.R., (October, 1975), Dissertation, CENIC, University of Habana, Cuba.
157. Planes, L.R., (1974), Revista CENIC, Ciencias Fisicas, 5, 153-159.
158. Planes ,L.R, (1975), Revista CENIC, Ciencias Fisicas, 7, 193-221.
159. Planes , L.R., G. Iglesias and J. Hernandez, (1981), "Kinetic Study of the prehydrolysis of pith from bagasse with mixtures of sulphuric and nitric acids to obtain Fermentable Sugars and polysaccharides", CENIC, Université Havana Cuba, 43-57.
160. Polivka, L. and J. Zelinka, (1969), "The yeast biomass production by *Endomycopsis*



*fibuliger* on media with wastes of starch production, *Biologia*, (Bratislava), 24, 881-884.

161. Powell, M.E. and Robe, K., (1964), "Solves whey disposal, creates new product", *Food processing*, 10, 80p.
162. Prakash M. Dey, Ken Brinson, (1984), "Plant cell walls", *Advances on Carbohydrates Chemistry and Biochemistry*, 42, 265-383.
163. Prieto, S., E.C. Clausen, J.L. Gaddy, (1986), "Improved Hydrolysis Process for the Saccharification of Biomass", *Biotechnology & Bioengineering Symposium*, No. 17, 124-133.
164. Prior, B.A., (1984), "Continuous Growth Kinetics of *Candida utilis* in pineapple Cannery Effluent", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVI, 748-752.
165. Puls, J., Poutanen, K., Viikari, L., (1984), "Effect of Steaming Pretreatment on Biotechnical Utilization of wood components", *Bioenergy 84* (Egnens & Ellegard Eds), *Proceeding International Conference on Bioenergy* (Goteborg), 3, Elsevier, 173-180.
166. Rajoka, M.I. and K.A. Malik, (1984), "Cellulases and Hemicellulase production by *Cellulomonas flavigena* NIAB 441", *Biotechnology Letters*, 6, 9, 597-600.
167. Raymond B. , (April 1986) , Bertin Process for the Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Wastes , in *Energy from Biomass* , *Proceedings of the first contractors' meeting* , Brussels , Ed. by G. Grass and H. Zibetta , 257 - 260 .
168. Rajoka, M.I. and K.A. Malik, (1986), "Comparison of different strains of *Cellulomonas* for production of cellulolytic and xylanolytic enzymes from biomass produced on saline Lands", *Biotechnology Letters*, 8, 10, 753-756.
169. Rapp, P. and Fritz, W., (April 1986), "Production and properties of Xylan Degrading enzymes from *Cellulomonas uda*", *Applied and Environmental Microbiology*, 51, 4, 746-752.
170. Reade, A.E. et Smith, R.H., (1973), *Use of Barley as a Substrate for Fungi of Potential Nutritive Value*, *Progress Report R&D 1972/73*, Home-Grown Cereals Authority, London, 1.
171. Reese, E.T., Siu, R.G.H., Levinson, H.S., (1950), "The biological degradation of soluble Cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of Cellulose Hydrolysis", *Journal of Bacteriology*, 59, 485.
172. Rho, D., Desrochers, M., (October 1981), *Production of Cellulolytic enzymes by Schizophyllum commune fungus, France/Québec/USA: Seminar Hydrolysis*

lignocellulosics, Montreal-Canada, 164-175.

173. Ristroph, D.L. and A.E. Humphrey, (1985), "The  $\beta$ -Xylosidase of *Thermomonospora*", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 909-913.
174. Robey, H., (1984), "Assessment of Wet Oxydation of Agricultural Residues to form Fermentation Substrates", *Canadian Bioenergy R&D Seminar Ottawa, Proc. (Hasnain S. Ed.)*, 5th, 242-247.
175. Robinson, P.D., (1984), "Cellulase and Xylanase production by *Trichoderma reesei* RUT C-30", *Biotechnology Letters*, 6, 2, 119-122.
176. Romantschuk, H. et M. Lehtomäki, (1978), "Operational Experiences of First Full Scale Pekilo SCP-Mill Application", *Process Biochemistry*, 13, 3, 16-19 + 29.
177. Ross, D., Brown, Jr., L. Jurasek, (1978), Hydrolysis of Cellulose: Mechanisms of Enzymatic and Acid Catalysis, *Advances in Chemistry series 181*, American Chemical Society, Washington D.C., 399p.
178. Roudier, A.J., L. Eberhard, (1967), "Recherche sur les hemicelluloses du bois de pin maritime des Landes [*Pinus pinaster solander* Subp. *P. maritima* (Poiret) Fieschi & Gausson] - III - Polyosides extraits de ce bois par l'eau bouillante", *Bulletin Société Chimique*, 844-850.
179. Rydholm, S.A., (1965), "Chemical pulping", in Pulping processes, Interscience, New-York.
180. Sadana, J.C., J.G. Shewale and M.V. Deshpande, (April 1980), "High Cellobiase and Xylanase production by *Sclerotium rofsii* U.V.-8 Mutant in Submerged Culture", *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 4, 935-936.
181. Sawada, T. and Nakamura, Y., (1985), "Effect of explosion operation for effective Utilisation of plant material", *International Symposium of Wood & Pulping Chemistry, Vancouver*, 31-35.
182. Schaleger, L.L. and Brink, D.L., (1978), "Chemical production by oxidative Hydrolysis of Lignocellulose", *Tappi* 61, 4, 65-68.
183. Schaleger, L.L. and Brink, D.L., (1977), "Chemical production by oxidative Hydrolysis of Lignocellulose, presented at: Tappi Conference, Forest Biology/Wood Chemistry, Madison WI.
184. Schultz, T.P., McGinnis, G.D., Biermann, C.J., (1984), "Similarities and Differences in Pretreating woody Biomass by steam explosion, wet oxidation, autohydrolysis and rapid steam hydrolysis/continuous extraction, Mississippi Forest Products Utilisation Lab.,

Conference-840111 ,4 -28.

185. Schultz, P., M.C. Templeton, C.J., Biermann, G.D. Mc Ginnis, (1984), "Steam Explosion of Mixed Hardwood Chips, Rice Hulls, Corn Stalks, and Sugar Cane Bagasse", *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 32, 1166-1172.
186. Sharma, D.K., Prakash, N.S., (1982), "Production of Furfural from Agricultural Wastes by using Pressurised Water in a Batch Reactor", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 32, 666-668.
187. Sharma, D.K. and P.N. Sahgal, (1983), "Elevated Temperature Hydrolysis of Rice Husk with pressurised water in a semibatch process", *Cellulose Chemistry and Technology*, 17, 655-658.
188. Sharma, U., (1981), "Investigation on the structure of the hemicellulose obtained from the fiber of *Sansevieria trifasciata* Leaves", *Carbohydrate Research*, 95, 81-86.
189. Shei Juliana C., Alfred R. Fratzke, M.M. Frederick, J.R. Frederick and Peter J. Reilly, (1985), "Purification and Characterization of Endo-Xylanases from *Aspergillus niger* II. An Enzyme of pI= 4.5", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 533-538.
190. Shipman, R.H., Kao, I.C. and Fan L.T., (1975), "Single-cell protein production by photosynthetic bacteria cultivation in agricultural by products", *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 17, 1561-1567.
191. Simmonds, F.A., R.M. Kungsburg and J.S. Martin, (1955), "Purified Hardwood pulps for Chemical Conversion II. Sweetgum Prehydrolysis-Sulfate pulps", *Tappi*, 38, 3, 178-186.
192. Singh, Amar, K. Das, D.K. Sharma, (1984), "Integrated Process for Production of Xylose, Furfural and Glucose from Bagasse by two-step Acid Hydrolysis", *Industrial Engineering Chemical Research Development*, 23, 257-262.
193. Singh, Amar, K. Das, D.K. Sharma, (1984), "Production of Xylose, Furfural, Fermentable Sugars and Ethanol from Agricultural Residues", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 34A, 51-61.
194. Sinner, V.M., H.H. Dietrichs, (December 1975), "Enzymatische Hydrolyse von Laubholxylenen-III-Kennzeichnung Von fünf isolierten  $\beta$  1-4-Xylanen", *Holzforschung*, 29, 6, 207-214.
195. Sinner, M.V., Dietrichs, H.H., (April (1976), "Enzymatische Hydrolyse von

- Laubholzxylenen - IV. Abbau von isolierten Xylanen", *Holzforschung*, 30, 2, 50-59.
196. Sivaraman, H., A.V. Pundle, A.A. Prabhune, (1984), "Growth of *Candida utilis* on distillery effluent", *Biotechnology Letters*, 6, 11, 759-762.
  197. Solomon, B.O., Steven K. Layokun, Israel A. Fatile and Godfrey N. Agho, (1985), "Analysis of the Growth of *Trichosporon cutaneum* on Glucose: Yield and maintenance Requirements", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 35B, 266-272.
  198. Song F. Lee, C.W. Forsberg and L.N. Gibbins, (October 1985), "Xylanolytic Activity of *Clostridium acetobutylicum*", *Applied and Environmental Microbiology*, 50, 4, 1068-1076.
  199. Spalt, H.A., (1977), Chemical changes in wood Associated with wood fiberboard analysis, in: *Wood Technology Chemical Aspects*, ACS Symposium, 43, American Chemical Society, Washington DC , 65-68.
  200. Springer, E.L., (1966), "Hydrolysis of aspenwood xylan with aqueous solutions of hydrochloric acid", *Tappi*, 49, 3, 102-106.
  201. Springer, E.L. and L.L. Zoch, (1968), "Hydrolysis of Xylan in different Species of Hardwoods", *Tappi*, 51, 5, 214-218.
  202. Springer, E.L., (1985), "Prehydrolysis of Hardwoods with Dilute Sulfuric Acid", *Industrial and Engineering Chemical Production Research Development*, 24, 614-623.
  203. Springler, E.L., J.F. Harris and W.K. Neill, (1963), "Rate Studies of the Hydrolytic Delignification of Aspenwood", *Tappi*, 46, 9, 551-555.
  204. Sproull, Robert. D., Paul R. Bienkowski, G.T. Tsao, (1986), "Production of Furfural from Corn Stover Hemicellulose", *Biotechnology and Bioengineering Symposium No. 15*, 562-575.
  205. Srinivasan, V.R., (March 1970), *Microbiology in solid waste processing*, Industrial Solid Wastes Management University of Houston & Bureau of Solid waste management, 172-178.
  206. Srinivasan, M.C., H.G. Vartak, V.K. Powar, M.V. Rele and K.B. Bastawde, (1984), "Studies on Xylan degrading enzyme from *Chainia*", *Biotechnology Letters*, 6, 11, 715-718.
  207. Staudinger, H., Reinnecke, F., (1984), in Wood Chemistry Ultrastructure reactions , Fengel & Wegner, W. de Gruyer Ed., Berlin & N.Y., 106-127.

208. Stewart, J.C., A. Lester, B. Milburn, J. Heptinstall, (1985), "Xylanase enzymes of *Aspergillus fumigatus fresenius*", *Biotechnology Letters*, 7, 8, 581-584.
209. Susan E. Lowe, M.K. Theodorou, A.P.J. Trinci, (1987), "Cellulases and Xylanase of an Anaerobic Rumen Fungus Grown on Wheat Straw, Wheat Straw holocellulose, Cellulose and Xylan", *Applied Environmental Microbiology*, 53,6, 1216-1223.
210. Targonsky, Z., (1985), "Autohydrolysis Extraction Process as a Pretreatment of Lignocelluloses for their Enzymatic Hydrolysis", *Acta Biotechnologia*, 5, 4, 353-361.
211. Thayer, D.W., (1975), "A submerged culture process for production of cattle feed from mesquite wood", *Development in Industrial Microbiology*, 17, 79-89.
212. Thayer, D.W. & C.A. David, 1978, "Growth of "Seeded" Cellulolytic enrichment cultures on mesquite Wood", *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 291-296.
213. Thomas A. Clark and K.L. Mackie, (1984), "Fermentation inhibitors in wood hydrolysates derived from the Softwood *Pinus radiata*", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 34B, 101-110.
214. Thomas, R.J., (1977), Wood: Structure and chemical composition, in wood technology: Chemical Aspects, I.S. Goldstein Ed., ACS Symposium Series 43, American Chemical Society, Washington D.C.
215. Torres, M.R., M. Heitz, G. Chauvette, E. Chornet, R.P. Overend, (1986), "Conversion and solubilization profiles of a prototype hardwood (*Populus tremuloides*) following aqueous thermomechanical pretreatment", *Biomass*, 10, 3-11.
216. Tram Ai V. and P. Chambers, (1986), "Behaviors of Southern Red Oak Hemicelluloses and Lignin in a Mild Sulfuric Acid Hydrolysis", *Biotechnology and Bioengineering*, XXVIII, 811-817.
217. Trickett, R.C., Neytzell de Wilde, F.G., (1982), "Bagasse Hemicellulose Acid Hydrolysis and Residue Treatment prior to Enzymatic Hydrolysis of Cellulose", *South African Food Review*, 9, 2, 95-101.
218. Trickett, R.C. and F.G. Neytzell de Wilde, (1982), "Dilute Acid Hydrolysis of Bagasse Hemicelluloses" *CHEMSA*, March, 11-15.
219. Tvelt, M., (1967), Industrial aspects of microbial food production with special reference to the potential of the new Symba-Yeast process, in Biology & The manufacturing Industries, Brook M. Ed., Academic Press, London, 165p.
220. Ulf Schuchardt, I. Joekes, H.C. Duarte, (1987), "Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse

with Hydrochloric Acid, Promoted by Ultrasound", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 39, 115-124.

221. Underkofler, L.A., (1966), "Manufacture and uses of industrial microbial enzymes in bioengineering and food processing", *CEP Symposium Series*, 69, 62, 13.
222. Varadi, J., Jurasek, L., (1969), "Cellulose and Xylanase of the fungus *Schizophyllum commune*: I. The effect of mycellium and ammonium sulfate concentration on the formation of cellulose" *Drevarsky Vyskum*, no. 3, 89-96.
223. Varadi, J., L. Jurasek, (1970), Cellulose and Xylanase of fungus *Schizophyllum commune* II. Submerged Cultivation on a rotary shaker and vibrating equipment". *Drevarsky vyskum*, 1, 7-13.
224. Varadi, J., Jurasek, L., (1968), "Effect of pH on the formation of mycelium carboxymethylcellulose and xylanase in submerged cultures of *Schizophyllum commune*", *Drevarsky vyskum*, 4, 193-202.
225. Veeraraghavan, S., R.P. Chambers, M. Myles, Y.Y. Lee, (1982), "Kinetic modelling and reactor development for hemicellulose hydrolysis", *AICHE national meeting*, Orlando, Florida, USA, 1-10.
226. Viikari, L., Linko, M., Enari, T.M., (1981), "Ethanol from Cellulosic materials", *The Ekman-days*, 4, 18-22.
227. Volker Hecht, Karl Schügerl, W. Sheiding, (1983), "Optimisation of Cellulose Conversion into Fungal Cell mass", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 33B, 231-240.
228. Vroom, K.E., (1957), "The H factor - A means of expressing cooking times and temperatures as a single variable", *Pulp and Paper Magazine Canada*, 58, 3, 228-231.
229. Wayman , M, A. Tallevi, B. Winsborrow, (1984), "Hydrolysis of Biomass by Sulphur Dioxide", *Biomass*, 6, 183-191.
230. Wayman, M., (1982), "Fundamental principles and practical consequences in the conversion of biomass to Ethanol from biomass", *Royal Society Canadian Proceeding*, 628-644.
231. Wayman, M., (1980), "Alcohol from cellulosics: the auto-hydrolysis extraction Process", *NTIS document no. conf. B010302 U.S. Dpt. of Comm. Springfield, Va., USA.*

232. Wayman, M, February (1983), Assessment of the New Zeland Forest Research Institute (FRI). Process for Pine wood Hydrolysis and Fermentation to Ethanol", Rapport prepared by Renewable Energy Division, DSS Contract File no. 02SQ-23211-2-6780, 1-76.
233. Weickström, L. and M. Leisola, (July 1980), "Enzymatic Hydrolysis of Hemicellulose from bisulfite waste", Advances in Biotechnology 2 (Fuels, Chemicals, Food and waste treatment 6<sup>th</sup>, 21-26.
234. Whitehurst, D.D., (1986), "Modeling two-step coal liquefaction processes", Fuel Processing Technology, 12, 299-321.
235. Wiegel, J., Cheryle, P.M. and J. Puls, (March 1985), "Differences in Xylan degradation by various noncellulolytic thermophilic anaerobes and *Clostridium thermocellum*", Applied and Environmental Microbiology, 49, 3, 656-659.
236. Williams, A.G. and Susan E. Withers, (1981), "Hemicellulose-degrading enzymes synthesized by Rumen Bacteria", Journal of Applied Bacteriology, 51, 375-385.
237. Woodward, J., (1985), Immobilised cells and enzymes - A practical approach, IRL Press, Oxford, Washington, D.C.
238. Yoshioka, H., S. Chavanish, N. Nilubol and S. Hayashida, (1981), "Production and characterization of thermostable xylanase from *Talaromyces byssochlamydoidea* YH-50", Agriculture Biological Chemistry 45, 3, 579-586.
239. Yu, E., L. Deschatelets, L.U.L. Tan and J.N. Saddler, (1985), "A Simple method for xylanase properation used for the hydrolysis and fermentation of hemicellulose to Butanediol", Biotechnology Letters, 7, 6, 425-430.
240. Yundt, A.P., (1951), "Crystalline Hemicelluloses III - Acid and enzymatic Hydrolysis of Xylan", TAPPI, 34, 2, 92-94.

**APPENDICE A**

**RESULTATS DES ANALYSES OBTENUS  
AU COURS DES EXPERIENCES DE PRETRAITEMENT**



BATCH D'EXPERIENCES NO. 1 DE MAIS  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H2SO4 = 0.0 % w/w  
 - 0.79 < ts < 0.95 min.

| FMBK-XX # | ( T C) | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | W0 (g) | Wg1 (g) | Wg1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | Wfc (g) | Wg2sec+Wfc (g) | W0+PCT (g) | "Cmty." (%) |
|-----------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|-------------|
| FMBK-01   | 20.00  | 0.79    | 3.01   | 4.49   | 228.49 | 16.65   | 16.15      | 13.78      | 424.00   | 3.54   | 0.00     | 2.54    | 16.32          | 18.28      | 15.53       |
| FMBK-02   | 150.00 | 0.83    | 2.56   | 4.50   | 228.00 | 14.86   | 16.15      | 12.87      | 470.00   | 3.25   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-04   | 170.00 | 0.86    | 3.28   | 4.44   | 228.33 | 14.86   | 16.15      | 12.87      | 470.00   | 3.25   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-05   | 200.00 | 0.90    | 2.71   | 4.79   | 124.03 | 14.86   | 16.15      | 12.87      | 470.00   | 3.25   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-06   | 200.00 | 0.90    | 2.71   | 4.79   | 124.03 | 14.86   | 16.15      | 12.87      | 470.00   | 3.25   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-07   | 210.00 | 0.90    | 2.71   | 4.79   | 124.03 | 14.86   | 16.15      | 12.87      | 470.00   | 3.25   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-08   | 230.00 | 0.93    | 2.71   | 4.80   | 147.19 | 17.05   | 16.15      | 12.87      | 570.00   | 3.28   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |
| FMBK-09   | 230.00 | 0.93    | 2.67   | 5.19   | 146.69 | 17.05   | 16.15      | 12.87      | 570.00   | 3.28   | 0.00     | 4.53    | 16.49          | 23.07      | 17.93       |

BATCH D'EXPERIENCES NO. 2 DE MAIS  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = PCT = 10 %  
 - H2SO4 = 0.33 % w/w  
 - 0.78 < ts < 0.91 min.

| FMBK-XX # | ( T C) | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | W0 (g) | Wg1 (g) | Wg1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | Wfc (g) | Wg2sec+Wfc (g) | W0+PCT (g) | "Cmty." (%) |
|-----------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|-------------|
| FMBK-10   | 150.00 | 0.79    | 9.21   | 4.98   | 30.79  | 27.71   | 21.58      | 19.83      | 505.00   | 3.45   | 0.17     | 3.22    | 21.11          | 34.08      | 14.19       |
| FMBK-11   | 170.00 | 0.83    | 3.94   | 4.50   | 30.87  | 15.78   | 15.78      | 15.78      | 505.00   | 3.45   | 0.17     | 3.22    | 21.11          | 34.08      | 14.19       |
| FMBK-12   | 170.00 | 0.83    | 3.94   | 4.50   | 30.87  | 15.78   | 15.78      | 15.78      | 505.00   | 3.45   | 0.17     | 3.22    | 21.11          | 34.08      | 14.19       |
| FMBK-13   | 200.00 | 0.86    | 3.54   | 4.12   | 32.54  | 15.62   | 15.62      | 15.62      | 504.40   | 3.25   | 0.14     | 3.06    | 21.14          | 34.08      | 14.19       |
| FMBK-14   | 210.00 | 0.89    | 4.85   | 16.03  | 316.05 | 22.01   | 20.37      | 18.38      | 501.00   | 4.42   | 0.16     | 4.06    | 21.14          | 34.08      | 14.19       |
| FMBK-15   | 210.00 | 0.90    | 4.16   | 1.95   | 329.44 | 26.01   | 25.71      | 23.03      | 512.00   | 7.51   | 0.20     | 7.31    | 30.32          | 38.91      | 23.92       |
| FMBK-16   | 220.00 | 0.91    | 1.11   | 1.55   | 329.44 | 16.66   | 16.34      | 14.14      | 522.00   | 7.51   | 0.20     | 7.31    | 30.32          | 38.91      | 23.92       |
| FMBK-17** | 260.00 | 30.00   | 18.22  | 1.50   | 335.58 | 33.06   | 27.34      | 23.42      | 445.00   | 3.83   | 0.00     | 3.83    | 27.32          | 33.56      | 11.02       |

(\*) : La suspension est uniquement recirculée dans la zone d'homogénéisation.

BATCH D'EXPERIENCES NO. 3 DE MAIS  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = PCT = 10 %  
 - H2SO4 = 1.0 % w/w  
 - 0.79 < ts < 0.91 min.

| FMBK-XX #    | ( T C) | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | W0 (g) | Wg1 (g) | Wg1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | Wfc (g) | Wg2sec+Wfc (g) | W0+PCT (g) | "Cmty." (%) |
|--------------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|-------------|
| FMBK-18      | 150.00 | 0.77    | 2.41   | 0.96   | 398.53 | 28.41   | 27.73      | 25.45      | 580.00   | 4.67   | 0.67     | 4.07    | 29.58          | 39.85      | 13.58       |
| FMBK-19      | 170.00 | 0.79    | 2.06   | 1.36   | 416.64 | 37.00   | 29.60      | 26.40      | 570.00   | 3.81   | 0.64     | 4.15    | 29.58          | 39.85      | 13.58       |
| FMBK-20      | 170.00 | 0.80    | 2.06   | 1.05   | 352.61 | 27.37   | 21.66      | 18.60      | 510.00   | 4.32   | 0.70     | 4.32    | 29.58          | 39.85      | 13.58       |
| FMBK-21      | 180.00 | 0.84    | 2.46   | 1.05   | 324.03 | 19.37   | 19.37      | 16.46      | 495.00   | 5.55   | 0.55     | 5.55    | 21.63          | 33.70      | 22.33       |
| FMBK-22      | 200.00 | 0.86    | 2.22   | 1.34   | 337.42 | 18.98   | 16.62      | 13.77      | 410.00   | 6.42   | 0.55     | 6.42    | 20.77          | 33.70      | 22.33       |
| FMBK-23      | 200.00 | 0.86    | 2.22   | 1.34   | 337.42 | 18.98   | 16.62      | 13.77      | 410.00   | 6.42   | 0.55     | 6.42    | 20.77          | 33.70      | 22.33       |
| FMBK-24      | 220.00 | 0.91    | 0.95   | 1.60   | 316.66 | 14.86   | 14.86      | 14.86      | 410.00   | 6.42   | 0.55     | 6.42    | 20.77          | 33.70      | 22.33       |
| FMBK-25      | 220.00 | 0.91    | 0.95   | 1.60   | 316.66 | 14.86   | 14.86      | 14.86      | 410.00   | 6.42   | 0.55     | 6.42    | 20.77          | 33.70      | 22.33       |
| FMBK-26      | 260.00 | 30.00   | 8.26   | 8.25   | 269.34 | 14.97   | 14.31      | 13.09      | 325.00   | 5.54   | 0.45     | 5.54    | 14.02          | 26.93      | 11.88       |
| FMBK-26 (**) | 60.00  | 30.00   | 2.00   | 1.64   | 259.34 | 21.75   | 21.32      | 16.59      | 340.00   | 2.54   | 0.00     | 2.54    | 22.13          | 26.93      | 11.88       |

(\*\*): Melangé à eau chaude uniquement dans la zone d'homogénéisation

BATCH D'EXPERIENCES NO : 4 - STIPA TENACISSIMA -  
 BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS :  
 - P = 2500 PSI  
 - SOLIDE = PCT = 8 %  
 - H2SO4 = 0.00 \$ w/w  
 - 1.61 < ts < 3.31 min.

| FABK-XX | (T C)  | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | Wo (g) | Wg1 (g) | Wq1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | WfC (g) | Wg2sec+WfC (g) | Wo*PCT (g) | *Conv. (%) |
|---------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|------------|
| FABK-02 | 110.00 | 1.61    | 0.09   | 1.34   | 413.30 | 22.23   | 23.21      | 18.36      | 688.00   | 1.07   | 0.00     | 1.07    | 22.40          | 33.06      | 9.77       |
| FABK-03 | 160.00 | 1.78    | 0.26   | 1.75   | 441.50 | 15.33   | 19.78      | 18.57      | 521.00   | 1.93   | 0.00     | 1.93    | 16.42          | 30.01      | 14.19      |
| FABK-04 | 178.00 | 1.82    | 0.40   | 1.74   | 371.50 | 15.33   | 15.27      | 14.52      | 521.00   | 2.20   | 0.00     | 2.20    | 14.95          | 29.78      | 14.00      |
| FABK-05 | 188.00 | 2.87    | 0.72   | 2.59   | 372.00 | 14.24   | 14.48      | 11.20      | 521.00   | 2.20   | 0.00     | 2.20    | 15.23          | 22.00      | 15.14      |
| FABK-06 | 200.00 | 1.99    | 0.80   | 2.52   | 372.00 | 11.61   | 10.98      | 9.88       | 477.00   | 2.27   | 0.00     | 2.27    | 15.23          | 22.00      | 15.14      |
| FABK-08 | 220.00 | 1.31    | 0.80   | 0.98   | 377.80 | 11.07   | 10.77      | 9.88       | 466.00   | 3.49   | 0.00     | 3.49    | 14.10          | 22.00      | 15.14      |
| FABK-10 | 240.00 | 2.09    | 0.99   | 1.21   | 369.10 | 10.90   | 10.79      | 9.54       | 500.00   | 3.29   | 0.00     | 3.29    | 14.54          | 22.00      | 15.14      |
| FABK-11 | 60.00  | 30.00   | 0.99   | 0.85   | 457.00 | 10.66   | 10.43      | 18.29      | 460.00   | 5.07   | 0.00     | 5.07    | 14.54          | 22.00      | 15.14      |
| FABK-12 | 70.00  | 30.00   | 0.18   | 0.77   | 410.00 | 30.48   | 30.43      | 18.29      | 720.00   | 2.34   | 0.00     | 2.34    | 10.63          | 22.00      | 15.14      |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 5 - DE MAIS  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS :  
 - P = 2500 PSI  
 - SOLIDE = PCT = 8 %  
 - H2SO4 = 2.0 \$ w/w  
 - 1.70 < t < 4.13 min.

| FABK-XX | (T C)  | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | Wo (g) | Wg1 (g) | Wq1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | WfC (g) | Wg2sec+WfC (g) | Wo*PCT (g) | *Conv. (%) |
|---------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|------------|
| FABK-30 | 160.00 | 1.70    | 3.59   | 13.00  | 499.70 | 25.98   | 25.05      | 21.66      | 450.00   | 7.10   | 1.08     | 6.01    | 27.67          | 34.38      | 21.72      |
| FABK-31 | 200.00 | 1.87    | 2.18   | 2.14   | 499.83 | 27.83   | 26.05      | 10.00      | 490.00   | 8.98   | 1.08     | 7.90    | 28.57          | 43.75      | 21.72      |
| FABK-32 | 200.00 | 2.92    | 4.10   | 4.70   | 499.15 | 12.94   | 11.72      | 10.00      | 490.00   | 10.85  | 0.90     | 10.94   | 19.84          | 34.15      | 41.66      |
| FABK-33 | 220.00 | 2.07    | 1.50   | 1.00   | 372.00 | 12.74   | 11.50      | 10.23      | 500.00   | 9.85   | 0.90     | 10.74   | 22.97          | 28.49      | 45.06      |
| FABK-34 | 237.00 | 4.13    | 1.00   | 1.00   | 372.00 | 12.85   | 11.50      | 2.60       | 584.00   | 13.62  | 0.90     | 14.52   | 10.03          | 28.49      | 45.06      |
| FABK-35 | 237.00 | 4.13    | 1.50   | 1.00   | 355.57 | 4.78    | 4.72       | 3.48       | 480.00   | 9.21   | 0.90     | 8.31    | 11.79          | 28.49      | 45.06      |

(\*) : Cette experience a été faite à [H2SO4] = 1.00 \$ w/w

BATCH D'EXPERIENCES NO : 6 - STIPA TENACISSIMA -  
 BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS :  
 - P = 2500 PSI  
 - SOLIDE = PCT = 7 %  
 - H2SO4 = 1.0 \$ w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FABK-XX | (T C)  | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | Wo (g) | Wg1 (g) | Wq1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | WfC (g) | Wg2sec+WfC (g) | Wo*PCT (g) | *Conv. (%) |
|---------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|------------|
| FABK-13 | 60.00  | 30.00   | 1.16   | 1.20   | 400.00 | 27.91   | 27.59      | 25.20      | 430.00   | 1.81   | 0.00     | 1.81    | 27.04          | 28.00      | 6.69       |
| FABK-14 | 150.00 | 2.58    | 1.70   | 1.00   | 380.00 | 16.82   | 13.20      | 14.57      | 430.00   | 3.03   | 0.74     | 2.29    | 16.66          | 27.00      | 6.69       |
| FABK-15 | 160.00 | 2.53    | 1.77   | 1.00   | 370.80 | 18.76   | 12.57      | 12.00      | 430.00   | 3.03   | 0.74     | 2.29    | 17.33          | 26.50      | 6.69       |
| FABK-16 | 190.00 | 2.53    | 3.34   | 1.20   | 289.80 | 18.74   | 8.46       | 7.74       | 460.00   | 4.27   | 0.26     | 3.91    | 11.12          | 20.00      | 6.69       |
| FABK-18 | 200.00 | 2.62    | 0.60   | 1.00   | 286.15 | 10.98   | 8.77       | 7.74       | 520.00   | 4.27   | 0.26     | 3.91    | 11.12          | 20.00      | 6.69       |
| FABK-19 | 210.00 | 2.78    | 0.60   | 1.00   | 315.10 | 10.98   | 9.94       | 8.57       | 500.00   | 4.14   | 0.61     | 3.53    | 8.33           | 23.00      | 6.69       |
| FABK-20 | 220.00 | 2.78    | 0.83   | 1.20   | 315.10 | 7.50    | 6.04       | 5.11       | 475.00   | 3.64   | 0.61     | 3.03    | 8.33           | 23.00      | 6.69       |
| FABK-21 | 220.00 | 5.57    | 3.30   | 1.20   | 330.00 | 6.25    | 6.04       | 5.11       | 340.00   | 3.64   | 0.61     | 3.03    | 8.33           | 23.00      | 6.69       |

(\*) : La suspension est uniquement recirculée dans la zone de recirculation

BATCH D'EXPERIENCES NO : 7 - STIPA TENACISSIMA -  
 BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS :  
 - P = 2500 PSI  
 - SOLIDE = PCT = 7 %  
 - H2SO4 = 1.00 \$ w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FABK-XX | (T C)  | t (min) | H1 (%) | H2 (%) | Wo (g) | Wg1 (g) | Wq1sec (g) | Wg2sec (g) | Vf (cm3) | Wf (g) | Sels (g) | WfC (g) | Wg2sec+WfC (g) | Wo*PCT (g) | *Conv. (%) |
|---------|--------|---------|--------|--------|--------|---------|------------|------------|----------|--------|----------|---------|----------------|------------|------------|
| FABK-24 | 150.00 | 2.38    | 2.50   | 1.00   | 350.70 | 26.33   | 26.67      | 24.01      | 850.00   | 1.90   | 0.26     | 1.64    | 25.65          | 36.50      | 6.35       |
| FABK-25 | 180.00 | 2.38    | 1.13   | 1.20   | 571.10 | 27.59   | 26.40      | 25.00      | 765.00   | 1.90   | 0.26     | 1.64    | 27.94          | 36.50      | 6.35       |
| FABK-26 | 180.00 | 2.38    | 1.17   | 1.20   | 577.00 | 27.71   | 26.10      | 18.65      | 730.00   | 3.92   | 0.42     | 3.50    | 29.40          | 40.00      | 6.35       |
| FABK-28 | 190.00 | 2.22    | 0.40   | 1.20   | 414.20 | 14.03   | 11.97      | 13.05      | 690.00   | 4.57   | 0.30     | 4.27    | 14.66          | 36.50      | 6.35       |
| FABK-30 | 240.00 | 2.22    | 0.40   | 0.90   | 461.80 | 11.69   | 11.04      | 10.82      | 620.00   | 4.99   | 0.30     | 4.69    | 15.03          | 32.00      | 6.35       |
| FABK-31 | 260.00 | 2.22    | 0.70   | 1.00   | 476.90 | 11.37   | 11.23      | 10.77      | 780.00   | 5.55   | 0.41     | 5.14    | 15.95          | 32.00      | 6.35       |
| FABK-32 | 60.00  | 60.00   | 1.50   | 1.00   | 263.00 | 17.68   | 11.61      | 16.57      | 370.00   | 1.55   | 0.00     | 1.55    | 18.21          | 19.61      | 9.06       |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 1  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H2SO4 = 0.0 % w/v  
 - 0.79 < t < 0.95 min.

| FMBK-XX # | T C    | t min. | Lignine | α-cellu lose | Extraites A-B g/g | Cendres (Wg2sec+Wfc) g/g | Somme (Wg2sec+Wfc) | Wfc g | Wg2sec+Wf g | Hémi.sol g/100g | Hémi.res Hémi.tot Hémi.res Hémi tot. |        |
|-----------|--------|--------|---------|--------------|-------------------|--------------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------|--------------------------------------|--------|
|           |        |        |         |              |                   |                          |                    |       |             |                 | Biomasse                             | g/100g |
| FMBK-02   | 20.00  | 0.79   | 0.04    | 0.00         | 2.03              | 0.47                     | 2.54               | 2.54  | 16.32       | 0.00            | 31.00                                | 106.16 |
| FMBK-03   | 150.00 | 0.79   | 0.64    | 0.00         | 2.74              | 0.91                     | 4.29               | 4.29  | 27.49       | 0.88            | 30.00                                | 101.66 |
| FMBK-04   | 150.00 | 0.86   | 0.12    | 0.00         | 1.88              | 0.36                     | 2.56               | 2.56  | 15.99       | 1.59            | 28.91                                | 98.88  |
| FMBK-05   | 190.00 | 0.86   | 0.09    | 0.00         | 1.31              | 0.23                     | 1.72               | 2.00  | 10.96       | 1.54            | 27.77                                | 96.31  |
| FMBK-06   | 200.00 | 0.93   | 0.51    | 0.00         | 0.98              | 0.25                     | 1.53               | 3.09  | 19.51       | 1.92            | 27.30                                | 93.50  |
| FMBK-07   | 210.00 | 0.93   | 0.24    | 0.00         | 1.73              | 0.48                     | 1.67               | 3.20  | 11.60       | 12.16           | 25.22                                | 86.73  |
| FMBK-09   | 230.00 | 0.93   | 0.24    | 0.00         | 1.33              | 0.48                     | 1.25               | 3.45  | 19.76       | 12.50           | 32.57                                | 80.70  |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 2  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H2SO4 = 0.3 % w/v  
 - 0.73 < t < 0.93 min.

| FMBK-XX # | T C    | t min. | Lignine | α-cellu lose | Extraites A-B g/g | Cendres (Wg2sec+Wfc) g/g | Somme (Wg2sec+Wfc) | Wfc g | Wg2sec+Wf g | Hémi.sol g/100g | Hémi.res Hémi.tot Hémi.res Hémi tot. |        |
|-----------|--------|--------|---------|--------------|-------------------|--------------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------|--------------------------------------|--------|
|           |        |        |         |              |                   |                          |                    |       |             |                 | Biomasse                             | g/100g |
| FMBK-10   | 154.00 | 0.79   | 0.00    | 0.00         | 2.99              | 0.76                     | 3.74               | 3.74  | 23.21       | 0.00            | 30.85                                | 105.65 |
| FMBK-11   | 198.00 | 0.83   | 0.00    | 0.00         | 1.94              | 0.64                     | 2.72               | 3.26  | 19.70       | 0.73            | 28.91                                | 99.18  |
| FMBK-12   | 190.00 | 0.88   | 0.00    | 0.00         | 2.28              | 0.87                     | 3.56               | 3.56  | 21.91       | 2.20            | 26.90                                | 92.73  |
| FMBK-13   | 210.00 | 0.88   | 0.16    | 0.46         | 2.11              | 1.04                     | 3.18               | 4.06  | 24.53       | 2.49            | 26.02                                | 78.84  |
| FMBK-14   | 210.00 | 0.93   | 0.42    | 0.00         | 2.13              | 1.43                     | 3.98               | 4.76  | 30.34       | 11.90           | 38.57                                | 89.82  |
| FMBK-15   | 221.00 | 0.93   | 0.61    | 0.00         | 3.81              | 1.14                     | 5.06               | 7.38  | 27.25       | 0.00            | 35.46                                | 89.32  |
| FMBK-17   | 60.00  | 30.00  | 0.00    | 0.00         | 0.00              | 0.00                     | 0.00               | 3.88  | 27.25       | 0.00            | 30.56                                | 104.32 |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 3  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H2SO4 = 1.0 % w/v  
 - 0.76 < t < 0.91 min.

| FMBK-XX # | T C     | t min. | Lignine | α-cellu lose | Extraites A-B g/g | Cendres (Wg2sec+Wfc) g/g | Somme (Wg2sec+Wfc) | Wfc g | Wg2sec+Wf g | Hémi.sol g/100g | Hémi.res Hémi.tot Hémi.res Hémi tot. |        |
|-----------|---------|--------|---------|--------------|-------------------|--------------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------|--------------------------------------|--------|
|           |         |        |         |              |                   |                          |                    |       |             |                 | Biomasse                             | g/100g |
| FMBK-18   | 150.00  | 0.76   | 0.43    | 0.00         | 1.98              | 1.72                     | 4.11               | 4.00  | 29.95       | 0.00            | 31.00                                | 106.16 |
| FMBK-19   | 158.00  | 0.77   | 0.23    | 0.12         | 1.58              | 1.06                     | 2.91               | 3.15  | 23.58       | 0.76            | 30.00                                | 109.17 |
| FMBK-20   | 1185.00 | 0.79   | 0.42    | 0.04         | 1.83              | 1.08                     | 3.37               | 3.41  | 29.55       | 2.64            | 32.91                                | 103.46 |
| FMBK-21   | 1179.00 | 0.80   | 0.68    | 0.00         | 1.17              | 0.87                     | 2.80               | 3.09  | 21.90       | 4.24            | 27.57                                | 92.50  |
| FMBK-22   | 189.00  | 0.82   | 1.12    | 0.00         | 1.55              | 0.87                     | 3.54               | 5.09  | 31.70       | 6.14            | 37.84                                | 78.42  |
| FMBK-23   | 188.00  | 0.84   | 0.90    | 0.00         | 1.88              | 1.26                     | 3.98               | 7.84  | 20.73       | 1.75            | 24.25                                | 84.41  |
| FMBK-24   | 208.00  | 0.89   | 0.50    | 0.00         | 1.82              | 1.26                     | 3.98               | 8.44  | 20.73       | 1.75            | 24.25                                | 84.41  |
| FMBK-25   | 218.00  | 0.89   | 0.80    | 0.65         | 2.46              | 0.90                     | 4.81               | 8.00  | 19.76       | 16.14           | 34.90                                | 93.19  |
| FMBK-26   | 228.00  | 0.91   | 0.74    | 0.86         | 2.12              | 0.54                     | 4.27               | 6.53  | 14.01       | 30.52           | 37.40                                | 93.02  |
| FMBK-27   | 60.00   | 30.00  | 0.09    | 0.00         | 1.42              | 0.68                     | 3.19               | 1.72  | 22.13       | 0.00            | 23.85                                | 103.52 |
| FMBK-28   | 60.00   | 30.00  | 0.10    | 0.00         | 1.13              | 0.84                     | 3.10               | 1.54  | 22.13       | 0.00            | 23.67                                | 109.14 |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 4  
 BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 P = 2500 PSI  
 % SOLIDE = 8 %  
 H2SO4 = 2.0 % w/w  
 - 1.61 < t < 3.31 min.

| FMBK-XX # | T      |  | t min. | Lignine | d-cellulose | Extrait A-B /g | Cendres /g | Somme (Wg2sect+Wfc) | Wfc g | Wg2sect+Wfc g | g /100g Biomasse | Hémi.res Hémi.tot Hémi.sol Hémi.res Hémi tot. | Hémi. im. totale |
|-----------|--------|--|--------|---------|-------------|----------------|------------|---------------------|-------|---------------|------------------|---|------------------|
|           | C      |  |        |         |             |                |            |                     |       |               |                  |   |                  |
| FMBK-02   | 11.00  |  | 1.61   | 0.34    | 0.00        | 0.08           | 0.50       | 0.92                | 1.07  | 20.43         | 1.97             | 101.22  | 101.22           |
| FMBK-03   | 160.00 |  | 1.78   | 0.00    | 0.00        | 0.00           | 0.29       | 0.29                | 1.49  | 20.02         | 18.65            | 196.88  | 105.42           |
| FMBK-04   | 178.00 |  | 1.82   | 0.21    | 0.00        | 0.02           | 0.25       | 0.25                | 2.33  | 16.42         | 15.28            | 922.82  | 104.19           |
| FMBK-05   | 200.00 |  | 1.87   | 0.22    | 0.00        | 0.00           | 0.28       | 1.19                | 2.20  | 14.26         | 15.98            | 905.33  | 99.54            |
| FMBK-06   | 210.00 |  | 1.91   | 0.16    | 0.00        | 0.00           | 0.30       | 1.17                | 3.22  | 15.23         | 8.98             | 955.48  | 94.79            |
| FMBK-07   | 220.00 |  | 1.99   | 0.10    | 0.00        | 0.01           | 0.19       | 1.35                | 3.47  | 13.10         | 14.12            | 922.82  | 92.77            |
| FMBK-08   | 230.00 |  | 2.07   | 0.29    | 0.00        | 0.00           | 0.10       | 1.35                | 3.29  | 10.17         | 12.47            | 922.82  | 92.77            |
| FMBK-09   | 240.00 |  | 3.31   | 0.55    | 0.00        | 0.00           | 0.36       | 1.74                | 5.07  | 18.54         | 20.04            | 922.82  | 92.77            |
| FMBK-10   | 240.00 |  | 3.31   | 0.29    | 0.00        | 0.00           | 0.36       | 1.74                | 5.07  | 18.54         | 20.04            | 922.82  | 92.77            |
| FMBK-11   | 70.00  |  | 30.00  | 0.42    | 0.43        | 0.67           | 0.60       | 2.18                | 1.34  | 30.63         | 1.54             | 109.88  | 101.36           |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 5  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 P = 2500 PSI  
 % SOLIDE = 8 %  
 H2SO4 = 2.0 % w/w  
 - 1.70 < t < 4.13 min.

| FMBK-XX # | T      |  | t min. | Lignine | d-cellulose | Extrait A-B /g | Cendres /g | Somme (Wg2sect+Wfc) | Wfc g | Wg2sect+Wfc g | g /100g Biomasse | Hémi.res Hémi.tot Hémi.sol Hémi.res Hémi tot. | Hémi. initiale |
|-----------|--------|--|--------|---------|-------------|----------------|------------|---------------------|-------|---------------|------------------|---|----------------|
|           | C      |  |        |         |             |                |            |                     |       |               |                  |   |                |
| FMBK-30   | 160.00 |  | 1.70   | 0.01    | 0.48        | 3.36           | 0.83       | 4.88                | 6.01  | 27.67         | 16.47            | 24.38   | 82.99          |
| FMBK-31   | 180.00 |  | 1.89   | 0.01    | 1.07        | 3.51           | 0.80       | 2.52                | 17.74 | 28.70         | 20.09            | 29.09   | 97.02          |
| FMBK-32   | 200.00 |  | 1.89   | 0.71    | 2.22        | 3.01           | 0.40       | 6.34                | 18.94 | 29.84         | 22.85            | 24.38   | 82.99          |
| FMBK-33   | 237.00 |  | 2.07   | 1.50    | 3.62        | 3.62           | 1.00       | 9.11                | 12.74 | 22.97         | 18.94            | 18.94   | 62.82          |
| FMBK-34   | 237.00 |  | 4.13   | 1.30    | ND          | ND             | 2.24       | ND                  | 12.43 | 10.03         | ND               | 16.95   | 58.04          |
| FMBK-35   | 237.00 |  | 4.13   | 1.40    | 2.22        | 1.95           | 1.00       | 6.57                | 8.31  | 11.79         | 50.54            | 15.34   | 1.99           |

(\*\*) - ND: Non Déterminé  
 - Cette expérience a été faite pour [H2SO4] = 1.0 % w/w

BATCH D'EXPERIENCES NO : 6 - STIPA TENACISSIMA -  
BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -

CONDITIONS :

- P = 2500 PSI
- % SOLIDE = 7 %
- H2SO4 = 1.0 % w/w min.
- 2.58 < t < 5.57 min.

| FMBK-XX # | T      |        | Lignine | α-cellu lose | Extraits A-B | Cendres | Somme (Wg2sec+WfC) | WfC  | Wg2sec+Wf |       | Hémi.res Hémi.sol |       | Hémi.res Hémi tot. |        |
|-----------|--------|--------|---------|--------------|--------------|---------|--------------------|------|-----------|-------|-------------------|-------|--------------------|--------|
|           | C      | t min. |         |              |              |         |                    |      | g         | %     | g                 | %     | g                  | %      |
| FMBK-13   | 60.00  | 30.00  | 2.01    | 0.00         | 0.00         | 0.43    | 2.44               | 1.81 | 26.93     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 100.59             | 100.59 |
| FMBK-14   | 150.00 | 22.38  | 1.17    | 0.00         | 0.00         | 0.43    | 1.49               | 1.25 | 12.90     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 76.78              | 89.66  |
| FMBK-15   | 180.00 | 22.43  | 1.27    | 0.00         | 0.00         | 0.43    | 1.49               | 2.42 | 19.72     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 82.00              | 90.00  |
| FMBK-16   | 200.00 | 22.32  | 1.25    | 0.00         | 0.18         | 0.24    | 1.76               | 3.70 | 11.11     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 43.55              | 50.00  |
| FMBK-18   | 200.00 | 22.32  | 1.25    | 0.00         | 0.18         | 0.24    | 1.76               | 3.81 | 11.11     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 43.55              | 50.00  |
| FMBK-19   | 210.00 | 22.72  | 1.28    | 0.00         | 0.21         | 0.31    | 1.76               | 4.18 | 13.22     | 0.00  | 34.20             | 0.00  | 43.55              | 50.00  |
| FMBK-20   | 220.00 | 22.78  | 0.88    | 0.43         | 0.26         | 0.34    | 1.81               | 3.53 | 9.10      | 17.34 | 23.77             | 55.40 | 22.41              | 79.82  |
| FMBK-21   | 230.00 | 5.57   | 0.40    | ND           | ND           | 0.50    | ND                 | 3.00 | 8.10      | ND    | 0.00              | 0.00  | 18.97              | 69.00  |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 7 - STIPA TENACISSIMA -  
BIOMASSE TRAITEE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -

CONDITIONS :

- P = 2500 PSI
- % SOLIDE = 7 %
- H2SO4 = 0.5 % w/w min.
- 2.38 < t < 5.57 min.

| FMBK-XX # | T      |        | Lignine | α-cellu lose | Extraits A-B | Cendres | Somme (Wg2sec+WfC) | WfC  | Wg2sec+Wf |      | Hémi.res Hémi.sol |      | Hémi.res Hémi tot. |       |
|-----------|--------|--------|---------|--------------|--------------|---------|--------------------|------|-----------|------|-------------------|------|--------------------|-------|
|           | C      | t min. |         |              |              |         |                    |      | g         | %    | g                 | %    | g                  | %     |
| FMBK-24   | 150.00 | 22.88  | 0.38    | 0.00         | 0.35         | 0.45    | 1.74               | 1.44 | 25.65     | 1.77 | 10.87             | 5.20 | 88.38              | 93.59 |
| FMBK-25   | 180.00 | 22.59  | 1.27    | 0.00         | 0.75         | 0.45    | 1.56               | 3.33 | 33.33     | 3.33 | 30.88             | 7.40 | 75.24              | 82.63 |
| FMBK-27   | 180.00 | 22.59  | 1.27    | 0.00         | 0.75         | 0.45    | 1.56               | 3.57 | 35.70     | 3.33 | 30.88             | 7.40 | 75.24              | 82.63 |
| FMBK-28   | 200.00 | 22.62  | 1.74    | 0.00         | 0.56         | 0.45    | 1.76               | 4.02 | 40.20     | 3.33 | 30.88             | 7.40 | 75.24              | 82.63 |
| FMBK-30   | 220.00 | 22.78  | 0.84    | 0.00         | 0.29         | 0.45    | 1.76               | 4.44 | 44.40     | 3.33 | 30.88             | 7.40 | 75.24              | 82.63 |
| FMBK-31   | 220.00 | 22.78  | 0.84    | 0.00         | 0.29         | 0.45    | 1.76               | 4.44 | 44.40     | 3.33 | 30.88             | 7.40 | 75.24              | 82.63 |
| FMBK-32   | 60.00  | 60.00  | 0.22    | 0.00         | 0.42         | 0.50    | 1.11               | 1.11 | 11.11     | 2.80 | 2.80              | 8.23 | 25.69              | 33.92 |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 1  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H2SO4 = 0.0 % w/w  
 - 0.79 < t < 0.95 min.

| FMBK-XX | Extraits A-B (%) | Lignine (%) | Holocellulose (%) | $\alpha$ -cellulose (%) | Hemicelluloses (%) | Extraits eau (%) | Cendres (%) | Total (%) |
|---------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|
| FMBK-02 | 4.69             | 19.12       | 72.29             | 35.53                   | 33.75              | 10.66            | 4.88        | 102.95    |
| FMBK-03 | 7.27             | 19.24       | 72.76             | 37.44                   | 33.33              | 8.66             | 4.44        | 102.05    |
| FMBK-04 | 5.98             | 19.07       | 69.76             | 37.49                   | 33.33              | 7.71             | 4.31        | 100.76    |
| FMBK-05 | 4.86             | 19.17       | 65.49             | 36.05                   | 33.33              | 7.71             | 4.31        | 99.82     |
| FMBK-06 | 10.43            | 18.85       | 67.19             | 37.92                   | 33.33              | 10.43            | 3.16        | 102.30    |
| FMBK-07 | 4.07             | 19.47       | 67.19             | 37.19                   | 33.33              | 10.43            | 3.16        | 98.13     |
| FMBK-08 | 7.66             | 19.47       | 67.19             | 37.19                   | 33.33              | 10.43            | 3.16        | 98.13     |
| FMBK-09 | 4.29             | 18.33       | 65.82             | 48.49                   | 17.43              | 7.39             | 3.39        | 94.63     |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 2  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H2SO4 = 0.31 % w/w  
 - 0.73 < t < 0.93 min.

| FMBK-XX | Extraits A-B (%) | Lignine (%) | Holocellulose (%) | $\alpha$ -cellulose (%) | Hemicelluloses (%) | Extraits eau (%) | Cendres (%) | Total (%) |
|---------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|
| FMBK-10 | 6.50             | 19.46       | 71.58             | 35.66                   | 35.92              | 8.62             | 2.58        | 102.24    |
| FMBK-11 | 7.90             | 18.11       | 71.00             | 35.00                   | 35.00              | 8.89             | 2.38        | 100.68    |
| FMBK-12 | 8.28             | 20.11       | 64.28             | 33.04                   | 32.34              | 7.81             | 1.17        | 99.37     |
| FMBK-13 | 9.64             | 18.35       | 65.51             | 35.08                   | 30.43              | 10.48            | 2.21        | 96.55     |
| FMBK-14 | 9.60             | 19.80       | 59.67             | 33.82                   | 35.85              | 9.78             | 2.06        | 91.31     |
| FMBK-15 | 15.00            | 19.80       | 62.19             | 39.44                   | 22.75              | 10.41            | 2.82        | 95.02     |
| FMBK-16 | 13.00            | 20.65       | 57.93             | 37.16                   | 20.77              | 13.30            | 1.52        | 94.03     |
| FMBK-17 | 8.00             | 18.90       | 71.81             | 36.39                   | 35.42              | 13.39            | 2.84        | 106.94    |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 3  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H2SO4 = 1.0 % w/w  
 - 0.79 < t < 0.91 min.

| FMBK-XX | Extraits A-B (%) | Lignine (%) | Holocellulose (%) | $\alpha$ -cellulose (%) | Hemicelluloses (%) | Extraits eau (%) | Cendres (%) | Total (%) |
|---------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|
| FMBK-18 | 13.53            | 17.33       | 72.25             | 36.35                   | 35.90              | 8.21             | 2.21        | 100.00    |
| FMBK-19 | 13.50            | 17.80       | 69.00             | 32.92                   | 36.08              | 10.70            | 2.28        | 99.78     |
| FMBK-20 | 14.20            | 17.43       | 65.27             | 33.58                   | 31.69              | 14.19            | 2.49        | 99.38     |
| FMBK-21 | 16.94            | 16.00       | 64.13             | 39.63                   | 24.50              | 16.00            | 2.80        | 98.93     |
| FMBK-22 | 14.71            | 14.69       | 67.50             | 43.54                   | 23.96              | 14.00            | 2.97        | 99.00     |
| FMBK-23 | 14.34            | 18.35       | 60.98             | 45.59                   | 14.89              | 17.54            | 2.93        | 98.30     |
| FMBK-24 | 10.00            | 20.78       | 57.32             | 43.15                   | 14.17              | 20.59            | 2.08        | 100.77    |
| FMBK-25 | 10.00            | 21.06       | 55.19             | 43.33                   | 11.86              | 20.00            | 2.57        | 98.62     |
| FMBK-26 | 9.90             | 17.84       | 71.46             | 36.91                   | 34.55              | 8.21             | 2.96        | 100.47    |
| FMBK-27 | -                | 18.00       | 72.40             | 36.40                   | 36.00              | 8.11             | 2.23        | 100.74    |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 4  
 BIOMASSE TRAITÉE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H2SO4 = 0.0 % w/w  
 - 1.61 < t < 3.31 min.

| FMBK-XX | Extraits A-B (%) | Lignine (%) | Holocellulose (%) | $\alpha$ -cellulose (%) | Hemicelluloses (%) | Extraits eau (%) | Cendres (%) | Total (%) |
|---------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|
| FABK-02 | 6.96             | 17.29       | 75.18             | 39.00                   | 36.18              | 5.00             | 1.87        | 99.34     |
| FABK-03 | 8.65             | 17.67       | 73.00             | 37.46                   | 32.84              | 6.11             | 1.67        | 98.15     |
| FABK-04 | 8.00             | 21.52       | 69.69             | 32.91                   | 36.78              | 7.70             | 1.36        | 100.27    |
| FABK-05 | 9.20             | 19.39       | 68.35             | 31.54                   | 36.81              | 11.64            | 1.42        | 100.80    |
| FABK-06 | 9.99             | 19.48       | 69.62             | 33.41                   | 36.21              | 7.65             | 1.42        | 98.17     |
| FABK-07 | 8.80             | 21.46       | 64.66             | 36.59                   | 28.07              | 12.29            | 1.39        | 99.80     |
| FABK-08 | 9.88             | 26.20       | 59.58             | 32.00                   | 27.58              | 12.25            | 1.38        | 99.41     |
| FABK-09 | 12.00            | 22.38       | 60.98             | 48.00                   | 12.98              | 11.59            | 2.00        | 96.95     |
| FABK-10 | 10.00            | 20.60       | 64.59             | 50.84                   | 13.75              | 10.54            | 1.70        | 97.43     |
| FABK-11 | 7.56             | 17.50       | 73.52             | 37.85                   | 35.67              | 6.14             | 2.61        | 99.77     |
| FABK-12 | 5.20             | 18.00       | 74.05             | 38.30                   | 35.75              | 7.00             | 2.34        | 101.39    |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 5  
 BIOMASSE TRAITÉE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H2SO4 = 2.0 % w/w  
 - 1.70 < t < 4.13 min.

| FMBK-XX | Extraits A-B (%) | Lignine (%) | Holocellulose (%) | $\alpha$ -cellulose (%) | Hemicelluloses (%) | Extraits eau (%) | Cendres (%) | Total (%) |
|---------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|
| FMBK-30 | 8.00             | 20.90       | 59.82             | 34.82                   | 25.00              | 13.54            | 3.98        | 98.24     |
| FMBK-31 | 9.27             | 21.80       | 50.80             | 34.51                   | 16.29              | 21.38            | 4.25        | 98.23     |
| FMBK-32 | 10.10            | 23.43       | 51.00             | 38.00                   | 13.00              | 16.48            | 4.88        | 95.79     |
| FMBK-33 | 10.00            | 27.00       | 50.69             | 40.69                   | 10.00              | 14.29            | 5.02        | 97.00     |
| FMBK-34 | 10.10            | 32.00       | 38.50             | 33.00                   | 5.50               | 24.39            | 3.72        | 98.61     |
| FMBK-35 | ND               | 35.22       | ND                | ND                      | ND                 | 31.68            | 3.18        | ND        |
| FMBK-36 | 12.21            | 34.00       | 36.38             | 34.40                   | 1.98               | 26.23            | 1.63        | 98.24     |

ND : Non Determine par manque de materiel residuel

BATCH D'EXPERIENCES NO : 6  
 BIOMASSE TRAITÉE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 7 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 1.0 % w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FMBK-XX | Extraits<br>A-B<br>(%) | Lignine<br>(%) | Holocell-<br>ulose<br>(%) | α-cellu-<br>lose<br>(%) | Hemicel-<br>luloses<br>(%) | Extraits<br>eau<br>(%) | Cendres<br>(%) | Total<br>(%) |
|---------|------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------|----------------|--------------|
| FABK-13 | 9.50                   | 11.26          | 81.85                     | 45.18                   | 36.67                      | 8.53                   | 1.49           | 103.13       |
| FABK-14 | 7.80                   | 11.86          | 82.44                     | 46.75                   | 35.69                      | 7.05                   | 1.02           | 102.37       |
| FABK-15 | 8.00                   | 12.01          | 78.12                     | 50.46                   | 27.66                      | 7.60                   | 1.31           | 99.04        |
| FABK-16 | 8.15                   | 11.77          | 72.80                     | 49.66                   | 23.14                      | 9.13                   | 1.43           | 95.13        |
| FABK-17 | 8.00                   | 10.54          | 68.89                     | 52.40                   | 16.49                      | 12.36                  | 1.53           | 93.38        |
| FABK-18 | 8.20                   | 12.96          | 65.03                     | 51.00                   | 14.03                      | 13.96                  | 1.54           | 94.52        |
| FABK-19 | 8.36                   | 12.96          | 63.43                     | 52.80                   | 10.63                      | 13.82                  | 1.25           | 91.16        |
| FABK-20 | 6.80                   | 14.16          | 60.69                     | 50.69                   | 10.00                      | 14.00                  | 1.25           | 90.16        |
| FABK-21 | ND                     | 20.80          | ND                        | ND                      | ND                         | 15.53                  | 1.00           | ND           |

ND : Non Determine par manque de materiel residuel

BATCH D'EXPERIENCES NO : 7  
 BIOMASSE TRAITÉE : ALFA - STIPA TENACISSIMA -  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 7 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.5 % w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FMBK-XX | Extraits<br>A-B<br>(%) | Lignine<br>(%) | Holocell-<br>ulose<br>(%) | α-cellu-<br>lose<br>(%) | Hemicel-<br>luloses<br>(%) | Extraits<br>eau<br>(%) | Cendres<br>(%) | Total<br>(%) |
|---------|------------------------|----------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------|----------------|--------------|
| FABK-24 | 6.00                   | 17.64          | 77.60                     | 45.50                   | 32.10                      | 6.48                   | 1.28           | 103.00       |
| FABK-25 | 5.00                   | 17.19          | 77.56                     | 46.57                   | 30.99                      | 5.68                   | 1.57           | 102.00       |
| FABK-26 | 5.05                   | 15.56          | 79.41                     | 50.94                   | 28.47                      | 5.14                   | 1.31           | 101.42       |
| FABK-27 | 5.00                   | 14.29          | 73.83                     | 51.05                   | 22.78                      | 7.23                   | 0.98           | 96.33        |
| FABK-28 | 5.20                   | 18.63          | 66.70                     | 49.66                   | 17.04                      | 6.36                   | 1.28           | 92.97        |
| FABK-29 | 5.00                   | 18.31          | 67.29                     | 52.86                   | 14.43                      | 7.06                   | 1.27           | 93.97        |
| FABK-30 | 6.15                   | 22.39          | 59.88                     | 49.04                   | 10.84                      | 9.06                   | 1.39           | 93.11        |
| FABK-31 | 4.00                   | 21.97          | 57.20                     | 47.79                   | 9.41                       | 14.35                  | 1.35           | 94.87        |
| FABK-32 | 5.13                   | 18.44          | 76.14                     | 44.35                   | 31.79                      | 5.93                   | 1.49           | 102.00       |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 1  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.0 % w/w  
 - 0.79 < t < 0.95 min.

| FMBK-XX # | T      | t    | Hemicelluloses Residuelles     | Hemicelluloses Totales via les solides | Hemicelluloses Totales via les filtrats |
|-----------|--------|------|--------------------------------|--|---|
|           | C      | min. | ( % Hemicelluloses initiales ) |  |   |
| FMBK-02   | 20.00  | -    | 106.16                         | 106.16                                 | FF                                      |
| FMBK-03   | 150.00 | 0.79 | 100.96                         | 103.97                                 | FF                                      |
| FMBK-04   | 170.00 | 0.83 | 93.42                          | 98.86                                  | FF                                      |
| FMBK-05   | 190.00 | 0.86 | 87.29                          | 96.33                                  | FF                                      |
| FMBK-06   | 200.00 | 0.89 | 83.05                          | 95.10                                  | FF                                      |
| FMBK-07   | 210.00 | 0.90 | 52.43                          | 93.49                                  | FF                                      |
| FMBK-08   | 220.00 | 0.93 | 44.72                          | 86.33                                  | FF                                      |
| FMBK-09   | 230.00 | 0.95 | 38.59                          | 80.61                                  | FF                                      |

NB : FF = Les filtrats ont fermente

BATCH D'EXPERIENCES NO : 2  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.35 % w/w  
 - 0.73 < t < 0.93 min.

| FMBK-XX #   | T      | t     | Hemicelluloses Residuelles     | Hemicelluloses Totales via les solides | Hemicelluloses Totales via les filtrats |
|-------------|--------|-------|--------------------------------|--|---|
|             | C      | min.  | ( % Hemicelluloses initiales ) |  |   |
| FMBK-10     | 154.00 | 0.79  | 105.64                         | 105.64                                 | FF                                      |
| FMBK-11     | 168.00 | 0.83  | 98.99                          | 99.16                                  | FF                                      |
| FMBK-12     | 178.00 | 0.84  | 90.38                          | 99.74                                  | FF                                      |
| FMBK-13     | 191.00 | 0.86  | 84.58                          | 92.13                                  | FF                                      |
| FMBK-14     | 201.00 | 0.89  | 70.32                          | 78.85                                  | FF                                      |
| FMBK-14     | 210.00 | 0.90  | 59.14                          | 96.80                                  | FF                                      |
| FMBK-16 (*) | 221.00 | 0.93  | 46.73                          | 87.50                                  | FF                                      |
| FMBK-17 (*) | 60.00  | 30.00 | 104.31                         | 104.31                                 | FF                                      |

NB : FF = Les filtrats ont fermente

(\*) - Recirculee uniquement dans la zone d'homogenisation

BATCH D'EXPERIENCES NO : 3  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 10 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 1.0 % w/w  
 - 0.76 < t < 0.91 min.

| FMBK-XX # | T      | t    | Hemicelluloses Residuelles     | Hemicelluloses Totales via les solides | Hemicelluloses Totales via les filtrats |
|-----------|--------|------|--------------------------------|--|---|
|           | C      | min. | ( % Hemicelluloses initiales ) |  |   |
| FMBK-18   | 150.00 | 0.76 | 106.25                         | 106.25                                 | 109.47                                  |
| FMBK-19   | 158.00 | 0.77 | 106.93                         | 109.41                                 | 105.00                                  |
| FMBK-20   | 169.00 | 0.79 | 93.29                          | 102.34                                 | 102.00                                  |
| FMBK-21   | 179.00 | 0.80 | 79.96                          | 94.41                                  | 92.80                                   |
| FMBK-22   | 189.00 | 0.82 | 62.79                          | 87.25                                  | ND                                      |
| FMBK-23   | 198.00 | 0.84 | 56.89                          | 78.46                                  | 82.71                                   |
| FMBK-24   | 208.00 | 0.86 | 33.92                          | 84.33                                  | 70.73                                   |
| FMBK-25   | 218.00 | 0.89 | 28.89                          | 84.20                                  | 83.44                                   |
| FMBK-26   | 228.00 | 0.91 | 21.41                          | 78.87                                  | 79.41                                   |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 4  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.0 % w/w  
 - 1.61 < t < 3.31 min.

| FABK-XX # | T      | t    | Hemicelluloses Residuelles     | Hemicelluloses Totales via les solides | Hemicelluloses Totales via les filtrats |
|-----------|--------|------|--------------------------------|--|---|
|           | C      | min. | ( % Hemicelluloses initiales ) |  |   |
| FABK-02   | 110.00 | 1.61 | 101.32                         | 103.28                                 | 104.02                                  |
| FABK-03   | 160.00 | 1.70 | 96.76                          | 105.41                                 | 100.88                                  |
| FABK-04   | 178.00 | 1.78 | 92.82                          | 103.58                                 | 98.97                                   |
| FABK-05   | 188.00 | 1.82 | 92.32                          | 97.87                                  | 98.73                                   |
| FABK-06   | 200.00 | 1.87 | 90.53                          | 99.50                                  | 104.09                                  |
| FABK-07   | 210.00 | 1.91 | 65.12                          | 94.27                                  | 86.14                                   |
| FABK-08   | 220.00 | 1.99 | 59.62                          | 93.74                                  | 94.85                                   |
| FABK-09   | 230.00 | 3.31 | 25.82                          | 96.38                                  | 99.79                                   |
| FABK-10   | 240.00 | 2.09 | 26.53                          | 92.47                                  | 86.53                                   |



BATCH D'EXPERIENCES NO : 5  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 8 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 2.0 % w/w  
 - 1.70 < t < 4.13 min.

| FMBK-XX     | T      | t    | Hemicelluloses<br>Residuelles | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>solides | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>filtrats |
|-------------|--------|------|-------------------------------|--|---|
| #           | C      | min. | (% Hemicelluloses initiales)  |  |   |
| FMBK-30     | 160.00 | 1.70 | 67.01                         | 83.48  | 76.37   |
| FMBK-31     | 180.00 | 1.78 | 41.07                         | 68.63  | 64.45   |
| FMBK-32     | 200.00 | 1.87 | 25.95                         | 78.68  | 74.56   |
| FMBK-33     | 220.00 | 1.99 | 18.82                         | 62.84  | 57.00   |
| FMBK-34     | 237.00 | 2.07 | 8.39                          | 58.03  | ND  |
| FMBK-35     | 237.00 | 4.13 | ND                            | ND   | ND  |
| FMBK-36 (*) | 237.00 | 4.13 | 2.00                          | 52.61  | ND  |

ND : Non Determine par manque de materiel

(\*) - Cette experience a ete faite pour une  
 concentration d'acide de 1.0 % w/w

BATCH D'EXPERIENCES NO : 6  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 7 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 1.0 % w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FABK-XX | T      | t     | Hemicelluloses<br>Residuelles | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>solides | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>filtrats |
|---------|--------|-------|-------------------------------|--|---|
| #       | C      | min.  | (% Hemicelluloses initiales)  |  |   |
| FABK-13 | 60.00  | 30.00 | 100.05                        | 100.05                                       | 104.52  |
| FABK-14 | 150.00 | 2.38  | 96.38                         | 96.38  | 102.38  |
| FABK-15 | 170.00 | 2.48  | 70.18                         | 82.01  | ND  |
| FABK-16 | 180.00 | 2.53  | 49.53                         | 90.13  | 84.15   |
| FABK-17 | 190.00 | 2.59  | 32.36                         | 81.10  | 75.74   |
| FABK-18 | 200.00 | 2.66  | 27.41                         | 80.43  | 73.06   |
| FABK-19 | 210.00 | 2.72  | 20.21                         | 75.78  | 78.86   |
| FABK-20 | 220.00 | 2.78  | 18.96                         | 69.83  | 59.34   |
| FABK-21 | 220.00 | 5.57  | ND                            | ND   | ND  |

BATCH D'EXPERIENCES NO : 7  
 BIOMASSE TRAITEE : TIGES DE MAIS  
 CONDITIONS:  
 - P = 2500 PSI  
 - % SOLIDE = 7 %  
 - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.5 % w/w  
 - 2.38 < t < 5.57 min.

| FABK-XX | T      | t     | Hemicelluloses<br>Residuelles | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>solides | Hemicelluloses<br>Totales via les<br>filtrats |
|---------|--------|-------|-------------------------------|--|---|
| #       | C      | min.  | (% Hemicelluloses initiales)  |  |   |
| FABK-24 | 150.00 | 2.38  | 88.37                         | 93.56  | 94.25   |
| FABK-25 | 170.00 | 2.48  | 83.09                         | 90.50  | 90.29   |
| FABK-26 | 180.00 | 2.53  | 73.72                         | 83.35  | 84.40   |
| FABK-27 | 190.00 | 2.59  | 51.55                         | 83.57  | 67.55   |
| FABK-28 | 200.00 | 2.66  | 37.15                         | 86.15  | 67.59   |
| FABK-29 | 210.00 | 2.72  | 29.26                         | 90.71  | 90.01   |
| FABK-30 | 220.00 | 2.78  | 21.64                         | 83.61  | 82.84   |
| FABK-31 | 220.00 | 5.57  | 17.71                         | 74.32  | 65.91   |
| FABK-32 | 60.00  | 60.00 | 85.06                         | 93.29  | ND  |

## APPENDICE B

### LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

- A : Constante
- B : Constante (effet de compensation)
- C : Concentration
- D :  $D = k_B \cdot T_{iso} / h \cdot \exp[-\alpha / (R \cdot T_{iso})]$
- E : Energie d'activation
- $F_{(p)}$  : Fonctionnelle  $F_{(p)} = ||X_{(ti)} - \tilde{X}_{(ti)}||^2$
- G : Energie libre de Gibbs
- H : Enthalpie, Facteur H
- K : Constante
- $K_{eq}$  : Constante d'équilibre
- N : Nombre de points expérimentaux
- P : Facteur de sévérité de BRASCH & FREE.
- $R_B$  : Facteur de sévérité (notre approche) basé sur la mécanistique
- R : Constante des gaz parfaits

$R_s$  : 
$$R_s = \int_0^{t_r} t \times \exp\left(\frac{-E}{R} \times f(t)\right) dt$$

$R_0$  : Facteur 
$$R_0 = \int_0^{t_f} \exp\left(\frac{T-100}{14.75}\right) \times dt$$

$R'_0$  : Facteur 
$$R'_0 = \exp\left(\frac{C_A}{0.01} \times m\right) \exp\left(\frac{T-67}{7.8}\right) \times t$$

$R\omega$  :  $R\omega = R_0$

$R_{OC}$  : Facteur 
$$R_{OC} = \left(\frac{0.01 + C_A}{0.01}\right)^m \exp\left[44.40 \left(\frac{T-66.8}{T}\right)\right] t$$

- $R_g$  : Rendement global  
 $S$  : Entropie, Substrat  
 $S_i^j$  : Variances biaisées de l'échantillon ,  $i=1,2$  et  $j=1,2$   
 $T$  : Température  
 $W$  : Masse  
 $X$  : Vecteur solution du système d'équations différentielles  
 $\bar{X}$  : Vecteur valeurs expérimentales de l'hydrolyse enzymatique  
 $Y$  : Rendement  
 $\bar{Y}_i$  : Moyenne des échantillons  $i = 1, 2$   
 $df, df'$  : degrés de liberté  
 $e$  : Constante  
 $f$  : Fonctionnelle  $f = \frac{1}{2} \sum_t (x-x_i)^2$   
 $h$  : Constante de Planck  
 $k$  : Constante du taux réactionnel  
 $k_B$  : Constante de Boltzmann  
 $m$  : Constante  
 $r$  : Taux réactionnel  
 $t$  : Temps  
 $t_t$  : Variable statistique "t" , tabulée  
 $v$  : Vitesse de réaction  
 $x$  : Fraction  
 $x_{r0}$  : Fraction des hemicelluloses identifiées comme solubilisables rapidement, présentés initialement dans les fibres.  
 $\Delta x$  : Ecart moyen entre la valeur expérimentale et celle prédite par le modèle  
 $\alpha$  : Constante (relation de LEFLER)  
 $\delta$  :  $\delta(T) = \frac{T}{T_{iso}} \times \exp\left[\frac{E}{(R \times T_{iso})} \times \frac{(T-T_{iso})}{T}\right]$   
 $\Delta$  : Différence  
 $\bar{v}$  :  $\frac{k_B \times T}{h}$

|          |   |  |
|----------|---|--|
| $\Sigma$ | : | Somme  |
| $\omega$ | : | Constante $\omega = \frac{R T_0^2}{E}$             |
| $\mu$    | : | Vitesse spécifique de croissance                   |
| $\mu_i$  | : | Moyenne arithmétique de la population , $i = 1, 2$ |
| $\Phi$   | : | Fonction $\Phi = \Phi(c)$                          |

### Abreviations et indices:

|  |   |                   |     |   |                             |
|--|---|-------------------|-----|---|-----------------------------|
| $f_c$  | : | Filtrat corrigé   | $r$ | : | Réaction, rapide            |
| $g_{2sec}$                                     | : | Gâteau no. 2 sec. | $s$ | : | Lente, solubilisé, substrat |
| $I$  | : | Inhibiteur        | iso | : | iso - cinétique             |
| max  | : | Maximum           | 0   | : | Référence                   |
| A  | : | Acide             | eq  | : | Equilibre                   |
| T  | : | Total             | exp | : | Expérimental                |
| [ ]  | : | Concentration     | mod | : | Modèle                      |
| Poly   | : | Polymère          | F   | : | Polymère...H+               |
| Mono   | : | Monomère          | 1,2 | : | Etapes élémentaires 1,2     |
| Oligo  | : | Oligomère         |     |   |                             |
| Grad f   : Norme euclidienne du gradient de f. |   |                   |     |   |                             |

**APPENDICE C**

**RESULTATS DES ANALYSES OBTENUS  
AU COURS DES EXPERIENCES D'HYDROLYSE  
ENZYMATIQUE**

**APPENDICE C-1**

**RESULTATS GLOBAUX AVEC DES ENZYMES LIBRES**

## 1 - STIPA TENACISSIMA :

| 1-1 ENZF - 0.003554 UI/mg |            |                |                 |                |             |            | 1-3 ENZF - 0.053320 UI/mg |                 |                |             |            |                |                 |                |
|---------------------------|------------|----------------|-----------------|----------------|-------------|------------|---------------------------|-----------------|----------------|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| Expériences               | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) | Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg)            | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) | Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
| FABK-H-9                  | 0.000      | 1.193          | 0.057           | 0.170          | FABK-H-30   | 0.020      | 1.312                     | 0.587           | 0.620          | FABK-H-31   | 0.580      | 0.470          | 0.607           | 1.270          |
| FABK-H-10                 | 0.020      | 1.193          | 0.470           | 0.510          | FABK-H-32   | 2.000      | 0.473                     | 1.989           | 1.860          | FABK-H-33   | 4.000      | 0.394          | 1.402           | 2.040          |
| FABK-H-11                 | 0.580      | 1.200          | 0.662           | 0.620          | FABK-H-34   | 8.000      | 0.312                     | 0.734           | 2.170          | FABK-H-35   | 24.000     | 0.248          | 0.281           | 3.220          |
| FABK-H-12                 | 2.000      | 0.642          | 0.674           | 0.650          | FABK-H-36   | 48.000     | 0.175                     | 0.000           | 3.300          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-13                 | 4.000      | 0.525          | 0.937           | 1.110          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-14                 | 8.000      | 0.383          | 1.085           | 1.300          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-15                 | 24.000     | 0.418          | 0.990           | 2.170          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-16                 | 48.000     | 0.309          | 1.149           | 2.520          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| 1-2 ENZF- 0.01770 UI/mg   |            |                |                 |                |             |            | 1-4 ENZF- 0.12260 UI/mg   |                 |                |             |            |                |                 |                |
| Expériences               | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) | Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg)            | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) | Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
| FABK-H-20                 | 0.020      | 0.771          | 0.349           | 0.850          | FABK-H-40   | 0.020      | 1.065                     | 0.498           | 0.54           | FABK-H-41   | 0.580      | 0.568          | 1.324           | 1.830          |
| FABK-H-21                 | 0.580      | 0.600          | 0.834           | 1.080          | FABK-H-42   | 2.000      | 0.483                     | 1.372           | 2.270          | FABK-H-43   | 4.000      | 0.451          | 0.915           | 2.660          |
| FABK-H-22                 | 2.000      | 0.590          | 0.983           | 0.860          | FABK-H-44   | 8.000      | 0.423                     | 0.678           | 3.320          | FABK-H-45   | 24.000     | 0.289          | 0.000           | 3.710          |
| FABK-H-23                 | 4.000      | 0.576          | 1.276           | 1.510          | FABK-H-46   | 48.000     | 0.186                     | 0.000           | 4.240          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-24                 | 8.000      | 0.435          | 1.027           | 1.850          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-25                 | 24.000     | 0.320          | 0.812           | 2.840          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-26                 | 48.000     | 0.053          | 0.331           | 2.730          |             |            |                           |                 |                |             |            |                |                 |                |

| 1-5 ENZF - 0.51100 UI/mg |            |                |                 |                |             |            |                |                 |                |
|--------------------------|------------|----------------|-----------------|----------------|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| Expériences              | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) | Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
| FABK-H-50                | 0.020      | 0.608          | 0.737           | 1.510          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-51                | 0.580      | 0.455          | 1.028           | 3.220          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-52                | 2.000      | 0.385          | 0.562           | 3.720          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-53                | 4.000      | 0.485          | 0.171           | 3.660          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-54                | 8.000      | 0.374          | 0.081           | 4.040          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-55                | 24.000     | 0.355          | 0.100           | 3.740          |             |            |                |                 |                |
| FABK-H-56                | 48.000     | 0.320          | 0.100           | 4.430          |             |            |                |                 |                |

## 2 - TIGES DE MAIS:

## 2-1 ENZF - 0.00113 UI/mg

| Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| FMBK-H-10   | 0.020      | 1.139          | 1.807           | 3.460          |
| FMBK-H-11   | 0.580      | 0.800          | 2.087           | 4.360          |
| FMBK-H-12   | 2.000      | 0.798          | 4.863           | 4.690          |
| FMBK-H-13   | 4.000      | 0.725          | 5.483           | 4.680          |
| FMBK-H-14   | 8.000      | 0.417          | 5.612           | 5.950          |
| FMBK-H-15   | 24.000     | 0.365          | 6.082           | 6.620          |
| FMBK-H-16   | 48.000     | 0.246          | 3.454           | 6.550          |

## 2-3 ENZF - 0.03000 UI/mg

| Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| FMBK-H-30   | 0.020      | 1.143          | 5.679           | 4.810          |
| FMBK-H-31   | 0.580      | 0.482          | 5.830           | 5.860          |
| FMBK-H-32   | 2.000      | 0.383          | 5.244           | 6.370          |
| FMBK-H-33   | 4.000      | 0.290          | 4.310           | 7.300          |
| FMBK-H-34   | 8.000      | 0.191          | 2.650           | 7.700          |
| FMBK-H-35   | 24.000     | 0.187          | 1.004           | 7.800          |
| FMBK-H-36   | 48.000     | 0.187          | 0.306           | 8.440          |

## 2-2 ENZF- 0.003210 UI/mg

| Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| FMBK-H-20   | 0.020      | 1.275          | 1.133           | 4.090          |
| FMBK-H-21   | 0.580      | 1.197          | 2.670           | 5.130          |
| FMBK-H-22   | 2.000      | 1.030          | 6.224           | 4.940          |
| FMBK-H-23   | 4.000      | 0.730          | 6.114           | 6.280          |
| FMBK-H-24   | 8.000      | 0.438          | 6.118           | 6.550          |
| FMBK-H-25   | 24.000     | 0.430          | 6.131           | 6.770          |
| FMBK-H-26   | 48.000     | 0.300          | 3.987           | 7.020          |

## 2-4 ENZF- 0.3000000 UI/mg

| Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| FMBK-H-40   | 0.020      | 0.640          | 6.197           | 7.110          |
| FMBK-H-41   | 0.580      | 0.417          | 2.717           | 8.950          |
| FMBK-H-42   | 2.000      | 0.400          | 2.150           | 9.710          |
| FMBK-H-43   | 4.000      | 0.386          | 0.730           | 10.320         |
| FMBK-H-44   | 8.000      | 0.336          | 0.298           | 11.000         |
| FMBK-H-45   | 24.000     | 0.350          | 0.284           | 11.040         |
| FMBK-H-46   | 48.000     | 0.263          | 0.284           | 10.940         |

## 2-5 ENZF - 0.013200 UI/mg

| Expériences | Temps (Hr) | Polymères (Mg) | Oligomères (Mg) | Monomères (Mg) |
|-------------|------------|----------------|-----------------|----------------|
| FMBK-H-50   | 0.020      | 0.959          | 4.949           | 5.050          |
| FMBK-H-51   | 0.580      | 0.607          | 5.859           | 5.180          |
| FMBK-H-52   | 2.000      | 0.373          | 4.964           | 4.880          |
| FMBK-H-53   | 4.000      | 0.364          | 4.284           | 6.950          |
| FMBK-H-54   | 8.000      | 0.310          | 3.813           | 6.960          |
| FMBK-H-55   | 24.000     | 0.285          | 2.955           | 7.250          |
| FMBK-H-56   | 48.000     | 0.196          | 1.116           | 7.920          |



**APPENDICE C-2**

**RESULTATS DETAILLES AVEC DES ENZYMES LIBRES**

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
 No de serie des experiences: 1  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.0000972 UI/mg
- Temperature = 30 degr. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 10.00 mg

Système enzymatique utilisé :  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xyl+Gal (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar. |
|-----------|------------|--------------|--------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.13         | 0.00           | 0.13       | 0.01          | 0.00       |
| FABK-H-11 | 2.00       | 0.11         | 0.23         | 0.16           | 0.50       | 0.04          | 7.67       |
| FABK-H-12 | 2.00       | 0.08         | 0.20         | 0.26           | 0.54       | 0.09          | 10.83      |
| FABK-H-13 | 2.00       | 0.10         | 0.20         | 0.26           | 0.56       | 0.10          | 11.86      |
| FABK-O-PH | 0.00       | 1.96         | 4.36         | 0.92           | 7.24       | 0.72          | 100.00     |

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
 No de serie des experiences: 2  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.030000 UI/mg
- Temperature = 30 degr. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 24.16 mg

Système enzymatique utilisé : Hémicellulases+B - D - Xylosidase

| Exp.          | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xyl+Gal (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar. |
|---------------|------------|--------------|--------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FMBK-O-NH     | 0.00       | 0.28         | 1.45         | 0.58           | 2.31       | 0.10          | 0.00       |
| FMBK-H-11 (*) | 21.00      | 2.00         | 2.50         | 1.66           | 4.43       | 0.18          | 28.35      |
| FMBK-H-12 (*) | 26.00      | 1.18         | 2.64         | 1.19           | 4.27       | 0.18          | 26.29      |
| FMBK-O-PH     | 0.00       | 1.96         | 4.36         | 0.92           | 7.24       | 0.30          | 100.00     |

(\*) : Pour ces deux expériences il faut soustraire 1.73 mg libérés par les hémicellulases

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
 No de serie des experiences: 3  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.001130 UI/mg
- Temperature = 30 degr. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 26.50 mg

Système enzymatique utilise : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar. |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FMBK-O-NH | 0.00       | 0.28         | 1.42        | 0.00           | 0.48           | 2.18       | 0.08          | 0.00       |
| FMBK-H-10 | 0.02       | 0.65         | 1.60        | 0.29           | 0.92           | 3.46       | 0.13          | 14.51      |
| FMBK-H-11 | 0.58       | 0.69         | 2.08        | 0.30           | 1.29           | 4.36       | 0.16          | 24.78      |
| FMBK-H-12 | 2.00       | 0.96         | 1.88        | 0.48           | 1.37           | 4.69       | 0.18          | 28.53      |
| FMBK-H-13 | 4.00       | 1.08         | 2.11        | 0.32           | 1.18           | 4.69       | 0.18          | 28.45      |
| FMBK-H-14 | 8.00       | 1.34         | 2.31        | 0.61           | 1.67           | 5.95       | 0.22          | 42.91      |
| FMBK-H-15 | 24.00      | 1.75         | 3.91        | 0.81           | 1.65           | 6.52       | 0.25          | 50.47      |
| FMBK-H-16 | 48.00      | 1.49         | 3.39        | 0.43           | 1.24           | 6.55       | 0.25          | 49.72      |
| FMBK-O-PH | 0.00       | 1.97         | 6.69        | 0.60           | 1.70           | 10.96      | 0.41          | 100.00     |

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
 No de serie des experiences: 3  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.003210 UI/mg
- Temperature = 30 degr. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 26.50 mg

Système enzymatique utilise : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar. |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FMBK-O-NH | 0.00       | 0.28         | 1.42        | 0.00           | 0.48           | 2.18       | 0.08          | 0.00       |
| FMBK-H-20 | 0.02       | 0.58         | 1.97        | 0.33           | 1.21           | 4.09       | 0.15          | 21.71      |
| FMBK-H-21 | 0.58       | 1.04         | 2.25        | 0.46           | 1.38           | 5.13       | 0.19          | 33.54      |
| FMBK-H-22 | 2.00       | 1.10         | 2.23        | 0.38           | 1.23           | 4.94       | 0.19          | 31.43      |
| FMBK-H-23 | 4.00       | 1.34         | 2.49        | 0.56           | 1.89           | 6.28       | 0.24          | 46.63      |
| FMBK-H-24 | 8.00       | 1.35         | 3.26        | 0.52           | 1.42           | 6.55       | 0.25          | 49.69      |
| FMBK-H-25 | 24.00      | 1.62         | 3.48        | 0.00           | 1.67           | 6.77       | 0.26          | 52.26      |
| FMBK-H-26 | 48.00      | 1.59         | 3.56        | 0.53           | 1.35           | 7.03       | 0.27          | 55.12      |
| FMBK-O-PH | 0.00       | 1.97         | 6.69        | 0.60           | 1.70           | 10.96      | 0.41          | 100.00     |

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
 No de serie des experiences: 3  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.030000 UI/mg
- Temperature = 30 degr. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 26.50 mg

Système enzymatique utilise : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar. |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FMBK-O-NH | 0.00       | 0.28         | 1.42        | 0.00           | 0.48           | 2.18       | 0.08          | 0.00       |
| FMBK-H-30 | 0.02       | 0.94         | 2.16        | 0.40           | 1.29           | 4.81       | 0.18          | 29.92      |
| FMBK-H-31 | 0.58       | 1.44         | 2.52        | 0.41           | 1.39           | 5.86       | 0.22          | 41.86      |
| FMBK-H-32 | 2.00       | 1.29         | 2.95        | 0.46           | 1.38           | 6.08       | 0.24          | 47.66      |
| FMBK-H-33 | 4.00       | 1.54         | 3.23        | 0.52           | 1.02           | 7.31       | 0.28          | 58.30      |
| FMBK-H-34 | 8.00       | 1.56         | 4.04        | 0.65           | 1.45           | 7.70       | 0.29          | 62.87      |
| FMBK-H-35 | 24.00      | 1.50         | 4.05        | 0.72           | 1.30           | 7.57       | 0.29          | 61.31      |
| FMBK-H-36 | 48.00      | 2.23         | 4.36        | 0.52           | 1.32           | 8.43       | 0.32          | 71.27      |
| FMBK-O-PH | 0.00       | 1.97         | 6.69        | 0.60           | 1.70           | 10.96      | 0.41          | 100.00     |

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
No de serie des experiences: 3  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.30000 UI/mg
- Temperature = 30 deg. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 26.50 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FMBK-O-NH | 0.00       | 0.28         | 1.42        | 0.00           | 0.48           | 2.18       | 0.08          | 0.00      |
| FMBK-H-40 | 0.02       | 0.50         | 1.86        | 0.65           | 1.10           | 4.11       | 0.19          | 52.10     |
| FMBK-H-41 | 0.58       | 1.75         | 1.09        | 0.56           | 1.50           | 4.90       | 0.24          | 77.10     |
| FMBK-H-42 | 2.00       | 1.95         | 1.99        | 0.55           | 1.50           | 6.99       | 0.28          | 85.70     |
| FMBK-H-43 | 4.00       | 1.95         | 1.66        | 0.67           | 1.83           | 6.11       | 0.26          | 92.68     |
| FMBK-H-45 | 8.00       | 1.95         | 1.10        | 0.00 (*)       | 1.70           | 4.75       | 0.41          | 100.00    |
| FMBK-H-46 | 48.00      | 1.95         | 1.10        | 0.00 (*)       | 1.70           | 4.75       | 0.42          | 100.00    |
| FMBK-O-PH | 0.00       | 1.97         | 6.69        | 0.60           | 1.70           | 10.96      | 0.41          | 100.00    |

(\*) : La valeur du Galactose est incluse dans celle du Xylose

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
No de serie des experiences: 3  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.013200 UI/mg
- Temperature = 30 deg. C
- pH = 5.25
- Filtrat sec = 26.50 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FMBK-O-NH | 0.00       | 0.28         | 1.42        | 0.00           | 0.48           | 2.18       | 0.08          | 0.00      |
| FMBK-H-50 | 0.02       | 1.13         | 0.07        | 0.45           | 1.40           | 3.05       | 0.19          | 32.60     |
| FMBK-H-51 | 0.58       | 1.19         | 0.32        | 0.39           | 1.27           | 3.17       | 0.20          | 34.07     |
| FMBK-H-52 | 2.00       | 1.18         | 0.15        | 0.36           | 1.19           | 2.88       | 0.18          | 30.64     |
| FMBK-H-53 | 4.00       | 1.57         | 0.87        | 0.56           | 1.95           | 4.95       | 0.26          | 54.29     |
| FMBK-H-54 | 8.00       | 1.39         | 2.80        | 0.45           | 1.17           | 6.81       | 0.22          | 41.32     |
| FMBK-H-55 | 24.00      | 1.64         | 3.93        | 0.00           | 1.68           | 7.25       | 0.22          | 57.73     |
| FMBK-H-56 | 48.00      | 1.64         | 4.43        | 0.51           | 1.24           | 7.82       | 0.20          | 65.35     |
| FMBK-O-PH | 0.00       | 1.97         | 6.69        | 0.60           | 1.70           | 10.96      | 0.41          | 100.00    |

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
No de serie des experiences: 4  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.003554 UI/mg
- Temperature = 30 deg. C
- pH = 5.40
- Filtrat sec = 8.44 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.09        | 0.00           | 0.08           | 0.17       | 0.02          | 0.00      |
| FABK-H-10 | 0.02       | 0.00         | 0.18        | 0.00           | 0.34           | 0.52       | 0.06          | 7.87      |
| FABK-H-11 | 0.58       | 0.17         | 0.16        | 0.00           | 0.29           | 0.62       | 0.07          | 10.31     |
| FABK-H-12 | 2.00       | 0.18         | 0.20        | 0.00           | 0.66           | 0.66       | 0.08          | 21.04     |
| FABK-H-13 | 4.00       | 0.25         | 0.31        | 0.00           | 0.55           | 1.11       | 0.13          | 21.79     |
| FABK-H-14 | 8.00       | 0.40         | 0.47        | 0.00           | 0.43           | 1.30       | 0.15          | 26.20     |
| FABK-H-15 | 24.00      | 0.45         | 1.24        | 0.00           | 0.48           | 2.17       | 0.26          | 46.29     |
| FABK-H-16 | 48.00      | 0.58         | 1.64        | 0.00           | 0.30           | 2.52       | 0.30          | 54.29     |
| FABK-O-PH | 0.00       | 0.97         | 2.70        | 0.21           | 0.62           | 4.50       | 0.53          | 100.00    |

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
No de serie des experiences: 4  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.017770 UI/mg
- Temperature = 30 deg. C
- pH = 5.40
- Filtrat sec = 8.44 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.09        | 0.00           | 0.08           | 0.17       | 0.02          | 0.00      |
| FABK-H-20 | 0.02       | 0.21         | 0.19        | 0.00           | 0.45           | 0.85       | 0.10          | 15.66     |
| FABK-H-21 | 0.58       | 0.26         | 0.37        | 0.00           | 0.45           | 1.08       | 0.13          | 21.07     |
| FABK-H-22 | 2.00       | 0.18         | 0.19        | 0.00           | 0.49           | 0.86       | 0.10          | 15.97     |
| FABK-H-23 | 4.00       | 0.35         | 0.47        | 0.00           | 0.69           | 1.51       | 0.18          | 30.85     |
| FABK-H-24 | 8.00       | 0.39         | 0.76        | 0.00           | 0.70           | 1.85       | 0.22          | 38.79     |
| FABK-H-25 | 24.00      | 0.43         | 1.64        | 0.00           | 0.77           | 2.84       | 0.34          | 61.66     |
| FABK-H-26 | 48.00      | 0.58         | 1.24        | 0.00           | 0.21           | 2.03       | 0.32          | 59.12     |
| FABK-O-PH | 0.00       | 0.97         | 2.70        | 0.21           | 0.62           | 4.50       | 0.53          | 100.00    |

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
 No de serie des experiences: 4  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.053320 UI/mg
- Temperature = 30 degf. c
- pH = 5.40
- Filtrat sec = 8.44 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases + β - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.09        | 0.00(*)        | 0.08           | 0.17       | 0.02          | 0.00      |
| FABK-H-30 | 0.02       | 0.23         | 0.14        | 0.00           | 0.25           | 0.62       | 0.07          | 10.28     |
| FABK-H-31 | 0.58       | 0.25         | 0.52        | 0.00           | 0.50           | 1.27       | 0.15          | 25.52     |
| FABK-H-32 | 2.00       | 0.34         | 0.61        | 0.00           | 0.51           | 1.86       | 0.22          | 39.05     |
| FABK-H-33 | 4.00       | 0.49         | 0.91        | 0.00           | 0.64           | 2.04       | 0.24          | 43.29     |
| FABK-H-34 | 8.00       | 0.43         | 1.40        | 0.00           | 0.33           | 2.16       | 0.26          | 46.19     |
| FABK-H-35 | 24.00      | 0.52         | 2.10        | 0.00           | 0.60           | 3.22       | 0.38          | 70.43     |
| FABK-H-36 | 48.00      | 0.72         | 2.29        | 0.00           | 0.29           | 3.30       | 0.39          | 72.29     |
| FABK-O-PH | 0.00       | 0.97         | 2.70        | 0.21           | 0.62           | 4.50       | 0.53          | 100.00    |

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
 No de serie des experiences: 4  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.12260 UI/mg
- Temperature = 30 degf. c
- pH = 5.40
- Filtrat sec = 8.44 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases + β - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.09        | 0.00(*)        | 0.08           | 0.17       | 0.02          | 0.00      |
| FABK-H-40 | 0.02       | 0.23         | 0.14        | 0.00           | 0.25           | 0.62       | 0.07          | 10.28     |
| FABK-H-41 | 0.58       | 0.25         | 0.52        | 0.00           | 0.50           | 1.27       | 0.15          | 25.52     |
| FABK-H-42 | 2.00       | 0.34         | 0.61        | 0.00           | 0.51           | 1.86       | 0.22          | 39.05     |
| FABK-H-43 | 4.00       | 0.49         | 0.91        | 0.00           | 0.64           | 2.04       | 0.24          | 43.29     |
| FABK-H-44 | 8.00       | 0.43         | 1.40        | 0.00           | 0.33           | 2.16       | 0.26          | 46.19     |
| FABK-H-45 | 24.00      | 0.52         | 2.10        | 0.00           | 0.60           | 3.22       | 0.38          | 70.43     |
| FABK-H-46 | 48.00      | 0.72         | 2.29        | 0.00           | 0.29           | 3.30       | 0.39          | 72.29     |
| FABK-O-PH | 0.00       | 0.97         | 2.70        | 0.21           | 0.62           | 4.50       | 0.53          | 100.00    |

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
 No de serie des experiences: 4  
 Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 0.51100 UI/mg
- Temperature = 50 degf. c
- pH = 5.40
- Filtrat sec = 8.44 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases + β - D - Xylosidase

| Exp.      | Temps (Hr) | Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | % Sacchar |
|-----------|------------|--------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| FABK-O-NH | 0.00       | 0.00         | 0.09        | 0.00(*)        | 0.08           | 0.17       | 0.02          | 0.00      |
| FABK-H-50 | 0.02       | 0.25         | 0.62        | 0.00           | 0.63           | 1.50       | 0.18          | 30.86     |
| FABK-H-51 | 0.58       | 0.62         | 1.94        | 0.00           | 0.65           | 3.21       | 0.38          | 70.42     |
| FABK-H-52 | 2.00       | 0.60         | 2.24        | 0.00           | 0.88           | 3.72       | 0.44          | 81.94     |
| FABK-H-53 | 4.00       | 0.71         | 2.27        | 0.00           | 0.58           | 3.66       | 0.43          | 80.58     |
| FABK-H-54 | 8.00       | 0.71         | 2.45        | 0.20           | 0.68           | 4.04       | 0.48          | 89.51     |
| FABK-H-55 | 24.00      | 0.72         | 2.43        | 0.00           | 0.59           | 3.74       | 0.44          | 82.43     |
| FABK-H-56 | 48.00      | 0.91         | 2.67        | 0.21           | 0.64           | 4.43       | 0.52          | 98.41     |
| FABK-O-PH | 0.00       | 0.97         | 2.70        | 0.21           | 0.62           | 4.50       | 0.53          | 100.00    |

(\*) : La valeur du Galactose est incluse dans celle du Xylose

**APPENDICE C-3**

**RESULTATS DETAILLES AVEC DES ENZYMES IMMOBILISES**

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
No de serie des experiences: 1  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 2.85700 UI/ml alginate
- Temperature = 35 degr. C
- pH = 5.20
- Filtrat sec = 17.60 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases + B - D - Xylosidase immobilisés

| Exp.      | Vit. (Hr-1) | Spat Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | Sacchar. % |
|-----------|-------------|-------------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FABK-O-NH | -           | 0.00              | 0.22        | ----           | 0.20           | 0.42       | 0.02          | 0.00       |
| ALFA-H-6  | 0.69        | 0.33              | 1.08        | ----           | 0.72           | 2.13       | 0.12          | 25.98      |
| ALFA-H-2  | 0.63        | 0.31              | 1.35        | ----           | 0.82           | 2.88       | 0.16          | 37.27      |
| ALFA-H-1  | 0.30        | 0.89              | 1.50        | ----           | 0.83           | 3.22       | 0.18          | 42.33      |
| ALFA-H-5  | 0.04        | 1.60              | 3.61        | ----           | 1.00           | 6.21       | 0.35          | 87.73      |
| ALFA-H-3  | 0.03        | 1.85              | 3.87        | ----           | 0.85           | 6.57       | 0.34          | 83.98      |
| FABK-O-PH | 0.00        | 0.96              | 4.54        | ----           | 1.52           | 7.02       | 0.40          | 100.00     |

(---): La valeur du Galactose est incluse dans celle du Xylose

Biomasse traitée : Stipa Tenacissima  
No de serie des experiences: 2  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 2.85700 UI/ml alginate
- Temperature = 43 degr. C
- pH = 5.20
- Filtrat sec = 17.60 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase immobilisés

| Exp.      | Vit. (Hr-1) | Spat Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | Sacchar. % |
|-----------|-------------|-------------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FABK-O-NH | -           | 0.00              | 0.22        | ----           | 0.20           | 0.42       | 0.02          | 0.00       |
| ALFA-H-11 | 3.55        | 0.22              | 0.25        | ----           | 0.42           | 0.89       | 0.05          | 7.11       |
| ALFA-H-10 | 0.51        | 0.26              | 0.91        | ----           | 0.58           | 1.75       | 0.10          | 20.19      |
| ALFA-H-8  | 0.46        | 0.61              | 1.18        | ----           | 0.96           | 2.75       | 0.16          | 35.33      |
| ALFA-H-9  | 0.03        | 1.16              | 3.64        | ----           | 0.73           | 5.53       | 0.31          | 78.04      |
| FABK-O-PH | 0.00        | 0.96              | 4.54        | ----           | 1.52           | 7.02       | 0.40          | 100.00     |

(---): La valeur du Galactose est incluse dans celle du Xylose

Biomasse traitée : Tiges de maïs  
No de serie des experiences: 3  
Conditions d'hydrolyse :

- ENZF = 2.85700 UI/ml alginate
- Temperature = 35 degr. C
- pH = 5.20
- Filtrat sec = 62.90 mg

Système enzymatique utilisé : Cellulases +  $\beta$  - D - Xylosidase immobilisés

| Exp.      | Vit. (Hr-1) | Spat Glucose (mg) | Xylose (mg) | Galactose (mg) | Arab+Mann (mg) | Total (mg) | Ratio (mg/mg) | Sacchar. % |
|-----------|-------------|-------------------|-------------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|
| FMBK-O-NH | -           | 0.84              | 3.96        | ----           | 2.41           | 7.20       | 0.02          | 0.00       |
| MAIS-H-5  | 0.40        | 2.05              | 4.05        | ----           | 2.66           | 9.13       | 0.15          | 33.00      |
| MAIS-H-4  | 0.24        | 2.20              | 4.35        | ----           | 2.73           | 10.30      | 0.16          | 52.87      |
| MAIS-H-2  | 0.12        | 2.70              | 4.92        | ----           | 2.92           | 11.39      | 0.18          | 71.56      |
| MAIS-H-3  | 0.02        | 2.70              | 5.70        | ----           | 2.80           | 13.27      | 0.20          | 87.66      |
| FMBK-O-PH | 0.00        | 2.53              | 7.02        | ----           | 3.50           | 13.05      | 0.21          | 100.00     |

**APPENDICE D**

**RESULTATS D'ANALYSE DES  
ESSAIS DE TOXICITE DES FILTRATS  
VIS A VIS DE CANDIDA UTILIS**

## D1 - Essais sans acclimatation :

## UTILISATION DES SUCRES PAR CANDIDA UTILIS :

## A - Stipe Tenacissima.

Milieu brut :

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| #           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| FABK-F-10   | 0.0   | 0.6003  | 3.8475      | 0.6378        | 5.0856  | 2.54     |
| FABK-F-11   | 2.0   | 0.5992  | 3.4249      | 0.7540        | 4.7780  | 2.67     |
| FABK-F-12   | 4.0   | 0.5941  | 3.1651      | 0.2693        | 4.0285  | 2.96     |
| FABK-F-13   | 6.0   | 0.4600  | 2.9171      | 0.6145        | 4.0016  | 2.98     |
| FABK-F-14   | 8.0   | 0.5000  | 2.7687      | 0.7150        | 3.9833  | 2.98     |
| FABK-F-15   | 12.0  | 0.5025  | 2.8590      | 0.6127        | 3.9741  | 2.99     |
| FABK-F-16   | 25.0  | 0.0000  | 2.7513      | 0.5162        | 3.2675  | 3.28     |

Milieu traité avec CaO:

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| #           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| FABK-F-20   | 0.0   | 0.4720  | 2.0341      | 0.8636        | 3.3697  | 2.54     |
| FABK-F-21   | 2.0   | 0.3491  | 1.6212      | 0.6041        | 2.5743  | 2.86     |
| FABK-F-22   | 4.0   | 0.2922  | 1.3779      | 0.6298        | 2.2999  | 2.97     |
| FABK-F-23   | 6.0   | 0.2745  | 1.2177      | 0.5078        | 2.0000  | 3.10     |
| FABK-F-24   | 8.0   | 0.2850  | 1.1200      | 0.4579        | 1.8629  | 3.15     |
| FABK-F-25   | 12.0  | 0.2330  | 1.0239      | 0.4483        | 1.7056  | 3.21     |
| FABK-H-26   | 25.0  | 0.0000  | 0.5273      | 0.6273        | 1.1546  | 3.44     |

B - MILIEU RECONSTITUE:

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| #           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| RECO-F-40   | 0.0   | 1.0315  | 3.0174      | 0.4172        | 4.4961  | 2.54     |
| RECO-F-41   | 2.0   | 0.9813  | 2.7018      | 0.3880        | 4.0711  | 2.71     |
| RECO-F-42   | 4.0   | 1.0234  | 2.8762      | 0.4074        | 4.3070  | 2.80     |
| RECO-F-43   | 6.0   | 0.8150  | 2.1911      | 0.3223        | 3.3284  | 3.02     |
| RECO-F-44   | 8.0   | 0.8169  | 2.2447      | 0.3676        | 3.4290  | 3.25     |
| RECO-F-45   | 12.0  | 0.5436  | 2.2728      | 0.3574        | 3.1738  | 3.35     |
| RECO-F-46   | 25.0  | 0.0400  | 1.6140      | 0.0960        | 1.7503  | 3.64     |



## C - TIGES DE MAÏS:

Milieu brut :

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| *           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| FMBK-F-10   | 0.0   | 0.8665  | 3.4395      | 0.6439        | 4.9899  | 2.54     |
| FMBK-F-11   | 2.0   | 0.8829  | 2.8600      | 1.0143        | 4.7572  | 2.61     |
| FMBK-F-12   | 4.0   | 0.7229  | 2.2657      | 1.0428        | 4.0319  | 2.62     |
| FMBK-F-13   | 6.0   | 0.7760  | 2.4164      | 0.9259        | 4.1180  | 2.60     |
| FMBK-F-14   | 8.0   | 0.6967  | 2.5512      | 0.9106        | 4.1580  | 2.64     |
| FMBK-F-15   | 12.0  | 0.6621  | 2.7355      | 0.5028        | 3.9004  | 2.70     |
| FMBK-F-16   | 24.0  | 0.0000  | 1.4793      | 0.2111        | 1.6904  | 3.14     |

Milieu extrait avec l'acetate d'ethyle:

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| *           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| FMBK-F-10   | 0.0   | 0.7540  | 2.8884      | 0.4280        | 4.0704  | 2.54     |
| FMBK-F-21   | 2.0   | 0.7471  | 2.8369      | 0.4900        | 4.0740  | 2.54     |
| FMBK-F-22   | 4.0   | 0.7424  | 2.7025      | 0.4454        | 3.8903  | 2.61     |
| FMBK-F-23   | 6.0   | 0.7960  | 2.3320      | 0.4800        | 3.6080  | 2.72     |
| FMBK-F-24   | 8.0   | 0.6700  | 2.4160      | 0.3940        | 3.4800  | 2.78     |
| FMBK-F-25   | 12.0  | 0.5750  | 1.9010      | 0.4030        | 2.8790  | 3.02     |
| FMBK-F-26   | 24.0  | 0.0000  | 1.4604      | 0.0326        | 1.4930  | 3.72     |

Milieu traité avec CaO:

| EXPERIENCES | TEMPS | GLUCOSE | XYLO.+GALAC | ARABIN.+MANN. | TOTAL   | Biomasse |
|-------------|-------|---------|-------------|---------------|---------|----------|
| *           | (H)   | (mg/ml) | (mg/ml)     | (mg/ml)       | (mg/ml) | (mg/ml)  |
| FMBK-F-30   | 0.0   | 0.5429  | 1.8844      | 0.4714        | 2.8987  | 2.54     |
| FMBK-F-31   | 2.0   | 0.5329  | 1.6117      | 0.3867        | 2.5304  | 2.68     |
| FMBK-F-32   | 4.0   | 0.4500  | 1.5583      | 0.3867        | 2.3950  | 2.74     |
| FMBK-F-33   | 6.0   | 0.4400  | 1.3860      | 0.3200        | 2.1460  | 2.76     |
| FMBK-F-34   | 8.0   | 0.3080  | 1.0580      | 0.2830        | 1.6490  | 3.04     |
| FMBK-F-35   | 12.0  | 0.1778  | 0.6312      | 0.1910        | 1.0000  | 3.30     |
| FMBK-F-36   | 24.0  | 0.0200  | 0.4070      | 0.2240        | 0.6510  | 3.44     |

## D2 - Essais avec acclimatation :

## Milieu: Reconstitue

| Exp<br>(#) | Temps<br>(H) | Glucose<br>(mg /ml) | Xyl+Gal.<br>(mg /ml) | Arab+Mann.<br>(mg /ml) | Total<br>(mg /ml) | Biomasse<br>(mg /ml) |
|------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------|-------------------|----------------------|
| R - 0      | 0.00         | 1.008               | 3.007                | 0.414                  | 4.429             | 2.000                |
| R - 1      | 2.00         | 0.543               | 2.514                | 0.422                  | 3.479             | 2.690                |
| R - 2      | 4.00         | 0.000               | 1.646                | 0.113                  | 1.759             | 3.870                |
| R - 3      | 6.00         | 0.000               | 0.417                | 0.000                  | 0.417             | 4.810                |
| R - 4      | 8.00         | 0.000               | 0.049                | 0.000                  | 0.049             | 5.070                |

## Milieu: Reconstitue + Extraits Acetate d'Ethyle

| Exp<br>(#) | Temps<br>(H) | Glucose<br>(mg /ml) | Xyl+Gal.<br>(mg /ml) | Arab+Mann.<br>(mg /ml) | Total<br>(mg /ml) | Biomasse<br>(mg /ml) |
|------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------|-------------------|----------------------|
| RA - 0     | 0.00         | 1.008               | 3.007                | 0.414                  | 4.429             | 2.000                |
| RA - 1     | 2.00         | 0.918               | 3.129                | 0.335                  | 4.382             | 2.020                |
| RA - 2     | 4.00         | 0.241               | 1.934                | 0.297                  | 2.472             | 3.270                |
| RA - 3     | 6.00         | 0.278               | 0.655                | 0.000                  | 0.933             | 4.180                |
| RA - 4     | 8.00         | 0.000               | 0.398                | 0.000                  | 0.398             | 4.620                |

## Milieu: Stipa Tenacissima

| Exp<br>(#) | Temps<br>(H) | Glucose<br>(mg /ml) | Xyl+Gal.<br>(mg /ml) | Arab+Mann.<br>(mg /ml) | Total<br>(mg /ml) | Biomasse<br>(mg /ml) |
|------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------|-------------------|----------------------|
| FABK-60    | 0.00         | 1.430               | 4.351                | 0.829                  | 6.610             | 2.000                |
| FABK-61    | 2.00         | 1.400               | 3.874                | 0.880                  | 6.154             | 2.240                |
| FABK-62    | 4.00         | 0.000               | 3.359                | 0.000                  | 3.359             | 3.720                |
| FABK-63    | 6.00         | 0.000               | 2.827                | 0.000                  | 2.827             | 4.000                |
| FABK-64    | 8.00         | 0.000               | 1.471                | 0.000                  | 1.471             | 4.720                |
| FABK-65    | 11.00        | 0.000               | 0.000                | 0.000                  | 0.000             | 5.500                |

## Milieu: Tiges de mais

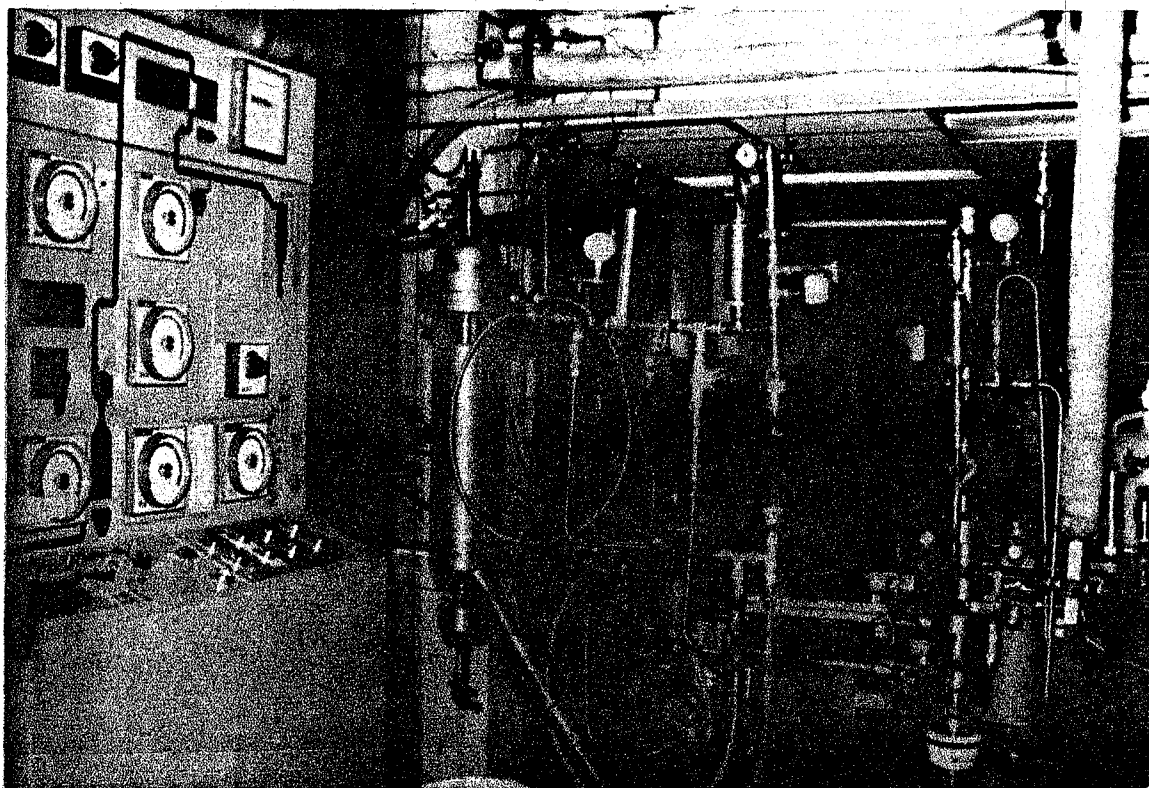
| Exp<br>(#) | Temps<br>(H) | Glucose<br>(mg /ml) | Xyl+Gal.<br>(mg /ml) | Arab+Mann.<br>(mg /ml) | Total<br>(mg /ml) | Biomasse<br>(mg /ml) |
|------------|--------------|---------------------|----------------------|------------------------|-------------------|----------------------|
| FMBK-50    | 0.00         | 1.917               | 2.984                | 0.433                  | 5.334             | 2.000                |
| FMBK-51    | 2.00         | 0.442               | 2.980                | 0.403                  | 3.825             | 2.780                |
| FMBK-52    | 4.00         | 0.000               | 1.677                | 0.000                  | 1.677             | 3.900                |
| FMBK-53    | 6.00         | 0.000               | 1.511                | 0.000                  | 1.511             | 3.990                |
| FMBK-54    | 8.00         | 0.000               | 1.402                | 0.000                  | 1.402             | 4.050                |
| FMBK-55    | 11.00        | 0.000               | 0.000                | 0.000                  | 0.000             | 4.780                |

**APPENDICE E**

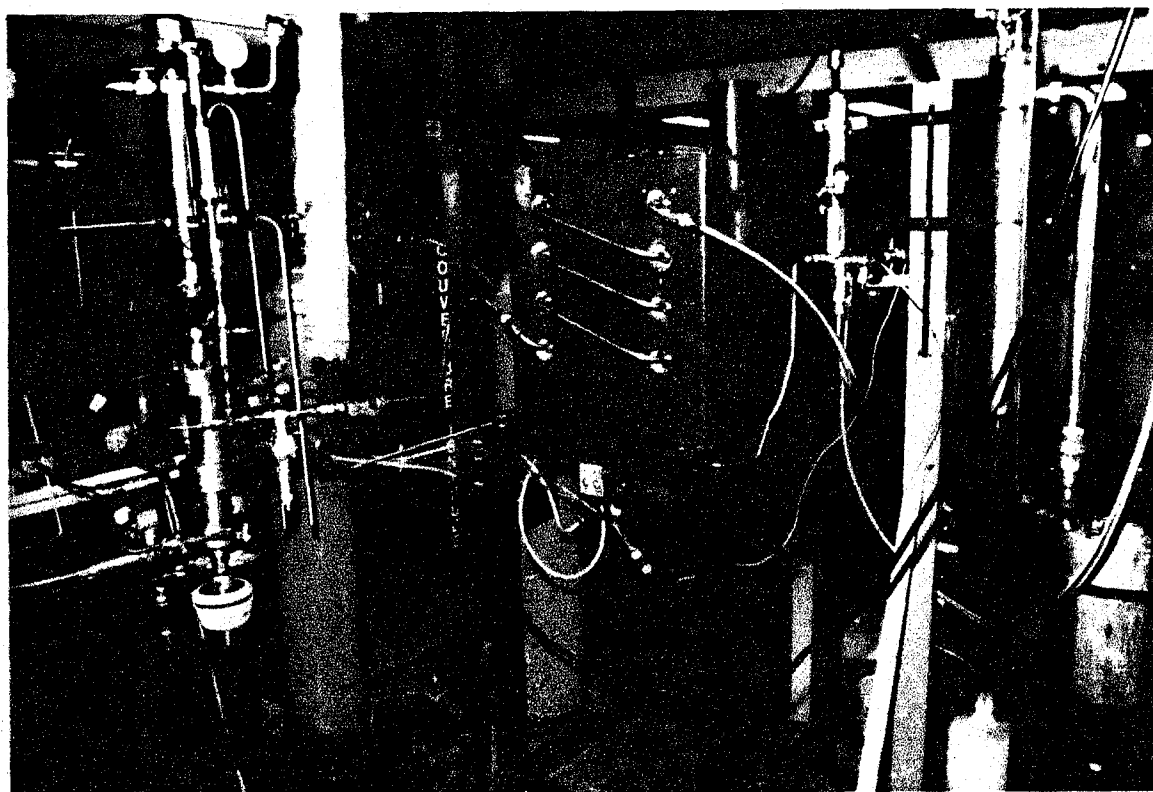
**PHOTOS:**

**E-1 - PHOTOS DU PROCEDE UdeS-H**

**E-2 - PHOTOS DE CANDIDA UTILIS**



**Photo 1 - Le procédé UdeS-H , vue générale**



**Photo 2 - Vue générale du réacteur tubulaire**

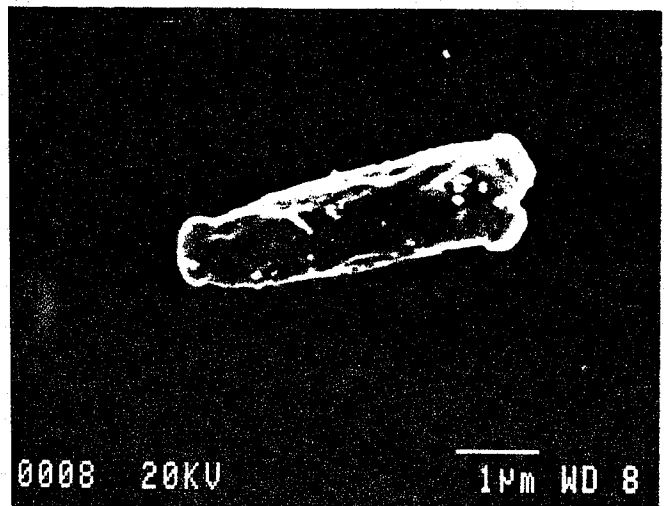
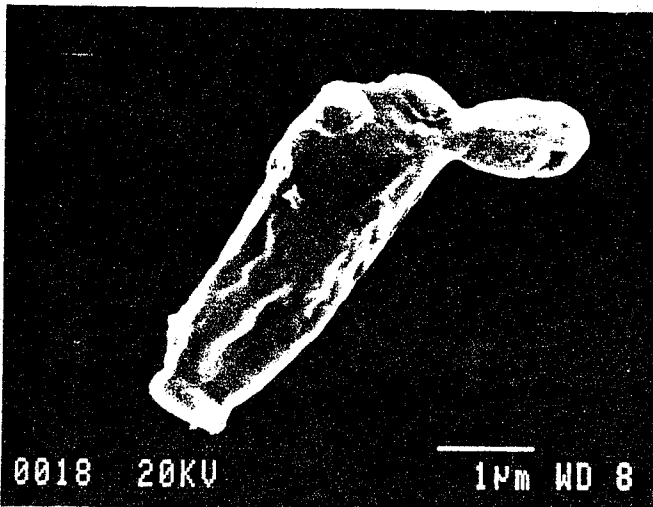
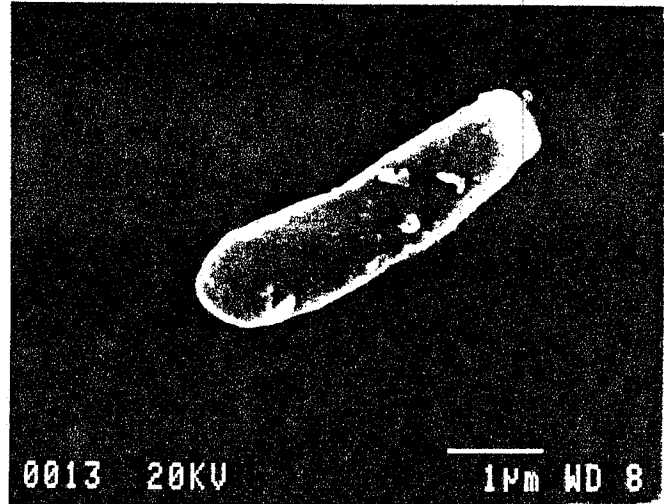
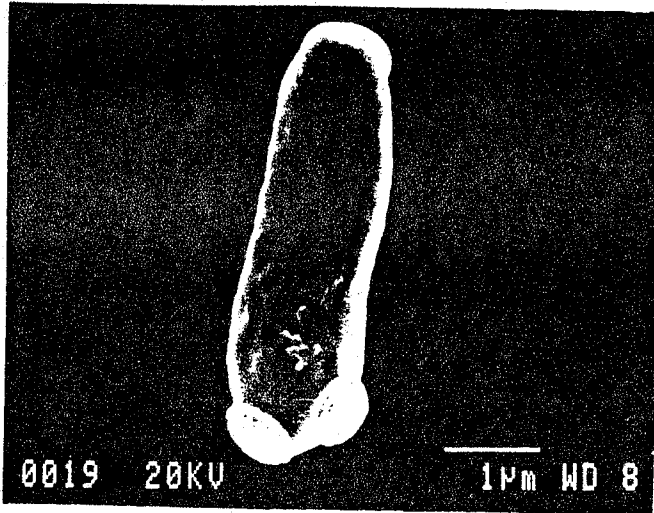


Photo 3 - *Candida utilis* en phase de croissance

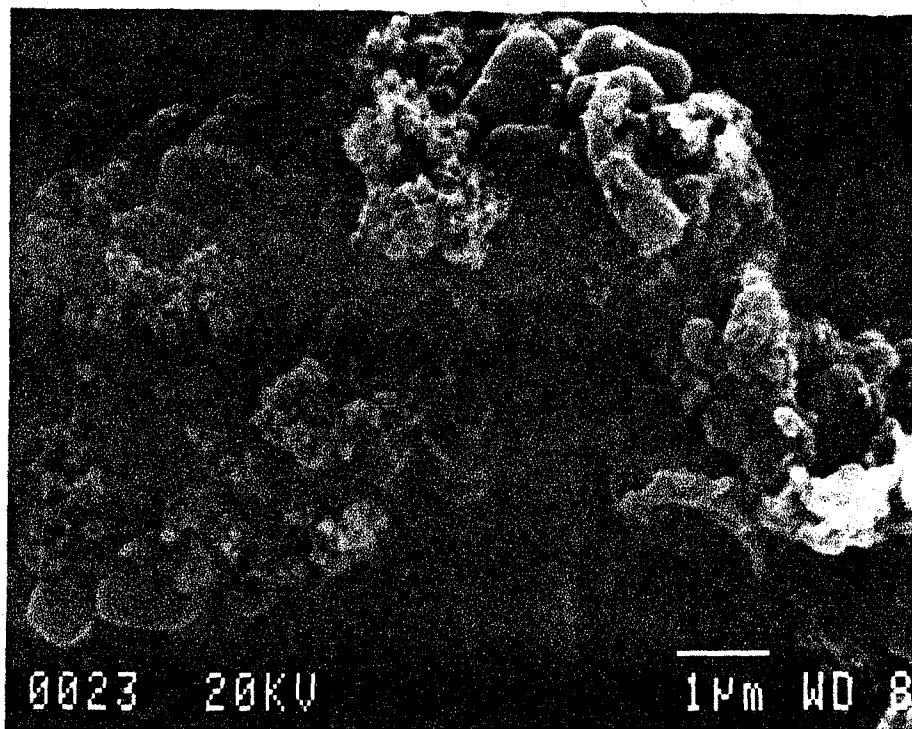


Photo 4 - Croissance de *Candida utilis* dans le filtrat des tiges de maïs

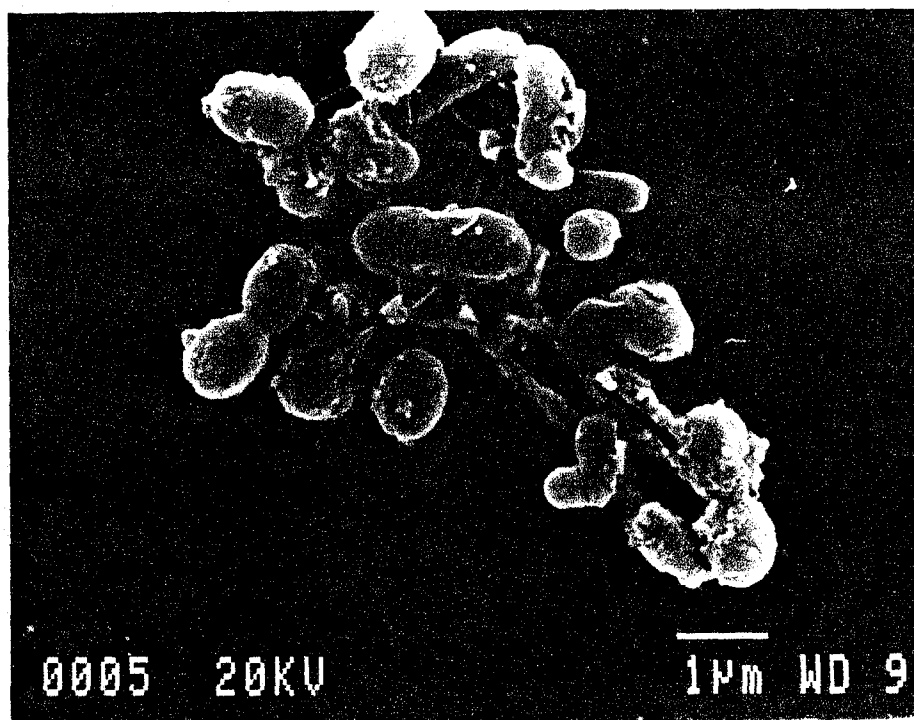
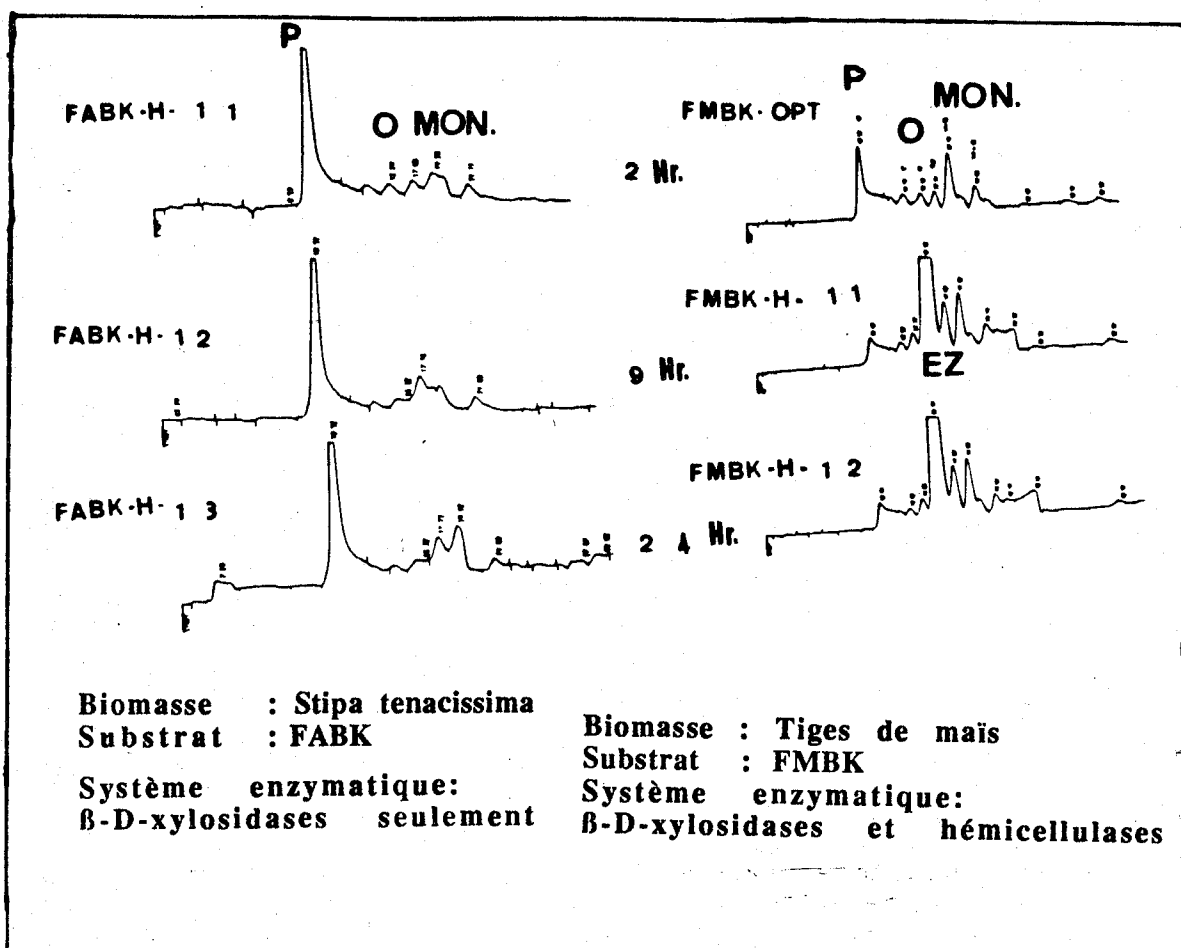


Photo 5 - Croissance de *Candida utilis* dans le filtrat de *Stipa tenacissima*

**APPENDICE F**

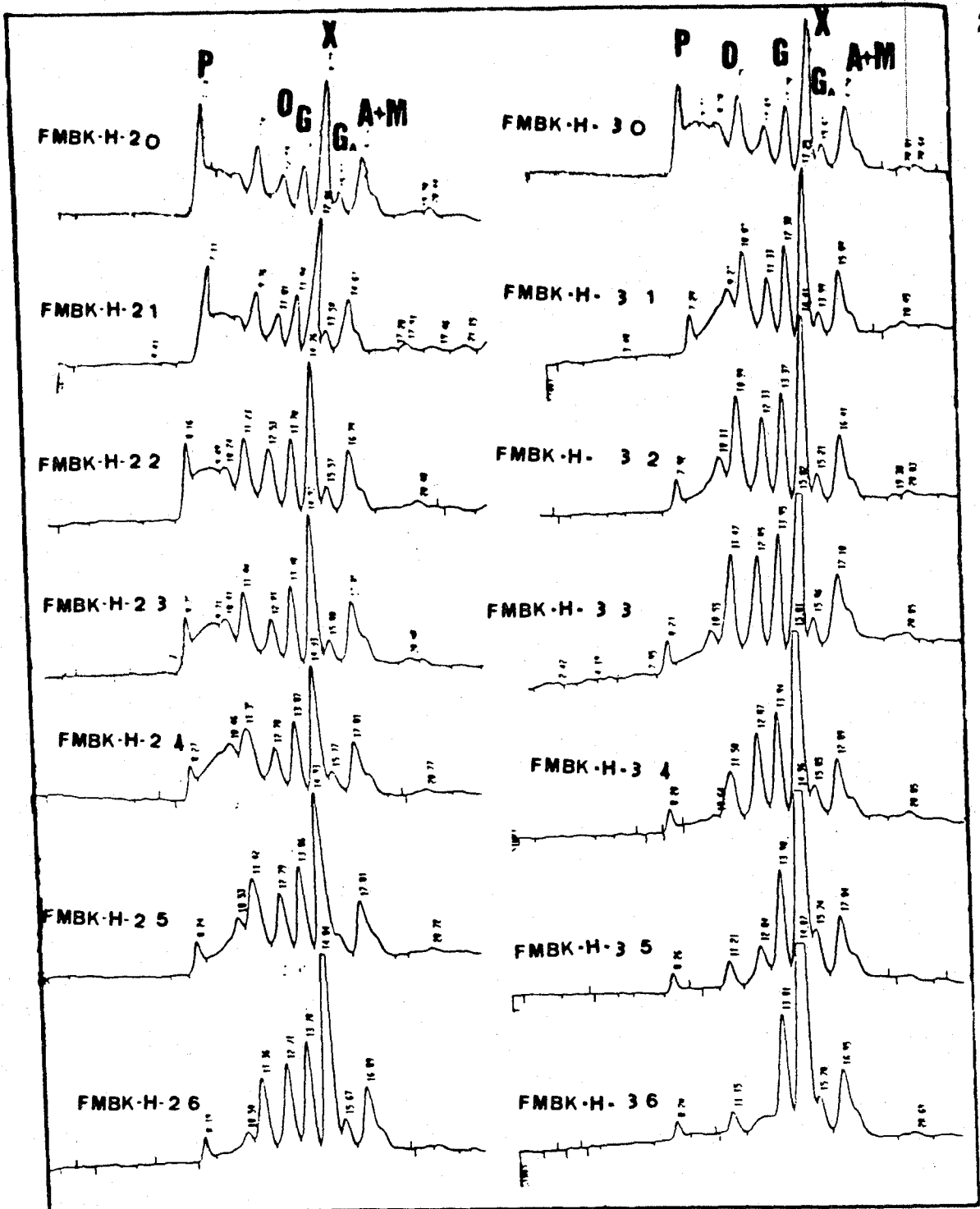
**QUELQUES CHROMATOGRAMMES TYPIQUES**

**P** : Polymères  
**O** : Oligomères  
**Mon** : Monomères  
**EZ** : Pic des enzymes



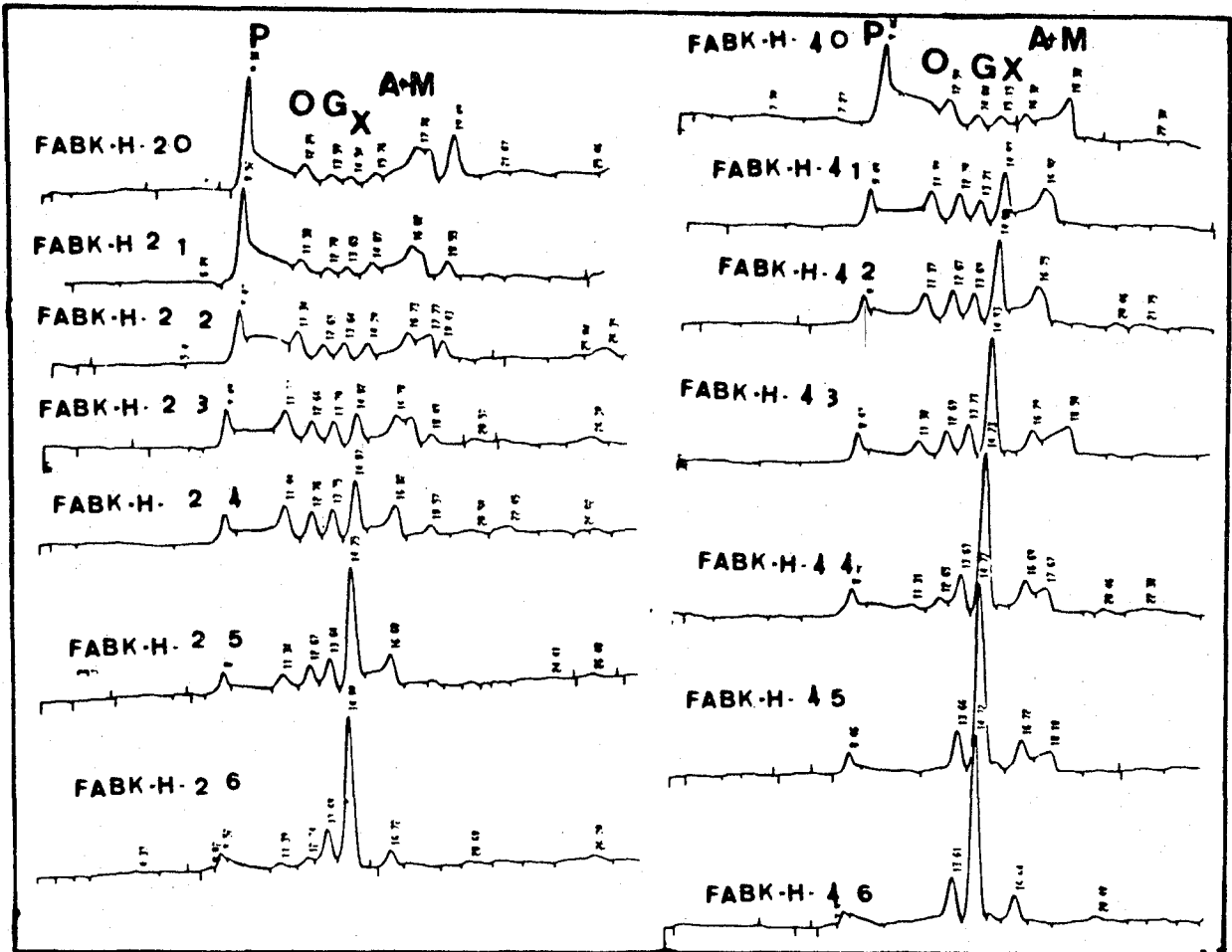
**Action synergique des enzymes**





### Hydrolyse enzymatique des filtrats des tiges de maïs

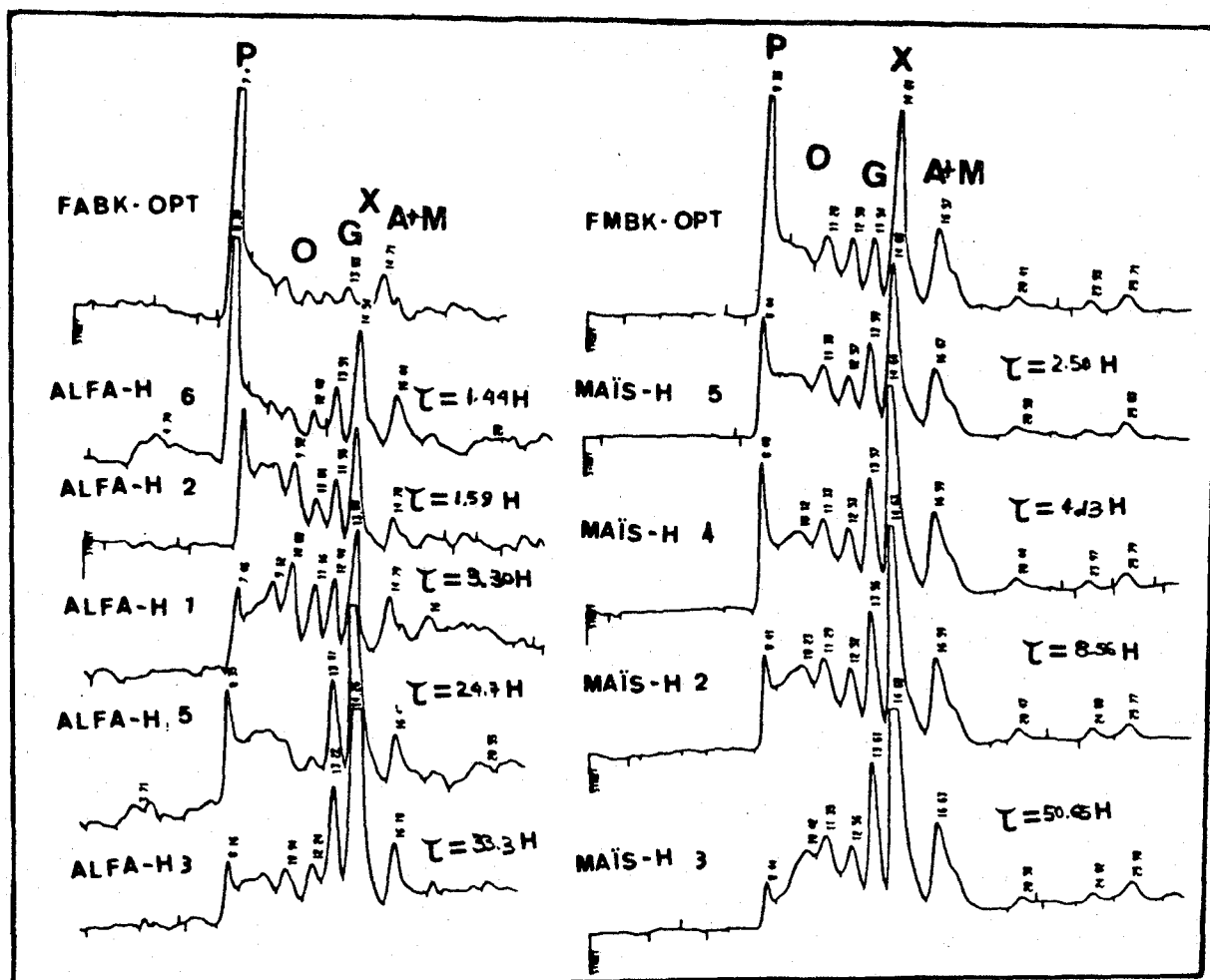
- P : Polymères  
 O : Oligomères  
 G : Glucose  
 X : Xylose  
 Ga : Galactose  
 A+M : Arabinose et Mannose



Hydrolyse enzymatique des filtrats de *Stipa tenacissima*

P : Polymères  
 O : Oligomères  
 G : Glucose  
 X : Xylose  
 Ga : Galactose  
 A+M : Arabinose et Mannose

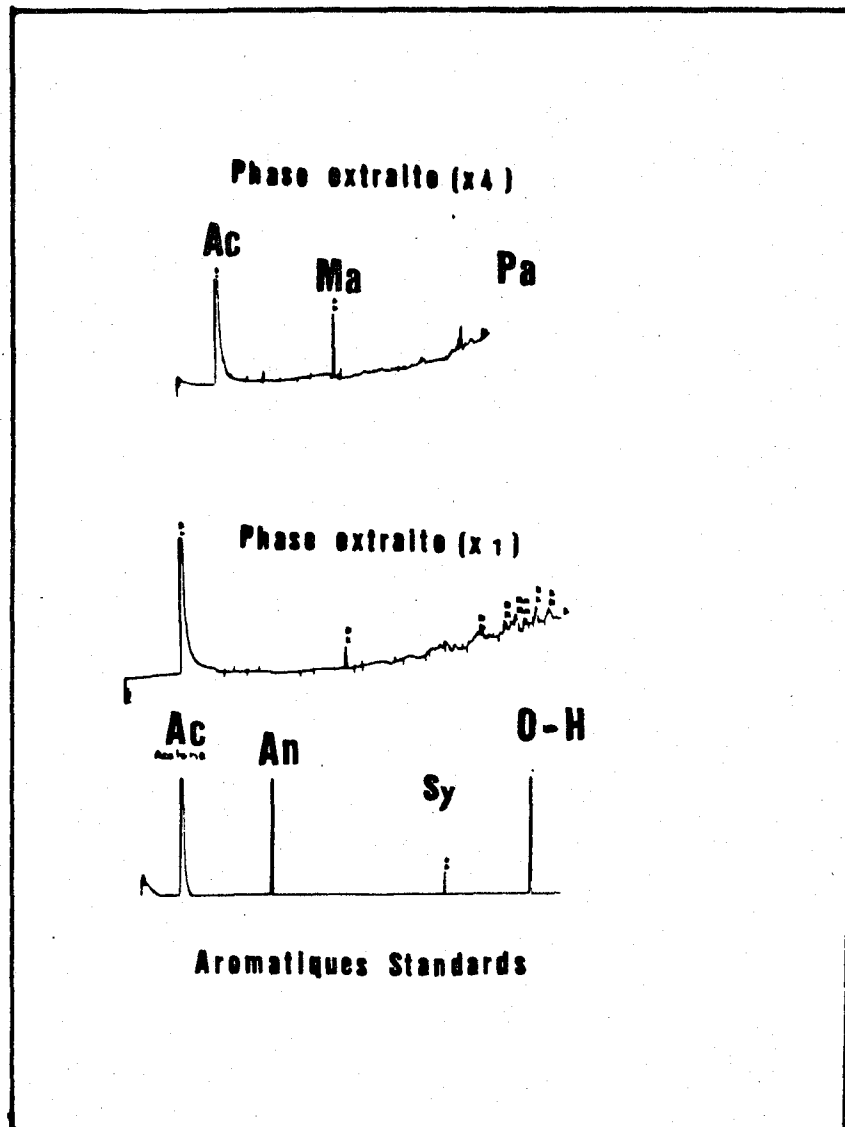
P : Polymères  
 O : Oligomères  
 G : Glucose  
 X : Xylose  
 Ga : Galactose  
 A+M : Arabinose et Mannose



Biomasse : *Stipa tenacissima*  
 Substrat : FABK  
 Température : 35 ° C

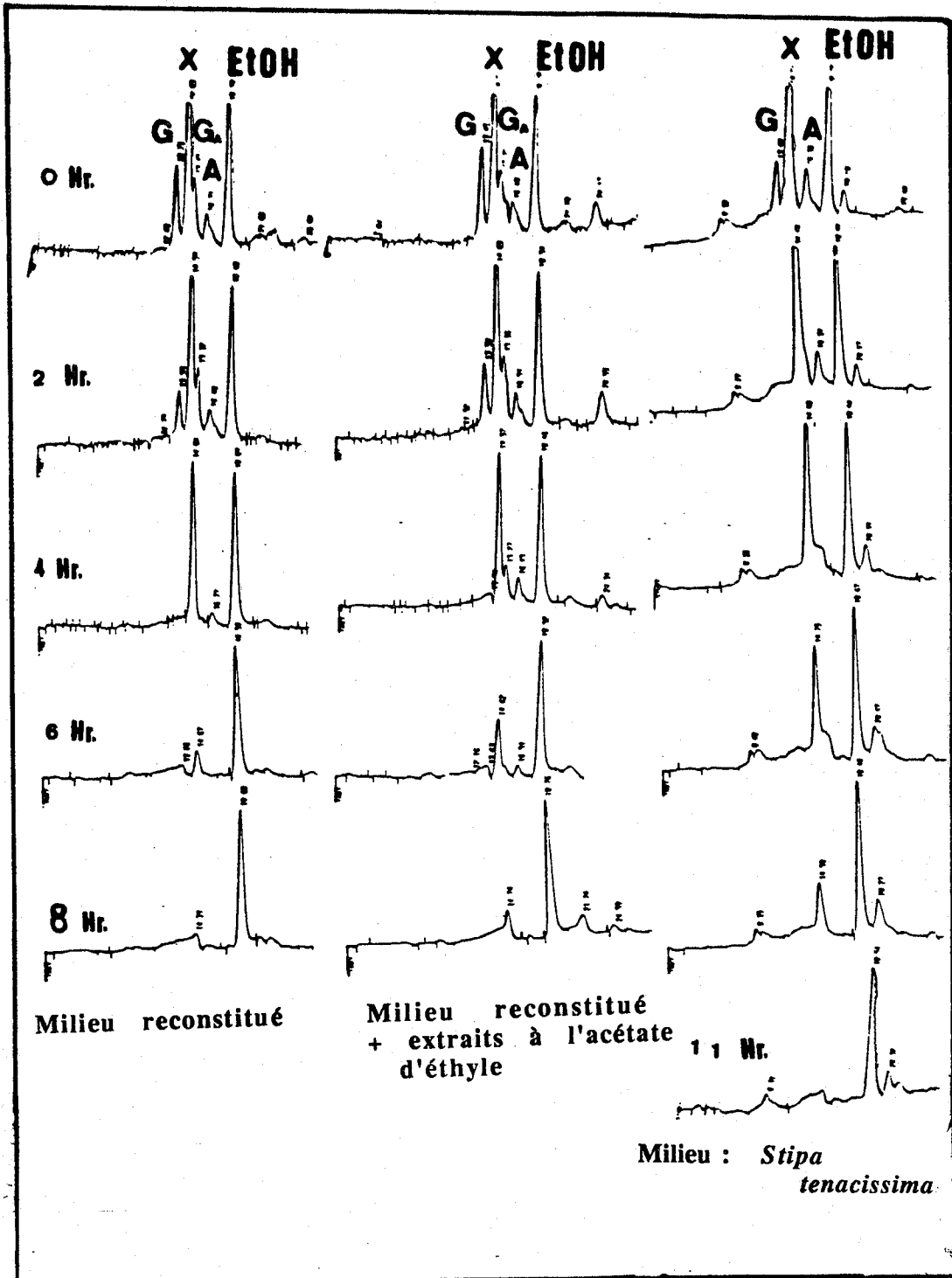
Biomasse : Tiges de maïs  
 Substrat : FMBK  
 Température : 35 ° C

Hydrolyse enzymatique avec des enzymes immobilisés



Substances toxiques contenues dans la phase extraite à l'acétate d'éthyle.

Ac : Acétone  
 An : Anisole  
 Sy : Syringole  
 O-H : O-Hydroxy-bénzyl-alcool  
 Ma : Monoaromatiques  
 Pa : Polyaromatiques



Fermentation des milieux de culture par *Candida utilis*

## APPENDICE G:

### MODELISATION DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES GLYCOSIDES

#### 1- Expérience acquise avec les celluloses:

REESE et al. (1950) [171], avaient postulé l'existence de deux systèmes enzymatiques dans les celluloses,  $C_1$  et  $C_x$ .

$C_1$  est un système d'enzymes capables de dégrader la cellulose en polyanhydroglucoses linéaires et courts. Ces chaînes sont ensuite hydrolysées par le système  $C_x$ .

Ce concept  $C_1$ - $C_x$ , ne fourni qu'un aperçu approximé du mode d'action des cellulases, est actuellement délaissé.

Des études actuelles montrent que le mode d'action des cellulases est basé sur l'action synergique qui existe entre trois types distincts d'enzymes:

- $\beta$ -glucanases de type end
- $\beta$ -glucanases de type exo
- cellobiases

Les endo  $\beta$ -glucanases hydrolysent la cellulose pour produire des chaînes de polyanhydroglucose ("cellulose susceptible"), du cellobiose et du glucose, d'une façon aléatoire.

Les exo  $\beta$ -glucanases hydrolysent la "cellulose susceptible" et la transforment en cellobiose.

Cette dernière peut être aussi obtenue par l'action de ces mêmes exo- $\beta$ -glucanases sur la cellulose de départ.

Les cellobiases quant à elles hydrolysent la cellobiose en glucose, avec une légère inhibition de la part de ce dernier, BLANCH et WILKE (1982) [ 22].

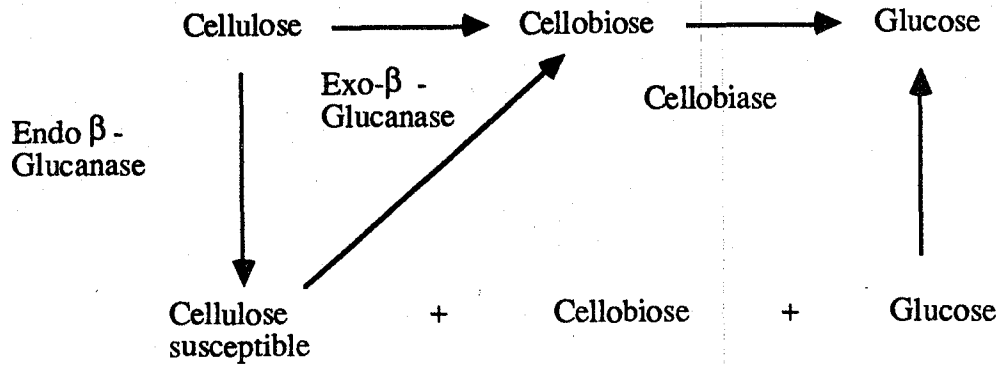
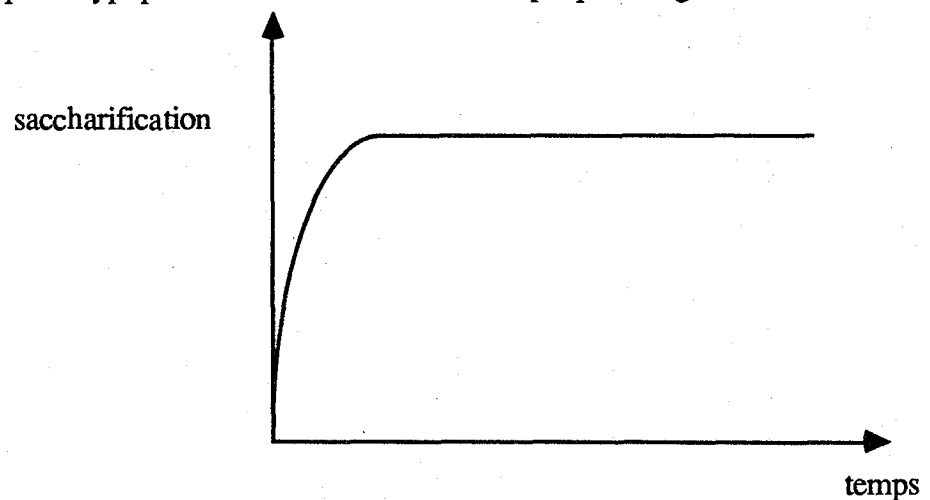


Figure 81. Mécanisme d'hydrolyse de la cellulose par les cellulases adopté actuellement, BLANCH et WILKE (1982) [22]

Le profil typique de saccharification est indiqué par la figure suivante:



Initialement, la saccharification est très rapide provenant probablement de l'action des enzymes sur la "cellulose susceptible". Ceci est suivi après par une production lente de sucres par l'action des enzymes sur la cellulose native.

## 2- Proposition d'un modèle d'hydrolyse enzymatique des hémicelluloses:

Dans nos expériences sur l'hydrolyse enzymatique des filtrats obtenus pas prétraitement thermo-mécano-chimique, les systèmes d'enzymes utilisés sont:

- les cellulases
- les  $\beta$ -D-Xylosidases

d'*Aspergillus niger*.

Les cellulases forment un ensemble complexe d'enzymes comprenant même ceux à activité hémicellulolytique, dont les xylanases.

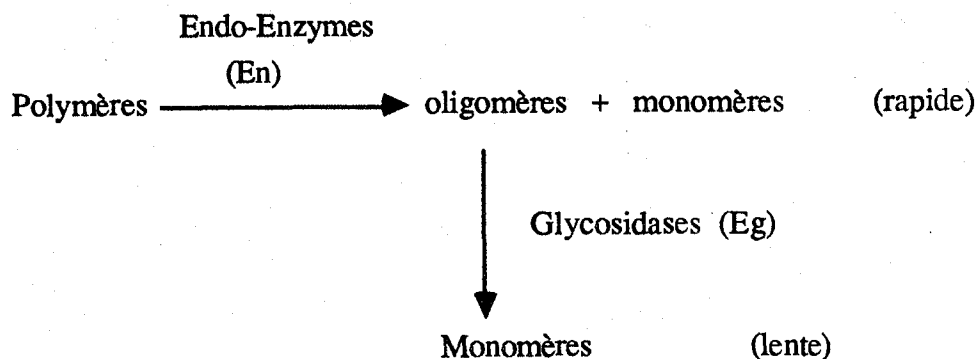
Compte tenu de l'expérience acquise sur le mécanisme d'hydrolyse de la cellulose, du mode d'action des hémicellulases (voir précédemment et dans le chapitre revue bibliographique), et de nos résultats expérimentaux d'hydrolyse enzymatique obtenus sur les tiges de maïs et Alfa (*Stipa tenacissima*), le schéma réactionnel global peut être décrit en se basant sur les fondements principaux suivants:

- Similarité du mécanisme hydrolytique des hydrolases.
- Existence dans les cellulases utilisées des activités hémicellulolytiques de type:
  - endo, plus prononcé pour *A. niger* (voir tableau 7)
  - exo.
- Action des  $\beta$ -D-glycosidases ( $\beta$ -D-xylosidase, dans notre cas) sur les oligomères courts obtenus.

D'après le tableau 7, *Aspergillus niger* sécrète des xylanases de type endo dont les produits sont des oligomères de degré de polymérisation de 2 à 6 et des monomères en quantités moindres, cette réaction est considérée rapide (voir les chromatogrammes en appendice C-1).

Les mêmes oligomères sont ensuite hydrolysés par les glycosidases afin de former les monomères; cette étape est lente.



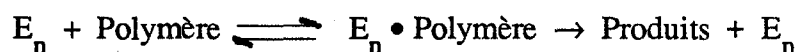


Ce schéma global n'est qu'un aperçu de ce qui se passe réellement.

### 3 - Elaboration du modèle en termes mathématiques:

#### Hypothèses :

1- On assume que les enzymes (En) suivent globalement une cinétique de type Michaelis-Menten



2a- On a mentionné auparavant l'action inhibitrice des monomères (principalement xylose) sur les glycosidases ( $\beta$ -D-xylosidases dans notre cas), voir chapitre revue bibliographique.

2b- On mentionne que dans le cas d'inhibition par les produits dans un procédé enzymatique le taux de réaction dévie un peu de celui prédit par la cinétique au sens de Michaelis-Menten et est exprimé par:

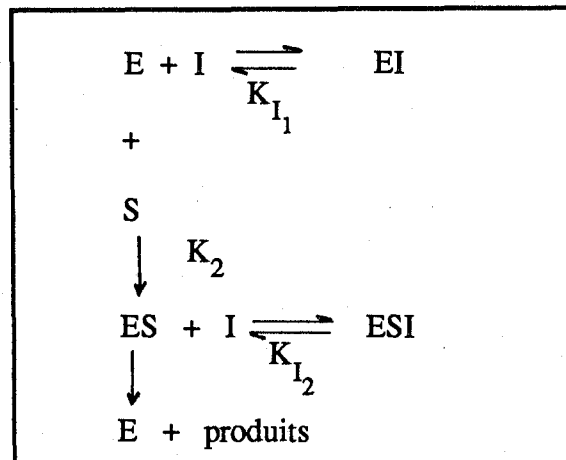
$$v = \frac{v_{\max} \times C_S}{K_m (1 + C_I/K_{I_1}) + C_S (1 + C_I/K_{I_2})} \quad [1]$$

et ceci dans un cas général, GONG et al. (1977) [81].

$C_S$  et  $C_S$  sont les concentrations du substrat et du produit inhibiteur respectivement.

$K_{I_1}$  et  $K_{I_2}$  sont les constantes d'inhibition découlant du schéma réactionnel de

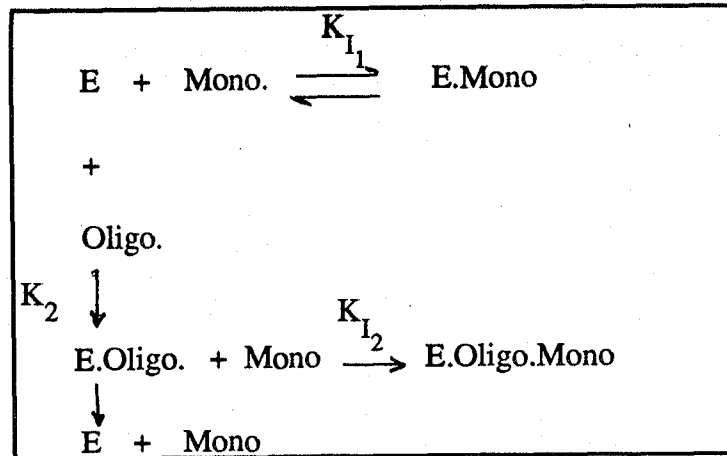
l'enzyme inhibé en présence du substrat S.



Suivant les valeurs de  $K_{I_1}$  et  $K_{I_2}$ , on peut rencontrer trois situations:

- $K_{I_2} \gg K_{I_1}$ , on parle alors d'inhibition compétitive.
- $K_{I_1} = K_{I_2}$ , on parle alors d'inhibition non compétitive, pure.
- $K_{I_2} \ll K_{I_1}$ , on parle alors d'inhibition non compétitive.

Si on assume donc, dans notre cas, que le système enzymatique Eg est inhibé par les monomères, alors le schéma réactionnel sera comme suit:



$$\text{et } v = \frac{v_{\max_2} * [\text{Oligo}]}{K_2(1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_1}}) + [\text{Oligo}](1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_2}})} \quad [2]$$

La formulation des taux de disparition des substrats et d'apparition des produits sera représentée par l'ensemble d'équations différentielles couplées suivantes:

$$\begin{array}{l}
 \frac{-d[\text{Poly}]}{dt} = v_{\max_1} \frac{[\text{Poly}]}{K_1 + [\text{Poly}]} \\
 \\
 \frac{[\text{Oligo}]}{dt} = v_{\max_1} \frac{[\text{Poly}]}{K_1 + [\text{Poly}]} - \frac{v_{\max_2} [\text{Oligo}]}{K_2(1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_1}}) + [\text{Oligo}](1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_2}})} \quad [3] \\
 \\
 \frac{d[\text{Mono}]}{dt} = v_{\max_1} \frac{[\text{Poly}]}{K_1 + [\text{Poly}]} + \frac{v_{\max_2} [\text{Oligo}]}{K_2(1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_1}}) + [\text{Oligo}](1 + \frac{[\text{Mono}]}{K_{I_2}})}
 \end{array}$$

## 4 - Identification des paramètres du modèle

### 4-1 Nature du problème:

Dans cette modélisation on est confronté à un problème d'identification des paramètres à partir des résultats expérimentaux calibrant un modèle fort complexe constitué d'équations différentielles couplées et hautement non linéaires.

### 4-2 Difficultés inhérentes aux calculs:

L'estimation des paramètres dans un système d'équations différentielles a reçu l'intention de quelques auteurs, HWANG & SEINFELD, (1972) [101], LEE, (1968) [123].

Quand des observations expérimentales sont obtenues dans le temps d'une façon discrète, comme c'est le cas dans ce travail, la méthode usuelle dite de quasilinearisation, LEE, (1968) [118], ne représente qu'un estimé de la solution où il est question d'intégrer  $(n+1)^2$  équations différentielles où  $n$  est le nombre de variables d'état et  $l$  le nombre de paramètres à estimer, dans notre cas  $n = 3$  ([Polymère], [Oligomères], [Monomères]), et  $l = 6$  ( $v_{\max 1}$ ,  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $v_{\max 2}$ ,  $K_{I1}$ ,  $K_{I2}$ ), limitant ainsi l'applicabilité de cette méthode qu'à des cas simples (faibles valeurs de  $n$  et  $l$ ).

Un autre problème peut surgir empêchant la résolution adéquate du système différentiel cité, il s'agit du mal conditionnement de ce dernier, c'est à dire une grande variation des paramètres n'entraîne qu'une variation mineure au niveau de la fonction objective quadratique à minimiser par optimisation, définie par:

$$F(p) = \sum_i^m ||X(t_i) - \tilde{X}(t_i)||^2 \quad [4]$$

où  $X(t_i)$  est le vecteur solution du système [73].

$\bar{X}(t_i)$  est le vecteur observations expérimentales.

Dans notre cas  $X(t_i) = \begin{pmatrix} [\text{Poly}] \\ [\text{Oligo}] \\ [\text{Mono}] \end{pmatrix}$

Ce qui affecte la stabilité des algorithmes d'optimisation au niveau de la convergence.

Enfin, faudrait-il s'assurer si les expériences elles-mêmes ne sont pas entachées d'erreurs systématiques (analytiques et autres ...).

Ce dernier point, dans notre cas se pose car, hormis la concentration des monomères qui apparaissent dans le temps mesuré par HPLC, celles concernant les oligomères et polymères sont sûrement entachées d'erreurs analytiques relatives à la non adéquation de la méthode HPLC avec le standard interne à déterminer exactement les concentrations de ces entités chimiques hétérogènes.

Expérimentalement parlé, quand il s'agit d'oligomères homogènes (exemple: oligomères obtenus par fractionnement d'amidon, BOUCHARD et al. (1988) [24], la méthode HPLC utilisant le standard externe pour chaque oligomère (maltose, maltobiose, maltotriose, etc...) est efficacement utilisée. Ce n'est pas le cas ici dans le cadre de cette étude, où il est question d'oligomères des hémicelluloses obtenus par hydrolyse enzymatique mettant en jeu des oligomères de nature différentes (les oligo-xylose, oligo-arabinose et autres, ...), ce qui rend très difficile leur quantification, à moins d'utilisation de techniques de séparation et d'isolement de ces oligomères, ce qui par conséquent dépasse le cadre de ce travail.

